

# СОДЕРЖАНИЕ

Том 71, номер 5, 2021

## Обзоры и теоретические статьи

Модель формирования карты на основе ассоциации клеток  
направления и места

*В. И. Майоров*

583

## Физиология высшей нервной (когнитивной) деятельности человека

Морфофункциональный подход в изучении особенностей  
префронтальной коры у подростков

*Т. А. Цехмистренко*

591

Особенности развития коры мозга человека во втором триместре гестации

*Е. И. Краснощекова, П. А. Зыкин, Л. А. Ткаченко, Е. А. Козубенко,  
Н. А. Костин, Е. А. Цветков, Р. А. Насыров, А. Д. Харазова*

605

Роль внимания в опознании периферийных стимулов в одинарной  
и двойной задачах

*В. М. Бондарко, М. В. Данилова, С. Д. Солнушкин, В. Н. Чихман*

620

Особенности вызванных потенциалов ЭЭГ при восприятии быстрых  
и медленных поглаживаний: ответ распознающей и эмоциональной  
систем механорецепции

*А. А. Варламов, М. А. Иванова, И. В. Скороходов,  
А. Н. Семиреченко, Г. В. Портнова*

637

Инвазивная регистрация фокальных потенциалов у пациентов  
с эпилепсией при наблюдении, представлении и выполнении движений

*Е. Д. Каримова, С. Е. Буркитбаев, И. С. Трифонов, М. В. Синкин,  
Ф. К. Ридер, А. Б. Гехт, Н. Н. Лебедева*

649

## Экспериментальная патология высшей нервной деятельности

Особенности развития и анализа нарушений социального поведения  
и когнитивных функций у животных с экспериментальной  
болезнью Альцгеймера

*Я. В. Горина, А. Б. Салмина, Д. П. Чернюк, А. В. Большакова,  
П. М. Балабан, И. Б. Безпрозванный, О. Л. Власова*

667

Влияние даларгина на изменение тревожности у крыс с различными  
индивидуально-типологическими особенностями поведения  
в модели ПТСР

*О. Г. Семенова, А. В. Вьюшина, А. В. Притворова,  
В. В. Ракицкая, Н. Э. Ордян*

680

Влияние социальной изоляции и обогащенной среды  
на тревожно-депрессивное поведение крыс в норме  
и после раннего провоспалительного стресса

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

690

Хронические социальные стрессы изоляции и скученности  
у крыс по-разному влияют на научение инструментальному поведению  
и состояние гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы

*В. В. Гаврилов, М. В. Онуфриев, Ю. В. Моисеева,  
Ю. И. Александров, Н. В. Гуляева*

710

## История исследования высшей нервной деятельности

“Лезвие” времени в неопубликованной рукописи Н. А. Бернштейна

*В. Л. Талис, М. Л. Латаш*

720

# Contents

---

---

Vol. 71, No. 5, 2021

---

---

## Reviews and theoretical articles

- A model of the neural mechanism of map formation based on the association of head direction and place cells  
*V. I. Maiorov* 583
- 

## Physiology of higher nervous (mental) activity in humans

- Morphofunctional study of the prefrontal cortex in adolescents  
*T. A. Tsekhmistrenko* 591
- Features of differentiation of the human cerebral cortex during the second trimester of gestation  
*E. I. Krasnoshchekova, P. A. Zykin, L. A. Tkachenko, E. A. Kozubenko, N. A. Kostin, E. A. Tsvetkov, R. A. Nasyrov, A. D. Kharazova* 605
- The role of attention in recognition of peripheral stimuli in single and dual tasks  
*V. M. Bondarko, M. V. Danilova, S. D. Solnushkin, V. N. Chikhman* 620
- A pilot study of event-related brain potentials to fast and slow strokes: towards distinguishing responses from fast and slow touch systems  
*A. A. Varlamov, M. A. Ivanova, I. V. Skorokhodov, A. N. Semirechenko, G. V. Portnova* 637
- Invasive registration of local field potentials during observation, representation, and execution of movements in patients with epilepsy  
*E. D. Karimova, S. E. Burkitbayev, I. S. Trifonov, M. V. Sinkin, F. K. Rider, A. B. Gekht, N.N. Lebedeva* 649
- 

## Experimental pathology of higher nervous activity

- Features of the development and analysis of disorders of social behavior and cognitive functions in animals with experimental Alzheimer's disease  
*Y. V. Gorina, A. B. Salmina, D. P. Chernyuk, A. V. Bolshakova, P. M. Balaban, I. B. Bezprozvanny, O. L. Vlasova* 667
- Effects of dalargin on anxiety changes in rats with different individual-typological behavioral features in the PTSD model  
*O. G. Semenova, A. V. Vyushina, A. V. Pritvorova, V. V. Rakitskaya, N. E. Ordyan* 680
- The influence of social isolation and enriched environment on anxious and depressive-like behavior of rats in norm and after the early proinflammatory stress  
*I. V. Pavlova, N. D. Broshevitskaya, M. I. Zaichenko, G. A. Grigoryan* 690
- Chronic social stresses of isolation and crowding differently affect instrumental behavior learning and the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system in rats  
*V. V. Gavrilov, M. V. Onufriev, Yu. V. Moiseeva, Yu. I. Alexandrov, N. V. Gulyaeva* 710
- 

## History of higher nervous (mental) activity research

- “Razor blade of time” in an unpublished manuscript by N. A. Bernstein  
*V. L. Talis, M. L. Latash* 720
- 
-

ОБЗОРЫ  
И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 612.812.6

МОДЕЛЬ ФОРМИРОВАНИЯ КАРТЫ НА ОСНОВЕ АССОЦИИИ  
КЛЕТОК НАПРАВЛЕНИЯ И МЕСТА

© 2021 г. В. И. Майоров<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Кафедра высшей нервной деятельности Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\*e-mail: vimaiorov@mail.ru

Поступила в редакцию 04.09.2020 г.

После доработки 18.10.2020 г.

Принята к публикации 22.12.2020 г.

Показано, как в рекуррентной нейронной сети условный сигнал от “клеток направления” (УС) приобретает способность активировать ту последовательность нейронов (“клеток места”), с которой он ассоциировался в прошлом опыте (“replay”). Нейроны модели связаны глутаматными синапсами с высокой концентрацией и долей NMDAR, УС действует только через синапсы с AMPAR. Матрица связей УС структурно идентична матрице рекуррентных связей. При обучении направляющие связи потенцируются в ассоциации с ближайшими коллатеральными, когда задний фронт синаптического возбуждения от предыдущих в порядке активации нейронов совпадает с передним фронтом деполяризации последующих. На каждом шаге изменения матрицы связей УС функционально эквивалентны изменениям матрицы рекуррентных связей. В результате УС приобретает способность потенцировать проводимость NMDA-каналов (генерировать NMDA-спайк) рекуррентных связей в ассоциированной последовательности. Разные УС становятся указателями на разные последовательности.

*Ключевые слова:* гиппокамп, клетки места, клетки направления, рекуррентные нейронные сети, NMDA-рецепторы, синаптическая пластичность

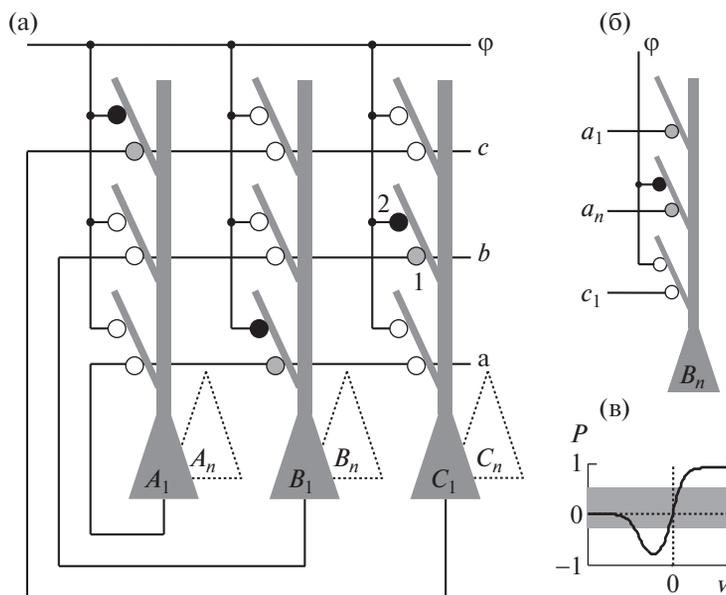
DOI: 10.31857/S0044467721050075

ВВЕДЕНИЕ

Нейроны гиппокампа регистрируют то место, в котором находится животное (“клетки места”, “клетки решетки”, “place-”, “grid-cells”) и выстраивают траекторию движения к другому, невидимому отсюда месту, по координатам, вычисляемым относительно удаленных объектов (Poucet et al., 2004; Eichenbaum, 2017; Lisman et al., 2017; Майоров, 2018). Существующие модели функционального механизма гиппокампа в навигации можно разделить на две группы. В градиентных моделях выбор направления производится непосредственно во время движения по градиенту синаптических связей (Populak, Norfield, 2013) или дофаминовому градиенту (Майоров, 2018). В моделях, основанных на предварительном планировании траекторий, клетки направления (“head direction cells”) функционально сопряжены с клетками места так, чтобы вызывать предварительную акти-

вацию (“preplay”) той последовательности клеток места, в которой они бы возбуждались при движении в данном направлении (Taube, 2007; Erdem, Hasselmo, 2012, 2014; Burak, 2014; Sanders et al., 2015; Shipston-Sharman et al., 2016). Физиологический механизм такого сопряжения пока точно не установлен.

В работе на примере простой нейронной сети с рекуррентными связями показано, как при использовании двунаправленной ассоциативной синаптической пластичности, основанной на взаимодействии AMPA- и NMDA-рецепторов в зависимости от постсинаптического потенциала, сигнал клеток направления приобретает способность активировать ту последовательность (траекторию возбуждения) клеток места, с которой он ассоциировался в предшествующем опыте. В результате сигналы разных клеток направления становятся указателями на разные траектории (пути) на карте.



**Рис. 1.** Принципиальная схема модели (а) представляет собой упрощенный вариант вероятностной схемы связей (б). (в) — функция синаптической пластичности в соответствии с уравнением (8). Веса связей изменяются только при значениях функции за пределами серой зоны (уравнения 9–11). Дополнительные пояснения в тексте.

**Fig. 1.** The schematic diagram of the model (a) is a simplified version of the probabilistic connection scheme (б). (в) — synaptic plasticity function according to equation (8). Link weights change only for function values outside the gray zone (equations 9–11).

## МЕТОДИКА

В первом варианте модель состоит из 64 нейронов, разделенных на 3 непересекающиеся группы А, В, С по 21 нейрону в каждой (один оставался свободным). Во втором варианте — 192 нейрона, разделенных на 8 групп по 24. Остальные характеристики моделей полностью совпадают. Нейроны связаны друг с другом нормально распределенными по величине глутаматными (AMPA + NMDAR) связями ( $w$ ) с высокой концентрацией и долей NMDA-рецепторов в окончаниях и тормозными ( $g$ ) связями. Возбуждающие связи локализованы и оканчиваются на разных дендритных ветках (рис. 1 (а)). Сигнал направления ( $\phi$ ) действует на все нейроны, как показано на рис. 1 (а), через относительно слабые глутаматные связи только с AMPA-рецепторами в окончаниях. Как видно из рис. 1 (а), матрица весов связей направляющего сигнала ( $w_\phi$ ) структурно идентична матрице рекуррентных межнейронных связей ( $w_r$ ) — каждому элементу матрицы  $w_r$  соответствует элемент матрицы  $w_\phi$  (как элементы 1 и 2 на рис. 1 (а)). Схема связей на рис. 1 (а) представляет собой упрощенный вариант вероятностной схемы связей (рис. 1 (б)), где только некоторые нейроны

контактируют с данным В-нейроном ( $a_1, a_n, c_1$ ) и не со всеми ветками контактируют окончания направляющих связей. Связи от одного нейрона оканчиваются на разных дендритных ветках. Например, аксоны нейронов  $A_1, C_1$  контактируют с нижней и верхней веткой нейрона  $B_1$  (рис. 1 (а)) и с верхней и нижней веткой нейрона  $B_n$  (рис. 1 (б)). Синапсы любых двух групп нейронов в среднем одинаково удалены от сомы данного нейрона, что позволяет обойтись в определении модели одним уравнением интегратора с утечкой (1).

В начале каждой пробы состояние нейронов иницировалось нормально распределенным случайным шумом. Каждая проба состояла из  $t$  шагов (интервалов), динамика активности в которых рассчитывалась функцией решения дифференциальных уравнений MATLAB ode45. Поведение нейронов описывается системой дифференциальных уравнений (в векторно-матричных обозначениях):

$$\begin{aligned} dv/dt = & -0.01v + (1-v)((w_r + 0.25w_\phi)e_r) + \\ & + (1-v)(w_\phi e_\phi) - (1+v)(g_i) + (1-v)S - \\ & - 5h - 15h \times (h > 0.001) \end{aligned} \quad (1)$$

$$dw_r/dt = 0.001(0.05 - w_r)P_r^+ + 0.05w_rP_r^- \quad (2)$$

$$dw_\phi/dt = 0.001(0.05 - w_\phi)P_\phi^+ + 0.05w_\phi P_\phi^- \quad (3)$$

$$de_r/dt = -0.05e_r + (1 - e_r)r \quad (4)$$

$$di/dt = -0.25i + (1 - i)r \quad (5)$$

$$dh/dt = -0.005h + 0.0005v \quad (6)$$

$$r = \left( \frac{1}{1 + \exp(5 - 10v)} \right) \times (v > 0.01) \quad (7)$$

$$P = 1.83 \left( \frac{\exp(20v)}{1 + \exp(20v)} - \frac{0.5 \exp(20v + 6)}{1 + \exp(20v + 6)} \right) \quad (8)$$

$$P_r^+ = P \times (e_r > 0.3 \ \& \ P > 0.5) \quad (9)$$

$$P_r^- = P \times (e_r > 0.3 \ \& \ P < -0.3) \quad (10)$$

$$P_\phi^+ = P \times (e_r > 0.3 \ \& \ P > 0.5) \quad (11)$$

$$P_\phi^- = -1 \times (e_r > 0.3 \ \& \ v < -0.5) \quad (12)$$

Условные обозначения:  $v$  – уровень активности (потенциал) нейрона, который без генерации потенциалов действия преобразуется в сигнал на выходе ( $r$ ), пресинаптический для других нейронов;  $w > 0$ ,  $g > 0$  – величина возбуждающих и тормозных связей между нейронами;  $w_r$ ,  $w_\phi$  – веса межнейронных (рекуррентных) и направляющих связей;  $e_r$ ,  $i$  – “синаптическое” возбуждение и торможение, пропорциональное количеству медиатора, выброшенного под влиянием  $r$ , более медленное снижение возбуждения по сравнению с торможением отражает длительность NMDA-компонента ВПСП;  $e_\phi$  – постоянное синаптическое возбуждение под влиянием сигнала направления  $\phi$ ;  $h$  – постактивационное торможение/посттормозное возбуждение;  $S$  – внешний сигнал, имитирующий действие входов, формирующих активность клеток места;  $P$  – функция пластичности (по (Shouval et al., 2010), с изменениями) с дополнительными ограничениями  $P^+$ ,  $P^-$  (рис. 1 (в));  $P_r^+$ ,  $P_r^-$  – функции пластичности, действующие на AMPA-рецепторы межнейронных и направляющих связей. В соответствии с обозначениями, принятыми в MATLAB, в уравнениях 1, 7, 9–12 выражения в скобках, заключающих неравенства, принимают значение 1 при выполнении (обоих) неравенств, значение 0 в ином случае, & – знак логического умножения. В уравнении (1) межнейронное синаптическое возбуждение  $e_r$  умножается на сумму матриц весов межнейронных и направляющих связей, это один из

наиболее существенных элементов модели, разъясняемый в разделе “Результаты исследований”. (В уравнениях указаны те числовые коэффициенты, с которыми были получены данные, представленные на рисунках).

AMPA-компонент глутаматных связей характеризуется двунаправленной NMDA- и потенциал-зависимой пластичностью. При активации NMDA-рецепторов глутаматом эффективность *активных* AMPA-связей изменяется в зависимости от постсинаптического потенциала в соответствии с функцией пластичности  $P$  (уравнения 2–3, 8–12, рис. 1 (в)). NMDA-компонент остается постоянным. Направляющие  $\phi$ -связи характеризуются локальной ассоциативной пластичностью. Под ассоциативностью понимается усиление эффективности слабых связей, не способных к самостоятельным изменениям, при совместной активации с более сильными связями (Mehta, 2004; Larson, Munkácsy, 2015). Точный механизм ассоциативности для каждого конкретного случая, по-видимому, не установлен. Здесь предполагается, что синапсы направляющих связей не имеют собственных NMDA-рецепторов. На каждом шаге *активные* ассоциативные связи усиливаются вместе – одновременно и однонаправленно с коллатеральными, оканчивающимися вблизи на той же ветке (например, 1 и 2 на рис. 1 (а)), депрессия ассоциативных связей происходит при более низком потенциале (уравнения 2, 3, 8–12, влиянием ВПСП изначально слабых направляющих связей на процесс обучения пренебрегаем). Вычисления производились в системе MATLAB, m-коды программ можно получить у автора.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При обучении на выделенные группы нейронов последовательно подавался сигнал  $S(t)$ , имитирующий действие входов, формирующих активность клеток места (рис. 2 (1)). Рисунки 2 (2) показывают движение фокуса возбуждения (светлые участки) под влиянием  $S$  в направлении ABCA (рис. 2 (a2)) или CBAC (рис. 2 (b2)). Характер и условия изменения межнейронных связей показаны на рисунках 2 (3–5). Например, при последовательном возбуждении А- и В-групп (рис. 2 (a3)) связи  $A \rightarrow B^a$  и ассоциированные  $\phi$ -связи усиливаются (рис. 2 (a5), черная сплошная), когда задний фронт (NMDA-компонент) возбуждающего синаптического сигнала из А

(рис. 2 (а4), серая сплошная) совпадает в дендритном поле  $V^a$  с передним фронтом постсинаптического возбуждения нейронов группы  $B$  (черная штриховая). Это единственный интервал NMDA-зависимого усиления связей для дендритной ветки  $V^a$ . При таком направлении распространения возбуждения усиливаются связи  $A \rightarrow V^a$ ,  $B \rightarrow C^b$ ,  $C \rightarrow A^c$  (рис. 2 (а5), черная сплошная, серые шипики на рис. 1 (а)) и ассоциированные с ними  $\phi$ -связи (черные шипики). Совпадение коллатеральных ВПСП с постсинаптической деполяризацией (штриховые на рис. 2 (а4)) вызывает усиление внутригрупповых и ассоциированных с ними направляющих связей. Активация синаптических окончаний  $B$ -нейронов (рис. 2 (а4), серая штриховая) совпадает с торможением  $A$ -нейронов (черная сплошная), что вызывает ослабление  $B \rightarrow A^b$  связей (рис. 2 (а5), штриховая) и ассоциированных с ними  $\phi$ -связей (светлые шипики). Аналогично ослабляются  $C \rightarrow V^c$  и  $A \rightarrow C^a$  связи.

При перемене направления движения фокуса возбуждения на противоположное — СВАС — на фоне другого сигнала направления  $\pi$  (рис. 2 (б)) усиливаются связи  $C \rightarrow V^c$ ,  $B \rightarrow A^b$ ,  $A \rightarrow C^a$ , внутригрупповые и ассоциированные с ними  $\pi$ -связи. Ослабляются связи  $A \rightarrow V^a$ ,  $B \rightarrow C^b$ ,  $C \rightarrow A^c$  и ассоциированные  $\pi$ -связи. В то же самое время  $\phi$ -связи на дендритных ветках  $A^c$ ,  $V^a$ ,  $C^b$  (рис. 1(а)) в отсутствие направляющего  $\phi$ -сигнала остаются без изменения.

При чередовании движений в противоположных направлениях коллатеральные межгрупповые связи остаются на низком уровне, например, связи, которые усиливаются при движении в направлении АВСА (рис. 2 (а6), кривые 2), ослабляются при движении в противоположном направлении СВАС (рис. 2 (б6), кривые 2). Направляющие связи систематически усиливаются в направлении движения (например, связи  $\phi \rightarrow V^a$  в последовательности АВС, связи  $\pi \rightarrow A^b$  в последовательности СВА) и ослабляются в противоположном направлении (например,  $\phi \rightarrow A^b$ ,  $\pi \rightarrow V^a$ ). Усиливаются внутригрупповые коллатеральные и ассоциированные с ними направляющие связи (кривые 1 на рис. 2 (б)).

Обученная нейросетка воспроизводит последовательность в соответствии с направляющим сигналом без внешнего принуждения,  $S = 0$  (рис. 2 (7, 8)). Поскольку межгрупповые связи (AMPA-компонент) после обучения

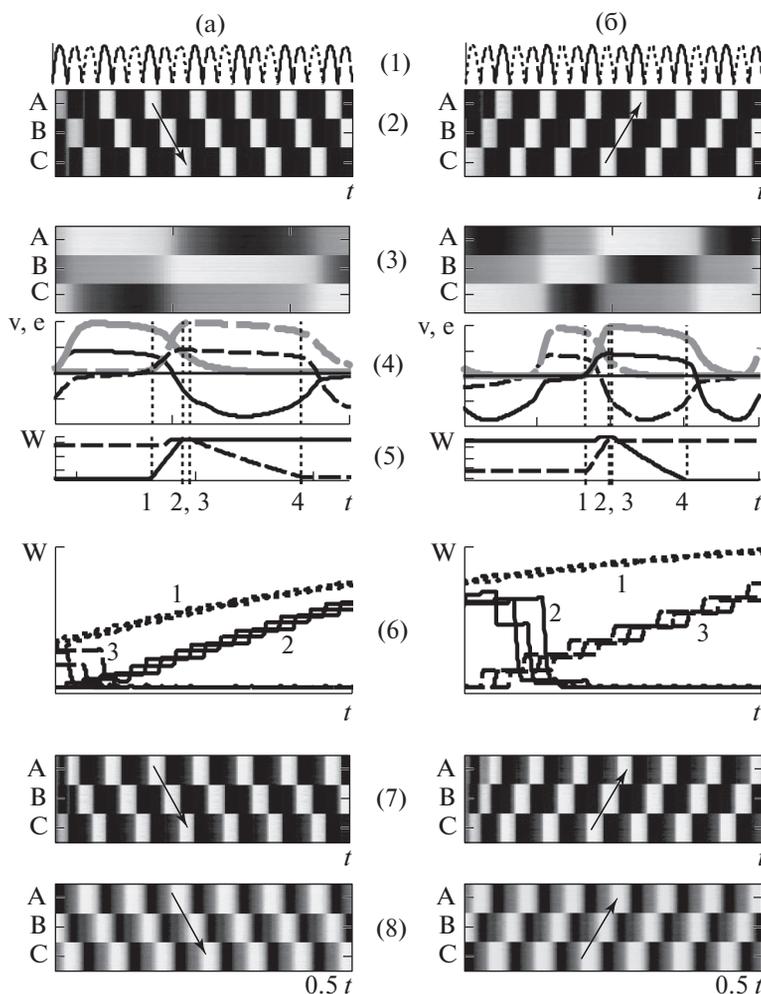
остаются слабыми, основным регулятором тока через NMDA-каналы межгрупповых связей становятся ВПСП ассоциированных направляющих связей, величина которых пропорциональна произведению постоянного синаптического возбуждения, вызванного сигналом направления, на матрицу весов, сформированную во время тренировки  $v_\phi \propto e_\phi w_\phi$ . Величина тока через NMDA-канал, вызванного направляющим сигналом, на нисходящем участке вольт-амперной характеристики приблизительно пропорциональна произведению коллатерального синаптического возбуждения ( $e_r$ ), активирующего NMDA-рецепторы, на  $w_\phi$ -матрицу  $I \propto e_r v_\phi \propto e_r w_\phi$ . Выражение для постсинаптического возбуждения в (1) можно приближенно записать как  $(w_r + w_\phi)e_r + w_\phi e_\phi$ , где  $w_\phi$  — выученная матрица,  $e_r$ ,  $e_\phi$  — синаптическое возбуждение через коллатеральные и направляющие связи (рис. 1 (а)).

Учитывая высокую концентрацию NMDA-рецепторов в синапсах коллатеральных связей и большую длительность тока через NMDA-канал, прямым, не опосредованным NMDA-каналами коллатералей, влиянием направляющих ВПСП на постсинаптические нейроны  $e_\phi w_\phi$ , как и при обучении, можно было бы пренебречь (рис. 2 (7)). Добавление к синаптическому сигналу постоянной составляющей  $e_\phi$ , здесь равной половине максимального значения  $e_r$ , не влияет на направление и структуру, а только на частоту активности (рис. 2 (8)).

Поведение модели полностью сохраняется при увеличении числа нейронов без изменения параметров. На рис. 3 показана динамика связей при движении фокуса возбуждения под влиянием  $S$  в противоположных направлениях (рис. 3 (а, б)) и воспроизведение последовательной активации 8 групп нейронов после обучения (в отсутствие  $S$ , рис. 3 (в, г)).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Показано, как в нейронной сети с рекуррентными связями (этим похожей на поле СА3 гиппокампа) условный сигнал (подобный сигналу клеток направления в энторинальной коре) приобретает способность активировать ту из последовательностей, связанных внешним сигналом  $S(t)$  групп клеток (подобных последовательностям клеток места, связанных в аллоцентрической системе координат), которую он сопровождал в пред-



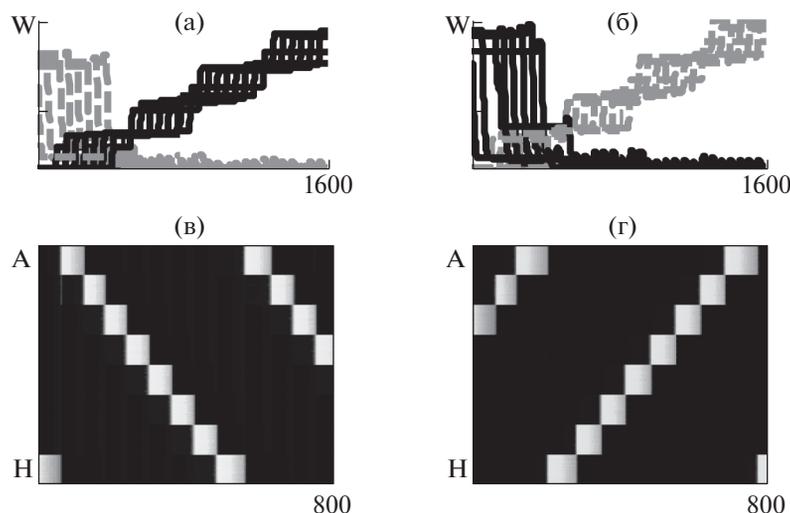
**Рис. 2.** Динамика активности и изменения связей при возбуждении нейронов в последовательности ABCA (a) и CBAC (б). (1) – внешний сигнал  $S$ , активирующий группу А – сплошная линия, В – штриховая, С – пунктирная. (2, 3) – движение фокуса возбуждения (светлые участки). (4) – условия изменения связей, черные линии – постсинаптический потенциал, серые – пресинаптическое возбуждение, сплошные – А-нейроны, штриховые – В-нейроны. (5) – изменения весов связей. (6) – динамика связей при активации нейронов в последовательности CBAC ( $t = 500$ , не показано), ABCA ((a),  $t = 1000$ ), CBAC ((б),  $t = 1000$ ). Внутригрупповые связи – 1, ABCA-связи – 2, CBAC – 3. (7, 8) – воспроизведение исходной последовательности после обучения.

**Fig. 2.** Dynamics of activity and changes in connections upon excitation of neurons in the ABCA (a) and CBAC (б) sequence. (1) – external signal  $S$ , activating group A – solid line, B – dashed line, C – dotted line. (2, 3) – movement of the excitation focus (light areas). (4) – conditions for changing connections, black lines – postsynaptic potential, gray – presynaptic excitation, solid – A-neurons, dashed – B-neurons. (5) – changes in bond weights. (6) – dynamics of connections upon activation of neurons in the CBAC sequence ( $t = 500$ , not shown), ABCA ((a),  $t = 1000$ ), CBAC ((б),  $t = 1000$ ). Intra-group connections – 1, ABCA-connections – 2, CBAC – 3. (7, 8) – reproduction of the original sequence after training. Details in the text.

шествующем опыте (“replay”/“preplay”). Запоминание и воспроизведение последовательностей основаны на двунаправленной NMDA-зависимой пластичности. Усиление связей происходит, когда задний фронт активации NMDA-рецепторов совпадает с передним фронтом постсинаптической деполяризации. Однако это усиление не сохраняется (стирается), когда фокус возбуждения рас-

пространяется в противоположном направлении, и не может использоваться для одновременного хранения многих последовательностей (траекторий).

Сохранение траекторий основано на локальной ассоциативной (кооперативной) пластичности (Mehta, 2004; Larson, Munkácsy, 2015) синапсов клеток направления на клетках места. *Активные* синапсы клеток направ-



**Рис. 3.** Динамика связей при активации нейронов в последовательности HG...A ( $t = 1600$ , не показано), АВ...Н ((а),  $t = 1600$ ), HG...А ((б),  $t = 1600$ ), межгрупповые связи в направлении от А к Н показаны черным, в противоположном направлении, от Н к А – серым. (в, г) – воспроизведение последовательностей в отсутствие обучающего сигнала.

**Fig. 3.** Dynamics of connections upon activation of neurons in the HG...A sequence ( $t = 1600$ , not shown), АВ...Н ((а),  $t = 1600$ ), HG...А ((б),  $t = 1600$ ); intergroup connections in the direction from А to Н are shown in black, in the opposite direction – in gray. (в, г) – reproduction of the original sequence after training.

ления изменяются только в ассоциации с изменениями коллатеральных связей на той же дендритной ветке. На каждом шаге изменения матрицы направляющих связей функционально эквиваленты изменениям матрицы рекуррентных связей. В отсутствие “своего” сигнала направляющие связи не меняются при перемене направления распространения волны возбуждения.

Учитывая стирание *межнейронных* связей при перемене направления движения фокуса возбуждения, можно было бы контрастировать структуру модели до полного разделения типов рецепторов по принадлежности к связям – только *AMPA-рецепторы в направляющих связях*, только *NMDA-рецепторы в межнейронных*. Во время обучения *направляющие* связи используют NMDA-рецепторы *коллатеральных* связей для изменения своей эффективности, при воспроизведении – для усиления постсинаптического тока в нейронах-мишенях.

В условиях фиксации потенциала величина тока на нисходящем участке вольт-амперной характеристики NMDA-рецептора приблизительно пропорциональна величине мембранного потенциала; в физиологических условиях деполяризация в области локализации NMDAR может вызывать генерацию NMDA-спайка (Antic et al., 2010; Brandalise et al.,

2016), пропорционального числу NMDAR, связанных с глутаматом, т.е. величине синаптического притока по коллатеральным связям ( $e_r$ ). Если, например, при воспроизведении последовательности ABC возбуждаются нейроны группы В, то, согласно сделанным допущениям,  $\phi$ -ВПСП на дендритной ветке  $C^b$  достигают порога генерации NMDA-спайка на основе рецепторов коллатеральных связей  $B \rightarrow C^b$ , оканчивающихся на той же дендритной ветке (рис. 1 (а)). В группе А окончания коллатералей из В (на дендритной ветке  $A^b$ ) не совпадают с окончаниями *потенцированных*  $\phi$ -связей (черные шипики на рис. 1 (а)), а активность (плотность) собственных NMDAR, согласно допущению, пренебрежимо мала по сравнению с коллатеральными.

Критическим условием для предложенного здесь механизма является индукция пластичности только в активных AMPA-синапсах. Можно предложить другой вариант, при котором слабые направляющие связи изменяются в зависимости от собственных NMDA-рецепторов, условие активации которых – генерация NMDA-спайка (Antic et al., 2010; Brandalise et al., 2016) при совпадении коллатерального пре- и постсинаптического возбуждения. В таком варианте генерация

NMDA-спайка в коллатеральных связях становится критическим событием как для индукции ассоциативной пластичности, так и для механизма воспроизведения последовательностей по условному направляющему сигналу.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, как в рекуррентной нейронной сети условный сигнал от “клеток направления” приобретает способность активировать ту последовательность нейронов (“клеток места”), с которой он ассоциировался в прошлом опыте (“replay”). 1) Нейроны модели связаны глутаматными синапсами с высокой концентрацией и долей NMDAR, УС действует только через синапсы с AMPAR. Матрица связей УС структурно идентична матрице рекуррентных связей (каждому коллатеральному синапсу на дендритной ветке соответствует расположенный рядом синапс УС). 2) Коллатеральные синапсы характеризуются двунаправленной NMDA-зависимой пластичностью. Усиление связей происходит, когда задний фронт синаптического возбуждения от предыдущих в порядке активации нейронов совпадает с передним фронтом деполяризации последующих. 3) Однако это усиление не сохраняется (стирается), когда последовательность проигрывается в противоположном направлении. 4) *Активные* синапсы УС направления изменяются только в ассоциации с изменениями коллатеральных связей на той же дендритной ветке. На каждом шаге изменения матрицы направляющих связей функционально эквиваленты изменениям матрицы рекуррентных связей. В отсутствие “своего” сигнала направляющие связи не меняются. 5) В результате УС приобретает способность потенцировать проводимость NMDA-каналов (“в пределе” генерировать NMDA-спайки) рекуррентных связей в ассоциированной последовательности. Разные УС становятся указателями на разные последовательности.

Как этот механизм помогает найти скрытую мишень в “Водном лабиринте Морриса”? Когда крыса в обучающей пробе в хорошо знакомом бассейне находит скрытую платформу, формируется ассоциация между клетками места в гиппокампе и дофаминовыми нейронами среднего мозга. Если в тестовом испытании сигнал направления головы (в аллоцентрических координатах) активиру-

ет последовательность клеток места на карте, достигающую платформы, “клетки платформы” активируют дофаминовые нейроны, а те — движение в соответствии с направлением головы.

Благодарю И.Е. Мысина (ИТЭБ РАН) и рецензентов журнала за внимательное прочтение рукописи статьи и конструктивные замечания.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Майоров В.И.* Поиск скрытой платформы в тесте Морриса по дофаминовому градиенту на клетках места. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2018. 68 (4): 429–433.
- Antic S.D., Zhou W-L., Moore A.R., Short S.M., Ikonomu K.D.* The decade of the dendritic NMDA spike. J. Neurosci. Res. 2010. 88 (14): 2991–3001.
- Brandalise F., Carta S., Helmchen F., Lisman J., Gerber U.* Dendritic NMDA spikes are necessary for timing – dependent associative LTP in CA3 pyramidal cells. Nature communications. 2016. 7 (13480): P. 1–9.
- Burak Y.* Spatial coding and attractor dynamics of grid cells in the entorhinal cortex. Current Opinion in Neurobiology. 2014. 25: 169–175.
- Eichenbaum H.* The role of the hippocampus in navigation is memory. J. Neurophysiol. 2017. 117: 1785–1796.
- Erdem U.M., Hasselmo M.E.* A goal-directed spatial navigation model using forward trajectory planning based on grid cells. Eur. J. Neurosci. 2012. 35 (6): 916–931.
- Erdem U.M., Hasselmo M.E.* A Biologically Inspired Hierarchical Goal Directed Navigation Model. J. Physiol. Paris. 2014. 108 (1): 28–37.
- Larson J., Munkácsy E.* Theta-burst LTP. Brain Res. 2015. 1621: 38–50.
- Lisman J., Buzsáki G., Eichenbaum H., Nadel L., Ranganath C., Redish A.D.* Viewpoints: how the hippocampus contributes to memory, navigation and cognition. Nature Neuroscience. 2017. 20 (11): 1434–1447.
- Mehta M.R.* Cooperative LTP can map memory sequences on dendritic branches. Trends in Neurosciences. 2004. 27 (2): 69–72.
- Ponulak F., Hopfield J.J.* Rapid, parallel path planning by propagating wave fronts of spiking neural activity. Frontiers in Computational Neuroscience. 2013. 7 (Article 98): 1–14.
- Poucet B., Lenck-Santini P.P., Hok V., Save E., Banquet J.P., Gaussier P., Müller R.U.* Spatial Navigation and Hippocampal Place Cell Firing: The Problem of Goal Encoding. Rev. Neurosci. 2004. 15 (2): 89–107.

- Sanders H., Rennó-Costa C., Idiart M., Lisman J.* Grid Cells and Place Cells: An Integrated View of their Navigational and Memory Function. *Trends Neurosci.* 2015. 38 (12): 763–775.
- Shipston-Sharman O., Solanka L., Nolan M.F.* Continuous attractor network models of grid cell firing based on excitatory–inhibitory interactions. *J. Physiol.* 2016. 594 (22): 6547–6557.
- Shouval H.Z., Wang S.S.-H., Wittenberg G.M.* Spike timing dependent plasticity: a consequence of more fundamental learning rules. *Frontiers in Computational Neuroscience.* 2010. V. 4. Article 19. P. 1–13.
- Taube J.S.* The Head Direction Signal: Origins and Sensory-Motor Integration. *Annu. Rev. Neurosci.* 2007. 30: 181–207.

## A MODEL OF THE NEURAL MECHANISM OF MAP FORMATION BASED ON THE ASSOCIATION OF HEAD DIRECTION AND PLACE CELLS

V. I. Maiorov<sup>a,#</sup>

<sup>a</sup> *Department of Higher Nervous Activity Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: vimaiorov@mail.ru*

It is shown how, in a recurrent neural network, a conditioned signal from “head direction cells” (CS) acquires the ability to activate the sequence of neurons (“place cells”) with which it was associated in the past experience (“replay”). The neurons of the model are connected by glutamate synapses with a high concentration and proportion of NMDAR, the CS acts only through synapses with AMPAR. The synaptic weight matrix of the CS is structurally identical to the matrix of recurrent connections. During training, the directional connections are potentiated in association with the nearest collateral ones, when the tail of synaptic excitation from the neurons preceding in the order of activation coincides with the leading edge of depolarization of subsequent. At each step, changes in the synaptic weight matrix of the CS are functionally equivalent to changes in the matrix of recurrent connections. As a result, the CS acquires the ability to independently potentiate the conduction of NMDA channels (NMDA spike) of recurrent bonds in the associated sequence. Different CSs become pointers to different sequences.

*Keywords:* hippocampus, place cells, head direction cells, recurrent neuron networks, NMDA-receptors, bidirectional synaptic plasticity

ФИЗИОЛОГИЯ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ (КОГНИТИВНОЙ)  
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА

УДК 611.813.1.061-053

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ПОДХОД В ИЗУЧЕНИИ ОСОБЕННОСТЕЙ  
ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ У ПОДРОСТКОВ

© 2021 г. Т. А. Цехмистренко<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Лаборатория нейрофизиологии когнитивной деятельности, ФГБНУ “Институт возрастной физиологии Российской академии образования”, Москва, Россия

<sup>2</sup> Кафедра анатомии человека, ФГАОУ ВО “Российский университет дружбы народов”, Москва, Россия  
\*e-mail: tsekhmistrenko\_ta@pfur.ru

Поступила в редакцию 18.11.2020 г.

После доработки 19.12.2020 г.

Принята к публикации 22.12.2020 г.

Статья посвящена изучению у подростков возрастных морфофункциональных особенностей зон префронтальной коры большого мозга, участвующих в реализации зрительной (фронтальное глазодвигательное поле 8) и речедвигательной (поля 44 и 45 зоны Брока) функций, а также коры в области латеральной поверхности лобного полюса (поле 10) и медиального паралимбического отдела префронтальной коры (поле 32/10). Постмортальный материал был получен от 60 людей (52 мужского и 8 – женского пола) трех возрастных групп: I – дети от 8 до 12 лет ( $n = 30$ ), II – подростки от 13 до 16 лет ( $n = 15$ ), III – молодые люди от 17 лет до 21 года ( $n = 15$ ). В III и V слоях коры изучали размеры пирамидных нейронов, особенности фиброархитектоники, удельные объемы нейронов и внутрикорковых волокон, определяли глио-сосудистый индекс. Применяли гистологические методики, компьютерный морфометрический и стереологический анализ. Результаты исследования показали, что возрастные микроструктурные изменения префронтальной коры наблюдаются у подростков, что приводит к усложнению ее морфофункциональной организации по сравнению с детьми.

*Ключевые слова:* префронтальная кора человека, объем пирамидных нейронов, удельные объемы нейронов и внутрикорковых волокон, морфометрия, стереометрия, постнатальное развитие неокортекса

DOI: 10.31857/S0044467721040122

Изучение структурной организации нейронного аппарата имеет большое значение для понимания специфики функционирования различных корковых зон в процессе развития мозга человека и формирования его регуляторных функций. Актуальной проблемой возрастной нейроморфологии является изучение структурных преобразований коры большого мозга человека на разных этапах постнатального онтогенеза. Особенности мозговой организации когнитивной деятельности и формирование управляющих систем, контролирующих наиболее сложные формы адаптивного поведения, в существенной степени обусловлены ходом постнатального морфогенеза неокортекса (Мачинская, 2014, 2015; Фарбер, Бетелева, 2011). Неравномерное возрастное созревание коры и подкорко-

вых структур обуславливает неодинаковую степень их участия в мозговой деятельности посредством локальных и системных связей, что и определяет специфику их взаимных влияний на разных этапах индивидуального развития (Dubois et al., 2008a, 2008b; Kostovic, Judas, 2006).

С помощью количественных оценок комплекса макро- и микроструктурных параметров коры становится возможным определение временных границ наиболее значимых ее изменений, выявление специфики развития цитоархитектонических полей с различной функциональной направленностью, изучение своеобразия дифференцировки слоев и подслоев различных корковых зон, а также особенностей роста и дифференцировки кле-

ток разного типа и их компонентов в пределах каждого слоя.

Наибольший интерес такой морфофункциональный подход представляет в микроанатомических исследованиях коры большого мозга у детей 8–12 лет, а также у подростков и юношей, когда наблюдается постепенная стабилизация многих среднестатистических параметров, характеризующих возрастные изменения внутрикорковых структурных компонентов (Blakemore, 2012; Tsekhmistrenko et al., 2017). Системную деятельность мозга и его функцию как целостного органа в значительной мере определяют возрастные изменения нейронов и межнейронных связей (Paus et al., 1999). Особый интерес представляет изучение возрастных особенностей нейроархитектоники коры в III и V слоях — наружной и внутренней пирамидных пластинках. Нейроны этих слоев, а также комплекс их внутрикорковых, межкорковых и корково-подкорковых связей обеспечивают наиболее сложно протекающие процессы системной мозговой деятельности, которые определяют как морфофункциональную специализацию отдельных корковых зон, так и архитектуру их функционального взаимодействия.

Морфофункциональный подход к изучению строения коры больших полушарий реализован в ряде концепций структурно-функциональной организации мозга, которые осуществляются при тесном взаимодействии проекционных, ассоциативных, интегративно-пусковых и лимбико-ретикулярных систем (Фарбер, 2014; Kanwisher, 2010; Van den Heuvel, Sporns, 2011; Khundrakpam et al, 2013; Pessoa, 2014). В коре большого мозга морфологическим субстратом первой инстанции такого многоуровневого взаимодействия является нейрон, следующей ступенью — группа нейронов и, наконец, нервный центр коркового типа.

В последние годы в качестве базового компонента нейросетей на корковом уровне многими исследователями рассматриваются нейроваскулярные единицы морфофункциональной организации коры (Venkat et al., 2016). В отличие от нейронных микромодулей они включают не только дискретные скопления нейронов разного типа — клеточные группировки, но и комплекс локализованных рядом с ними волокнистых структур, глиальных клеток и внутрикорковых сосудов. Нейронные кластеры совместно с глио-сосудистым компонентом фактически представ-

ляют собой нейротрофические или нейроваскулярные единицы в составе цитоархитектонического слоя или его отдельного подслоя. В количественном отношении как глия, так и сосуды в передних отделах коры большого мозга с возрастом также претерпевают изменения. Было показано, что усложнение строения астроцитарной глии положительно коррелирует со степенью обработки информации в ее нейронном окружении (Senitz et al., 1995). Вопрос о том, какими из вышеперечисленных компонентов коры и в какой степени определяются возрастные структурные преобразования у подростков в период полового созревания, морфофункциональной перестройки систем организма, а также психической деятельности и поведения в целом, представляет интерес и может быть изучен с применением классических гистологических количественных методик исследования.

Цель исследования заключалась в изучении возрастных морфологических изменений корковых формаций мозга на гистологических препаратах префронтальной коры у подростков, а также у детей 8–12 лет и у юношей, с применением компьютерного анализа изображений микроструктуры коры, количественных и стереометрических методик. В связи с этим в задачу исследования входило изучение в коре большого мозга возрастных изменений удельных объемов нейронов и внутрикорковых волокон, а также глиоцитов и кровеносных сосудов, с целью выявления их количественных соотношений. В качестве рабочей гипотезы предполагали, что такой комплексный морфофункциональный подход позволит выявить особенности постнатальных преобразований не только в системе структур, непосредственно участвующих в информационных процессах, но и в системе образований, регулирующих трофические и метаболические процессы в коре.

## МЕТОДИКА

С помощью гистологических и количественных методик были изучены фрагменты коры большого мозга, полученные из 60 левых больших полушарий от трупов людей (52 мужского и 8 женского пола) в возрасте от 8 лет до 21 года, погибших без травм мозга. Сбор секционного материала производился в судебно-медицинских моргах г. Москвы и Московской области. Сбор материала разре-

шен этической комиссией Института возрастной физиологии РАО, решение № 4 от 15 февраля 1996 г.

Фрагменты ткани мозга вырезали, руководствуясь Атласом цитоархитектоники коры большого мозга человека (Атлас цитоархитектоники..., 1955). В префронтальной коре исследовали речедвигательные поля 44 и 45 (зона Брока), передний отдел фронтального глазодвигательного поля 8, поле 10 лобного полюса в переднелатеральном отделе префронтальной коры, а также прелимбическое поле 32/10 (передняя дорсальная поясная кора по К. Brodmann) на медиальной поверхности лобной доли. При выборе полей учитывалась не только их функциональная специализация, но и различие в степени влияния на их развитие со стороны групп генов, осуществляющих контроль над формированием лобных долей больших полушарий (Chen et al., 2011; Docherty et al., 2015).

Материал исследования в соответствии с отечественной возрастной периодизацией (АПН СССР, 1965) распределяли в три возрастные группы, в том числе: группу детей в предшествующем подросткам возрасте от 8 до 12 лет ( $n = 30$  левых полушарий большого мозга), группу подростков от 13 до 16 лет ( $n = 15$ ) и группу юношей от 17 лет до 21 года ( $n = 15$ ). Фиксацию мозга производили в 10%-ном нейтральном формалине с последующим обезвоживанием в спиртах восходящей концентрации. Парафиновые срезы толщиной 10 мкм изготавливали во фронтальной плоскости и окрашивали крезоловым фиолетовым по Нисслю, а также импрегнировали нитратом серебра методом Петерса в модификации (Антонова, Степанова, 1973). Часть материала в отдельных фрагментах обрабатывали методом Гольджи в модификации (Антонова, 1967), после чего серийные срезы с целлоидиновых блоков толщиной 100 мкм, изготовленные во фронтальной проекции, заключали в бальзам.

Методом компьютерной морфометрии с применением технологии Image Tools (National Institutes of Health, USA) и программы геометрических измерений микрообъектов ImageExpert™ Gauge (NEXSYS, Россия) на микроскопе Биолам-15 ЛОМО® с встроенной USB-камерой UCМOS01300KPA (Altami, Россия) в наружной пирамидной пластинке коры (III<sup>3</sup> подслой) и внутренней пирамидной пластинке (V<sup>1</sup> подслой) измеряли пло-

щадь профильного поля пирамидных нейронов на срезе, а также высоту и ширину нейронов с четко видимыми ядром, ядрышком и цитоплазмой. При изучении размеров нейронов анализируют, как правило, величину профильного поля (срединного среза) тел нейронов, но не их объем (Боголепова и др., 2015). Тем не менее известно, что при росте размеров трехмерного объекта величина его объема изменяется в большей степени, чем площадь срединного сечения (Бескин, 1971). Объем тела – важная количественная характеристика метаболического и функционального потенциала нейрона. В связи с этим в префронтальной коре человека на поздних этапах восходящего онтогенеза мы изучали возрастную динамику изменений размеров пирамидных нейронов, анализируя объемы тел пирамидных нейронов. Объем конусовидного клеточного тела ( $V$ ) для каждого пирамидного нейрона вычисляли по формуле:

$$V = \frac{1}{3}\pi H \left[ \frac{a}{2} \right]^2,$$

где  $H$  – длина нейрона,  $a$  – ширина нейрона.

Объем выборки для каждого среза составлял не менее 10 нейронов, для каждого гистологического препарата – не менее 40, для каждого индивидуума – не менее 5 препаратов, для каждого годового возрастного промежутка – не менее 3 индивидуумов, для каждой возрастной группы – не менее 3000 вычислений объемов нейронов в каждом из исследованных полей. Для вычисления процентного соотношения пирамидных нейронов разного объема было выделено 8 размерных групп нейронов. К мелким нейронам отнесли 2 группы: 1 – от 101 до 1100 мкм<sup>3</sup>, 2 – от 1101 до 2100 мкм<sup>3</sup>. К средним нейронам отнесли 3 группы: 3 – от 2101 до 3100 мкм<sup>3</sup>, 4 – от 3101 до 4100 мкм<sup>3</sup>, 5 – от 4101 до 5100 мкм<sup>3</sup>. К наиболее крупным отнесли также 3 группы: 6 – от 5101 до 6100 мкм<sup>3</sup>, 7 – от 6101 до 7100 мкм<sup>3</sup> и 8 – от 7101 до 8100 мкм<sup>3</sup>. Статистический анализ полученных количественных данных производили с использованием пакета программ SigmaPlot 13.0 (SYSTAT Software, USA), интегрированного с MS Excel, вычисляя среднегрупповые величины изучаемых параметров и стандартные ошибки средних, при этом проверяли соблюдение нормальности распределения величин в сравниваемых выборках, анализировали распределение вероятностей количественных признаков (Ланг, Сесик, 2016). Значимость

различий между среднегрупповыми показателями разных возрастных групп определяли с применением двухвыборочного *t*-критерия Стьюдента. Различия считали значимыми при  $P \geq 95\%$  ( $p < 0.05$ ).

Объемные соотношения структурных элементов коры в разных полях и в различных возрастных группах определяли с помощью стереологического метода (Стефанов, Кухаренко, 1989) в собственной модификации (Цехмистренко и др., 2019б). Выявляли удельные объемы нейронов, волокон, глиоцитов и сосудов в III<sup>3</sup> и VI<sup>1</sup> подслоях коры при увеличении  $15 \times 40$  при помощи встроенной в программу 4-узловой оптической сетки со случайным шагом. Среднее число узлов (точек) морфометрической сетки, случайно попавших на исследуемые структуры, определяло их среднюю долю общего объема ткани (в %). Также вычисляли удельный объем экстрацеллюлярного матрикса и неточно опознаваемых объектов, который в итоге в среднем не превышал  $3.26 \pm 0.4\%$ . Всего производилось по 850–1080 измерений изучаемых структурных компонентов в каждой возрастной группе при достижении критерия надежности  $P \geq 95\%$ . С целью унификации количественных данных, полученных с различных срезов, использовалась формула А. Аберкромби (Автандилов, 1990) для подсчета истинного числа микрообъектов с учетом толщины среза. Значимость различий между средними величинами изучаемых параметров различных возрастных групп или разных корковых полей в одной возрастной группе определяли методами вариационной статистики с вычислением ошибки средней и доверительного интервала с уровнем значимости  $P \geq 95\%$  (Стрелков, 1986).

В переходном периоде от детства к подростковому возрасту в организме происходят существенные гормональные изменения, которые в значительной степени затрагивают метаболические процессы в корковых формациях и подкорковых нервных центрах головного мозга (Физиология развития ребенка, 2010). Можно предположить, что на этом возрастном отрезке особенно большое значение для нормальной жизнедеятельности нейронов в коре большого мозга приобретают глиоциты, в частности астроцитарная глия, тесно функционально связанная с внутрикорковыми кровеносными сосудами. Поэтому в полях префронтальной коры нами проанализировано относительное содержание

глии и сосудов на уровне III<sup>3</sup> подслоя. Для оценки возрастных изменений глиального и сосудистого компонентов микроструктуры коры рассчитывали среднегрупповой глио-сосудистый индекс, отражающий отношение удельного объема внутрикорковой глии к удельному объему микрососудов на уровне анализируемого цитоархитектонического слоя.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

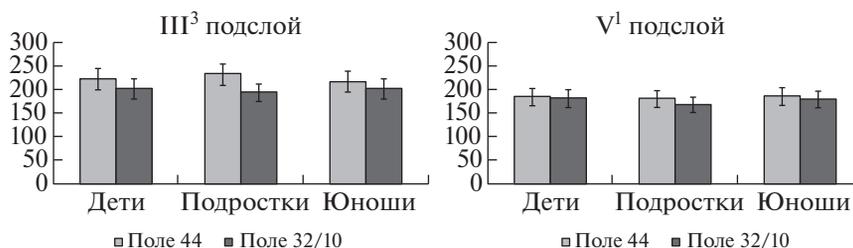
*Цито- и фиброархитектоника.* Установлено, что по среднегрупповому показателю профильных полей пирамидных нейронов у детей, подростков и юношей не существует значимых различий (рис. 1). По этому показателю пирамидные нейроны достигают дефинитивного уровня развития к 8–12 годам, а их размеры после 7 лет в среднем стабилизируются, что совпадает с данными и других авторов (Боголепова, Малофеева, 2014).

Однако изучение цито- и фиброархитектоники в различных полях префронтальной коры показало, что у детей 8–12 лет и подростков в сравнении с более ранними возрастными периодами на препаратах, окрашенных по Гольджи, во всех исследованных полях увеличивалась разветвленность дендритов пирамидных нейронов, нарастало разнообразие их пространственного распределения (Цехмистренко и др., 2019а) (рис. 2).

Между протяженностью дендритных арборизаций и развитием тел пирамидных нейронов существует тесная морфофункциональная связь (Vaars, Gage, 2010), которая находит отражение в количественных изменениях перикарионов пирамидных нейронов в наружной и внутренней пирамидных пластинках.

Возрастные изменения объемов пирамидных нейронов изучали на примере полей 45, 8 и 10 префронтальной коры. В III<sup>3</sup> подслое наружной пирамидной пластинки у детей 8–12 лет среднегрупповые показатели объемов пирамидных нейронов в полях 8 и 45 не имели значимых различий (табл. 1).

По сравнению с полями 8 и 45 в поле 10 лобного полюса величина пирамидных нейронов была в среднем в 1.2 раза меньше. Индивидуальные средние показатели у разных индивидуумов в группе детей варьировали в поле 8 от  $1646.5 \pm 88.7$  до  $2681.4 \pm 142.9$  мкм<sup>3</sup>, в поле 45 — от  $1696.9 \pm 84.2$  до  $2610.5 \pm 126.6$  мкм<sup>3</sup>, в поле 10 — от  $1503.3 \pm 78.6$  до  $2288.4 \pm 118.5$  мкм<sup>3</sup>. У подростков 13–16 лет объемы пирамидных



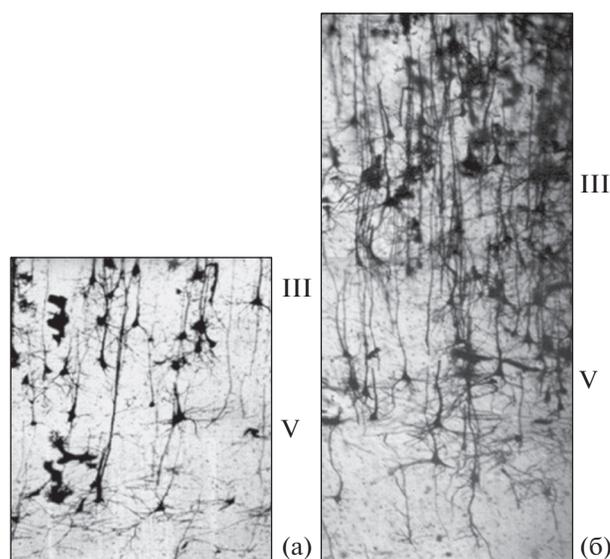
**Рис. 1.** Площадь профильных полей пирамидных нейронов в III<sup>3</sup> и V<sup>1</sup> подслоях полей 44 и 32/10 префронтальной коры большого мозга человека на различных этапах постнатального онтогенеза. Здесь и на рис. 5 по оси абсцисс – возрастные группы: дети – от 8 до 12 лет, подростки – от 13 до 16 лет, юноши – от 17 лет до 21 года. По оси ординат – среднегрупповые показатели площади профильных полей пирамидных нейронов (в мкм<sup>2</sup>). Вертикальные отрезки – доверительный интервал (при уровне значимости  $p < 0.05$ ).

**Fig. 1.** The area of profile fields of pyramidal neurons in III<sup>3</sup> and V<sup>1</sup> sublayers of the fields 44 and 32/10 of the human prefrontal cortex at various stages of postnatal ontogenesis. Here and on fig. 5 on the x-axis – age groups: children – from 8 to 12 years, adolescents – from 13 to 16 years, young men – from 17 to 21 years. On the y-axis – the mid-group indicators of the profile fields of pyramidal neurons (in μm<sup>2</sup>). Vertical bars represent the confidence interval (at the level of significance  $p < 0.05$ ).

нейронов в полях 8 и 45 в среднем не изменялись по сравнению с показателями детей 8–12 лет. В поле 10, играющем большую роль в управлении когнитивными процессами, объемы нейронов увеличились в 1.1 раза, однако, несмотря на значимый прирост, были в 1.1 раза меньше, чем в других полях этой же возрастной группы. У подростков минимальные индивидуальные показатели объемов пирамидных нейронов во всех исследованных полях увеличились в 1.1–1.2 раза по сравнению с детьми 8–12 лет. В целом индивидуальные показатели внутри группы подростков варьировали в поле 8 от  $1910.6 \pm 95.4$  до  $2607.3 \pm 137.8$  мкм<sup>3</sup>, в поле 45 – от  $1921.5 \pm 112.2$  до  $2344.8 \pm 104.1$  мкм<sup>3</sup>, в поле 10 от  $1832.0 \pm 89.3$  до  $2421.3 \pm 132.7$  мкм<sup>3</sup>. У юношей в возрасте от 17 лет до 21 года объемы пирамидных нейронов во всех исследованных полях префронтальной коры в среднем оставались стабильными и не отличались от показателей, выявленных у детей и подростков. Различия между объемами пирамидных нейронов в поле 10 и остальными полями у юношей были такими же, как и у подростков. Индивидуальные показатели внутри группы юношей варьировали в поле 8 от  $2057.5 \pm 107.2$  до  $2714.0 \pm 152.6$  мкм<sup>3</sup>, в поле 45 – от  $1930.2 \pm 91.8$  до  $2558.1 \pm 125.0$  мкм<sup>3</sup>, в поле 10 от  $1838.0 \pm 96.4$  до  $2410.0 \pm 130.6$  мкм<sup>3</sup>.

Количественный анализ показал, что различия индивидуальных средних объемов пирамидных нейронов III<sup>3</sup> подслоя в изученных полях у детей колеблются в пределах  $\pm 18–26\%$  от средней величины всей возрастной

группы. У подростков диапазон индивидуальной изменчивости сужается по сравнению с детьми. Вариабельность объема нейронов в наружной пирамидной пластинке коры у подростков 13–16 лет составляет в среднем



**Рис. 2.** Нейроархитектоника префронтальной коры в области поля 10:

(а) – ребенок 3 лет, (б) – подросток 13 лет. Видны пучки апикальных и базальных дендритов пирамидных нейронов III и V слоев. Импрегнация нитратом серебра по Гольджи. Ув.  $9 \times 10$ .

**Fig. 2.** Neuroarchitectonics of the prefrontal cortex in the field 10:

(a) a 3-year-old child, (b) an adolescent 13-year-old. The bundles of apical and basal dendrites of pyramidal neurons of layers III and V are visible. Impregnation with silver nitrate by Golgi. Magnification  $9 \times 10$ .

**Таблица 1.** Объем пирамидных нейронов в III<sup>3</sup> подслое префронтальной коры большого мозга человека на разных этапах постнатального онтогенеза (M + m) ( $\mu\text{m}^3$ )  
**Table 1.** The volume of pyramidal neurons in the III<sup>3</sup> sublayer of the human prefrontal cortex at different stages of postnatal ontogenesis (M + m) ( $\mu\text{m}^3$ )

Область коры	Дети	Подростки	Юноши
Поле 8	2243.9 ± 45.2	2336.6 ± 53.7	2351.2 ± 56.8
Поле 45	2216.4 ± 39.9	2241.6 ± 32.6	2259.9 ± 54.4
Поле 10	1889.6 ± 34.3*	2083.4 ± 45.4*#	2150.2 ± 50.0 <sup>^</sup>

*Примечание:* различия значимы (при уровне значимости  $p < 0.05$ ) по сравнению с: \* другими полями одной возрастной группы; # тем же полем предыдущей возрастной группы; <sup>^</sup> полем 8 в одной и той же возрастной группе.

*Note:* differences are significant (at the significance level  $p < 0.05$ ) compared to: \* other fields in the same age group; # the same field of the previous age group; <sup>^</sup> field 8 in the same age group.

**Таблица 2.** Объем пирамидных нейронов в V<sup>1</sup> подслое префронтальной коры большого мозга человека на разных этапах постнатального онтогенеза (M + m) ( $\mu\text{m}^3$ )  
**Table 2.** The volume of pyramidal neurons in the V<sup>1</sup> sublayer of the human prefrontal cortex at different stages of postnatal ontogenesis (M + m) ( $\mu\text{m}^3$ )

Область коры	Дети	Подростки	Юноши
Поле 8	1700.4 ± 19.5*	1763.2 ± 38.4*	1771.3 ± 50.1*
Поле 45	1263.8 ± 19.7*	1280.3 ± 30.2*	1354.4 ± 36.9*#
Поле 10	1576.9 ± 20.0*	1595.8 ± 39.3*	1559.6 ± 41.6*

*Примечание:* \* – различия значимы (при уровне значимости  $p < 0.05$ ) между показателями разных полей в каждой из возрастных групп, а также # – по сравнению с аналогичным показателем у детей 8–12 лет.

*Note:* \* – differences are significant (at a significance level of  $p < 0.05$ ) between the indicators of different fields in each age group, and # – in comparison with the same indicator in children 8–12 years old.

±5–18% и наиболее выражена во фронтальном глазодвигательном поле 8, наименее – в речедвигательном поле 45 зоны Брока. У юношей происходит “унификация” диапазона индивидуальных различий размеров пирамидных нейронов: они в среднем индивидуально варьируют во всех исследованных полях префронтальной коры не более чем на ±12–15% от среднегрупповой величины.

Изучение распределения пирамидных нейронов по размерным классам в III<sup>3</sup> подслое показало, что во всех возрастных группах преобладали мелкие по объему нейроны, суммарное содержание которых варьировало у детей в пределах от 56 до 73%, у подростков составляло 66–68%, у юношей – 54–58%. У подростков по сравнению с детьми в поле 8

перераспределение размеров нейронов в сторону их увеличения происходило в пределах мелкоклеточных классов, а содержание нейронов среднего размера нарастало незначительно (рис. 3).

В полях 45 и 10 содержание средних по размеру нейронов увеличивалось по сравнению с детьми. При этом содержание 4-го и 5-го размерных классов составило 12–22% от всей популяции нейронов. У юношей во всех полях содержание нейронов мелкого размера изменялось незначительно. Однако у юношей по сравнению с подростками перераспределение нейронов в пределах крупноклеточных классов приводило к появлению одиночных нейронов наиболее крупного объема в диапазоне от 6101 до 8100  $\mu\text{m}^3$ , которые составили 5–7% от общего числа нейронов.

В отличие от III<sup>3</sup> подслоя коры в V<sup>1</sup> подслое внутренней пирамидной пластинки уже у детей 8–12 лет четко прослеживаются различия между полями по среднегрупповым показателям объемов пирамидных нейронов. Наибольший среднегрупповой объем пирамидных нейронов наблюдался во фронтальном глазодвигательном поле 8, тогда как аналогичные показатели в полях 10 и 45 были в 1.1–1.3 раза меньше (табл. 2).

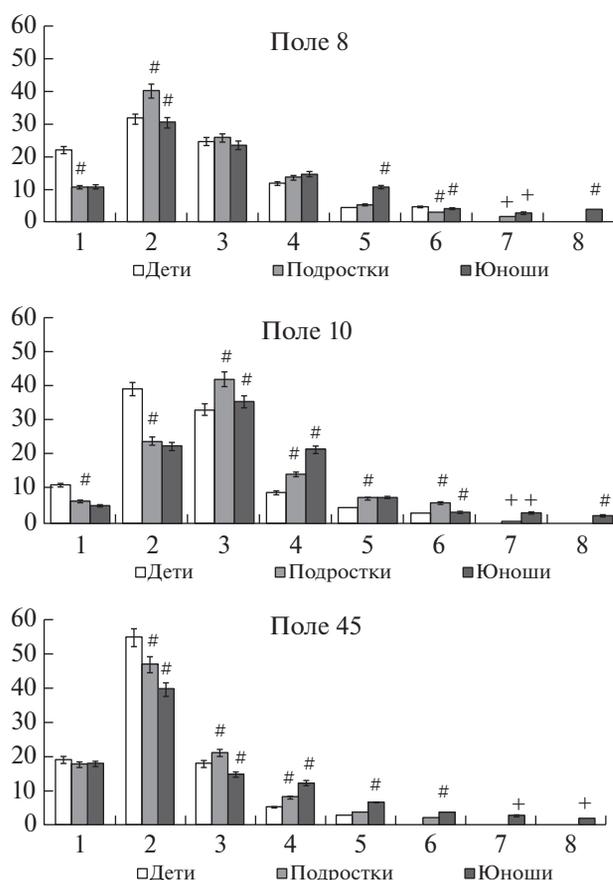
В V<sup>1</sup> подслое средние индивидуальные показатели в группе детей 8–12 лет варьировали в поле 8 от 1483.6 ± 92.2 до 1928.8 ± 115.7  $\mu\text{m}^3$ , в поле 45 – от 1001.4 ± 62.2 до 1453.2 ± 101.7  $\mu\text{m}^3$ , в поле 10 – от 1378.2 ± 82.7 до 1836.4 ± 91.8  $\mu\text{m}^3$ . Размах колебаний средних индивидуальных показателей объемов пирамидных нейронов у детей составлял не более ±7–12% от среднегрупповой величины. У подростков 13–16 лет объемы пирамидных нейронов во всех полях в среднем не изменялись по сравнению с показателями детей, а региональные различия между полями по средним объемам пирамидных нейронов сохранялись. Стабильным оставался и диапазон вариабельности индивидуальных показателей в каждом из полей. К 13–14 годам в нижних слоях коры, так же как и в верхних, отмечалось усиление клеточного полиморфизма. Дендритная система пирамидных нейронов и интернейронов отличалась высокой степенью сложности и специализированной пространственной ориентацией дендритных букетов и аксонных коллатералей.

У юношей от 17 лет до 21 года в полях 8 и 10 среднегрупповой объем пирамидных нейро-

нов и диапазон их индивидуальной изменчивости оставались стабильными и не отличались от показателей, выявленных во внутренней пирамидной пластинке коры у детей и подростков. Однако в поле 45 объем пирамидных нейронов в VI подслое коры был в 1.1 раза больше по сравнению с аналогичным показателем у детей 8–12 лет. При этом во внутренней пирамидной пластинке поля 45 наблюдался сдвиг в сторону больших значений индивидуальных показателей. У юношей средний индивидуальный объем нейронов в поле 45 варьировал от  $1148.7 \pm 60.4$  до  $1575.5 \pm 110.3$  мкм<sup>3</sup>. В подслое VI поля 45 коры большого мозга так же, как и в подслое III<sup>3</sup>, уже у подростков по сравнению с детьми 8–12 лет, увеличивалось содержание нейронов, относящихся к средним размерным группам. У подростков этот процесс сопровождался также сокращением на 7–8% числа мелких нейронов и появлением 1–2% нейронов наиболее крупноклеточных групп с показателями объема пирамидных нейронов в диапазоне от 5101 до 6100 мкм<sup>3</sup>. Позднее у юношей эти изменения приводили к значимому росту среднегруппового размерного показателя в 1.1 раза по сравнению с детьми.

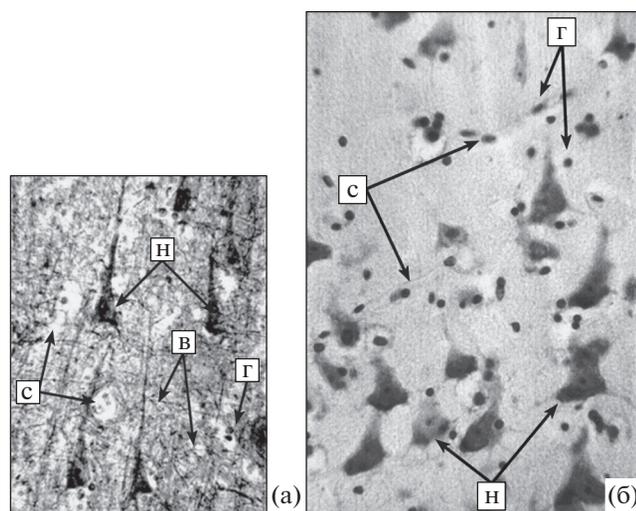
У подростков к 14 годам наблюдаются пространственная специализация и асимметрия в развитии базальных и апикальных дендритных букетов пирамидных нейронов III слоя, отмечается нарастание ветвлений до 5–6 порядков, в поле 10 на базальных и боковых дендритах грацильных нейронов – до 9 порядков. Отчетливо прослеживается развитие характерных для нейронов префронтальной коры боковых дендритных арборизаций на теле пирамидных нейронов III<sup>3</sup> и III<sup>2</sup> подслоев, а также в проксимальном отделе их верхушечных дендритов.

Изучение фиброархитектоники на уровне V слоя префронтальной коры как на вентролатеральной поверхности, так и на медиальной поверхности лобной доли показало, что среднегрупповые показатели толщины радиарных пучков проекционных внутрикорковых волокон у детей, подростков и юношей не имеют значимых отличий и варьируют в разных полях в диапазоне от  $11.4 \pm 0.2$  до  $14.0 \pm 1.1$  мкм. Расстояние между пучками радиарных волокон в изученных полях во всех возрастных группах варьирует от 55 до 75 и более мкм. Однако в паралимбическом поле 32/10 среднегрупповой показатель расстояния между пучками оказался в 1.2 раза боль-



**Рис. 3.** Относительное содержание пирамидных нейронов разного объема в подслое III<sup>3</sup> полей 8, 10 и 45 префронтальной коры. По оси абсцисс – размерные группы: 1 – от 101 до 1100 мкм<sup>3</sup>, 2 – 1101–2100 мкм<sup>3</sup>, 3 – 2101–3100 мкм<sup>3</sup>, 4 – 3101–4100 мкм<sup>3</sup>, 5 – 4101–5100 мкм<sup>3</sup>, 6 – 5101–6100 мкм<sup>3</sup>, 7 – 6101–7100 мкм<sup>3</sup> и 8 – 7101–8100 мкм<sup>3</sup>; по оси ординат – процентное содержание нейронов. Светлые столбики – дети 8–12 лет, серые столбики – подростки 13–16 лет, темные столбики – юноши от 17 лет до 21 года. Вертикальные отрезки – ошибка средней; # – различия значимы (при  $p < 0.05$ ) по сравнению с аналогичным полем предыдущей возрастной группы; + – появление наиболее крупных нейронов.

**Fig. 3.** The relative content of the pyramidal neurons of different volume into the III<sup>3</sup> sublayer in the fields 8, 10 and 45 of the prefrontal cortex. On the x-axis – dimensional groups: 1 – from 101 to 1100 μm<sup>3</sup>, 2 – 1101–2100 μm<sup>3</sup>, 3 – 2101–3100 μm<sup>3</sup>, 4 – 3101–4100 μm<sup>3</sup>, 5 – 4101–5100 μm<sup>3</sup>, 6 – 5101–6100 μm<sup>3</sup>, 7 – 6101–7100 μm<sup>3</sup> and 8 – 7101–8100 μm<sup>3</sup>; according to the y-axis is the percentage of neurons. Light columns – children 8–12 years old, gray columns – adolescents 13–16 years old, dark columns – young men from 17 years to 21 years. Vertical bars – an average error; # – differences are meaningful (at  $p < 0.05$ ) compared to the same field of the previous age group; + – the appearance of the largest neurons.



**Рис. 4.** Микроструктура подслоя III<sup>3</sup> поля 10 префронтальной коры большого мозга подростка 16 лет. Н – тела нейронов, В – внутрикорковые волокна, С – кровеносные сосуды, Г – глиоциты. (а) – импрегнация нитратом серебра по Петерсу с докраской крезильным фиолетовым по Нисслию; (б) – окраска крезильным фиолетовым по Нисслию. Ув. 20 × 10.

**Fig. 4.** Microstructure of III<sup>3</sup> sublayer of field 10 of the prefrontal cortex of an adolescent 16-year-old brain. Н – neuronal bodies, В – intracortical fibers, С – blood vessels, Г – gliocytes. (a) silver nitrate impregnation according to Peters with Nissl cresyl violet staining; (б) cresyl violet staining according to Nissl. Magnification. 20 × 10.

ше по сравнению с детьми 8–12 лет. К 17–20 годам во всех исследованных полях префронтальной коры внутрикорковый волокнистый компонент включает разнообразные по калибру горизонтальные и косые волокна.

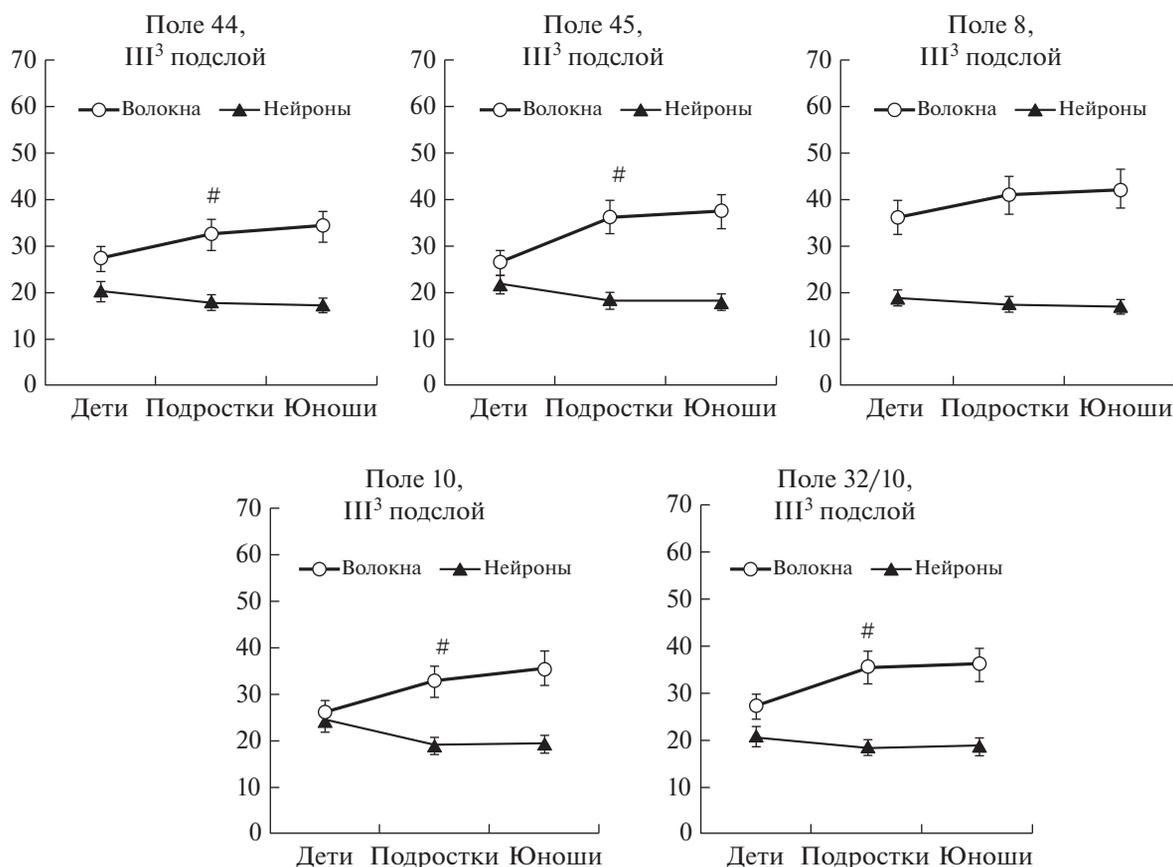
*Стереометрический анализ микроструктурных компонентов.* На микроструктурном уровне компоненты сетей формируются нейронами и нейронными кластерами, однако взаимодействие между ними и их функционирование обеспечиваются нейроглией и кровеносными сосудами. Сюда нужно отнести также внутрикорковые волокна, опосредующие межнейронные связи, и другие компоненты фиброархитектоники, участвующие в информационных взаимодействиях между нейронами, сосудами мягкой мозговой оболочки и внутрикорковыми сосудами (рис. 4).

Изучение соотношения микроструктурных компонентов в III<sup>3</sup> подслое префронтальной коры показало, что удельные объемы нейронов и волокон в области фронтального глазодвигательного поля 8 не имеют значи-

мых различий между исследованными возрастными группами. В поле 8 удельный объем волокон у детей, а также у подростков и юношей был в 1.9–2.5 раза больше по сравнению с удельным объемом нейронов (рис. 5).

В остальных исследованных полях префронтальной коры наблюдались значимые отличия между детьми и подростками как по соотношению удельных объемов нейронов и волокон в наружной пирамидной пластинке, так и по относительному содержанию в ней внутрикорковых волокон. У детей в речедвигательном поле 44, расположенном в заднем отделе зоны Брока в покрывчатой части нижней лобной извилины, и в паралимбическом поле 32/10 на медиальной поверхности лобной доли удельный объем волокон был в 1.3 раза больше, чем удельный объем нейронов. В филогенетически более новых областях коры – в поле 45, занимающем передний отдел зоны Брока в треугольной части нижней лобной извилины, и в поле 10 на латеральной поверхности лобного полюса – нейроны и волокна составляли равные по удельным объемам компоненты коры. У подростков в слое III исследованных полей префронтальной коры отмечались значимые изменения в соотношении этих микроструктурных компонентов. В полях 44 и 32/10 наблюдалось увеличение удельного объема волокон в 1.2–1.3 раза по сравнению с показателями детей 8–12 лет, а в полях 10 и 45 относительное содержание внутрикорковых волокон нарастало в 1.3–1.4 раза по сравнению с детьми. При этом у подростков почти во всех исследованных локациях префронтальной коры удельный объем волокон был больше в 1.7–2.0 раза по сравнению с нейронами. Исключение составило поле 8, в котором удельный объем волокон уже у детей был больше, чем нейронов, в 2.4 раза. Таким образом, у подростков 13–16 лет отмечается значимый прирост внутрикорковых волокон в III<sup>3</sup> подслое, активно включенном в распределенные управляющие нейронные сети, контролирующие наиболее сложные регуляторные процессы, протекающие в префронтальной коре.

Принято считать, что V слой коры, включенный преимущественно в систему проекционных связей, в постнатальном онтогенезе развивается раньше, а стабилизация количественных параметров его микроструктурных компонентов происходит по срокам быстрее, чем в III слое. Чтобы убедиться в этом, мы провели стереометрическое исследование



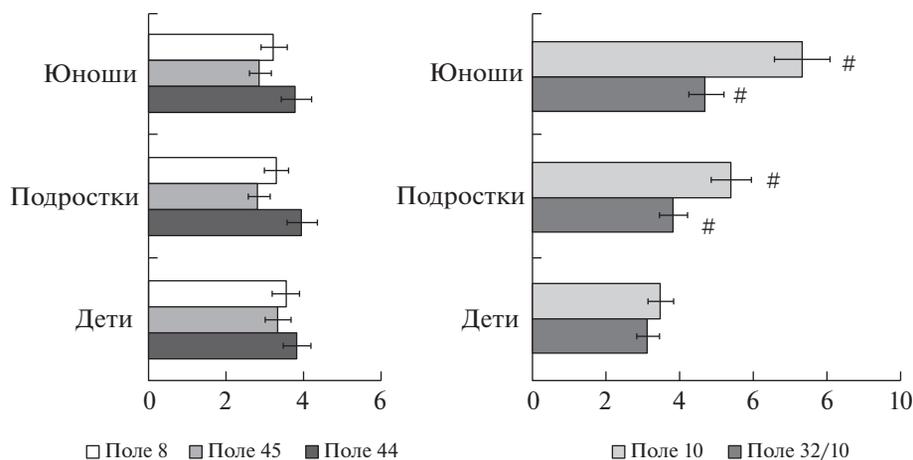
**Рис. 5.** Удельный объем нейронов и внутрикорковых волокон в III<sup>3</sup> подслое полей 44, 45 (речедвигательная кора), поля 8 (фронтальное глазодвигательное поле), поле 10 (кора лобного полюса) и 32/10 (паралимбическое поле) префронтальной коры большого мозга человека на различных этапах постнатального онтогенеза. По оси абсцисс: см. примечание к рис. 1. По оси ординат – среднegrupповые показатели (в %). Вертикальные отрезки – доверительный интервал (при уровне значимости  $p < 0.05$ ). # – различия значимы по сравнению с аналогичным показателем у детей.

**Fig. 5.** Specific volume of neurons and intracortical fibers in III<sup>3</sup> sublayer of fields 44, 45 (speech-motor cortex), field 8 (frontal oculomotor field), field 10 (frontal pole cortex), and 32/10 (paralimbic field) of human prefrontal cortex at different stages of postnatal ontogenesis. On the x-axis: see note to Fig. 1. Y-axis: group mean values (in %). Vertical bars – confidence interval (at significance level  $p < 0.05$ ). # – differences are significant compared to the same indicator in children.

удельных объемов нейронов и волокон в V<sup>1</sup> подслое внутренней пирамидной пластинки в функционально различных полях. Установлено, что в речедвигательных полях 44 и 45, в поле 10 на переднелатеральной поверхности лобного полюса и в паралимбическом поле 32/10 префронтальной коры на уровне V<sup>1</sup> подслоя у подростков наблюдался значимый прирост относительного содержания волокон в 1.2–1.3 раза по сравнению с детьми. Из этого следует, что в префронтальной коре выявленная нами динамика изменений содержания внутрикорковых волокон в III и V цитоархитектонических слоях у подростков по сравнению с детьми 8–12 лет носит закономерный характер и комплексно затрагивает

все компоненты распределенных нейрональных сетей, составляющих основу управляющих систем мозга. Следует также отметить, что в поле 8, в отличие от остальных полей префронтальной коры, мы не обнаружили возрастных изменений, так как уже у детей микроструктура фронтального глазодвигательного поля отличается высоким относительным содержанием внутрикорковых волокон.

Изучение отношения удельного объема внутрикорковой глии к удельному объему микрососудов в наружной пирамидной пластинке префронтальной коры позволило установить, что у детей, подростков и юношей глио-сосудистый индекс не имеет значи-



**Рис. 6.** Глио-сосудистый индекс, отражающий отношение удельных объемов глиоцитов к удельному объему внутрикорковых сосудов в III<sup>3</sup> подслое полей префронтальной коры на различных этапах постнатального онтогенеза. По оси абсцисс: величина среднegrупового индекса в условных единицах. По оси ординат: дети — от 8 до 12 лет, подростки — от 13 до 16 лет, юноши — от 17 лет до 21 года. Горизонтальные отрезки — доверительный интервал (при уровне значимости  $p < 0.05$ ). # — различия значимы по сравнению с аналогичным показателем на предыдущем возрастном этапе.

**Fig. 6.** Glio-vascular index reflecting the ratio of the specific volume of gliocytes to the specific volume of intracortical vessels in the III<sup>3</sup> sublayer of the prefrontal cortex fields at different stages of postnatal ontogenesis. X-axis: group mean index value in conditional units. Y-axis: children — from 8 to 12 years old, adolescents — from 13 to 16 years old, young men — from 17 to 21 years old. Horizontal bars are confidence intervals (at a significance level of  $p < 0.05$ ). # — differences are significant compared to the same indicator at the previous age stage.

мых возрастных изменений во фронтальном глазодвигательном поле 8, а также в речедвигательных полях 44 и 45. В то же время в полях 10 и 32/10 глио-сосудистый индекс значительно нарастает (рис. 6).

Анализ возрастной динамики изменений удельного объема глиоцитов и кровеносных внутрикорковых микрососудов показал, что в исследованных полях префронтальной коры глио-сосудистый компонент у детей 8–12 лет составляет 45–52% от ткани мозга. У подростков и юношей этот гистофизиологический показатель несколько снижается, достигая к 21 году 40–47% в основном за счет уменьшения удельного объема микрососудов и нарастания удельного объема внутрикорковых волокон.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение структурных преобразований цито-, нейро- и фиброархитектоники показало, что значимые изменения объемов пирамидных нейронов префронтальной коры происходят не только на ранних этапах жизни, но и у подростков, а также у юношей. Поле 10 лобного полюса является наиболее поздно созревающей в постнатальном онтогенезе зоной префронтальной коры (Цехми-

стренко и др., 2019a). Обнаруженное нами значимое нарастание объемов нейронов в III<sup>3</sup> подслое поля 10 на латеральной поверхности лобного полюса, а также в V<sup>1</sup> подслое речедвигательного поля 45 у подростков по сравнению с детьми 8–12 лет служит аргументом в пользу того, что процесс формирования микроструктуры префронтальной коры и ее корково-корковых связей не завершается у детей и продолжается в пубертатном периоде. У подростков значимость коры лобного полюса повышается для реализации таких функций, как координация последовательности действий во временном континууме, поддержание рабочей памяти, контроль психоэмоциональных аспектов поведения, смена установки на конкретный вид деятельности (Dumontheil et al., 2008; Leh et al., 2010).

Речедвигательные поля зоны Брока не только контролируют сложные артикуляционные механизмы, но и вовлечены в реализацию высших психических функций совместно с другими отделами префронтальной коры. Речедвигательные поля также тесно взаимодействуют с премоторной корой, паралимбическими корковыми зонами в области островка и парагиппокампальной извилины, корой нижней теменной доли и

верхней височной извилины, а также мульти-модальными областями коры вокруг внутри-теменной борозды (Gerbella et al., 2010; Margulies, Petrides, 2013). Эти взаимодействия осуществляются во многом благодаря реци-прокным внутрикорковым и межкорковым волокнам, источником которых являются пирамидные нейроны III и V цитоархитектонических слоев. По нашему мнению, такой количественный параметр, как среднегрупповой объем тела пирамидных нейронов, можно рассматривать в качестве одного из структурных дескрипторов, позволяющих оценивать уровень морфофункционального развития коры большого мозга не только у детей, но и у подростков и юношей. Таким образом, перераспределение числа пирамидных нейронов в сторону более крупноклеточных классов, отмеченное нами в полях 10 и 45 у подростков и юношей, является следствием не только дальнейшей функциональной специализации префронтальной коры, но и одновременно нарастания ее значимости в системной деятельности мозга в целом.

Изучение усредненных объемов пирамидных нейронов у отдельных индивидуумов показало, что в каждой из возрастных групп наблюдаются значимые индивидуальные различия. Существует мнение, что по мере взросления индивидуальные различия по комплексу морфологических параметров организма в популяции нарастают. Этот процесс рассматривается как следствие влияния не только наследственных, но и средовых факторов (Kedlian et al., 2019). Однако, анализируя среднегрупповые показатели объемов пирамидных нейронов в наружной пирамидной пластинке префронтальной коры, включенной в сложные ассоциативные нейросети, мы обнаружили, что наиболее вариабельными по изучаемому параметру являются нейроны в коре у детей 8–12 лет.

Как показали результаты исследования, не только у детей, но и у подростков и юношей происходит перераспределение содержания нейронов в пределах размерных классов, которое в различных полях префронтальной коры имеет специфические особенности. Появление наиболее крупных пирамидных нейронов происходит во всех полях именно у подростков и юношей, что, по нашему мнению, характерно в первую очередь для префронтальной коры. Такие нейроны имеют особенно обширные рецептивные поля и рассматриваются как полисенсорные мультифункциональные нейроны со смешанной селективностью (Mansouri et al., 2006), способные эффективно вовлекаться в активность функционально специализированных нейросетей, обеспечивая реализацию наиболее сложных регуляторных процессов с участием префронтальной коры в качестве важнейшего компонента управляющих систем мозга.

Изучение особенностей фиброархитектоники позволило установить, что ее возрастные преобразования наблюдаются у детей вплоть до 12 лет и продолжаются у подростков (Tsekhmistrenko et al., 2004). Усложнение фиброархитектоники коры во всех исследованных полях в коре у подростков и юношей по сравнению с детьми 8–12 лет происходит за счет развития внутрикорковых волокнистых структур. По-видимому, увеличение удельного объема волокнистого компонента коры на микроструктурном уровне приводит к нарастанию расстояния между пучками в V слое префронтальной коры в паралимбическом поле 32/10 у юношей по сравнению с детьми.

В префронтальной коре в период от 13 до 16 лет происходит усложнение дендритных арборизаций нейронов, особенно четко выраженное в зоне Брока и коре лобного полюса, что свидетельствует о нарастании системных связей с другими корковыми зонами. Это наблюдение интересно в связи с данными исследований возрастных особенностей речевой функции по темпам и качеству артикуляции, в соответствии с которыми артикуляционные возможности и развитие речемоторных функций у подростков 13 лет значимо выше по сравнению с детьми 4–7-летнего возраста (Nip, Green, 2013).

Анализ результатов изучения соотношения микроструктурных компонентов коры больших полушарий свидетельствует о том, что у подростков и юношей по сравнению с детьми 8–12 лет отмечается снижение удельного объема микрососудов, которое сопровождается нарастанием относительного содержания глиального компонента префронтальной коры. Из этого не следует, что в постнатальном онтогенезе снижается уровень васкуляризации лобной коры путем снижения количества внутрикорковых сосудов. Наблюдаемые изменения объемных соотношений являются следствием изменений относительного содержания всех микроструктурных компонентов коры в целом.

Анализ результатов изучения соотношения микроструктурных компонентов коры больших полушарий свидетельствует о том, что у подростков и юношей по сравнению с детьми 8–12 лет отмечается снижение удельного объема микрососудов, которое сопровождается нарастанием относительного содержания глиального компонента префронтальной коры. Из этого не следует, что в постнатальном онтогенезе снижается уровень васкуляризации лобной коры путем снижения количества внутрикорковых сосудов. Наблюдаемые изменения объемных соотношений являются следствием изменений относительного содержания всех микроструктурных компонентов коры в целом.

По мере постнатального развития и этапного перехода от детского возраста к взрослому происходит повышение надежности и экономизация функций организма (Маркосян, 1969). Вероятно, нарастание удельного объема глиоцитов отражает оптимизацию метаболических процессов в коре в условиях повышения с возрастом ее функциональной активности при реализации все более сложных механизмов мозговой деятельности. Об этом у подростков свидетельствует показанное нами ранее нарастание вариабельности содержания нуклеиновых кислот в астроцитах по сравнению с детьми 8–11 лет, а также появление значительной фракции свободно лежащих глиоцитов с высоким суммарным содержанием нуклеиновых кислот (Семенова и др., 2010). Возможно, снижение с возрастом удельных объемов внутрикорковых сосудов в сочетании с синхронным нарастанием глиального компонента носит системный, генетически запрограммированный и в известной степени компенсаторный характер. Основанием для этого предположения служит многообразие известных путей влияния астроцитарной глии на тонус внутрикорковых артериол (Filosa, Alddings, 2013).

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, как показано на примере ряда цитоархитектонических полей, не только на этапе детства, но и у подростков и юношей по мере роста и развития происходят сопряженные микроструктурные изменения префронтальной коры, приводящие к закономерным преобразованиям ее морфофункциональной организации. Направленность этих преобразований в топографически и функционально различных корковых зонах носит сходный характер, но вместе с тем имеются зональные отличия по темпам и срокам возрастных изменений. Полученные данные свидетельствуют о ряде специфических морфофункциональных перестроек нейро- и фиброархитектоники префронтальной коры у подростков и юношей, являющихся микроструктурной основой совершенствования высших регуляторных систем, управляющих наиболее сложными формами мозговой деятельности. В филогенетически и функционально отличающихся отделах экранных структур мозга у подростков осуществляются структурные преобразования, направленные, в первую очередь, на окончательное форми-

рование компонентов нейронных сетей. По ряду параметров, характеризующих количественные и качественные изменения, наиболее значительные синхронные структурные преобразования у подростков отмечаются к 13–14 годам. Увеличивающийся с возрастом полиморфизм эфферентных нейронов и интернейронов, образующих элементарные морфофункциональные объединения в системе распределенных нейросетей, является следствием развития и специализации функций высших корковых формаций. Выраженная локальная специализация микроструктур разного уровня является результатом нарастания у подростков региональных и транскортикальных связей, обслуживающих регуляторные процессы в корковых структурах мозга, управляющих когнитивной деятельностью и целенаправленным поведением.

Публикация подготовлена при поддержке Программы стратегического академического лидерства РУДН.

This paper has been supported by the RUDN University Strategic Academic Leadership Program.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Автандилов Г.Г.* Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990. 384 с.
- Антонова А.М.* Модификация метода Гольджи с применением вольфрамвокислого натрия. Бюлл. эксперим. биол. 1967. 63 (3): 123–124.
- Антонова А.М., Степанова С.Б.* Модификация метода Петерса применительно к цитологическим исследованиям. Бюлл. эксперим. биол. 1973. 75 (4): 122–124.
- Атлас цитоархитектоники коры большого мозга человека. Под редакцией С.А. Саркисова, И.Н. Филимонова, Е.П. Кононовой, Н.С. Преображенской, Л.А. Кукуева и др. М.: Медгиз, 1955. 280 с.
- Бескин Л.Н.* Стереометрия. М.: Просвещение, 1971. 412 с.
- Боголепова И.Н., Малофеева Л.И.* Мозг мужчины, мозг женщины. М.: ФГБУ “НЦН” РАМН, 2014. 300 с.
- Боголепова И.Н., Малофеева Л.И., Агапов П.А., Малофеева И.Г.* Морфометрические исследования цитоархитектоники префронтальной коры мозга женщин. Фундаментальные исследования. 2015. 2 (25): 5583–5587.
- Ланг Т.А., Сесик М.* Как описывать статистику в медицине. М.: Практическая медицина, 2016. 480 с.

- Маркосян А.А.* Основы морфологии и физиологии организма детей и подростков. М.: Медицина, 1969. 575 с.
- Мачинская Р.И.* Управляющие системы мозга и их морфофункциональное созревание у детей. Мозговые механизмы формирования познавательной деятельности в дошкольном и младшем школьном возрасте М.-Воронеж: МПСУ, МОДЭК, 2014: 157–220.
- Мачинская Р.И.* Управляющие системы мозга. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2015. 65 (1): 33–60. <https://doi.org/10.7868/S0044467715010086>
- Семенова Л.К., Васильева В.А., Цехмистренко Т.А., Шумейко Н.С.* Структурные преобразования коры головного мозга человека в постнатальном онтогенезе. Физиология развития ребенка. М.-Воронеж: МПСИ, МОДЭК, 2010: 132–200.
- Стефанов С.Б., Кухаренко Н.С.* Ускоренные способы количественного сравнения морфологических признаков и систем. Благовещенск: ВСХИ, 1989. 65 с.
- Стрелков Р.Б.* Экспресс-метод статистической обработки экспериментальных и клинических данных. М.: И МОЛГМИ, 1986. 86 с.
- Фарбер Д.А.* Системная мозговая организация зрительного восприятия и ее формирование в онтогенезе. Мозговые механизмы формирования познавательной деятельности в дошкольном и младшем школьном возрасте. М.-Воронеж: МПСУ, МОДЭК, 2014: 65–95.
- Фарбер Д.А., Бетелева Т.Г.* Формирование мозговой организации рабочей памяти в младшем школьном возрасте. Физиология человека. 2011. 37 (1): 5–15.
- Физиология развития ребенка. Под ред. М.М. Безруких, Д.А. Фарбер. М.-Воронеж: МПСИ, МОДЭК, 2010. 768 с.
- Цехмистренко Т.А., Васильева В.А., Обухов Д.К., Шумейко Н.С.* Строение и развитие коры большого мозга. М.: Спутник+, 2019а. 538 с.
- Цехмистренко Т.А., Обухов Д.К., Васильева В.А., Мазлов А.Б., Шумейко Н.С.* Структурные возрастные преобразования нейронных группировок коры большого мозга и мозжечка у детей. Журнал анатомии и гистопатологии. 2019б. 8 (4): 42–48. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2019-8-4-42-48>
- Baars B.J., Gage N.M.* Neurons and their connections. Cognition, Brain, and Consciousness. Introduction to Cognitive Neuroscience. 2nd Edition. Elsevier: Academic Press, 2010. P. 62–92. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-01556-6>
- Blakemore S.J.* Imaging brain development: the adolescent brain. Neuroimage. 2012. 61 (2): 397–406. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.11.080>
- Chen C.H., Panizzon M.S., Eyler L.T., Jernigan T.L., Thompson W., Fennema-Notestine C., Jak A.J., Neale M.C., Franz C.E., Hamza S., Lyons M.J., Grant M.D., Fischl B., Seidman L.J., Tsuang M.T., Kremen W.S., Dale A.M.* Genetic influences on cortical regionalization in the human brain. Neuron. 2011. 72 (4): 537–544. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.08.021>
- Docherty A.R., Sawyers C.K., Panizzon M.S., Neale M.C., Eyler L.T., Fennema-Notestine C., Franz C.E., Chen C.-H., McEvoy L.K., Verhulst B., Tsuang M.T., Kremen W.S.* Genetic network properties of the human cortex based on regional thickness and surface area measures. Front Hum Neurosci. 2015. 9: 440. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2015.00440>
- Dubois J., Dehaene-Lambertz G., Perrin M., Mangin J.F., Cointepas Y., Duchesnay E., Le Bihan D., Hertz-Pannier L.* Asynchrony of the early maturation of white matter bundles in healthy infants: quantitative landmarks revealed noninvasively by diffusion tensor imaging. Hum Brain Mapp. 2008a. 29 (1): 14–27. <http://doi.wiley.com/10.1002/hbm.20363>
- Dubois J., Dehaene-Lambertz G., Soares C., Cointepas Y., Le Bihan D., Hertz-Pannier L.* Microstructural correlates of infant functional development: example of the visual pathways. J Neurosci. 2008b. 28 (8): 1943–1948. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5145-07.2008>
- Dumontheil I., Burgess P.W., Blakemore S.J.* Development of rostral prefrontal cortex and cognitive and behavioural disorders. Dev. Med. Child Neurol. 2008. 50(3): 168–181. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2008.02026.x>
- Filosa J., Alldings J.* Astrocyte regulation of cerebral vascular tone. AJP Heart and Circulatory Physiology. 2013. 305 (5): H609–H619. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00359.2013>
- Gerbella M., Belmalih A., Borra E., Rozzi S., Luppino G.* Cortical connections of the macaque caudal ventrolateral prefrontal areas 45A and 45B. Cerebral Cortex. 2010. 20 (1). 141–168. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhp087>
- Kanwisher N.* Functional specificity in the human brain: a window into the functional architecture of the mind. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010. 107 (25): 11163–11170. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005062107>
- Kedlian V.R., Donertas H.M., Thornton J.M.* The widespread increase in inter-individual variability of gene expression in the human brain with age. Aging (Albany NY). 2019. 11 (8): 2253–2280. <https://doi.org/10.18632/aging.101912>
- Khundrakpam B.S., Reid A., Brauer J., Carbonell F., Lewis J. and Brain Development Cooperative Group.* Developmental Changes in Organization of Structural Brain Networks. Cerebral Cortex. 2013. 23 (9): 2072–2085. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs187>
- Kostovic I., Judas M.* Prolonged coexistence of transient and permanent circuitry elements in the developing cerebral cortex of fetuses and preterm in-

- fants. *Dev Med Child Neurol.* 2006. 48 (5): 388–393.  
<https://doi.org/10.1017/S0012162206000831>
- Leh S.E., Petrides M., Strafella A.P. The neural circuitry of executive functions in healthy subjects and Parkinson's disease. *Neuropsychopharmacology.* 2010. 35 (1): 70–85.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2009.88>
- Mansouri F.A., Matsumoto K., Tanaka K. Prefrontal cell activities related to monkeys' success and failure in adapting to rule changes in a Wisconsin Card Sorting Test analog. *J Neurosci.* 2006. 26 (10): 2745–2756.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5238-05.2006>
- Margulies D.S., Petrides M. Distinct parietal and temporal connectivity profiles of ventrolateral frontal areas involved in language production. *J Neurosci.* 2013. 33 (42): 16846–16852.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2259-13.2013>
- Nip I.S.B., Green J.R. Increases in Cognitive and Linguistic Processing Primarily Account for Increases in Speaking Rate with Age. *Child Dev.* 2013. 84 (4): 1324–1337.  
<https://doi.org/10.1111/cdev.12052>
- Paus T., Zijdenbos A., Worsley K., Collins D.L., Blumenthal J., Giedd J.N., Rapoport J.L., Evans A.C. Structural Maturation of Neural Pathways in Children and Adolescents: In Vivo Study. *Science.* 1999. 283 (5409): 1908–1911.  
<https://doi.org/10.1126/science.283.5409.1908>
- Pessoa L. Understanding brain networks and brain organization. *Phys Life Rev.* 2014. 11 (3): 400–435.  
<https://doi.org/10.1016/j.plrev.2014.03.005>
- Senitz D., Reichenbach A., Smithy T.G. Surface complexity of human neocortical astrocytic cells: changes with development, aging and dementia. *J Hirnforsch.* 1995. 36 (4): 531–537.
- Tsekhmistrenko T.A., Vasil'eva V.A., Shumeiko N.S., Vologirov A.S. Quantitative changes in fibro-architectonics of the human cerebral cortex from birth to 12 years of age. *Neuroscience and Behavioral Physiology.* 2004. 34 (9): 983–988.  
<https://doi.org/10.1134/S0362119710010032>
- Tsekhmistrenko T.A., Vasilyeva V.A., Shumeiko N.S. Structural Rearrangements of the Cerebral Cortex in Children and Adolescents. *Human Physiology.* 2017. 43 (2): 123–131.  
<https://doi.org/10.1134/S0362119717020153>
- Van den Heuvel M.P., Sporns O. Rich-club organization of the human connectome. *J Neurosci.* 2011. 31 (44): 15775–15786.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3539-11.2011>
- Venkat P., Chopp M., Chen J. New Insights Into Coupling and Uncoupling of Cerebral Blood Flow and Metabolism in the Brain. *Croat Med J.* 2016. 57 (3): 223–228.  
<https://doi.org/10.3325/cmj.2016.57.223>

## MORPHOFUNCTIONAL STUDY OF THE PREFRONTAL CORTEX IN ADOLESCENTS

T. A. Tsekhmistrenko<sup>a, b, #</sup>

<sup>a</sup> *Laboratory for Neurophysiology of Cognitive Activity, Institute of developmental physiology, Russian academy of education, Moscow, Russia*

<sup>b</sup> *Department of Human Anatomy, Peoples Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: tsekhmistrenko\_ta@pfur.ru*

The article is devoted to the study of the age morphofunctional features of the zones in the prefrontal cortex of adolescents involved in the implementation of the visual (frontal eye field 8) and speech motor (fields 44 and 45 of Broca's zone) functions, as well as the cortex in the area of the lateral surface of the frontal pole (field 10) and the medial paralimbic region prefrontal cortex (field 32/10). Postmortem material from 60 people (52 males and 8 females) included three age groups: I – children from 8 to 12 years old ( $n = 30$ ), II – adolescents from 13 to 16 years old ( $n = 15$ ), III – young people from 17 to 21 years old ( $n = 15$ ). We studied the sizes of pyramidal neurons, features of fibroarchitectonics, specific volumes of neurons and intracortical fibers, and determined the glio-vascular index in layers III and V of the cortex. We used histological techniques, computer morphometric and stereological analysis. The results of the study showed that age-related microstructural changes in the prefrontal cortex are observed in adolescents, which leads to the complication of its morphofunctional organization in comparison with children.

**Keywords:** human prefrontal cortex, volume of pyramidal neurons, specific volumes of neurons and intracortical fibers, morphometry, stereometry, postnatal development of the neocortex

ФИЗИОЛОГИЯ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ (КОГНИТИВНОЙ)  
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА

УДК 612.821.6

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ КОРЫ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА  
ВО ВТОРОМ ТРИМЕСТРЕ ГЕСТАЦИИ

© 2021 г. Е. И. Краснощекова<sup>1,\*.\*\*</sup>, П. А. Зыкин<sup>1</sup>, Л. А. Ткаченко<sup>1</sup>, Е. А. Козубенко<sup>1</sup>,  
Н. А. Костин<sup>2</sup>, Е. А. Цветков<sup>1</sup>, Р. А. Насыров<sup>3</sup>, А. Д. Харазова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Кафедра цитологии и гистологии, Санкт-Петербургский государственный университет,  
Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Ресурсный центр “Развитие молекулярных и клеточных технологий”,  
Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Кафедра патологической анатомии с курсом судебной медицины,  
Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет, Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: e.krasnozhekova@spbu.ru,

\*\*e-mail: krasnelena@gmail.com

Поступила в редакцию 30.11.2020 г.

После доработки 26.02.2021 г.

Принята к публикации 02.03.2021 г.

Цель работы – изучить закономерности постмиграционного развития нейронов, сопутствующих стратификации дорзальной предцентральной и верхней височной областей неокортекса плодного мозга человека. Исследовано 10 экземпляров мозга плодов 20–26 нед гестации, блоки ткани залиты в парафин, изготовлены серийные срезы, каждый 10-й срез окрашен по Нисслю. Остальные подвергнуты иммуноокрашиванию с антителами к MAP2, слой-специфичным белкам SATB2, FOXP1 и STIP2, рилину и N200. В 4 случаях дополнительные блоки не заливали в парафин, обрабатывая методами Clarity или MALDI IMS. С 20-й по 26-ю неделю внутриутробного развития в кортикальной пластинке изученных областей коры нейроны, иммунопозитивные к антителам слой-специфичных транскрипционных факторов, приурочены к разным этажам корковой пластинки: SATB2+ – к верхнему, FOXP1+ и STIP2+ – к нижнему. Количественная оценка уровней максимальной плотности SATB2+, FOXP1+ и STIP2+ нейронов позволила выделить эмбриональные слои eII, eIII, eV, eVI и субпластинку. В исследованном периоде в кортикальной пластинке обеих областей численность нейронов, иммунопозитивных к MAP2, демонстрирует положительную динамику. Первый кластер MAP2+ пирамидных клеток отмечен у 20-недельных плодов в слое eV, к 26-й неделе формируется кластер слоя eIII. Анализ результатов иммуноокрашивания крупных блоков коры фетального мозга человека свидетельствует о сложной пространственной организации маргинальной зоны, с локализацией рилин-позитивных клеток Кахаля–Ретциуса у поверхности и волоконного сплетения в глубине маргинальной зоны. Совокупность всех полученных данных свидетельствует о том, что две анатомически удаленные области коры – предцентральной и верхней височная – в первой половине плодного периода развиваются синхронно.

*Ключевые слова:* кора полушарий мозга, внутриутробное развитие, иммуногистохимия, слой-специфичные транскрипционные факторы, белок, ассоциированный с микротрубочками

DOI: 10.31857/S0044467721040043

Модельные исследования чрезвычайно ценны для понимания закономерностей онтогенеза мозга, но многие морфологические и цитохимические характеристики неокортекса человека не воспроизводятся в полной мере на моделях (Cozzi et al., 2020). Кора по-

лушарий большого мозга человека обладает уникальными структурно-функциональными особенностями, полное понимание которых может быть раскрыто при изучении плодного периода развития. Закономерности кортикогенеза в мозге человека в первом три-

местре гестации гомологичны другим млекопитающим, в том числе лабораторным грызунам, и исследованы достаточно полно, тогда как второй и третий триместры изучены слабо (Bayer, Altman, 1991).

Уже в начале второго триместра цитоархитектоника перивентрикулярной зоны мозга человека иная, чем у грызунов, и помимо вентрикулярной и субвентрикулярной зон включает еще и наружную вентрикулярную зону (Kalebic et al., 2019; Molnár et al., 2019). Прогениторные клетки синтезируют белок TBR2, который обеспечивает их дифференцировку в глутаматергические проекционные нейроны (Hevner, 2019; Kalebic et al., 2019). У человека и других млекопитающих с гирифицированным мозгом численность таких нейронов выше, чем в лисэнцефальном мозге мыши (Kalebic et al., 2019; Molnár et al., 2019). При нарушении экспрессии TBR2 в плодном периоде возникает тяжелая кортикальная мальформация – микроцефалия с полимикрогирией (Baala et al., 2007). Патологии такого рода сопровождаются нарушением структурно-функциональной специализации нейронов корковой пластинки.

Особенность развития неокортекса млекопитающих заключается в том, что слои корковой пластинки формируются изнутри наружу (Rakic, 1988). Однако дальнейшая специализация нейронов и гетерогенность зон коры полушарий, описанная в мозге плодов человека в раннем и среднем периодах онтогенеза (Поляков, 1937), остаются слабо исследованными. В своей фундаментальной работе Г.И. Поляков первым установил важную закономерность: в середине внутриутробного периода целостное развитие коры по принципу радиарности переходит к “...развитию по принципу региональности и ареальности” (Поляков, 1937).

Ранняя, у человека в первом триместре, ареализация коры полушарий большого мозга млекопитающих происходит в переднезаднем и латеро-медиальном направлениях, что позволило создать протокарты (от “прототипа” и “карты”) закладок зрительной, слуховой и соматосенсорной зон неокортекса (Rakic, 1988, 2009; Pletikos et al., 2014). Несмотря на сходство протокарт человека и грызунов, обнаружены отличия в реципрокной экспрессии генов *COUP-TFI*, *COUP-TFII* и *SP8*. У человека на 8–12-й неделе гестации экспрессия *SP8* и *COUP-TFI* широко перекрывается в вентрикулярной зоне закладок

первичных сенсорных проекций: зрительной, слуховой и соматосенсорной (Alzu'bi et al., 2017), – а у мыши такое перекрытие очень незначительно (Borello et al., 2013). В коре полушарий мозга плода человека 9–10 нед гестации экспрессия *COUP-TFI* самая высокая в височной области, незначительно ниже в затылочной, наиболее низкая – в теменной и лобной. В этом периоде обратную тенденцию имеет экспрессия *ROBO1*, которая выше всего в лобной, ниже в теменной, низкая в височной и затылочной областях коры полушарий мозга человека (Alzu'bi et al., 2017; Ip et al., 2011).

Уточнить корреляты протокарт во втором-третьем триместрах гестации человека позволяют МРТ-исследования. Путем сканирования аутопсийного мозга плодов 12–22 нед гестации были уточнены представления о хронологии развития борозд и извилин (Zhang et al., 2013; Im, Grant, 2019; Yun et al., 2019). В интервале от 12 до 16 нед начинается закладка первичных борозд, и к 22-й неделе гестации удается идентифицировать большинство из них. Поскольку к таким бороздам приурочены закладки проекционных сенсорных и моторного полей неокортекса, их можно считать границами основных областей полушарий, соответствующих протокартам. При этом признаки межполушарной асимметрии и полового диморфизма на этапе закладки борозд не обнаружены.

Методами диффузионно-тензорной МРТ и внутриутробной функциональной МРТ мозга плодов второго и третьего триместров гестации установлено, что межполушарные связи коры полушарий мозга начинают формироваться уже во втором триместре гестации (Huang et al., 2009). Такое раннее становление межполушарных связей косвенно указывает на то, что второй триместр является критическим для структурно-функциональной дифференцировки клеток коры полушарий мозга с высокой вероятностью их повреждения неблагоприятными воздействиями (Turk et al., 2019). Гетерохронное развитие отдельных областей коры с периодами повышенной уязвимости нейронов и глии необходимо учитывать при анализе причин патологий мозга внутриутробного генеза (Goergen et al., 2019). Наиболее очевидный путь получения необходимых сведений об этом – исследование мозга плода современными методами визуализации. К таким методам, несомненно, относятся все варианты магнитно-

резонансной томографии, комплексное применение которых позволило сформировать новое направление, известное как патоконнектомика — область исследования нарушенных связей развивающегося мозга при внутриутробном и посмертном сканировании (Zhang et al., 2013; Jakab et al., 2019). Однако разрешающая способность даже высокопольных сканеров недостаточна для изучения кортикогенеза на уровне клеточных слоев и отдельных нейронов, для этого необходимы современные методы иммунофлуоресцентной микроскопии. В настоящее время механизмы дифференцировки проекционных нейронов во время эмбриогенеза изучены на животных. Проекционные нейроны образуют два основных класса: клетки верхних слоев, аксоны которых образуют корково-корковые связи, и нейроны глубоких слоев, иницирующие субкорковые проекции. Клетки, которые в будущем сформируют глубокие слои коры, экспрессируют транскрипционные факторы *Fezf2* и *Ctip2*, клетки-предшественники верхних слоев коры синтезируют *Satb2*. При этом *Fezf2/Ctip2* и *Satb2* блокируют активность друг друга, что гарантирует будущую позицию нейронов в конкретном слое коры, а также траекторию проекций, которые сформируют их аксоны (Leone, 2008). В то же время вопрос постмиграционной дифференцировки нервных клеток коры мозга человека относится к наименее изученным, так как цито- и хемоархитектонику пренатального мозга человека исследовать сложно, главным образом из-за проблем со стандартизацией постмортемного плодного материала.

Цель настоящей работы — изучение особенностей развития нейронов на начальных этапах постмиграционной дифференцировки и стратификации неокортекса дорсальной предцентральной и верхней височной областей полушарий мозга плода человека. Новизна подхода заключается в сравнительном исследовании развития топографически удаленных друг от друга областей коры полушарий, которые относятся к разным функциональным системам мозга. Такой анализ позволяет проверить особенности пренатального развития коры полушарий мозга тех областей неокортекса, которые приурочены к первичным бороздам и топографически удалены друг от друга.

## МЕТОДИКА

### *Характеристика материала*

Исследовано десять левых полушарий мозга плодов человека в возрасте от 20 до 26 нед гестации из архива СПбГПМУ с соблюдением положений закона № 8-ФЗ, приказа МЗ РФ № 354 от 06.06.2013, с одобрением этического комитета СПбГПМУ (протоколы № 6/5 от 10.06.2014; № 2/5 от 06.02.2019). Весь материал с постмортемным сроком не более 24 ч по заключению патологоанатома не имел неврологических патологий и кровоизлияний, показал отрицательную реакцию на герпес-вирусы (1-й, 4-й и 5-й типы). Материал фиксировали в 4%-ном растворе параформальдегида на 0.1 М фосфатном буфере рН 7.4. Сроки хранения материала в фиксаторе были различны — от 1 нед до 3.5 лет. Выделенные из мозга фрагменты височной и лобной долей мозга заливали в парафин, серийные фронтальные срезы толщиной 12 мкм готовили на микротоме “Leica” RM 2245 (Leica Microsystems, Германия). Для последующего исследования срезы через один окрашивали крезильным фиолетовым по Нисслию или подвергали иммуногистохимической (ИГХ) обработке. Хорошо известны трудности, с которыми сталкиваются исследователи архивного аутопсийного материала, особенно это справедливо в отношении иммуногистохимической обработки, поскольку из-за длительного хранения в формалиновых фиксаторах многие антигены становятся недоступны для анализа, а в тканях образуются интенсивно флуоресцирующие соединения. Мы тоже столкнулись с этими трудностями, результаты иммунофлуоресцентных реакций и окраски по Нисслию представлены в табл. 1.

### *Иммуногистохимия*

Иммунофлуоресцентные исследования проводили с применением антител, которые ранее показали хороший результат при обработке ткани фетального мозга человека второго-третьего триместров гестации (Saito et al., 2011): *Satb2* (special AT-rich binding protein 2) маркирует те нейроны слоев II–IV, аксоны которых образуют корково-корковые проекции; *Ctip2* (C2H2-type zinc finger protein) маркирует нейроны слоев V and VI, которые дают начало субкорковым проекциям; *Foxp1* (factor of the winged-helix/forkhead family) синтезируется в нейронах слоев III–V. Кроме того, применили антитела, использование кото-

рых отработано ранее при исследовании ткани фетального мозга человека (Tkachenko et al., 2016): MAP2 (microtubule-associated protein 2) маркирует сому и дендриты нейронов; N200 (neurofilament 200) маркирует аксоны и дендриты нейронов; рилин (Reln) – регуляторный гликопротеин – избирательно синтезируется нейронами Кахаля–Ретциуса маргинальной зоны коры.

Иммуногистохимическую обработку ткани проводили на стеклах по оригинальному протоколу:

1) Предварительно депарафинированные срезы промывали в Трис-буфере pH 7.4. Восстановление эпитопов проводили с использованием ретривера (2100 Antigen Retriever, Aptum Biologics Ltd, Великобритания), где препараты в течение 10 мин находились в Трис-EDTA-буфере pH 9.0 при повышенном давлении и температуре 121°C с последующим медленным остыванием до комнатной температуры.

2) Для снижения автофлуоресценции часть препаратов подвергали процедуре фотоблочки в течение 24 ч в установке собственной конструкции (Козубенко и др., 2021).

3) Для визуализации ядер клеток препараты инкубировали в водном растворе DAPI (1 нг/мл) в течение 45 мин.

4) Для блокировки реактивных сайтов неспецифических белков препараты на протяжении 2 ч инкубировали в вертикальной камере (Thermo Shandon Sequenza) с блокирующим раствором следующего состава: 0.3% Тритон X-100; 10% нормальной козьей сыворотки (NGS, Sigma G9023) на Трис-буфере pH 7.4.

5) Инкубацию с первичными антителами проводили в течение 12 ч в вертикальной камере при 4°C. Для первичных антител использовали следующее оптимальное разведение: анти-CTIP2 1: 100 (Abcam ab18465 RRID:AB\_2064130), анти-FOXP1 1:100 (Abcam ab16645, RRID:AB\_732428), анти-SATB2 1: 50 (Abcam ab51502, RRID:AB\_882455), анти-MAP2 1: 100 (Sigma M9942, RRID:AB\_477256), анти-MAP2 (MAP2, 1: 200, Sigma-Aldrich Cat# M9942 RRID:AB\_477256), анти-N200 (1: 250, Sigma-Aldrich Cat# N4142 RRID:AB\_477272), анти-рилин (Reln, 1: 250, Millipore Cat# MAB5366 RRID:AB\_2285132).

6) Инкубация срезов с вторичными антителами проходила во влажной камере в течение

2 ч при температуре 37°C. Использовали вторичные антитела, конъюгированные с флуорохромами, в разведении 1: 250 для Alexa488 (коза-анти-кролик IgG Alexa488 Molecular Probes A-11008, RRID:AB\_143165), Alexa568 (коза-анти-крыса IgG Alexa568, AbCam ab175710, RRID:AB\_2832918) и Alexa647 (коза-анти-мышь IgG Alexa647 AbCam ab150115, RRID:AB\_2687948). Первичные и вторичные антитела разводили блокирующим раствором следующего состава: 0.3% Тритон X-100; 1% нормальная козьё сыворотка (NGS, Sigma G9023) на Трис-буфере pH 7.4.

7) Неспецифическое связывание вторичных антител контролировали инкубацией препаратов с нормальной сывороткой соответствующих животных (мышь, крыса, кролик) в концентрации, близкой к используемой концентрации первичных антител. Препараты заключались в 80%-ный глицерин на Трис-буфере с pH 7.4.

*Делипидизация по методу Clarity с последующим иммуномаркированием нейронов в толстых срезах ткани*

Традиционные подходы с использованием тонких гистологических срезов не позволяют полностью идентифицировать сложную трехмерную структуру дендритного дерева нервных клеток. Толщину среза ограничивают непрозрачность ткани из-за рассеивания света на границах сред с большой разницей коэффициента преломления, например, на липидных мембранах, и глубина проникновения антител. Методы оптического просветления позволяют решить эти проблемы. В настоящем исследовании использован способ делипидизации фрагментов коры мозга объемом до 0.5 см<sup>3</sup> в водной среде – Clarity (Chung et al., 2013), оптимизированный для работы с фетальным мозгом, длительно фиксированным в формалине. Исследовали маргинальную зону височной области коры мозга трех плодов в возрасте 25–26 недель гестации. До обработки ткань хранилась в 4%-ном растворе параформальдегида на 0.1 М РВ с pH 7.4 в течение 3.5 лет. Иммуномечение проводили с антителами к MAP2, рилину и N200.

*Микроскопы и программное обеспечение*

Препараты исследовали с помощью флуоресцентных микроскопов Leica DM 5500, Leica DMI 6000 с камерой DFC365FX и кон-

фокального микроскопа Leica TCS SP5 (Leica Microsystems, Германия) с использованием “синего”, “зеленого”, “красного”, “инфракрасного” фильтр-кубов со следующими характеристиками: синий (A4) — эмиссия 470/40, возбуждение 360/40; зеленый (L5) — эмиссия 527/30, возбуждение 480/40; красный (Y3) — эмиссия 610/75, возбуждение 535/50; инфракрасный (Y5) — эмиссия 700/75, возбуждение 620/60. Анализ изображений был проведен с помощью свободно доступного программного обеспечения FIJI<sup>1</sup>. Изображения во всех трех каналах были получены при увеличении  $\times 20$ . Для автоматической съемки, фокусировки и сшивки изображений отдельных полей зрения использовали свободно доступное программное обеспечение управления микроскопом MicroManager 2.0<sup>2</sup>. Средняя площадь изображений, смонтированных из нескольких полей зрения, составила  $\sim 2 \text{ см}^2$ .

Съемку всех препаратов проводили при одинаковых настройках микроскопа, лампы возбуждающего света и камеры. Подсчет иммунопозитивных ядер нейронов осуществляли по ранее описанной методике (Zykin et al., 2018; Krasnoshchekova et al., 2020). Оценивали количество ИГХ-позитивных и окрашенных DAPI ядер на площади  $\sim 1.5 \text{ мм}^2$  каждого среза. По полученным данным строили графики распределения иммунопозитивных клеток в поперечнике коры. Оценивали процентное отношение иммунопозитивных ядер нейронов к количеству ядер всех клеток, окрашенных DAPI в каждом из слоев корковой пластинки.

*Метод матричной лазерной десорбционной ионизации имиджинговой масс-спектрометрии (MALDI IMS)*

Для изучения липидного состава коры использованы блоки височной доли полушарий тех образцов мозга, которые подвергали иммуноокрашиванию. Блоки заключали в 3%-ный раствор легкоплавкой агарозы и изготавливали срезы толщиной 100 мкм с помощью вибратора Leica VT1200S. Срезы монтировали на токопроводящее стекло, обработанные 0.1%-ным раствором поли-L-лизина. Распределение липидов исследовали методом матричной лазерной десорбционной ионизации имиджинговой масс-спектромет-

рии (MALDI IMS), который используется для анализа биологических образцов, обеспечивая визуализацию распределения молекул в анатомических структурах. Исследование аутопсийного фиксированного материала затруднено тем, что MALDI-IMS в основном выполняется на криостатированных тканях без предварительной фиксации. Формалиновая фиксации вызывает подавление сигнала от молекул липидов (Kajimura et al., 2016) и требует оптимизации протокола, который был отработан авторами и опубликован ранее (Зыкин и др., 2019). Исследование проведено на масс-спектрометре MALDI-TOF Bruker Ultraflex-treme с программным обеспечением Bruker FlexControl v. 3.3 и FlexImaging v. 3.0. Оценивали данные по распределению липидов в зонах коры височной доли полушарий мозга, полученные при использовании матрицы DAN в положительном и отрицательном режимах ионизации.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для выполнения поставленных задач проведено сравнительное исследование следующих областей коры больших полушарий мозга: дорсо-латеральной предцентральной, вдоль центральной борозды, и верхней височной по границе с латеральной бороздой. В зависимости от линейки антител, использованных в ходе иммуногистохимического маркирования, дополнительных методов исследования и гестационного возраста плода (см. табл. 1) описание материала скомпоновано следующим образом: в первый раздел включены 3 случая в возрасте 20–22 нед; во второй — 3 случая в возрасте 23–24 нед; в третий — 4 случая в возрасте 25–26 нед; в четвертом разделе анализируются результаты иммуномаркирования нейронов коры полушарий мозга плодов 20–26 нед гестации антителами к MAP2.

В результате анализа препаратов мозга 20–22-недельных плодов, окрашенных по методу Ниссля, установлено, что в коре обеих исследованных областей можно выделить три зоны: маргинальную, бедную клеточными элементами, плотноклеточную корковую пластинку, более редкоклеточную субпластинку, которая плавно переходит в интермедиальную зону. Толщина коры, включая маргинальную зону и субпластинку до границы с интермедиальной зоной в предцентральной области, составила  $1100 \pm 31 \text{ мкм}$ , в височной —

<sup>1</sup> <https://fiji.sc/>

<sup>2</sup> <https://micro-manager.org/>

**Таблица 1.** Сведения об экспериментальном материале  
**Table 1.** Details of experimental materials

№	Возраст (нед)	Сведения о методах обработки материала и антителах, использованных при проведении иммуногистохимических реакций								
		Nissl	MAP2	FOXP1	SATB2	CTIP2	N200	Reln	MALDI	Clarity
1	20–22	X(++++)	X(++++)	X(++++)	X(+)	X(++++)	X(-)	X(++++)		
2	20–22	X(++)	X(++++)	X(-)	X(-)	X(-)	X(-)	X(-)	X	
3	20–22	X(++)	X(++++)	X(-)	X(-)	X(-)	X(-)	X(-)	X	
4	23–24	X(++++)	X(++++)	X(++++)	X(++++)	X(++++)	X(++++)	X(+)		
5	23–24	X(++++)	X(++++)	X(-)	X(-)	X(++++)	X(+)	X(++)		
6	23–24	X(++++)	X(++++)	X(+)	X(++++)	X(+)	X(+)	X(+)		
7	25–26	X(++++)	X(++)	X(+)	X(+)	X(+)	X(++++)	X(++++)		X
8	25–26	X(++)	X(++++)	X(++)	X(-)	X(-)	X(++++)	X(++++)		X
9	25–26	X(++)	X(++++)	X(+)	X(+)	X(+)	X(++++)	X(++++)		X
10	25–26	X(++)	X(+)	X(++)	X(+)	X(+)	X(-)	X(-)		

*Примечание:* сравнительная эффективность окраски по Нисслю и ИГХ-реакции отмечены (-), (+), (++) или (+++); положительный или отрицательный результат ИГХ-реакции на каждом образце подтвержден не менее трех раз.

*Note:* the comparative efficiency of Nissl staining and IHC-reaction is marked by (-), (+), (++) or (+++); a positive or negative result of the IHC reaction on each sample was confirmed at least three times.

970 ± 14 мкм. Графики значений оптической плотности подкрепили визуальные наблюдения (рис. 1 (а)).

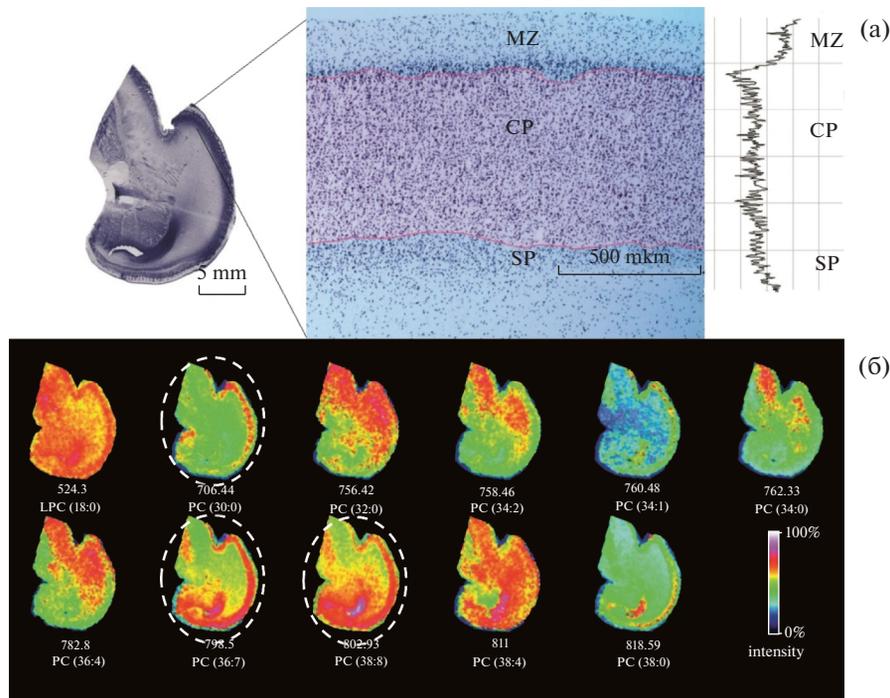
Граница корковой пластинки с маргинальной зоной и субпластинкой подтверждается данными имиджинговой масс-спектрометрии (MALDI IMS). Липиды головного мозга демонстрируют широкое биохимическое и функциональное разнообразие, а также, в зависимости от свойств, избирательную приуроченность к определенным ядрам или слоям серого вещества, к белому веществу разных отделов мозга. Из тех липидов, которые удалось идентифицировать в образцах коры височной доли мозга плодов 20–22 нед гестации, оказались фосфодилхолины, при этом три из них: PC(30:0), PC(36:7), PC(38:8) – выделены только в кортикальной пластинке (рис. 1 (б)), но не в маргинальной зоне и субпластинке, что подтверждает данные цитоархитектоники.

Данные о более сложном строении корковой пластинки получены методом иммуногистохимии с антителами к CTIP2 и FOXP1, SATB2. Иммуномаркирования высокого качества удалось добиться только на одном образце височной доли с высокой плотностью CTIP2+ и FOXP1+ ядер нейронов (см. табл. 1), тем не менее результат заслуживает анализа, так как убедительно демонстрирует диверсификацию CTIP2+ и FOXP1+ нейронов. Ре-

конструкция нескольких полей зрения верхней височной области коры площадью около 0.5 см<sup>2</sup> (рис. 2) наглядно иллюстрирует, что FOXP1+ нейроны представлены во всей корковой пластинке, но их совокупность разделена полосой, в которой плотность таких клеток заметно снижается. Уровень с низкой плотностью FOXP1+ ядер совпадает по глубине залегания с зоной максимальной плотности CTIP2+ нейронов.

В возрасте 23–24 нед гестации стратификация корковой пластинки в верхней височной и предцентральной областях коры усложняется. На препаратах, окрашенных по Нисслю, слой eII становится более плотно-клеточным, чем ниже расположенные слои, которые выделить цитоархитектонически не удастся. В этот период начавшаяся стратификация коры сопровождается ее утолщением до 1450 ± 18 мкм в предцентральной и до 1104 ± 23 мкм в височной областях.

Имуногистохимическое выявление нейронов корковой пластинки предцентральной и височной областей коры проводили с использованием антител к слой-специфичным транскрипционным факторам: CTIP2, SATB2, FOXP1. Поскольку в исследуемый период цитоархитектонически сложно выделить слои корковой пластинки, при подсчете ИГХ+ элементов на изображение анализируемого участка коры предварительно наноси-



**Рис. 1.** Цитоархитектоника коры верхней височной области (а) и распределение липидов на фронтальном срезе височной доли (б) мозга человека 21 нед гестации. На (а) — срез височной доли, окрашенный по Нисслю, цитоархитектоника коры верхней височной области и график оптической плотности. Обозначения: МЗ — маргинальная зона, СР — корковая пластинка, SP — субпластинка. СР дополнительно выделена цветом в соответствии с границами кластера фосфадилхолина PC(30:0). На (б) — распределение детектированных липидов на срезе. Отмечены фосфадилхолины, кластеры которых приурочены к корковой пластинке височной области.

**Fig. 1.** Cytoarchitectonics of the upper temporal region (a) and the distribution of certain lipids on the frontal section of the temporal lobe (b) of the brain of a human fetus at 21 weeks of gestation. (a) — section of the temporal lobe, stained according to Nissl, cytoarchitectonics of the upper temporal region and a graphics of optical density. Designations: MZ — marginal zone, CP — cortical plate, SP — subplate. The CP is additionally highlighted in color in accordance with the boundaries of the phosphatidylcholine PC cluster (30:0). (b) — distribution of the detected lipids on the section; phosphatidylcholines which are confined to the cortical plate of the temporal cortex are highlighted by a dashed circles.

ли сетку из ячеек с длиной стороны 164 мкм. Такую же сетку наносили на соседний срез, окрашенный по Нисслю. Благодаря этому приему стало возможным проследить динамику численности иммунопозитивных клеток по поперечнику коры, определить более высокую плотность маркированных элементов на определенном уровне коры и таким образом получить представление о формировании слоев корковой пластинки. По поперечнику коры полушарий мозга плодов 23–24 нед гестации маркированные нейроны распределялись следующим образом: SATB2+ преобладали в верхней части корковой пластинки, STIP2+ и FOXP1+ — в ее нижней части. Количественная оценка SATB2+, STIP2+ и FOXP1+ клеток показала, что самая высокая плотность STIP2+ ядер обнаружена на глубине 660–990 мкм предцентральной области коры и 425–920 мкм — височной.

Максимум FOXP1+ ядер установлен на глубине 600–1000 мкм предцентральной коры и 400–950 мкм — височной. Максимальная плотность SATB2+ нейронов установлена на глубине 200–650 мкм предцентральной и 95–600 мкм височной областей (рис. 3). Зоны распределения всех трех маркеров перекрываются, поэтому для определения границ слоев мы ориентировались на те уровни, в которых плотность ИГХ+ нейронов была максимальной. По компактному расположению SATB2+, STIP2+ и FOXP1+ элементов установлены предполагаемые границы цитоархитектонических слоев на препаратах, окрашенных по Нисслю (рис. 4). Дальнейшее исследование проводили с учетом назначенных границ слоев eII–eVI корковой пластинки. Дополнительно оценивали количество иммунофлуоресцентных ядер нейронов относительно общей численности всех ядер, окра-



**Рис. 2.** Взаимодополняющие кластеры CTIP2+ и FOXP1+ нейронов коры височной области мозга человека 20 нед гестации. Стрелка указывает на латеральную борозду, верхняя височная область – слева от борозды.

**Fig. 2.** Complementary groups of CTIP2+ and FOXP1+ neurons in the temporal cortex of the brain of the fetus at 20 weeks of gestation. The arrow indicates the lateral gyrus, the superior temporal region to the left of the arrow.

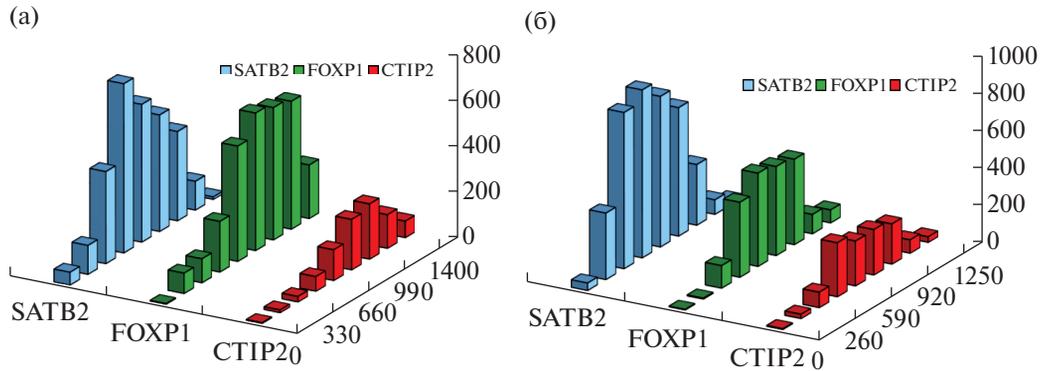
шенных DAPI, в каждом из слоев обеих исследованных областей. В предцентральной области максимальное количество FOXP1+ элементов отмечено в глубокой части слоя eV и в слое eVI, где оно достигало 12%, а в слое eII и субпластинке снижалось до 3%; максимум CTIP2+ клеток установлен в слое eV – 5%, в слое eIII и eVI – сокращался до 3%; численность SATB2+ нейронов в слое eIII достигала 13% и падала до 6% в слоях eII и eVI. В верхней височной области максимум FOXP1+ элементов отмечен в слое eV и по-

граничном уровне слоя eVI, где он составил 8%, а в слоях eII и eVI снижался до 3%; численность CTIP2+ ядер в слоях eV и eVI была одинакова и составила около 5%, сокращаясь до 1% в слоях eII и субпластинке; численность SATB2+ нейронов в слое eIII достигала 12%, падала до 6% в слоях eII и eVI. Таким образом, выделение слоев по численному доминированию нейробиохимически однородных клеток возможно даже тогда, когда цитоархитектонические признаки слоев еще не выражены.

В возрасте 25–26 нед гестации стратификация кортикальной пластинки в верхней височной и предцентральной областях коры практически не усложнялась по сравнению с описанным выше сроком 23–24 нед. На препаратах, окрашенных по Нисслю, отмечено утолщение коры до  $1550 \pm 28$  мкм в предцентральной и до  $1150 \pm 18$  мкм в височной областях. На материале этого возраста не удалось получить высококачественных результатов иммуногистохимической обработки с антителами к слой-специфичным транскрипционным факторам. Несмотря на то что локализация SATB2+, CTIP2+ и FOXP1+ элементов была сходной со сроком 23–24 нед гестации в обеих областях коры, интенсивность реакции и плотность иммунопозитивных ядер нейронов оказались низкими, оценить их количественный состав не удалось.

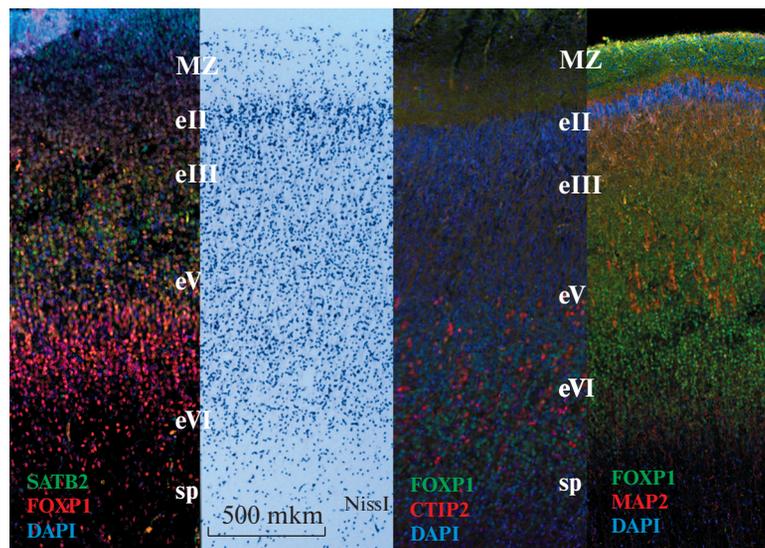
Как уже отмечалось выше, те маркеры транскрипционных факторов, которые применялись в исследовании, отражают функциональную характеристику проекционных нейронов в соответствии со связями, которые формируют их аксоны – нисходящие субкорковые или корково-корковые. Морфологию таких нейронов возможно исследовать по экспрессии MAP2 – белка, ассоциированного с микротрубочками и специфичного только для нейронов (Минин, Кулик, 2004; Vennett et al., 2013). Поскольку нами предварительно были определены границы слоев кортикальной пластинки, развитие MAP2-пирамидных нейронов анализировали с учетом их залегания в определенном слое (рис. 4).

В корковой пластинке верхней височной и предцентральной областей коры мозга плодов 20–22 нед гестации MAP2-позитивные нейроны располагались компактно, образуя в предцентральной коре пласт толщиной около  $170 \pm 25$  мкм, а в височной – около  $250 \pm 35$  мкм. Такие MAP2+ клетки имели вытянутую округло-треугольную форму со-



**Рис. 3.** Количество иммунопозитивных клеток на разных уровнях коры дорсолатеральной предцентральной (а) и верхней височной (б) областей полушарий мозга человека 23–24 нед гестации. По оси X – толщина коры в мкм. По оси Y – количество иммунопозитивных клеток.

**Fig. 3.** The distribution of immunopositive cells at different levels of the cortex of the dorso-lateral precentral (a) and superior temporal (б) regions of the cerebral cortex of a human fetus at 23–24 weeks of gestation. X-axis is the thickness of the cortex (mkm). Y-axis is the number of immunopositive cells.

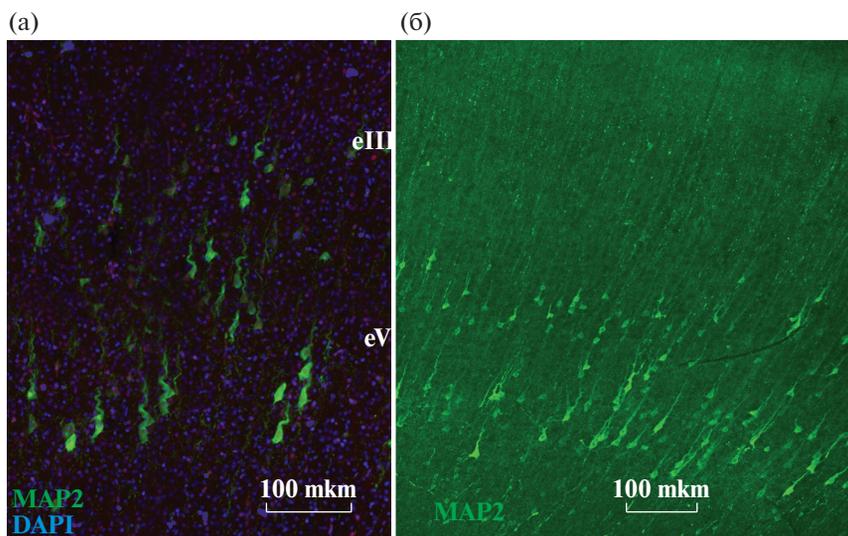


**Рис. 4.** Стратификация коры дорсо-латеральной предцентральной области полушарий мозга человека 23–24 нед гестации по локализации иммунопозитивных нейронов и при окраске по Нисслю. Обозначения: MZ – маргинальная зона, eII – слой II, eIII – слой III, eV – слой V, eVI – слой VI корковой пластинки, SP – субпластинка.

**Fig. 4.** Stratification of the dorso-lateral precentral cortex of the fetus at 23–24 weeks of gestation by the localization of immunopositive neurons and by Nissl staining. Designations: MZ – marginal zone, eII – layer II, eIII – layer III, eV – layer V, eVI – layer VI of the cortical plate, SP – subplate.

мы, короткие, извитые неветвящиеся апикальные дендриты. В дальнейшем, вплоть до конца второго триместра, наблюдали заметное увеличение количества MAP2+ нейронов и расширение зоны поперечника, которую они занимали в корковой пластинке, до  $500 \pm 39$  мкм в предцентральной и  $450 \pm 42$  мкм в височной областях 25–26-недельных плодов. Все иммунопозитивные клетки были пирамид-

ными, по площади профильного поля их можно было разделить на мелкие ( $45\text{--}90$  мкм<sup>2</sup>), средние ( $100\text{--}190$  мкм<sup>2</sup>) и крупные ( $200\text{--}380$  мкм<sup>2</sup>). Анализ локализации нейронов, относящихся к каждому из трех размерных классов, показал, что средние и мелкие равномерно распределены по поперечнику зоны MAP2+ клеток, а крупные залегают в глубине (рис. 5).



**Рис. 5.** MAP2-позитивные нейроны в коре дорсо-латеральной предцентральной области полушарий мозга человека 20 (а) и 26 (б) нед гестации. Обозначения: eIII, eV – слои III и V корковой пластинки.

**Fig. 5.** MAP2-positive neurons in the dorsal precentral region of the cerebral cortex of fetuses at 20 (a) and 26 (b) weeks of gestation. Designations: eIII, eV – layers III and V of the cortical plate.

После совмещения изображений срезов, окрашенных по Нислю и обработанных ИГХ с антителами к MAP2, стало очевидным, что уровень крупных MAP2+ пирамид совпадает со слоем eV, который предварительно выделен по максимальной плотности STIP2+ элементов, а средних и мелких MAP2+ нейронов – со слоем eIII с высокой плотностью SATB2+ ядер. Такая же очередность дифференцировки и локализация MAP2-позитивных нейронов в слоях eIII и eV характерны и для коры верхней височной области большого мозга.

Несмотря на то что мы не смогли добиться устойчивого иммуноокрашивания со всеми маркерами для каждого срока гестации и всех исследованных случаев, результаты, полученные разными методами, дополняют друг друга, подтверждая синхронность и общую закономерность стратификации верхней височной и предцентральной коры в период с 20-й по 26-ю неделю гестации.

Ключевую роль в регуляции начальных этапов стратификации коры выполняют клетки Кахаля–Ретциуса маргинальной зоны. В коре мозга человека строение этих нейронов, их нейрохимические характеристики изучены слабо. При этом маргинальная зона коры фетального мозга имеет сложную пространственную организацию, в связи с чем для ее исследования требуется иммуноокра-

шивание более толстых, чем принято обычно, срезов. С помощью такой обработки удалось выявить клетки Кахаля–Ретциуса, что подтверждается их рилин-позитивностью, помимо этого они иммунопозитивны к MAP2. Нейроны Кахаля–Ретциуса имели треугольную форму тела с площадью профильного поля от 100 до 250 мкм<sup>2</sup>. От сомы клетки отходили от 3 до 5 дендритов, широко ветвящихся параллельно поверхности коры, и один нисходящий отросток, тела нейронов залегали в поверхностной части маргинальной зоны. Волоконное сплетение ниже зоны локализации клеток Кахаля–Ретциуса состояло из идущих параллельно пиальной поверхности коры взаимно пересекающихся N200+ отростков (рис. 6). Полученные результаты свидетельствуют о том, что маргинальная зона содержит те структурные компоненты – рилин-позитивные нейроны Кахаля–Ретциуса и сплетение горизонтальных волокон, которые регулируют миграцию нейробластов в кору.

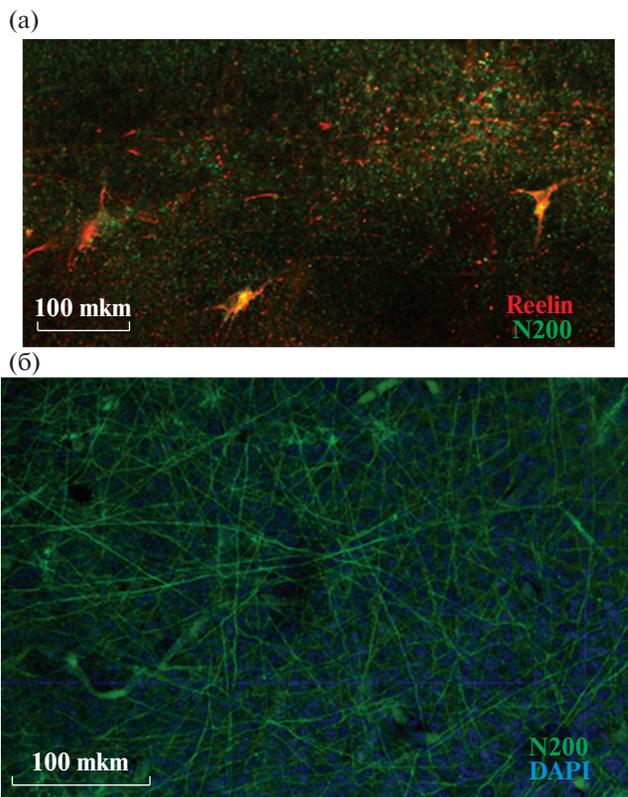
#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящей работе показано, что в течение 20–26 нед гестации две области коры полушарий мозга человека: дорсо-латеральная предцентральной вдоль центральной борозды и верхняя височная по границе с латеральной бороздой – развиваются синхронно, хотя

топографически они удалены друг от друга и относятся к разным функциональным системам мозга. Этот факт подтверждает принцип регионального кортикогенеза в среднем периоде гестации (Поляков, 1937), а также ранее выдвинутое предположение о том, что первичные борозды указывают на сходство развития прилежащих к ним областей коры полушарий мозга (Zhang et al., 2013). О том же свидетельствуют особенности функционального коннектома (совокупности проводящих трактов) мозга плода человека, в котором к концу второго триместра беременности визуализируются некоторые межполушарные и субкорковые тракты (Turk et al., 2019). Авторы справедливо полагают, что становление трактов зависит от уровня развития отдельных регионов коры полушарий мозга и для полного понимания закономерностей становления связей нужны маркеры созревания нейронов.

В данной работе описаны некоторые особенности созревания неокортекса, выявленные с помощью иммуногистохимических маркеров. Установлено, что в период с 20-й по 26-ю неделю гестации в обеих исследованных областях мигрировавшие в корковую пластинку клетки избирательно синтезируют транскрипционные факторы, определяющие их положение в конкретном слое и тип проекционных связей, которые они образуют, — субкорковые или корково-корковые. В течение исследованного периода происходит утолщение коры, но преимущественная приуроченность SATB2<sup>+</sup> нейронов к слоям eII и eIII, а FOXP1<sup>+</sup> и STIP2<sup>+</sup> — к слоям eV и eVI — не изменялась. Морфология этих клеток — форма сомы, специфика дендритного дерева — свидетельствует о том, что они являются пирамидными проекционными нейронами, динамика их развития, приуроченность, в зависимости от размера, к разным слоям коры подтверждают характер генерируемых ими связей — корково-корковые или субкорковые и корково-спинальные.

Помимо сведений о морфологии нейронов, иммуногистохимическое выявление MAP2 — белка, ассоциированного с микротрубочками, может служить маркером критического периода развития пирамидных клеток, в течение которого нейроны высоко чувствительны к воздействию неблагоприятных факторов среды. Основанием для такого предположения является то, что синтез MAP2 характеризует начало активного дендрогене-



**Рис. 6.** Организация маргинальной зоны коры верхней височной области полушарий мозга человека 25–26 нед гестации по результатам иммунофлуоресцентного маркирования крупного (762 × 762 × 180 мкм) фрагмента ткани. (а) — клетки Кахаля–Ретциуса поверхностного уровня маргинальной зоны. (б) — волоконное сплетение глубокого уровня маргинальной зоны.

**Fig. 6.** Organization of the marginal zone of the temporal region of fetal cerebral cortex at 25–26 weeks of gestation, results of immunostaining of a large block (762 × 762 × 180 mkm) of tissue after optical clearing. (a) — Cajal–Retzius cells of the surface level of the marginal zone. (b) — fiber plexus of the deep level of the marginal zone.

за и включение клетки в нейронные сети, а этому сопутствует ослабление нейропротекторных механизмов (Kaech et al., 1996; Fontaine-Lenoir et al., 2006). Гибель нейронов в коре мозга у человека как результат осложненной беременности не доказана, но патологические последствия развития олигодендроцитов и активности нейроглии у детей с проблемами периода внутриутробного онтогенеза, включая недоношенность, известны (Кудряшова и др., 2019; Shaw et al., 2021). Очевидно, что судьбы нейронов и глии неразрывно связаны, а это позволяет анализировать возможность маркирования критического пе-

риода развития нейронов по состоянию элементов цитоскелета. Согласно результатам настоящего исследования, в корковой пластинке предцентральной и височной областей коры полушарий мозга первые MAP2+ пирамидные клетки отмечены у 20-недельных плодов в слое eV, к 26-й неделе формируются нейроны слоя eIII, а это предположительно указывает на то, что критические сроки развития нейронов слоев eIII и eV приходятся на разные периоды гестации.

Правомерность выдвинутого предположения о критических сроках развития нейронов подтверждают исследования И.А. Журавина и соавт. (Vasilev et al., 2016). Исследователи доказали, что постмитотическая дифференцировка проекционных нейронов энторинальной коры полушарий мозга крыс происходит на 14-м и 18-м дне эмбриогенеза. Экспериментальная гипоксия в эти дни приводила к тому, что в первый месяц после рождения плотность пирамидных нейронов в коре мозга крысят снижена по сравнению с контрольными животными.

С широким внедрением в клиническую практику методов МРТ-диагностики появились убедительные факты избирательных повреждений кортикоспинальных и межполушарных трактов коры полушарий, вызванных неблагоприятными факторами внутриутробного развития. Так, генез детского церебрального паралича, который считают олицетворением детской неврологии, обусловлен проблемами пренатального периода развития, в том числе недоношенностью (Ермолина и др., 2016). Дефицит моторного поведения у этих детей коррелирует с замедленным созреванием, нарушением структуры и траектории кортикоспинального тракта (Papadelis et al., 2019). Гораздо шире, согласно данным МРТ, распространены отклонения в структуре межполушарных связей, которые чаще всего описывают как агенезии (полное или частичное отсутствие) или гипоплазии (недоразвитие) мозолистого тела (Bekiesinska-Figatowska et al., 2017; Koerte et al., 2018; Lieb, Ahlhelm, 2018). Выраженные гипоплазии мозолистого тела часто обнаруживают у детей, развивавшихся в измененных условиях гестации, например, рожденных женщинами с гипотиреозом, с фетальным алкогольным синдромом и недоношенных (Lebel et al., 2008; Samadi et al., 2008; Tkachenko et al., 2008). Оценка демографических факторов риска развития агенезий и гипоплазий мозолистого

тела у детей, клинически значимой и относительно частой категории нарушений развития мозга, свидетельствует о том, что одной из главных причин является недоношенность плода (Glass et al., 2008). Гипоплазии мозолистого тела часто дополняют пороки развития кортикоспинальных трактов при ДЦП (Краснощеклова и др., 2016; Back et al., 2001).

Описанные нарушения проводящих трактов – пирамидного и мозолистого тела – согласуются с высказанным предположением о критических периодах развития проекционных нейронов слоев eV и eIII коры полушарий мозга человека в конце второго триместра внутриутробного онтогенеза.

Новизна полученных в настоящей работе результатов очевидна, и они лишь отчасти подтверждают данные ранее выполненного исследования по пренатальному развитию предцентральной области коры мозга человека (Saito et al., 2011).

## ВЫВОДЫ

1. В период с 20-й по 26-ю неделю внутриутробного развития в предцентральной и верхней височной областях коры полушарий нейроны, идентифицированные по экспрессии транскрипционных факторов, приурочены к разным слоям корковой пластинки: SATB2-позитивные – к слоям eII, eIII, FOXP1-позитивные и STIP2-позитивные – к слоям eV, eVI.

2. Во втором триместре внутриутробного развития в корковой пластинке предцентральной и верхней височной областей коры полушарий мозга человека пирамидные нейроны, идентифицированные по экспрессии белка, ассоциированного с микротрубочками (MAP2), появляются в слое eV у 20-недельных, в слое eIII – у 26-недельных плодов.

3. Совокупность полученных данных свидетельствует о том, что две топографически удаленные области коры полушарий мозга человека – предцентральной и верхней височной – развиваются синхронно.

Работа выполнена на оборудовании ресурсного центра молекулярных и клеточных технологий (МиКТ) Научного Парка СПбГУ (Проект № 109-306).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Васильев Д.С., Туманова Н.Л., Калинина Д.С. Пренатальная гипоксия приводит к нарушению

- формирования нервной ткани энторинальной области коры мозга крыс. Рос. физиол. журнал. 2020. 106 (10): 1–12.
- Ермолина Ю.В., Намазова-Баранова Л.С., Мамедьяров А.М., Аникин А.В., Маслова О.И.* Роль диффузионной тензорной магнитно-резонансной томографии и трактографии в диагностике структурных повреждений головного мозга у детей с церебральными параличами. Вопросы современной педиатрии. 2016. 15 (2): 141–147.
- Зыкин П.А., Ткаченко Л.А., Аксенова Л.Е., Смолина Т.Ю., Краснощекова Е.И.* Исследование липидов мозга человека в пренатальном периоде развития методом Малди-визуализации. Морфология, 2019. 155 (2): 125.
- Козубенко Е.А., Зыкин П.А., Краснощекова Е.И., Ткаченко Л.А., Федосеева К.Н., Харазова А.Д.* Методика понижения автофлуоресценции ткани фетального мозга человека и количественная оценка эффекта фотовыцветания. Бюл. эксп. биол. мед. 2021. 171 (1): 122–128.
- Краснощекова Е.И., Зыкин П.А., Ткаченко Л.А., Александрова Т.А., Ялфимов А.Н.* Возрастная динамика развития мозолистого тела детей и ее особенности при детском церебральном параличе. Бюл. эксп. биол. и мед. 2016. 161 (6): 816–820.
- Кудряшова И.В., Степаничев М.Ю., Гуляева Н.В.* Неонатальный провоспалительный стресс и созревание межклеточной коммуникации в гиппокампе. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2019. 69 (6): 680–699.
- Минин А.А., Кулик А.В.* Внутриклеточный транспорт. Принципы регуляции. Успехи биологической химии. 2004. 44: 225–262.
- Поляков Г.И.* Ранний и средний онтогенез коры большого мозга человека. М., 1937. 57 с.
- Alzu'bi A., Lindsay S.J., Harkin L.F., McIntyre J., Ligo S.N., Clowry G.J.* The transcription factors COUP-TFI and COUP-TFII have distinct roles in arealisation and GABAergic interneuron specification in the early human fetal telencephalon. Cereb. Cortex 2017. 27: 4677–4690.
- Baala L., Briault S., Etchevers H.C., Laumonnier F., Natiq A., Amiel J., Boddaert N., Picard C., Sbiti A., Asermouh A., Attié-Bitach T., Encha-Razavi F., Munnich A., Sefiani A., Lyonnet S.* Homozygous silencing of T-box transcription factor EOMES leads to microcephaly with polymicrogyria and corpus callosum agenesis. Nat. Genet. 2007. 39: 454–456.
- Back S.A., Luo N.L., Borenstein N.S., Levine J.M., Volpe J.J., Kinney H.C.* Late oligodendrocyte progenitors coincide with the developmental window of vulnerability for human perinatal white matter injury. J. Neurosci. 2001. 21: 1302–1312.
- Bayer S.A., Altman J.* Neocortical Development. 1991. New York: Raven Press. 255 p.
- Bekiesinska-Figatowska M., Duczkowska A., Szkudlinska-Pawlak S., Duczkowski M., Madzik J., Cabaj A., Krupa K., Peczkowski P., Bragoszewska H.* Diffusion restriction in the corticospinal tracts and the corpus callosum in neonates after cerebral insult. Brain Dev. 2017. 39 (3): 203–210.
- Borello U., Madhavan M., Vilinsky I., Faedo A., Pierani A., Rubenstein J., Campbell K.* Sp8 and COUPTF1. Cerebral cortex. 2014. 24 (6): 1409–21: 1409–1421.
- Chung K., Wallace J., Kim S.Y., Kalyanasundaram S., Andalman A.S., Davidson T.J., Mirzabekov J.J., Zalocusky K.A., Mattis J., Denisin A.K., Pak S., Bernstein H., Ramakrishnan C., Grosenick L., Gradinaru V., Deisseroth K.* Structural and molecular interrogation of intact biological systems. Nature. 2013. 497 (7449): 332–337.
- Cozzi B., Bonfant L., Canali E., Minero M.* Brain Waste: The Neglect of Animal Brains// Front. Neuroanat. 2020. 12. Art. 573934.
- Glass H.C., Shaw G.M., Ma C., Sherr E.H.* Agenesis of the corpus callosum in California 1983–2003: a population-based study. Am. J. Med. Genet. 2008. 146: 2495–2500.
- Fontaine-Lenoir V., Chambraud B., Fellous A., David S., Duchossoy Y., Baulieu E-E., Robel P.* Microtubule-associated protein 2 (MAP2) is a neurosteroid receptor. PNAS. 2006. 103 (12): 4711–4716.
- Goergen S.K., Alibrahim E., Govender N., Stanislavsky A., Abel C., Prystupa S., Collett J., Shelmerdine S.C., Arthurs O.J.* Diagnostic assessment of foetal brain malformations with intraterine MRI versus perinatal post-mortem MRI. Neuroradiol. 2019. 61 (8): 921–934.
- Hevner R.F.* Intermediate progenitors and Tbr2 in cortical development. J Anat. 2019. 235 (3): 616–625.
- Huang H., Xue R., Zhang J., Ren T., Richards L.J., Yarowsky P., Miller M.I., Mori S.* Anatomical Characterization of Human Fetal Brain Development with Diffusion Tensor Magnetic Resonance Imaging. J. of Neurosci. 2009. 29 (13): 4263–4273.
- Im K., Grant P.E.* Sulcal pits and patterns in developing human brains. Neuroimage. 2019. 185: 881–890.
- Ip B.K., Bayatt N.I., Howard N. J., Lindsay S., Clowry G.J.* The Corticofugal Neuron-Associated Genes *ROBO1*, *SRGAP1*, and *CTIP2* Exhibit an Anterior to Posterior Gradient of Expression in Early Fetal Human Neocortex Development. Cerebral Cortex. 2011. 21 (6): 1369–1407.
- Jakab A.* Developmental Pathoconnectomics and Advanced Fetal MRI. Top. Magn. Reson. Imaging. 2019. 28: 275–284.
- Kaech S., Ludin B., Matus A.* Expressing Neuronal Microtubule-Associated Proteins. Neuron. 1996. 17: 1189–1199.

- Kajimura J., Ito R., Manley N.R., Hale L.P.* Optimization of Single- and Dual-Color Immunofluorescence Protocols for Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Archival Tissues. *J. Hist. Cytochem.* 2016. 64 (2): 112–124.
- Kalebic N., Gilardi C., Stepien B., Wilsch-Bräuninger M., Long K.R., Namba T., Florio M., Langen B., Lombardot B., Shevchenko A., Kilimann M.W., Kawasaki H., Wimberger P., Huttner W.B.* Neocortical expansion due to increased proliferation of basal progenitors is linked to changes in their morphology. *Cell Stem Cell.* 2019. 24: 535–550.
- Koerte I., Pelavin P., Kirmess B., Fuchs T., Berweck S., Laubender R.P., Borggraefe I., Schroeder S., Danek A., Rummeny C., Reiser M., Kubicki M., Shenton M.E., Ertl-Wagner B., Heinen F.* Anisotropy of transcallosal motor fibers indicates functional impairment in children with periventricular leukomalacia. *Dev. Med. Child. Neurol.* 2011. 53 (2): 179–186.
- Krasnoshchekova E.I., Zykin P.A., Tkachenko L.A., Baskakov A.V., Tsvetkov E.A., Nasyrov R.A.* Morphological and Neurochemical Characteristics of the Subicular Complex of the Human Brain in the Fetal Period. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2020. 50 (4): 522–525.
- Lebel C., Rasmussen C., Wyper K., Walker L., Andrew G., Yager J., Beaulieu C.* Brain diffusion abnormalities in children with fetal alcohol spectrum disorder. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2008. 32 (10): 1732–1740.
- Leone D.P., Srinivasan K., Chen B., Alcamo E., McConnell S.K.* The determination of projection neuron identity in the developing cerebral cortex. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2008. 18 (1): 28–35.
- Lieb J.M., Ahlhelm F.J.* Agenesis of the corpus callosum. *Radiologe.* 2018. 58: 636–645.
- Molnár Z., Clowry G., Nenad C., Alzu'bi A., Bakken T., Hevner R.F., Hüppi P.S., Kostović I., Rakic P., Anton E.S., Edwards D., Garcez P., Hoerder-Suabedissen A., Kriegstein A.* Human cerebral cortex development. *J. Anat.* 2019. 235 (3): 432–451.
- Papadelis C., Kaye H., Shore B., Snyder B., Grant P.E., Rotenberg A.* Maturation of Corticospinal Tracts in Children With Hemiplegic Cerebral Palsy Assessed by Diffusion Tensor Imaging and Transcranial Magnetic Stimulation. *Front. Hum. Neurosci.* 2019. 24 (13): Art. 254.
- Pletikos M., Sousa A.M., Sedmak G., Meyer K.A., Zhu Y., Cheng F., Li M., Kawasawa Y.I., Sestan N.* Temporal specification and bilaterality of human neocortical topographic gene expression. *Neuron.* 2014. 81: 321–332.
- Rakic P.* Specification of cerebral cortical areas. *Science.* 1988. 241: 170–176.
- Rakic P.* Evolution of the neocortex: a perspective from developmental biology. *Nat. Rev. Neurosci.* 2009. 10: 724–735.
- Saito T., Hanai S., Takashima S., Nakagawa E., Okazaki S., Inoue T., Miyata R., Kyoko Hoshino K., Akashi T., Sasaki M., Goto Y., Hayashi M., Itoh M.* Neocortical Layer Formation of Human Developing Brains and Lissencephalies: Consideration of Layer-Specific Marker Expression. *Cereb. Cortex.* 2011. 21: 588–596.
- Samadi A., Skocic J., Rovet J.* Children born to women treated for hypothyroidism during pregnancy show abnormal corpus callosum development. *Thyroid.* 2015. 25 (5): 494–502.
- Shaw J.C., Crombie G.K., Palliser H.K., Hirst J.J.* Impaired Oligodendrocyte Development Following Preterm Birth: Promoting GABAergic Action to Improve Outcomes. *Front. Pediatr.* 2021. 9: Art. 618052.
- Tkachenko L.A., Toronova N.O., Krasnoshchekova E.I., Zykin P.A., Aleksandrov T.A., Yalfimov A.N.* A comparative MRI-based morphometric study of the corpus callosum in term and preterm infants. *Human Physiol.* 2014. 40 (1): 29–34.
- Tkachenko L.A., Zykin P.A., Nasyrov R.A., Krasnoshchekova E.I.* Distinctive features of the human marginal zone and Cajal-Retzius cells: comparison of morphological and immunocytochemical features at midgestation. *Front. Neuroanat.* 2016. 10: Art. 26
- Turk E., Heuvel M.I., Benders M.J., de Heus R., Franx A., Manning J.H., Hect J.L., Hernandez-Andrade E., Hassan S.S., Romero R., Kahn R.S., Thomason M.E., Heuvel M.P.* Functional Connectome of the Fetal Brain. *J. Neuroscience.* 2019. 39 (49): 9716–9724.
- Yun H.J., Chung A.W., Vasung L., Yang E., Tarui T., Rollins C.K., Ortinau C.M., Grant P.E., Im K.* Automatic labeling of cortical sulci for the human fetal brain based on spatio-temporal information of gyrification. *Neuroimage.* 2019. 188: 473–482.
- Zhang Z., Hou X., Lin G., Teng H., Meng F., Zang F., Fang S., Liu.* Development of the Fetal Cerebral Cortex in the Second Trimester: Assessment with 7T Postmortem MRImagin. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 2013. 34 (7): 1462–1467.
- Zykin P.A., Moiseenko I.A., Tkachenko L.A., Nasyrov R.A., Tsvetkov E.A., Krasnoshchekova E.I.* Peculiarities of Cyto- and Chemoarchitectonics of Human Entorhinal Cortex during the Fetal Period. *Bull Exp. Biol. Med.* 2018. 164 (4): 497–501.
- Vasilev D.S., Dubrovskaya N.M., Tumanova N.L., Zhuravin I.A.* Prenatal hypoxia in different periods of embryogenesis differentially affects cell migration, neuronal plasticity and rat behavior in postnatal ontogenesis. *Front. Neurosci.* 2016. 10: Art. 126.

## FEATURES OF DIFFERENTIATION OF THE HUMAN CEREBRAL CORTEX DURING THE SECOND TRIMESTER OF GESTATION

E. I. Krasnoshchekova<sup>a, #, ##</sup>, P. A. Zykin<sup>a</sup>, L. A. Tkachenko<sup>a</sup>, E. A. Kozubenko<sup>a</sup>,  
N. A. Kostin<sup>b</sup>, E. A. Tsvetkov<sup>a</sup>, R. A. Nasyrov<sup>c</sup>, and A. D. Kharazova<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of cytology and histology, Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

<sup>b</sup> Research resource center for development of molecular and cell technologies, Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

<sup>c</sup> Department of Pathological Anatomy with a Course in Forensic Medicine, Saint-Petersburg State Pediatric University, Saint-Petersburg, Russia

<sup>#</sup> e-mail: e.krasnozchekova@spbu.ru

<sup>##</sup> e-mail: krasnelena@gmail.com

The study focuses on revealing the patterns of postmigrational development of neurons accompanying the stratification of the dorsal precentral and superior temporal regions of the neocortex of the human fetal brain. We studied 10 fetal brains at 20–26 weeks of gestation. Tissue blocks were embedded in paraffin, serial sections were made, every 10th section was stained according to Nissl. The rest were immunostained with antibodies to MAP2, layer-specific proteins SATB2, FOXP1 and CTIP2, Reelin and N200. In 4 cases, additional blocks were not embedded in paraffin, but treated according to either Clarity optical tissue clearing protocol or MALDI IMS methods. From 20 to 26 weeks of prenatal development the cortical plate of the studied areas of the cortex contained neurons immunopositive to antibodies of layer-specific transcription factors which were confined to different levels of the cortical plate: SATB2+ – to the upper, FOXP1+ and CTIP2+ – to the lower level. A quantitative assessment of maximum density of SATB2+, FOXP1+, and CTIP2+ neurons made it possible to separate embryonic layers eII, eIII, eV, eVI and the subplate. In the studied period, the number of neurons immunopositive to MAP2 in the cortical plate of both areas is steadily rises. The first groups of MAP2+ pyramidal cells was observed in 20-week-old fetuses in layer eV; by 26 weeks, groups of layer eIII MAP2+ pyramidal cells were noted. The results of immunostaining of large blocks of the human fetal cortical cortex indicates a complex spatial organization of the marginal zone, with the localization of Reelin-positive Cajal-Retzius cells above the level of the plexus fibers. The data obtained in this research indicates that two anatomically remote areas of the cortex – the precentral and superior temporal cortex regions develop synchronously in the first half of the fetal period.

**Keywords:** cerebral cortex, prenatal development, immunohistochemistry, layer-specific transcription factors, microtubule associated protein

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

УДК 612.821

**РОЛЬ ВНИМАНИЯ В ОПОЗНАНИИ ПЕРИФЕРИЙНЫХ СТИМУЛОВ  
В ОДИНАРНОЙ И ДВОЙНОЙ ЗАДАЧАХ**

© 2021 г. В. М. Бондарко<sup>1,\*</sup>, М. В. Данилова<sup>1</sup>, С. Д. Солнушкин<sup>1</sup>, В. Н. Чихман<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова  
Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: vmbond@gmail.com

Поступила в редакцию 19.10.2020 г.

После доработки 10.01.2021 г.

Принята к публикации 02.03.2021 г.

В психофизических экспериментах исследовали влияние внимания на опознание периферийных изображений в присутствии дистракторов при выполнении одинарной и двойной задач. Тестами служили низкоконтрастные кольца Ландольта размером 1.5 угл. град. с разной ориентацией, предъявляемые на 40 мс при эксцентриситете 13.2 угл. град. справа и слева от точки фиксации. Дистракторами являлись аналогичные кольца Ландольта или сплошные кольца без разрыва. Дистракторы всегда располагались между тестом и точкой фиксации. Расстояние между центрами тестов и дистракторов варьировали от 2.2 до 13.2 угл. град. Одни и те же наблюдатели выполняли одинарную задачу (опознание только теста) и двойную (опознание и теста, и дистрактора). Ухудшение опознания выявлено на всех расстояниях до дистракторов в обеих задачах, более сильное для дистракторов колец Ландольта. Анализ неправильных ответов опознания теста показал, что в большинстве случаев наблюдатель называл ориентацию дистрактора. Незначительное ухудшение при выполнении двойной задачи по сравнению с одинарной свидетельствует об одинаковом распределении внимания на всем участке предъявления стимулов в обеих задачах, а случайные ошибки и большее влияние дистрактора той же формы подтверждают теорию Treisman и Gelade (Treisman, Gelade, 1980) об интеграции признаков в зоне внимания.

*Ключевые слова:* опознание, внимание, периферия, двойная задача, краудинг-эффект, кольца Ландольта, определение ориентации

DOI: 10.31857/S0044467721050038

**ВВЕДЕНИЕ**

Внимание является важным аспектом зрительного восприятия и одним из важнейших факторов успешной деятельности в информационно насыщенных средах. Направленное внимание может предотвратить ошибки восприятия, а рассеянное приводит к погрешности операторов в сложной зрительной обстановке. Однако даже простые сцены могут привести к ухудшению восприятия, особенно при дефиците времени. Примером этому может служить краудинг-эффект — ухудшение восприятия тестов при близком расположении других объектов (дистракторов).

*Краудинг-эффект.* Опубликованная в последние годы литература, посвященная этому явлению, чрезвычайно обширна. Обзоры дают подробное представление о современном

состоянии дел (Flom, 1991; Levi, 2008; Manassi, Whitney, 2018; Pelli, Tillman, 2008; Sayim, Wagemans, 2017; Strasburger, 2019; Strasburger et al., 2011; Whitney, Levi, 2011; Yildirim et al., 2020). Краудинг-эффект характеризуется двумя параметрами: размером зоны взаимодействия между тестами и дистракторами и амплитудой ухудшения опознания в присутствии дистракторов по сравнению с опознанием изолированных тестов (Pelli, Tillman, 2008). Для периферийного предъявления зрительных стимулов Герман Боума (Booma, 1970) первым определил размер зоны взаимодействия (или критическое расстояние) между тестом и дистрактором как половину эксцентриситета тестового стимула. О незначительных отклонениях от правила Боума сказано в

обзорах последующих исследований (Pelli et al., 2004; Strasburger et al., 2011).

Для объяснения этого феномена рассматриваются различные гипотезы, среди которых необходимо упомянуть гипотезы об интеграции признаков тестов и дистракторов в зоне взаимодействия (Pelli et al., 2004) и пространственного замещения теста дистрактором (Strasburger et al., 1991). Эти гипотезы по большей части основаны на более ранних моделях интеграции признаков Волфорда (Wolford, 1975) и Тризман и Гелада (Treisman, Gelade, 1980). Их модели часто учитывают в современных публикациях для объяснения взаимодействий в задачах краудинг-эффекта и латеральной маскировки, мгновенного выделения объектов из окружения (pop-out) и зрительного поиска (Harrison, Vex, 2015; Huckauf, Heller, 2002a, 2002b; Pelli et al., 2004; Poder, Wagemans, 2007; Popple et al., 2006; Strasburger et al., 2011). Модель Wolford (1975) была разработана для объяснения источников ошибок в случаях кратковременного предъявления букв в разных частях поля зрения при условии предоставления наблюдателем полного отчета и предполагает смешивание признаков на фиксированных расстояниях между объектами. Модель избирательного внимания Treisman и Gelade (Treisman, Gelade, 1980) является более общей и может применяться к более широким классам объектов и сенсорных измерений и не ограничивает зону интеграции признаков, которая определяется условиями эксперимента. В отличие от Волфорда, Тризман и Геладе связывают смешивание признаков с вниманием.

*Краудинг-эффект и внимание.* Согласно модели Тризман и соавт. (Treisman, Gelade, 1980; Treisman, Gormican, 1988), критическая зона, в которой происходит смешивание признаков, не имеет заранее установленного размера, а зависит от экспериментальной процедуры и типа стимулов, определяется тем, куда направлено внимание. В некоторых работах показано (см. Pelli, Palomares, Majaj, 2004), что влияние дополнительных объектов в краудинг-эффекте сказывается на больших расстояниях, чем 0.5 эксцентриситета. Pelli и соавт. (Pelli et al., 2004) связали увеличенные зоны с влиянием внимания, так как в этих исследованиях от наблюдателя требовалось представить отчет сразу о нескольких зрительных объектах.

Ряд авторов предложили для объяснения краудинг-эффекта гипотезы, которые обра-

щаются непосредственно к пространственному вниманию. Одна из гипотез объясняет краудинг-эффект функционированием избирательного внимания. Шенг Хе и соавт. (He et al., 1996) вводят в рассмотрение такое понятие, как разрешение (или разрешающая способность) внимания, и предполагают, что при каждом эксцентриситете есть области определенного размера, соответствующие охвату избирательного внимания. Краудинг-эффект является результатом невозможности направить внимание на тестовый объект, если дистракторы предъявляются в пределах критического расстояния в этой области. Это влияние особенно выражено при периферическом предъявлении стимулов, где дополнительные зрительные объекты интерферируют с тестовым изображением, нарушая фокусировку внимания, необходимую для опознания стимула (Levi, 2008; Strasburger, 2005; Whitney, Levi, 2011). В результате может происходить как смешивание признаков объектов, так и их усреднение (Intriligator, Cavanagh, 2001; Parkes et al., 2001).

*Настоящее исследование.* Мы изучали влияние внимания на опознание периферических тестов в присутствии дополнительных объектов в случае простых зрительных сцен. Внимание перераспределялось с помощью различных инструкций. В одной серии наблюдателя просили опознать только стимул, предъявляемый на периферии вместе с дистрактором, в другой необходимо было опознать как тест, так и дистрактор. Первая задача — одинарная — классически используется при изучении краудинг-эффекта. Вторая — двойная — заставляла наблюдателя распределять внимание на все предъявляемые объекты. В качестве тестовых стимулов использовали кольца Ландольта большого размера и низкого контраста с разной ориентацией, а в качестве дистракторов — или аналогичные кольца Ландольта, или сплошные кольца без разрыва, отстоящие на различных расстояниях от теста вплоть до точки фиксации.

Цель предлагаемого исследования заключается в сравнении результатов выполнения одинарной и двойной задач при предъявлении одних и тех же тестовых стимулов в присутствии дистракторов. Сопоставление размеров зон взаимодействия между тестами и дистракторами, а также анализ ошибочных ответов при выполнении обеих задач позволяет предположить, как внимание влияет на опознание тестов в присутствии дистракто-

ров, а также сравнить нашу задачу с известным краудинг-эффектом и сделать выводы о роли внимания в механизмах краудинг-эффекта.

Ранее в нашем исследовании (Бондарко и др., 2018) мы также сравнивали выполнение одинарной и двойной задач, но в других условиях наблюдения. Дистракторы и тесты в половине случаев при большом расстоянии между ними предъявляли в разных полуполях зрения. Были получены схожие зависимости опознания в двух задачах. Максимальное ухудшение восприятия наблюдалось для дистракторов той же формы при минимальном и максимальном расстоянии между изображениями, близком к удвоенному эксцентриситету стимула. Последнее обстоятельство могло быть вызвано тем, что наблюдатель не мог точно определить, какое из двух изображений является тестом. Поэтому эту экспериментальную ситуацию нельзя было с полной уверенностью отнести к изучению краудинг-эффекта. В настоящем исследовании тесты и дистракторы предъявлялись в одном и том же полуполе зрения, а максимальное расстояние между ними было равно эксцентриситету теста. Для выполнения двойной задачи в условиях короткого предъявления и неопределенности места появления теста необходимо распределять внимание не только между тестом и дистракторами, но и на всю область возможного появления стимулов (см. Методику). Для выполнения одинарной задачи достаточно распределять внимание только между двумя положениями на экране, где может появиться тест. Близость полученных характеристик в обеих задачах свидетельствует об одинаковой роли внимания в их выполнении, а большее воздействие дистракторов, аналогичных по форме тестам, подтверждает справедливость модели Treisman и Gelade (Treisman, Gelade, 1980) о смещении признаков изображений в зоне внимания.

## МЕТОДИКА

*Наблюдатели.* В экспериментах приняли участие трое наблюдателей (S1, S2 и S3) с нормальной остротой зрения, не знакомых с целью исследования, но ранее участвовавших в подобных экспериментах (Бондарко и др., 2018). В анамнезе у них не было каких-либо офтальмологических и неврологических заболеваний, возраст участников от 50 до 60 лет. Исследование было одобрено Эти-

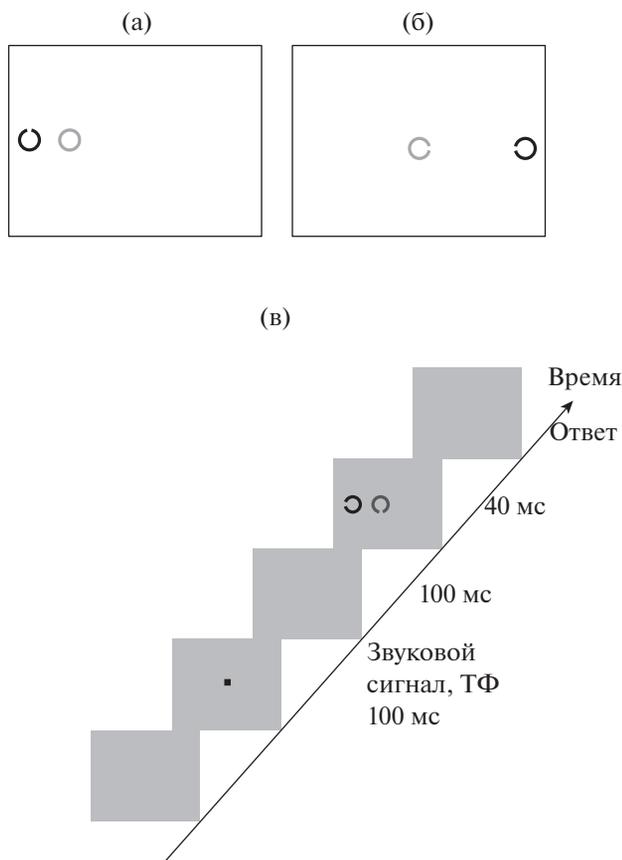
ческим комитетом СПбГУ. Наблюдатели дали письменное согласие на участие в экспериментах и опубликование их данных.

*Аппаратура.* Стимулы предъявляли на экране монитора Diamond Plus 230SB с размером экрана 22", разрешением 1024 × 768 пикселей, частотой вертикальной развертки 100 Гц. Для калибровки монитора применяли фотометр JETI. Яркость экрана была равна 40 кд/м<sup>2</sup>.

*Стимулы.* В качестве тестов использовали стандартные кольца Ландольта низкого контраста с разрывом в четырех ориентациях (справа, слева, внизу и вверху, рис. 1). Толщина линий и величина разрыва равнялись 1/5 диаметра кольца, равного 1.5 угл. град. Дистракторами были или аналогичные кольца Ландольта, или сплошные кольца без разрыва такого же размера. Стимулы предъявлялись случайным образом справа или слева от точки фиксации (ТФ), находящейся в центре экрана. Расстояние от ТФ до тестов равнялось 13.2 угл. град. Дистракторы были расположены между тестом и точкой фиксации и предъявлялись одновременно с тестом. Минимальное расстояние между центрами тестов и дистракторов равнялось 2.2 угл. град., максимальное – 13.2 угл. град., шаг изменения расстояний был равен 2.2 угл. град. При расстоянии 13.2 угл. град. дистрактор находился в центре экрана.

Для выравнивания видимости тестов и дистракторов в предварительных экспериментах для всех наблюдателей определяли индивидуальную контрастную чувствительность для разных эксцентриситетов при фиксированном размере стимула величиной 1.5 угл. град. (см. (Бондарко и др., 2014)). Для измерения контрастных порогов применяли процедуру четырехальтернативного вынужденного выбора и метода лестницы 3:1, что соответствует уровню 79.4% правильных ответов на психометрической функции (Wetherill, Levitt, 1965). В основных сериях экспериментов контраст для каждого эксцентриситета на промежуточных расстояниях (где пороги не были измерены) находили, используя линейную аппроксимацию. Тест и дистракторы предъявлялись с контрастом в 1.2 раза выше порогового уровня, потому что в присутствии дистракторов при пороговых контрастах ответы наблюдателей были случайными.

*Процедура.* Наблюдателю была дана инструкция смотреть в центр экрана, где на 100 мс



**Рис. 1.** Примеры изображений, использованных в исследовании. (а) – тестовое кольцо Ландольта расположено слева от точки фиксации (ТФ), правее него – дистрактор – кольцо без разрыва с более низким контрастом; (б) – тестовое кольцо Ландольта справа от ТФ, а в центре экрана – дистрактор в виде кольца Ландольта меньшего контраста. (в) – последовательность смены изображений во времени. На рисунках контрасты и размеры изображений показаны схематично.

**Fig. 1.** Examples of the stimuli used in study. (а) – The test Landolt C is located to the left from the fixation point (FP) with a flanking ring of the lower contrast. (б) – The test Landolt C is located to the right from fixation with a flanking Landolt C of the lower contrast. (в) – The time sequence of the stimuli presentation. In the figures, the contrasts and sizes of the images are shown schematically.

появлялась ТФ вместе со звуковым сигналом. Через 100 мс после исчезновения ТФ появлялись стимулы. Время предъявления стимулов составляло 40 мс. Движения глаз не контролировались, но при такой короткой экспозиции наблюдатели не успевали переводить взор на тест. Они не могли это сделать и заранее, поскольку тест появлялся случайным образом справа или слева от ТФ. Ритм появле-

ния изображений на экране задавал сам наблюдатель: после его ответа следующее предъявление осуществлялось через 1 с. Стимуляция была бинокулярной с расстояния 57 см до экрана. При таком расстоянии размер экрана был равен  $39 \times 29$  угл. град.

Тесты и дистракторы в виде колец Ландольта предъявляли псевдослучайным образом, чтобы обеспечить одинаковое количество предъявлений в каждой из четырех ориентаций при разных шести расстояниях. В таком же количестве в качестве дистракторов появлялись и кольца без разрыва. Изолированное тестовое кольцо Ландольта предъявляли столько же раз, как и тестовое кольцо с дистракторами при фиксированных расстояниях. Таким образом, в одном опыте было  $2 \times 2 \times 4 \times 4 \times 7 = 448$  предъявлений стимулов (2 полуполя зрения, 2 дистрактора,  $4 \times 4$  пар ориентаций, 6 расстояний и изолированный тест).

Проведено две серии экспериментов, которые отличались инструкцией наблюдателю. Инструкция предназначалась для изменения распределения внимания в поле зрения во время выполнения основной задачи. В первой серии наблюдатель определял только ориентацию теста, для ответа нажимая на клавиатуре одну из четырех клавиш-стрелок. Во второй серии наблюдатель после ответа на тест давал также ответ на дистрактор: отмечал наличие или отсутствие в нем разрыва. Для ответа использовал клавиши “0” и “1” клавиатуры (отсутствует или присутствует разрыв). Применяли метод вынужденного выбора, ответ “не знаю” разрешен не был. Эксперименты первой и второй серий проводили в случайном порядке в один и тот же день.

Каждый наблюдатель выполнил не менее 20 повторений каждой серии в разные экспериментальные дни. В работе приведены суммарные данные по 20 экспериментам в каждой серии, что соответствует 640 ( $20 \times 4 \times 4 \times 2$ ) предъявлениям теста без дистрактора и с дистрактором в каждом его положении справа или слева от ТФ.

#### Обработка результатов

Достоверность различий и влияние различных факторов на восприятие оценивали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием пакета SPSS. В статье будут приведены, главным образом, только те ре-

зультаты дисперсионного анализа, при которых наблюдались достоверные зависимости от параметров.

Зоны взаимодействия между тестом и дистракторами определяли несколькими способами, которые приняты в литературе для определения размеров зон.

(1) Размеры зон вычисляли посредством попарного сравнения вероятностей различения ориентации теста, предъявляемого без дистрактора и с дистрактором на разных расстояниях (Flom et al., 1963; Danilova, Bondarko, 2007; Ehrt, Hess, 2005, Siderov et al., 2013). За размер зоны брали максимальное расстояние до дистракторов, при котором было достоверное различие вероятности опознания по сравнению с вероятностью опознания изолированного теста, используя критерий Стьюдента в виде *post-hoc* анализа с поправкой Бонферрони.

(2) По экспериментальным данным строили нормированные психометрические функции, аппроксимировали их нормальным распределением и вычисляли аргумент функции на уровне вероятности 0.9 (Tripathy, Cavanagh, 2002; Tripathy et al., 2014). Нормировка производится посредством линейного преобразования вероятностей: за 1 берется вероятность опознания теста без дистрактора, а за 0 – случайный уровень правильных ответов, в нашем случае равный 0.25, т.е. пересчитанная вероятность  $p_{new}$  для каждого расстояния до дистрактора вычислялась как:

$$p_{new} = (p_{old} - 0.25)/(p_{is} - 0.25),$$

где  $p_{old}$  – старая вероятность, а  $p_{is}$  – вероятность правильных ответов на изолированный стимул.

(3) Экспериментально полученные вероятности аппроксимировали функциями Вейбулла (Strasburger, 2005; Albonico et al., 2018) вида:

$$W(x) = a + (1 - a - b)(1 - \exp(-(x/c)^d)),$$

где  $a$  – уровень случайного гадания (в нашем случае параметр был равен 0.25),  $b$  – уровень ошибочных ответов, не связанных со стимулом,  $c$  – значение порога на психометрической функции,  $d$  – наклон психометрической функции. Размер зоны определяли как расстояние, при котором вероятность соответствует уровню 0.9 вероятности опознания изолированного теста.

*Ошибки смешиваемости.* Кроме размера критических зон, в пределах которых дистракторы ухудшают опознание формы теста, также анализировали ошибки смешиваемости. Этот параметр показывает распределение ошибок опознания в зависимости от задачи и от расстояния между тестом и дистрактором. Для каждого расстояния были рассчитаны вероятности тех ошибок идентификации ориентации теста, при которой наблюдатель называл ориентацию дистрактора. Вероятности рассчитывали как отношение таких ошибок к общему количеству ошибок для данного расстояния при использовании в качестве дистракторов колец Ландольта. Для оценки достоверности применяли метод  $\chi^2$ . Такой анализ позволил высказать предположение о механизмах взаимодействия между объектами.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для анализа данных использовали дисперсионный анализ ANOVA (SPSS) с факторами “полуполе зрения”, “тип дистрактора”, “тип задачи”, “расстояние между тестом и дистрактором”, “наблюдатель” с поправкой Greenhouse-Geisser. Поправка вводится при нарушении однородности ковариационной матрицы, что устанавливается при выполнении теста сферичности Маучли. В этом случае корректируется число степеней свободы при использовании стандартного F-теста. После введения поправки приведенные в результатах ANOVA степени свободы не всегда являются целыми числами. Фактор “полуполе” не был значимым у всех трех наблюдателей, и только у одного из них было выявлено взаимодействие между факторами “расстояние” и “полуполе зрения”. Поэтому мы усреднили данные для левого и правого полуполей и оперировали далее с усредненными данными. Сначала проанализируем одинарную и двойную задачи по отдельности.

*Одинарная задача.* Размер зоны взаимодействия. Дисперсионный анализ ANOVA с факторами “расстояние”, “дистрактор” и “наблюдатель” показал, что для всех наблюдателей фактор “расстояние” значим (S1:  $F[5.085] = 20.628$ ,  $p < 0.001$ ; S2:  $F[5.226] = 38.74$ ,  $p < 0.001$ ; S3:  $F[4.533] = 217.373$ ,  $p < 0.001$ ).

На рис. 2 (а) показана усредненная по всем наблюдателям вероятность правильных ответов при определении ориентации кольца Ландольта в зависимости от расстояния меж-

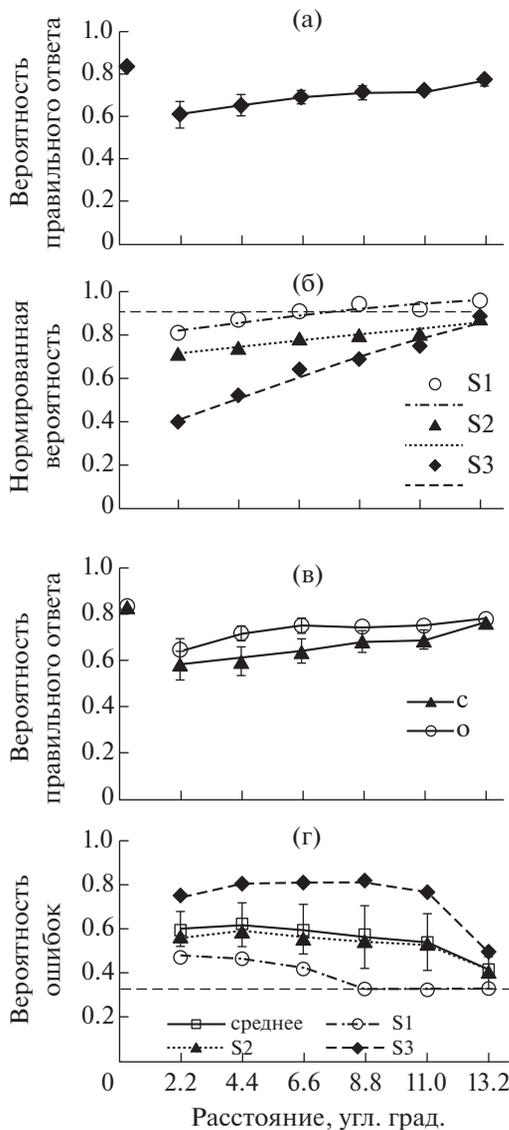
ду тестом и дистракторами суммарно для двух типов дистракторов. Мы не приводим отдельные кривые, так как они сильно пере-

крываются, что отражают незначительные стандартные ошибки средних значений. Отдельная точка слева – вероятность опознания изолированного кольца Ландольта. Максимальное ухудшение опознания у всех наблюдателей выявлено при наименьшем расстоянии, затем с увеличением расстояния опознание улучшается.

Размер зон взаимодействия определяли тремя способами (см. Методику).

Для суммарных ответов для двух типов дистракторов *post hoc* анализ, являющийся аналогом *t*-теста Стьюдента, при попарном сравнении вероятностей у всех наблюдателей на всех расстояниях показал достоверную разницу между вероятностями опознания теста в присутствии дистракторов и вероятностью опознания изолированного теста. Заметим, что мы использовали большое количество предъявлений (1280 на каждом расстоянии после суммиции ответов на предъявление стимулов в правом и левом полуполях зрения), что делало разницу даже в 4–6% значимой на уровне  $p = 0.05$ . При использовании *t*-теста Стьюдента размер зон превышает эксцентриситет теста (13.2 угл. град.) у всех наблюдателей.

Вычисленные нормированные вероятности правильных ответов были использованы для построения психометрических функций, которые аппроксимировали функциями нормального распределения методом наименьших квадратов (рис. 2 (б)). Полученные приближения оказались приемлемыми ( $R^2$  в пределах 0.91–0.98 у разных наблюдателей). Индивидуальные нормированные вероятности и приближение их функциями нормального распределения (рис. 2 (б)) отличаются у



**Рис. 2.** Результаты выполнения одинарной задачи. Ось абсцисс – расстояние между центрами тестов и дистракторов. (а) – вероятность суммарных правильных ответов на тесты для обоих типов дистракторов. Левые точки – вероятность опознания изолированных тестов. (б) – нормированная вероятность правильных ответов и приближение зависимостей нормальными распределениями у наблюдателей S1, S2 и S3. Горизонтальная линия – уровень вероятности 0.9. (в) – вероятность правильных ответов отдельно при дистракторах – кольцах Ландольта (треугольники) или кольцах без разрыва (окружности). (г) – вероятность ошибок, когда наблюдатель (S1 – окружности, S2 – треугольники, S3 – ромбы) сообщал ориентацию дистрактора. Сплошная линия – усредненные ошибки. Штрихованная линия – уровень случайных ответов ( $p = 0.33$ ). Вертикальные отрезки на графиках – стандартные ошибки средних значений.

**Fig. 2.** Results of the single task. The abscissa shows separation between the centers of the tests and the distractors. (а) – Probabilities of correct responses for both types of distractors. (б) – normalized probabilities of correct responses and fitting with normal distribution for observers S1, S2 and S3. Horizontal line – probability level 0.9. (в) – Probabilities of correct responses separately for Landolt Cs (triangles) or full rings (circles) distractors. The left points are probabilities of correct responses for isolated tests. (г) – Probabilities of nonrandom errors. Individual dash-dotted lines show individual performances: S1 (circles), S2 (triangles) and S3 (diamonds). The solid line represents the average data. The horizontal dashed line shows random level ( $p = 0.33$ ). The error bars represent SEM based on intersubject variability.

разных наблюдателей, что связано с различием в вариабельности вероятностей правильного опознания теста у отдельных наблюдателей (см. ANOVA). В литературе принято определять размер зоны взаимодействия как расстояние между тестом и дистракторами, при котором уровень вероятности нормированного нормального распределения достигает величины 0.9, что соответствует снижению вероятности опознания на 10% по сравнению с изолированным тестом. В нашем случае уровень 0.9 достигается только у наблюдателя S1 при расстоянии 7.7 угл. град. У наблюдателей S2 и S3 функция не достигает этого уровня даже при максимальном расстоянии, равном эксцентриситету стимула.

При аппроксимации психометрических кривых функцией Вейбулла приближения также были хорошие ( $R^2$  от 0.93 до 0.99), а размер зоны взаимодействия, как и в предыдущем случае, можно определить также только у одного наблюдателя S1, для которого зона составляет 3.96 угл. град. У остальных наблюдателей кривые не достигали величины 0.9 от уровня опознания изолированного теста.

*Одинарная задача. Форма дистракторов.* Отдельно были проанализированы данные для разных дистракторов. На рис. 2 (в) приведены усредненные вероятности правильных ответов трех наблюдателей в зависимости от расстояния для колец Ландольта (треугольники) и колец без разрыва (окружности). ANOVA показал, что для всех наблюдателей фактор “расстояние” значим для колец Ландольта (S1:  $F[4.261] = 17.22$ ,  $p < 0.001$ ; S2:  $F[5.183] = 33.577$ ,  $p < 0.001$ ; S3:  $F[5.04] = 158.509$ ,  $p < 0.001$ ) и для колец без разрыва (S1:  $F[5.198] = 7.772$ ,  $p < 0.001$ ; S2:  $F[4.909] = 12.304$ ,  $p < 0.001$ ; S3:  $F[4.054] = 88.945$ ,  $p < 0.001$ ). У всех наблюдателей были схожие зависимости: кольца Ландольта сильнее ухудшали опознание, чем кольца без разрыва, вероятности правильного опознания при этих дистракторах были меньше (рис. 2 (в)). Разница была достоверной у двух наблюдателей (S2:  $F[1] = 96.733$ ,  $p < 0.001$ ; S3:  $F[1] = 296.846$ ,  $p < 0.001$ ) и недостоверной у S1 ( $F[1] = 3.252$ ,  $p = 0.079$ ). Взаимодействие между факторами “расстояние” и “дистрактор” было значимым у всех наблюдателей (S1:  $F[4.774, 1] = 2.482$ ,  $p = 0.036$ ; S2:  $F[4.268, 1] = 9.41$ ,  $p < 0.001$ ; S3:  $F[4.636, 1] = 19.84$ ,  $p < 0.001$ ), что демонстрирует отличающийся наклон кривых для разных дистракторов (рис. 2 (в)). Таким образом, дистракторы той

же формы, что и тесты, оказывают более сильное влияние на опознание.

Post hoc анализ показал, что у двух наблюдателей (S2 и S3) наличие дистрактора независимо от его типа достоверно ухудшило опознание теста при всех расстояниях. У S1 для обоих типов дистракторов значимое ухудшение было обнаружено на расстояниях 11 угл. град.

Нормализованные психометрические функции для случаев присутствия разных дистракторов у каждого наблюдателя были практически параллельны функциям, приведенным на рис. 2 (б), с той лишь разницей, что если дистракторами были кольца Ландольта, то они шли ниже, чем в случае колец без разрыва. Нормализованные вероятности пересекли уровень 0.9 при дистракторах — кольцах Ландольта у наблюдателя S1 при аргументе 8.8 угл. град., а при сплошных кольцах — 6.6 угл. град., у наблюдателя S3 — при 12 угл. град. только для дистракторов — колец без разрыва. Во всех остальных случаях функции нормального распределения не достигали уровня 0.9 даже при максимальном расстоянии. Заметим, что средняя величина между 6.6 и 8.8 угл. град. равна 7.7 угл. град. — зона взаимодействия, выявленная при подсчете суммарных данных для обоих типов дистракторов у наблюдателя S1.

При использовании функции Вейбулла для дистракторов — колец Ландольта размер зоны возможно было определить только у наблюдателя S1: 5.17 угл. град. Для дистракторов — колец без разрыва размер зоны у наблюдателя S1 равен 2.77 угл. град., у S2 и S3 — 2.73 и 11.25 угл. град. соответственно. Существенное расхождение в размерах зон взаимодействия у наблюдателя S2 вызвано большой разницей в вероятностях правильных ответов в присутствии разных дистракторов и формой зависимости процента правильных ответов от расстояния: в случае колец без разрыва у этого наблюдателя кривая выходит на плато при малых расстояниях.

Таким образом, размер зоны взаимодействия зависит от применяемого метода анализа данных. При использовании нормального распределения для оценки размера зон при дистракторах в виде колец без разрыва размер зоны взаимодействия у наблюдателя S1 оказался равным ровно половине эксцентриситета. В случае аппроксимации данных распределением Вейбулла у этого же наблю-

дателя размер зоны был еще меньше. Для наблюдателя S2 при аппроксимации нормальным распределением размер зон определить невозможно для обоих типов дистракторов, тогда как при аппроксимации функцией Вейбулла зону определить невозможно только для дистракторов – колец Ландольта. Во всех остальных случаях полученный размер зоны взаимодействия превышает размер, определенный Боума (Booma, 1970) как половина эксцентриситета теста.

Хотя форма кольца без разрыва очень похожа на форму кольца Ландольта, тем не менее мы получили достоверные различия (рис. 2 (в)) в уровне опознания при использовании этих двух дистракторов, подтверждая предыдущие исследования (Bernard, Chung, 2011; Kooi et al., 1994; Treisman, 1991). Однако о разнице в размерах зон взаимодействия строго говорить невозможно, так как их размеры не всегда были определены, поскольку ухудшение опознания наблюдалось практически у всех наблюдателей для всего исследованного диапазона расстояний между тестом и дистрактором.

*Одинарная задача. Ошибки опознания.* В случае дистракторов в виде кольца Ландольта были проанализированы неправильные ответы. Для каждого расстояния мы рассчитали вероятность случаев, когда наблюдатели идентифицировали ориентацию теста как ориентацию дистрактора, как отношение таких ошибок к общему количеству ошибок. Результат показан на рис. 2 (г), на котором представлены индивидуальные данные и их среднее. Для кольца Ландольта с четырьмя возможными ориентациями вероятность случайной ошибки равна 1/3. Для двух наблюдателей, S2 и S3, кривые идут выше случайного уровня при всех расстояниях. Это подтвердил и критерий  $\chi^2$  на уровне  $p = 0.05$ . Наблюдатель S1 допускал такие ошибки только при небольших расстояниях до середины тестируемого диапазона. Бернанд и Чанг (Bernard, Chung, 2011) также обнаружили неслучайные ошибки, но они исследовали только одно небольшое расстояние. В отличие от вероятности правильных ответов, неслучайные ошибки более вариабельны. Однако все наблюдатели демонстрировали одинаковую тенденцию (рис. 2 (г)): число неслучайных ошибок уменьшалось с увеличением расстояния до дистракторов. Поэтому на рис. 2 (г) показана также и усредненная зависимость по данным отдельных наблюдате-

лей. Вариабельность может быть связана с тем, что в случае неопределенности наблюдатели использовали разные стратегии. Отметим, что неслучайных ошибок больше у наблюдателей S2 и S3, которые хуже опознают тест в присутствии дистракторов (ср. рис. 2 (б) и рис. 2 (г)).

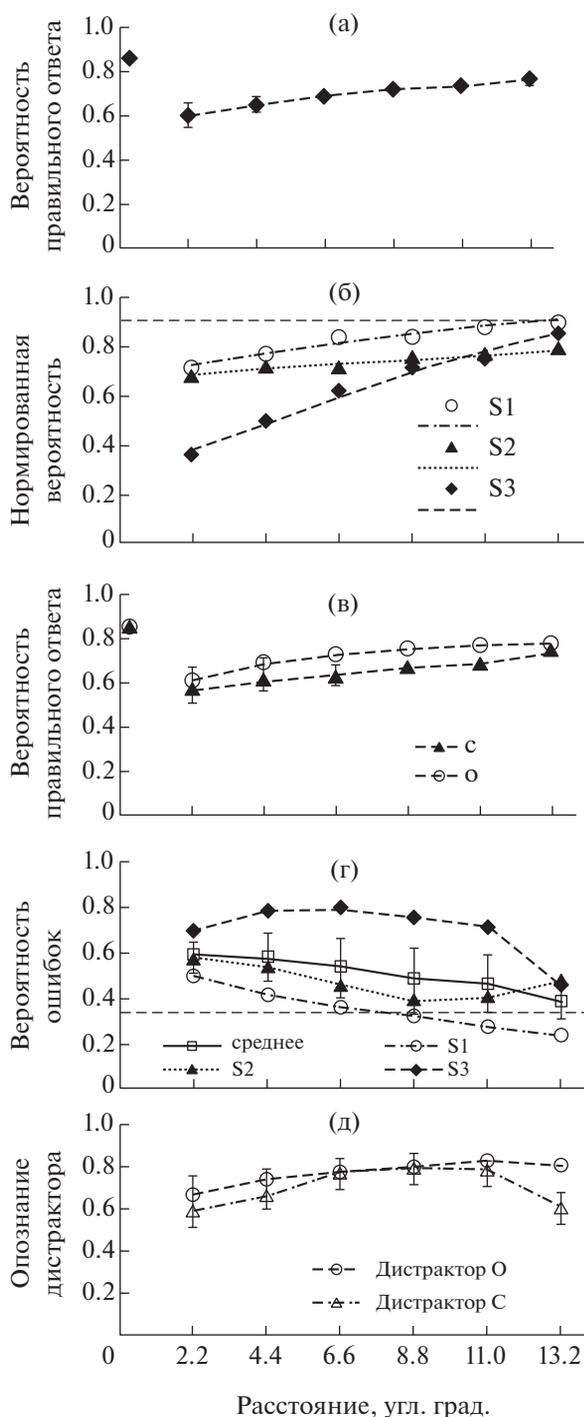
*Подведем итог для одинарной задачи.*

1) При использовании трех разных способов определения размера зон взаимодействия (критерий Стьюдента, аппроксимация нормальным распределением и функцией Вейбулла) у наблюдателей было выявлено ухудшение практически на всех расстояниях до дистракторов, а критическая зона взаимодействия превышала 0.5 эксцентриситета стимула (Booma, 1970). 2) Дистрактор в виде кольца Ландольта имел более сильный тормозный эффект, чем кольцо без разрыва, что выражалось в меньшей вероятности опознания на одних и тех же расстояниях между тестом и дистрактором. 3) Ошибки опознания не были случайными на всех расстояниях у двух наблюдателей (S2 и S3) и только до половины диапазона у третьего наблюдателя.

*Двойная задача. Размер зоны взаимодействия.* На рис. 3 показаны результаты второй серии эксперимента, в которой наблюдатели должны были опознать не только тест, но и форму дистрактора: наличие или отсутствие в нем разрыва. Рисунок аналогичен рис. 2 за небольшим исключением: на рис. 3 (д) приведены дополнительные графики, показывающие вероятность правильной идентификации формы дистракторов – колец Ландольта или колец без разрыва.

В двойной задаче, как и в одинарной, вероятность правильных ответов возрастает с увеличением расстояния. ANOVA показал, что для всех наблюдателей фактор “расстояние” значим как для обоих дистракторов (S1:  $F[5.147] = 44.17, p < 0.001$ ; S2:  $F[4.759] = 56.825, p < 0.001$ ; S3:  $F[4.987] = 322.432, p < 0.001$ ), так и отдельно для дистрактора – кольца Ландольта (S1:  $F[4.853] = 21.199, p < 0.001$ , S2:  $F[5.223] = 43.274, p < 0.001$ , S3:  $F[4.83] = 196.687, p < 0.001$ ) и кольца без разрыва (S1:  $F[4.909] = 26.878, p < 0.001$ ; S2:  $F[5.113] = 20.164, p < 0.001$ ; S3:  $F[4.844] = 154.086, p < 0.001$ ). Зависимости вероятностей правильных ответов на тест показаны на рис. 3 (а–в). Фактор “дистрактор”, как и в одинарной задаче, был значимым у двух наблюдателей из трех (S1:  $F[1] = 0.86, p = 0.36$ , S2:  $F[1] = 98.423, p < 0.001$ ; S3:  $F[1] = 318.305, p < 0.001$ ). Взаи-

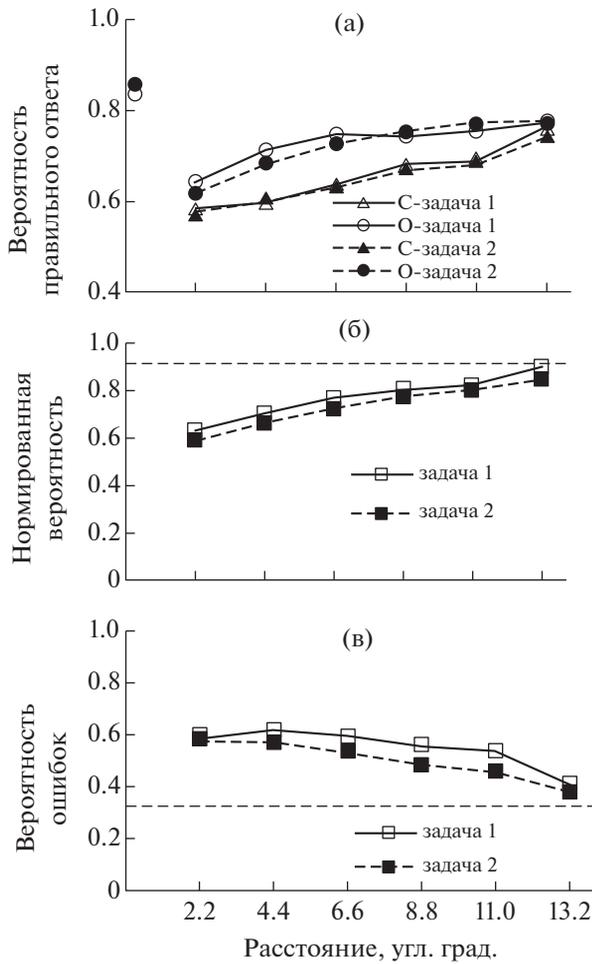
модействие между факторами “расстояние” и “дистрактор” было значимым у наблюдателей S2 ( $F[4.549, 1] = 6.716, p < 0.001$ ) и S3 ( $F[4.179, 1] = 23.815, p < 0.001$ ) и не значимым у S1 ( $F[4.612, 1] = 1.236, p = 0.296$ ). На рис. 3 (в) две кривые вероятностей не параллельны, что и отражает взаимодействие.



*Двойная задача. Форма дистракторов.* Применение трех способов определения размера критических зон, так же как и в случае одинарной задачи, привело к схожим результатам. Post hoc для парных сравнений показал, что различия в вероятностях правильной идентификации тестового кольца Ландольта практически такие же, как в одинарной задаче: при рассмотрении суммы ответов в присутствии обоих дистракторов ухудшение опознания достоверно для всех наблюдателей на всех расстояниях. Для дистракторов – колец без разрыва у S1 зона взаимодействия простирается до 11 угл. град., а у S2 и S3 при максимальном расстоянии разница в вероятностях достоверно ниже вероятности на изолированный стимул. Приближение данных нормальными распределениями ( $R^2$  от 0.94 до 0.98) определило зоны взаимодействия только у наблюдателя S1 в случае обоих дистракторов – 12.6 угл. град. У остальных наблюдателей размер зон определить невозможно. При дистракторах – кольцах Ландольта у S1 зона равна 13.0 угл. град., у S2 и S3

**Рис. 3.** Результаты выполнения двойной задачи. (а) – вероятность правильных ответов для обоих типов дистракторов (усреднены данные трех наблюдателей). (б) – нормированная вероятность правильных ответов и приближение зависимостей нормальными распределениями у наблюдателей S1, S2 и S3. (в) – вероятность правильных ответов на тест при дистракторах в виде колец Ландольта (треугольники) и колец без разрыва (окружности). (г) – вероятность ошибок, когда наблюдатели сообщали об ориентации дистрактора. Индивидуальные неслучайные ошибки у S1 (окружности), S2 (треугольники) и у S3 (ромбы), усредненные ошибки – сплошная линия (квадраты). (д) – вероятность правильного ответа на дистракторы в виде колец Ландольта (треугольники) и колец без разрыва (окружности). Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

**Fig. 3.** Results of the dual task. (a) – Probabilities of correct responses for both types of distractors (average for data of three observers). (б) – normalized probability of correct responses and fitting with normal distributions for observers S1, S2 and S3. (в) – Probabilities of correct responses separately for distracting Landolt Cs (triangles) and rings (circles). (г) – Probabilities of nonrandom errors. Individual dash-dotted lines show individual performances: S1 (circles), S2 (triangles) and S3 (diamonds). The solid line represents the average data. (д) – Probability of correct responses separately for Cs (triangles) and rings (circles) distractors. The error bars represent SEM. The other symbols are the same as in Fig. 2.



**Рис. 4.** Сравнение одинарной и двойной задач. Ось абсцисс – расстояние между центрами теста и дистрактора. (а) – вероятности правильных ответов в одинарной (сплошная линия) и двойной (штрихованная линия) задачах при предъявлении дистракторов – колец Ландольта (треугольники) и колец без разрыва (окружности). (б) – нормированная вероятность правильных ответов для обоих типов дистракторов в одинарной (сплошная линия) и двойной (штрихованная линия) задачах. (в) – вероятность неслучайных ошибок в одинарной (сплошная линия) и двойной (штрихованная линия) задачах. Горизонтальные штрихованные линии – уровни вероятностей, равные 0.9 (б) и 0.33 (в).

**Fig. 4.** Comparison of the single and dual tasks. The abscissa is the separation between the centers of the tests and the distractors. (a) – Probabilities of correct responses in the single (solid line) and the dual (dashed line) tasks for the Landolt Cs (triangles) and the ring (circles) distractors. (б) – normalized probability of correct responses in the single (solid line) and the dual (dashed line) tasks. (в) – Nonrandom errors in the single (solid line) and the dual (dashed line) tasks. Horizontal dashed lines are probability levels equal to 0.9 (б) and 0.33 (в).

больше 13.2 угл. град., при дистракторах – кольцах без разрыва у S1 и S3 зоны оказались равными 11 угл. град.

Аппроксимация функцией Вейбулла ( $R^2$  от 0.95 до 0.98) показала размер зоны 8.8 угл. град. у наблюдателя S1 в случае присутствия обоих дистракторов. У других наблюдателей функции не достигали уровня 0.9. У наблюдателя S1 размер зоны для дистракторов – колец Ландольта составлял 9.5 угл. град., а для дистракторов – колец без разрыва – 8.36 угл. град. У наблюдателя S2 размер зон определить невозможно для обоих типов дистракторов, а у наблюдателя S3 размер зоны был определен только для дистракторов в виде колец без разрыва и составил 10.83 угл. град.

*Двойная задача. Ошибки опознания.* Как и в одинарной задаче, мы проанализировали ошибки, допущенные при наличии дистракторов – колец Ландольта в двойной задаче. Результат представлен на рис. 3 (г), где показана вероятность тех случаев, когда наблюдатели сообщили об ориентации дистрактора вместо ориентации теста. Горизонтальная пунктирная линия показывает уровень случайных ошибок, равный 1/3. Здесь приведены как индивидуальные данные, так и их среднее. Все наблюдатели делали меньше неслучайных ошибок в этом эксперименте. Как и в случае одинарной задачи, вероятности выше случайного уровня для наблюдателей S2 и S3. Для наблюдателя S1 ошибки не случайны только при самых малых расстояниях. Количество ошибок уменьшается с увеличением расстояния и достигает случайного уровня. Вариабельность между данными наблюдателей в одинарной и в двойной задаче аналогичная.

На рис. 3 (д) показаны усредненные вероятности правильной идентификации формы дистракторов отдельно для дистракторов – колец Ландольта (треугольники) и колец без разрыва (окружности). Вероятность опознания дистракторов – колец Ландольта ниже, чем колец без разрыва. Для дистракторов – колец Ландольта вероятности представляют инвертированную U-образную функцию, а для колец без разрыва вероятности увеличиваются с расстоянием и выходят на плато. Горизонтальная линия показывает уровень случайных ответов, равный 1/2. Для обоих типов дистракторов вероятность правильного опознания выше случайного уровня.

*Проанализировав данные, полученные в двойной задаче, мы обнаружили их сходство с результатами одинарной задачи:* 1) у всех наблюдателей ухудшение выявляется практически на всех расстояниях до дистракторов, 2) дистракторы в виде колец Ландольта имеют более сильный тормозный эффект, 3) ошибки опознания не случайны в большинстве случаев. Ниже проведено непосредственное сопоставление данных, полученных в одинарной и двойной задачах.

*Сравнение одинарной и двойной задач.* На рис. 4 сравниваются результаты двух экспериментов. На рис. 4 (а) показаны вероятности правильной идентификации теста в одинарной и двойной задачах отдельно для каждого типа дистракторов. Визуально различий в выполнении двух задач не заметно. ANOVA с факторами “наблюдатель”, “задача”, “расстояние” подтвердил отсутствие достоверной разницы между одинарной и двойной задачами:  $F[1] = 0.1, p = 0.754$ . Фактор “наблюдатель” был значимым ( $F[1.411] = 24.486, p < 0.001$ ), как и фактор “расстояние” ( $F[5.125] = 452.21, p < 0.001$ ). Кроме того, оказалось значимым взаимодействие между факторами “задача” и “расстояние”, что отражает факт несколько разных зависимостей от расстояния в двух задачах.

Для случаев, когда дистракторами были кольца Ландольта, на рис. 4 (в) сравнивается вероятность неправильных ответов, когда наблюдатель сообщал об ориентации дистрактора вместо ориентации теста. В двойной задаче частота таких ошибок ниже, чем в одинарной задаче. Результат неудивителен, поскольку в этой задаче наблюдатель был вынужден обращать внимание и на дистрактор. Парное сравнение вероятностей случайных ошибок (18 пар – трое наблюдателей и 6 расстояний) с помощью критерия знаков показало значимую разницу между вероятностями ошибок в двух задачах ( $p < 0.01$ ). Таким образом, изменение распределения внимания не привело к большим различиям в опознании периферийного теста (рис. 4 (а)). Мы заключаем, что на периферии в условиях случайного предъявления теста слева или справа от ТФ дополнительная задача по опознанию дистрактора приводит, главным образом, только к уменьшению случайных ошибок (рис. 4 (в)).

*При сравнении одинарной и двойной задач мы получили, что для обоих типов задач и обоих типов дистракторов:* 1) Взаимодей-

ствия распространяются почти на все исследованные расстояния (до 11–13.2 угл. град.). Размер зоны взаимодействия зависит от применяемого метода анализа данных. 2) При аппроксимации данных нормальными распределениями и распределением Вейбулла зоны взаимодействия оказываются немного меньше в одинарной задаче. 3) Зоны взаимодействия различаются у разных наблюдателей. 4) Кольца без разрыва ухудшают опознание слабее, чем дистракторы – кольца Ландольта. 5) Дополнительная нагрузка на внимание в двойной задаче не оказала большого влияния на опознание теста. И в одинарной, и в двойной задачах наблюдатели должны контролировать все поле зрения, поскольку тестовый стимул мог появиться слева или справа от ТФ, и соответственно распределять внимание на всю область предъявления стимулов. 6) Неслучайных ошибок меньше в двойной задаче.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### *Сравнение одинарной и двойной задач*

В работе исследовали влияние механизмов внимания на опознание периферийных изображений, предъявляемых на короткое время в присутствии дистракторов справа и слева от ТФ на расстоянии 13.2 угл. град. Распределение внимания изменяли, используя разные инструкции при предъявлении одних и тех же зрительных стимулов. В одном эксперименте наблюдатель должен был выполнить одинарную задачу – сообщить об ориентации тестового кольца Ландольта. Эта задача традиционно относится к краудинг-эффекту. В другом эксперименте надо было определить ориентацию тестового кольца и форму дистрактора. Предполагалось, что вторая задача приведет к перераспределению внимания в поле зрения. В качестве дистракторов взяли аналогичные кольца Ландольта и кольца без разрыва, предъявляемые одновременно с тестами на различном расстоянии от них. Были получены близкие зависимости вероятности опознания теста от расстояния до дистрактора в обеих задачах. Вероятность правильных ответов в двойной задаче была немного ниже, чем в одинарной, но статистика не подтвердила достоверность такого снижения. Это может быть связано с тем, что второе задание было довольно легким: наблюдатели должны были только обнаружить наличие разрыва в дистракторе. В предварительных экспери-

ментах в качестве дистракторов использовали только кольца Ландольта и вторым заданием было определение ориентации дистрактора. В этом варианте двойной задачи вероятность правильных ответов на тест была практически случайной в присутствии дистракторов. Поэтому эксперимент был модифицирован и в качестве дистракторов были добавлены кольца без разрывов, а вторая задача состояла только в обнаружении разрыва у кольца.

Treisman (1969) утверждает, что когда наблюдатели дают несколько отчетов, степень ухудшения зависит от того, какие признаки анализируются, и от количества этих признаков. Дополнительная нагрузка на внимание в нашем исследовании привела к снижению нормированных вероятностей правильных ответов в двойной задаче (рис. 4 (б)) потому, что опознание изолированного теста в ней было лучше по сравнению с одинарной задачей (рис. 4 (а)). Это может говорить о перераспределении ресурсов внимания в ходе выполнения задач: если лучше опознается изолированный стимул, то хуже стимул с дистрактором, и наоборот.

Близость зависимостей процента правильных ответов от расстояния между тестом и дистрактором в одинарной и двойной задачах позволила подтвердить гипотезу о существенной роли внимания в краудинг-эффекте. В рамках нашей методики даже при выполнении одинарной задачи наблюдатель не мог сконцентрировать внимание на какой-то определенной области поля зрения, так как изображения появлялись случайным образом справа и слева относительно центра экрана. Особенно это справедливо для двойной задачи. Видимо, фактор внимания оказал существенное влияние и на размер зон взаимодействия как при выполнении одинарной, так и двойной задач.

#### *Зоны взаимодействия*

Зоны взаимодействия в обеих задачах, если рассматривать суммарные данные при предъявлении обоих типов дистракторов, возможно было определить только при приближении психометрических функций либо нормальным распределением, либо распределением Вейбулла у наблюдателя S1. У остальных наблюдателей даже при максимальном расстоянии до дистракторов ухудшение было достоверным, что не позволяло измерить зоны. При

использовании *t*-теста Стьюдента размеры зон были определены только в отдельных случаях. Применение критериев Стьюдента и хи-квадрат в настоящее время во многих случаях подвергают критике (Wasserstein, Lazar, 2016; Nuzzo, 2014), так как их достоверность существенно зависит от числа испытаний. В нашей работе из-за большого количества предъявления стимулов различие в вероятностях правильных ответов всего на 4–6% оказалось значимым. Эти методы не принято использовать в исследованиях по краудинг-эффекту, где число предъявлений, как правило, ограничено. Поэтому в настоящем исследовании мы также применили часто используемую для оценки размера зон в краудинг-эффекте процедуру: построение психометрических функций и аппроксимация их нормальным распределением и распределением Вейбулла. Результаты сравнили с теми, которые получили при использовании методов хи-квадрат и Стьюдента. Для одного наблюдателя, S1, все три метода дали возможность определить размеры зон взаимодействия практически во всех случаях. Для двух других наблюдателей все методы также дали схожие результаты: размер зон было возможно определить только в случае дистракторов – колец без разрыва как в одинарной, так и в двойной задаче. Однако абсолютные значения размеров были разные при использовании разных методов.

Возможно, что разница в оценках размеров зон у разных авторов возникает из-за того, что во всех методах происходит сравнение вероятностей ответов в присутствии дистракторов с ответами на изолированный стимул, но при этом берется как разный критический уровень, так и разная форма аппроксимирующей функции. Психометрические функции принято приближать нормальным распределением. На этом основан Пробит-анализ (Урбах, 1975). Распределение Вейбулла часто используют в исследованиях по изучению внимания и краудинг-эффекта, поэтому мы также его применили при аппроксимации данных. В отличие от нормального распределения распределение Вейбулла имеет больше параметров, за счет этого можно точнее приблизить экспериментальные зависимости. Какой функцией лучше аппроксимировать данные – вопрос спорный. Четкого обоснования использования того или иного метода оценки в литературе мы не обнаружили. Некоторые исследователи также используют для ап-

проксимации психометрической функции экспоненту (Albonico et al., 2018; Scolari et al., 2007), поскольку при значительном изменении параметров психометрическая функция выходит на плато, которое соотносят с асимптотой экспоненты.

Выбор абсцисс нормального распределения и функции Вейбулла на уровне вероятности 0.9 как оценки размера зоны является довольно условным. (Заметим, что уровень 0.9 был применен не к экспериментально полученным, а к нормированным вероятностям.) При использовании критерия Стьюдента нами была взята стандартная доверительная вероятность 0.95. У одного наблюдателя, S1, зоны оказались меньше при приближении ответов нормальным распределением и распределением Вейбулла, но вероятность опознания изолированного стимула достоверно была выше вероятностей теста с дистракторами вплоть до предпоследнего расстояния, равного 11 угл. град. Поэтому мы полагаем, что полученный нами результат свидетельствует о том, что взаимодействие распространяется практически на весь диапазон предъявления дистракторов в обеих задачах. Необходимо отметить, что индивидуальные различия в размерах зон у отдельных наблюдателей выявлены и другими исследователями, занимающимися изучением краудинг-эффекта (Petrov, Meleshkevich, 2011; Kooi et al., 1994). Таким образом, можно заключить, что размер области взаимодействия в краудинг-эффекте в зависимости от условий эксперимента и метода анализа данных может быть существенно больше пределов, предложенных Боума (Booma, 1970) и принятых в современной литературе как половина эксцентриситета тестового стимула.

Полученные расхождения можно объяснить влиянием разных факторов. В отличие от других исследований мы использовали очень схожие тестовые и дополнительные изображения, малое время предъявления стимулов и выровненный по степени видимости в зависимости от эксцентриситета контраст изображений. Уменьшение времени экспозиции приводит к увеличению размеров зон взаимодействия (Lev, Polat, 2015; Tripathy, Cavanagh, 2002; Tripathy et al., 2014), а близкие по форме дистракторы сильнее ухудшают опознание теста (Bernard, Chung, 2011; Kooi et al., 1994; Manassi et al., 2012). На размер зон влияет и контраст изображений (Kooi, et al., 1994; Chung et al., 2001; Siderov et al., 2013).

Сопоставление полученных оценок показало, что разница в размерах зон может быть связана и с используемым критерием.

Ранее нами (Бондарко и др., 2014) были использованы аналогичные условия наблюдения для определения размеров зон взаимодействия посредством использования критерия хи-квадрат, но не проводился анализ как правильных, так и ошибочных ответов отдельно для дистракторов различной формы. Между тем такой анализ позволяет высказать предположения о механизмах взаимодействия между объектами.

#### *Сравнение с механизмами краудинг-эффекта*

В настоящем исследовании было выявлено более сильное ухудшение опознания теста при использовании аналогичных по форме дистракторов в обеих задачах. Кроме того, ошибки опознания в большинстве случаев не были случайными: наблюдатели при определении ориентации теста часто называли ориентацию дистрактора. Такой результат свидетельствует в пользу смешивания признаков между тестами и дистракторами. По полученным данным трудно отдать предпочтение какой-либо из перечисленных ранее гипотез. Пространственная замена теста дистракторами (Strasburger et al., 1991; 2011), усреднение признаков (Parkes, et al., 2001) и неадекватная интеграция признаков изображений (Pelli et al., 2004) приводят к тому, что наблюдатели могут путать тест с дистрактором. К аналогичному выводу пришли Freeman и соавт. (2012) и Hanus и Vul (2013), рассмотревшие модели, реализующие эти гипотезы. Более того, Agaoglu и Chung (2016) считают, что невозможно описать все результаты краудинг-эффекта одной моделью из-за большого разнообразия данных.

Недавно Harrison и Vex (Harrison, Vex, 2015, 2017) предложили модель, которая учитывает сумму ответов ориентированных рецептивных полей (РП) нейронов первичной зрительной коры. Вклад ответа отдельного нейрона берется с весом, уменьшающимся экспоненциально по мере удаления РП от теста. Экспоненциальное распределение характерно для избирательного внимания (Eckstein et al., 2004; Gandhi et al., 1999; Kelly et al., 2008).

*Интеграционная модель избирательного внимания*

Две самые распространенные модели краудинг-эффекта — замена теста дистракторами и усреднение признаков — неявно включают механизм избирательного внимания. Интеграционная модель избирательного внимания Treisman и Gelade (1980) также учитывает смешивание признаков тестов и дистракторов. Однако в этой модели признаки интегрируются в зависимости от внимания к объектам, а не от их пространственной близости. В наших экспериментах влияние дистракторов сказывается на всем промежутке их предъявления и дистракторы в виде кольца Ландольта сильнее ухудшают восприятие. Кроме того, в двойной задаче хуже опознается дистрактор — кольцо Ландольта, чем кольцо без разрыва (рис. 3 (д)). Кривая зависимости опознания дистрактора — кольца Ландольта от расстояния имеет колоколообразную форму, характерную для зависимостей распределения избирательного внимания (Muller et al., 2005). Вероятности опознания дистракторов выше случайного уровня на всем промежутке их предъявления. Таким образом, мы полагаем, что в наших условиях наблюдения область взаимодействия охватывает всю область предъявления стимулов, соответствующую области избирательного внимания, и не зависит от задачи, поскольку в одинарной и двойной задачах мы получили схожие результаты. Аналогичные данные были нами получены ранее (Бондарко и др., 2018) для тех же стимулов, когда дистракторы предъявляли на больших расстояниях — в том же или в противоположном полуполе зрения по отношению к тестам. Влияние дистракторов распространялось на все расстояния до них, диапазон которых составлял около двух эксцентриситетов, а дистракторы — кольца Ландольта сильнее ухудшали опознание. В двойной задаче кривая зависимости опознания дистрактора — кольца Ландольта от расстояния также была колоколообразной, как и в настоящем исследовании. При этом максимум вероятности опознания дистрактора — кольца Ландольта — также приходился на середину промежутка возможного расположения дистракторов, в данном случае на центр поля зрения. Тем самым результаты двух наших исследований удовлетворяют модели Treisman и Gelade (1980). Pöder и Wagemans (2007) также полагают, что их данные по изучению краудинг-эффекта хорошо описываются этой моделью.

*Ограничения исследования*

В настоящем исследовании рассмотрены данные только трех наблюдателей. При проведении длительных психофизических экспериментов это распространенная практика. В классической работе Боума (Booma, 1970), опубликованной в журнале *Nature*, приведены данные только самого автора. Поэтому сделанные нами обобщения не являются чем-то исключительным, тем более что они подтверждены данными наших предыдущих исследований. При проведении экспериментов мы не регистрировали движения глаз, поскольку при кратковременном предъявлении стимулов слева или справа от точки фиксации наблюдатель не мог перевести взор или направить свое внимание на определенную зону зрительного поля. Даже при предъявлении изображений в одном и том же участке поля зрения на периферии в экспериментах по изучению краудинг-эффекта одни исследователи регистрируют движения глаз, например, (Agaoglu, Chung, 2016; Chanceaux et al., 2014), а другие нет, даже при значительно больших длительностях предъявления стимулов (Tripathy et al., 2014). В недавнем исследовании (Raveendran et al., 2020) показано, что движения глаз при кратковременном предъявлении стимулов не сказываются на оценке размеров зон взаимодействия в краудинг-эффекте. Регистрация движений глаз и вызванных потенциалов — распространенные методики по изучению внимания (Бабенко и др., 2020; Бойцова и др., 2020; Константинова и др., 2018; Костандов и др., 2010; Мачинская, 2003; Сайфулина и др., 2019). При появлении стимула на периферии происходит сдвиг произвольного внимания по направлению к стимулу, может наблюдаться саккада. Мы предполагаем, что краудинг-эффект на периферии может возникать, в частности, из-за взаимодействия произвольного и произвольного внимания. Близкой точки зрения придерживаются и другие исследователи (Pöder, 2006, 2012). Некоторые авторы отмечают и связь краудинг-эффекта на периферии с возникновением саккад (Nandy, Tjan, 2012; Harrison et al., 2013).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В обеих задачах выявлено ухудшение восприятия периферийных стимулов на всех расстояниях между тестами и дистракторами в диапазоне, равном эксцентриситету теста.

Опознавание теста в двойной задаче оказалось аналогичным опознанию в одинарной задаче, что предполагает одинаковое распределение внимания в обеих задачах и подтверждает гипотезу о существенной роли внимания в краудинг-эффекте. Дистракторы одинаковой формы с тестом сильнее ухудшили восприятие. Более сильный эффект дистракторов одинаковой формы и не случайные ошибки в опознании свидетельствуют в пользу модели избирательного внимания и интеграции признаков Treisman и Gelade (1980), поскольку размер зоны взаимодействия охватывает всю область предъявления стимулов и в ней происходит смешивание признаков теста и дистракторов. На точную оценку размера зоны взаимодействия существенно влияет метод определения зоны, а также, возможно, условия проведения экспериментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 гг. (ГП-14, раздел 63).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бабенко В.В., Явна Д.В., Родионов Е.Г. Вклад различных пространственных модуляций градиентов яркости в управление зрительным вниманием. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 2020. 70 (2): 182–192.
- Бойцова Ю.А., Данько С.Г., Соловьева М.Л. ЭЭГ-корреляты целенаправленного и нецеленаправленного ментального внимания при нестационарном режиме исследования. *Физиол. чел.* 2020. 46 (2): 5–12.
- Бондарко В.М., Данилова М.В., Солнушкин С.Д., Чихман В.Н. Оценка размера зоны краудинг-эффекта при периферийном предъявлении стимулов. *Физиол. чел.* 2014. 40М (3): 13–21.
- Бондарко В.М., Данилова М.В., Солнушкин С.Д., Чихман В.Н. Различение ориентации изображений в присутствии дистракторов. *Физиол. чел.* 2018. 44 (4): 1–10.
- Константинова М.В., Анисимов В.Н., Терещенко Л.В., Латанов А.В. Связь зрительного внимания и субъективного восприятия времени. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 2018. 68 (5): 582–588.
- Костандов Э.А., Фарбер Д.А., Мачинская Р.И., Черемушкин Е.А., Петренко Н.Е., Ашкинази М.Л. Пространственная синхронизация корковой электрической активности на отдельных стадиях зрительной установки у детей 8-летнего возраста с разным уровнем развития фронто-таламической системы избирательного внимания. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 2010. 60 (1): 3–11.
- Мачинская Р.И. Нейрофизиологические механизмы произвольного внимания (Аналитический обзор). *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 2003. 53 (2): 133–150.
- Сайфулина К.Э., Лазарев И.Е., Чернышева Е.Г., Чернышев Б.В. Связывание признаков в зрительной модальности зависит от внимания: анализ негативности рассогласования. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 2019. 69 (1): 37–50.
- Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М.: Медицина, 1975. 297 с.
- Agaoglu M.N., Chung S.T.L. Can (should) theories of crowding be unified? *J. Vision*. 2016. 16 (15): 1–15.
- Albonico A., Martelli M., Bricolo E., Frasson E., Daini R. Focusing and orienting spatial attention differently modulate crowding in central and peripheral vision. *J. Vision*. 2018. 18 (3): 1–17.
- Bernard J.B., Chung S.T.L. The dependence of crowding on flanker complexity and target–flanker similarity. *J. Vision*. 2011. 11 (8): 1–16.
- Bouma H. Interaction effects in parafoveal letter recognition. *Nature*. 1970. 226 (5241): 177–178.
- Chanceaux M., Mathôt S., Grainger J. Effects of number, complexity, and familiarity of flankers on crowded letter identification. *J. Vision*. 2014. 14 (6): 1–17.
- Chung S.T.L., Levi D.M., Legge G.E. Spatial-frequency and contrast properties of crowding. *Vis. Res.* 2001. 41: 1833–1850.
- Danilova M.V., Bondarko V.M. Foveal contour interactions and crowding effects. *J. Vision*. 2007. 7 (2): 1–18.
- Eckstein M.P., Pham B., Shimozaki S.S. The footprints of visual attention during search with 100% valid and 100% invalid cues. *Vis. Res.* 2004. 44: 1193–1207.
- Ehrt O., Hess R. Foveal contour interaction: detection and discrimination. *J. Opt. Soc. Am. A*. 2005. 22 (2): 209–216.
- Flom M.C. Contour interaction and the crowding effect. *Problems in Optometry*. 1991. 3 (2): 237–257.
- Flom M.C., Weymouth F.W., Kahneman D. Visual resolution and contour interaction. *J. Opt. Soc. Am.* 1963. 53 (9): 1026–1032.
- Freeman J., Chakravarthi R., Pelli D.G. Substitution and pooling in crowding. *Atten. Percept. Psychophys.* 2012. 74: 379–396.
- Gandhi S.P., Heeger D.J., Boynton G.M. Spatial attention affects brain activity in human primary visual cortex. *Proc. NAS*. 1999. 96: 3314–3319.
- Hanus D., Vul E. Quantifying error distributions in crowding. *J. Vision*. 2013. 13 (4): 1–27.

- Harrison W.J., Bex P.J.* A unifying model of orientation crowding in peripheral vision. *Current Biology*. 2015. 25: 3213–3219.
- Harrison W.J., Bex P.J.* Visual crowding is a combination of an increase of positional uncertainty, source confusion, and featural averaging. *Sci. Rep.* 2017. 7 (45551): 1–9.
- Harrison W.J., Mattingley J.B., Remington R.W.* Eye movement targets are released from visual crowding. *J. Neurosci.* 2013. 33: 2927–2933.
- He S., Cavanagh P., Intriligator J.* Attentional resolution and the locus of visual awareness. *Nature*. 1996. 383 (6598): 334–337.
- Huckauf A., Heller D.* Spatial selection in peripheral letter recognition: in search of boundary conditions. *Acta Psychologica*. 2002a. 111: 101–123.
- Huckauf A., Heller D.* What various kinds of errors tell us about lateral masking effects. *Visual Cognition*. 2002b. 9: 889–910.
- Intriligator J., Cavanagh P.* The spatial resolution of visual attention. *Cognitive Psychology*. 2001. 43 (3): 171–216.
- Kelly S. P., Gomez-Ramirez M., Foxe J. J.* Spatial attention modulates initial afferent activity in human primary visual cortex. *Cerebral Cortex*. 2008. 18: 2629–2636.
- Kooi F. L., Toet A., Tripathy S.P., Levi D.M.* The effect of similarity and duration on spatial interaction in peripheral vision. *Spatial Vision*. 1994. 8 (2): 255–279.
- Lev M., Polat U.* Space and time in masking and crowding. *J. Vision*. 2015. 15 (13): 1–25.
- Levi D.M.* Crowding—An essential bottleneck for object recognition: A mini-review. *Vis. Res.* 2008. 48: 635–654.
- Manassi M., Sayim B., Herzog M.H.* Grouping, pooling, and when bigger is better in visual crowding. *J. Vision*. 2012. 12 (10): 1–15.
- Manassi M., Whitney D.* Multi-level crowding and the paradox of object recognition in clutter. *Current Biology*. 2018. 28: R127–R133.
- Muller N.G., Mollenhauer M., Rosler A., Kleinschmidt A.* The attentional field has a Mexican hat distribution. *Vis. Res.* 2005. 45: 1129–1137.
- Nandy A.S., Tjan B.S.* Saccade-confounded image statistics explain visual crowding. *Nat. Neurosci.* 2012. 15: 463–469.
- Nuzzo R.* Scientific method: Statistical errors. *Nature*. 2014. 506: 105–152.
- Parkes L., Lund J., Angelucci A., Solomon J.A., Morgan M.J.* Compulsory averaging of crowded orientation signals in human vision. *Nature Neurosci.* 2001. 4 (7): 739–744.
- Pelli D.G., Palomares M., Majaj N.J.* Crowding is unlike ordinary masking: distinguishing feature detection and integration. *J. Vision*. 2004. 4: 1136–1169.
- Pelli D.G., Tillman K.A.* The uncrowded window of object recognition. *Nature Neurosci.* 2008. 11: 1129–1135.
- Petrov Y., Meleshkevich O.* Asymmetries and idiosyncratic hot spots in crowding. *Vis. Res.* 2011. 51: 1117–1123.
- Pöder E.* Crowding, feature integration, and two kinds of “attention”. *J. Vision*. 2006. 6 (2): 1–15.
- Pöder E.* On the rules of integration of crowded orientation signals. *i-Perception*. 2012. 3: 440–454.
- Pöder E., Wagemans J.* Crowding with conjunctions of simple features. *J. Vision*. 2007. 7 (2): 1–22.
- Popple A.V., Petrov Y., Levi D.M.* Two sources of error in pop-out localization. *Vis. Res.* 2006. 46: 293–298.
- Sayim B., Wagemans J.* Appearance changes and error characteristics in crowding revealed by drawings. *J. Vision*. 2017. 17 (11): 1–16.
- Scolari M., Kohnen A., Barton B., Awh E.* Spatial attention, preview, and popout: Which factors influence critical spacing in crowded displays? *J. Vision*. 2007. 7 (2): 1–23.
- Siderov J., Waugh S.J., Bedell H. E.* Foveal contour interaction for low contrast acuity targets. *Vis. Res.* 2013. 77: 10–13.
- Strasburger H.* Unfocussed spatial attention underlies the crowding effect in indirect form vision. *J. Vision*. 2005. 5 (11): 1024–1037.
- Strasburger H.* Seven myths on crowding. *Peer J Preprints*. 2019. e27353v4: 1–47.
- Strasburger H., Harvey L.O., Rentschler I.* Contrast thresholds for identification of numeric characters in direct and eccentric view. *Percept. Psychophys.* 1991. 49 (6): 495–508.
- Strasburger H., Rentschler I., Jüttner M.* Peripheral vision and pattern recognition: A review. *J. Vision*. 2011. 11 (5): 1–45.
- Raveendran R.N., Krishnan A.K., Thompson B.* Reduced fixation stability induced by peripheral viewing does not contribute to crowding. *J. Vision*. 2020. 20 (10): 1–13.
- Treisman A.M.* Strategies and models of selective attention. *Psychol. Rev.* 1969. 76, 282–299.
- Treisman A.M.* Search, similarity, and integration of features between and within dimensions. *J. Exp. Psychol.: Human Percept. Perform.* 1991. 17: 652–676.
- Treisman A.M., Gelade G.* A feature-integration theory of attention. *Cognitive Psychol.* 1980. 12: 97–136.
- Treisman A.M., Gormican S.* Feature analysis in early vision: evidence from search asymmetries. *Psychol. Rev.* 1988. 95 (1): 15–48.
- Tripathy S.P., Cavanagh P.* The extent of crowding in peripheral vision does not scale with target size. *Vis. Res.* 2002. 42 (20): 2357–2369.

- Tripathy S.P., Cavanagh P., Bedell H.E.* Large crowding zones in peripheral vision for briefly presented stimuli. *J. Vision.* 2014. 14 (6): 11, 1–11.
- Wasserstein R.L., Lazar N.A.* The ASA's statement on p-values: context, process, and purpose, *The American Statistician.* 2016. online.
- Wetherill G.B., Levitt H.* Sequential estimation of points on a psychometric function. *Br. J. Mathematical and Statistical Psychol.* 1965. 18: 1–10.
- Whitney D., Levi D.M.* Visual crowding: a fundamental limit on conscious perception and object recognition. *Trends in Cognitive Sci.* 2011. 15: 160–168.
- Wolford G.* Perturbation model for letter identification. *Psychol. Rev.* 1975. 82 (3): 184–199.
- Yildirim F.Z., Coates D.R., Sayim B.* Redundancy masking: The loss of repeated items in crowded peripheral vision. *J. Vision.* 2020. 20 (4): 1–20.

## THE ROLE OF ATTENTION IN RECOGNITION OF PERIPHERAL STIMULI IN SINGLE AND DUAL TASKS

V. M. Bondarko<sup>a,#</sup>, M. V. Danilova<sup>a</sup>, S. D. Solnushkin<sup>a</sup>, and V. N. Chikhman<sup>a</sup>

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

<sup>#</sup> *e-mail: vmbond@gmail.com*

In two series of psychophysical experiments we studied how attention influences recognition of peripheral objects in the presence of distractors. The contribution of attention was estimated by comparing single and dual tasks. The tests were low contrast Landolt Cs (1.5 deg in diameter) in four orientations which were presented for 40 ms randomly to the left or to the right from fixation at the eccentricity of 13.2 deg. The distractors were either identical Landolt Cs or full rings of the same dimensions at different separations from the test. The distractors were placed between the fixation point and the peripheral test, spatial separation between their centers varied from 2.2 to 13.2 ang.deg. The same observers performed two tasks. In the single task the observer was required to report orientation of the test while in the dual task, in addition, the shape of distractor was also estimated. Compared to the isolated test, recognition performance was impaired at all separations in both tasks. Landolt C distractors had stronger influence than the ring distractors. The analysis of incorrect responses showed that in most cases the observers reported the orientation of the distractor. Further, but not significant, deterioration in the dual task compared to the single task provides evidence that similar spread of attention contributes to performance even in the single task. Non-random confusion errors and stronger influence of distractors having the same shape as tests favours hypothesis Treisman and Gelade (1980) about integration of features between tests and distractors in attention area.

*Keywords:* recognition, attention, periphery, dual task, crowding-effect, Landolt Cs, orientation discrimination

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

УДК 612.821.8

**ОСОБЕННОСТИ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ ЭЭГ  
ПРИ ВОСПРИЯТИИ БЫСТРЫХ И МЕДЛЕННЫХ ПОГЛАЖИВАНИЙ:  
ОТВЕТ РАСПОЗНАЮЩЕЙ И ЭМОЦИОНАЛЬНОЙ  
СИСТЕМ МЕХАНОРЕЦЕПЦИИ**

© 2021 г. А. А. Варламов<sup>1,2,\*</sup>, М. А. Иванова<sup>1</sup>, И. В. Скороходов<sup>2</sup>,  
А. Н. Семиреченко<sup>1</sup>, Г. В. Портнова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Лаборатория когнитивных и коммуникативных исследований, Государственный институт русского языка им. А.С. Пушкина, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *АНО «Центр реабилитации инвалидов детства «Наш солнечный мир», Москва, Россия*

<sup>3</sup> *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, Москва, Россия*

*\*e-mail: antonvarlamov@gmail.com*

Поступила в редакцию 27.10.2020 г.

После доработки 10.12.2020 г.

Принята к публикации 02.03.2021 г.

За последние 25 лет было убедительно показано, что у человека существует несколько независимых систем кожной механорецепции. Наиболее изучена распознающая система тактильного восприятия, объединяющая кожные механорецепторы, иннервированные быстрыми миелинизированными афферентами типа Аβ, и предоставляющая подробную информацию о месте контакта и характере стимула. Относительно недавно была открыта эмоциональная С-тактильная система, обеспечивающая безусловные положительные эмоции в ответ на нежные медленные прикосновения. Динамика электрического ответа коры на афферентацию от С-тактильной системы почти не изучена, а существующих данных недостаточно для разграничения компонентов вызванного ответа мозга, связанных с деятельностью Аβ- и С-тактильных систем. В данном пилотном исследовании был проведен анализ вызванных потенциалов ЭЭГ в ответ на быстрые (30 см/с) и медленные (5 см/с) поглаживания, осуществляемые роботизированной установкой. В исследовании приняли участие 13 взрослых испытуемых. Первые выделяемые в ответ на поглаживания компоненты ВП наблюдались во временном интервале 400–1800 мс по латеральным фронтальным и центральным отведениям; их амплитуда была выше для быстрых поглаживаний, что указывает на их связь с активностью Аβ-системы. Исключительно для медленных поглаживаний наблюдались комплекс Р2100–N2300, вероятно, связанный с реакцией Аβ-системы на прекращение стимуляции, и сверхпоздний положительный потенциал, предположительно связанный с ответом С-тактильной системы. Полученные результаты подтверждают наличие сверхпозднего положительного потенциала, показанного предшествующими исследованиями для медленных поглаживаний, и позволяют дифференцировать этот потенциал от других поздних компонентов ответа.

*Ключевые слова:* тактильное восприятие, социальные тактильные контакты, СТ-афференты, Аβ-афференты, ЭЭГ, вызванные потенциалы, сверхпоздний потенциал, off-ответ

DOI: 10.31857/S0044467721050117

Тактильное восприятие на сегодняшний день является одним из наиболее активно развивающихся направлений в нейробиологии сенсорных систем. Исследования последних десятилетий помогли установить, что у человека и большинства млекопитающих

существует несколько систем и подсистем кожной механорецепции, которые являются относительно независимыми как структурно, так и функционально. Эти системы включают в себя различные типы кожных высокочувствительных механорецепторов,

иннервированных различными типами миелинизированных или немиелинизированных афферентов, и характеризуются различными проводящими путями и различным представительством в коре головного мозга (для общего обзора см. (Abraira, Ginty, 2013; McGlone et al., 2014)). Наиболее изученной является распознающая (дискриминативная) система кожной механорецепции, оперативно предоставляющая нам информацию о форме и фактуре поверхности объектов, к которым прикасаемся мы или которые прикасаются к нам, а также о месте соприкосновения нашего тела с такими объектами. Эта система объединяет рецепторы различного типа (тельца Мейснера, диски Меркеля, тельца Паччини, тельца Руффини, комплексы (плексусы) волосяных фолликулов), иннервированные быстрыми миелинизированными волокнами типа А $\beta$  (Abraira, Ginty, 2013), которые передают информацию по трактам лемнисковой системы (заднестолбовому и спинно-цервикальному проводящим путям) в первичную соматосенсорную кору.

Сравнительно недавно была обнаружена другая система кожной механорецепции – С-тактильная система (C-tactile system, СТ-system). Она объединяет высокочувствительные рецепторы, иннервированные немиелинизированными волокнами типа С, которые далее передают информацию по спиноталамическому тракту в островковую кору (для обзора на русском языке см. (Варламов и др., 2019), см. также (Löken и др., 2009; McGlone et al., 2014)). С-тактильная система не предоставляет информацию о локализации места прикосновения или особенностях объекта (Olausson et al., 2008), но обеспечивает безусловные приятные эмоциональные ощущения в ответ на медленные прикосновения с умеренной силой воздействия. В отличие от нейронов распознающей А $\beta$ -системы, интенсивность ответа которых возрастает фактически линейно с увеличением скорости движения стимула по коже, зависимость ответа С-тактильных афферентов от скорости стимуляции имеет характер  $\cap$ -образной кривой: наибольшая интенсивность ответа наблюдается для скорости 1–10 см/с, а более низкая и более высокая скорость стимуляции вызывают существенно более слабый ответ афферентов, при этом стимулы, приводящие к наиболее интенсивному ответу афферента, описываются как наиболее приятные и на субъективном уровне (Löken et al., 2009). Еще

одно принципиальное различие между С-тактильной и А $\beta$ -тактильными системами заключается в плотности распределения рецепторов на разных участках тела, прежде всего, участков с гладкой (ладони, кончики пальцев) и волосистой кожей: А $\beta$ -тактильная система иннервирует и гладкую, и волосистую кожу человека, при этом средняя плотность ее рецепторов на гладкой коже значительно выше, чем на волосистой, что отражается на соматотопических картах (соматосенсорный гомункулус). В свою очередь, по полученным на сегодняшний день данным исследований с использованием микронейрографии, афферентные волокна С-тактильной системы иннервируют только волосистую кожу, но не ладони и внутреннюю сторону пальцев (Vallbo et al., 1999). Предполагается, что основная функция С-тактильной системы – обеспечивать эмоциональное подкрепление нежным прикосновениям и социальным тактильным контактам, способствуя, таким образом, укреплению эмоциональных и социальных связей в малых группах и в целом развитию социального поведения (McGlone et al., 2014; Olausson et al., 2010; Варламов и др., 2019). Различие между дискриминативным и эмоциональным тактильным восприятием возможно также рассмотреть в соответствии с классификацией Г. Хэда, разработанной еще в 20-х годах XX века: по этой классификации С-тактильная система обеспечивает протопатическую чувствительность, в отличие от А $\beta$ -тактильной системы, обеспечивающей различающую, эпикритическую чувствительность (Borhani et al., 2017).

Как уже упоминалось выше, информация от афферентов С-тактильной системы поступает по спиноталамическому тракту с первичной проекцией не в соматосенсорную, а в заднюю островковую кору, откуда передается в другие отделы лимбической и паралимбической системы, в первую очередь в переднюю часть поясной извилины, заднюю часть супратемпоральной борозды и медиальную префронтальную кору (Björnsdotter et al., 2009; Gordon et al., 2013; McGlone et al., 2014; Morrison et al., 2010). Большинство исследований, посвященных обработке информации от С-тактильной системы корой головного мозга, использовали нейрометаболические методы, в первую очередь функциональную магнитно-резонансную томографию (фМРТ). Это позволило с высокой точностью определить зоны, принимающие участие в обработ-

ке эмоциональных аспектов прикосновений, однако не позволяет полноценно оценить динамику корковой обработки информации, приходящей от СТ-афферентов, в связи с ограниченным временным разрешением фМРТ. При прикосновениях к волосистой коже происходит одновременная стимуляция рецепторов А $\beta$ -тактильной и С-тактильной систем, что в некоторой степени затрудняет интерпретацию получаемых данных. Более того, ряд исследований показали, что стимуляция ладони, иннервированной исключительно А $\beta$ -афферентами, также может приводить к активации островковой и орбитофронтальной коры (Francis et al., 1999; Rolls, 2004) и сопровождаться приятными ощущениями (Krämer et al., 2007). В этой ситуации использование электроэнцефалографии (ЭЭГ), обеспечивающей значительно более высокое временное разрешение, и в особенности методов анализа вызванного электрофизиологического ответа мозга, позволило бы четко дифференцировать ответ коры на афферентацию быстрой А $\beta$ -тактильной и медленной С-тактильной систем. Несмотря на это, исследованиям вызванных изменений ЭЭГ при восприятии тактильных стимулов посвящено всего несколько статей.

В первую очередь следует отметить статью Р. Акерли и соавт. (Ackerley et al., 2013), показавшую, что при восприятии легких медленных поглаживаний предплечья мягкой кистью со скоростью от 2.3 до 4.5 см/с наблюдается сверхпоздний потенциал (ultra-late potential, ULP), предположительно связанный с афферентацией от С-тактильной системы. В этом исследовании использовалась технология роботизированной тактильной стимуляции (РТС), позволяющая предъявлять стимулы с контролируемой скоростью и силой воздействия (Essick et al., 2010; 1999), при этом для каждого стимула перед поглаживанием, в момент начала движения кисти по направлению к руке испытуемого, посылалась синхронизационная метка, позволившая обеспечить приемлемую точность синхронизации для получения средне- и позднелатентных компонентов вызванных потенциалов (ВП) и вызванных изменений ритмов (ВИР) ЭЭГ. Латентность наблюдавшихся компонентов ВП (от 700 мс) в значительной степени зависела от скорости стимуляции, что указывает на то, что эти компоненты могли быть связаны с ответом А $\beta$ -афферентов на динамические изменения силы воздействия и/или на

отрыв кисти от руки, а не с первичным ответом СТ-афферентов, скорость проведения стимула по которым не должна зависеть от скорости самого стимула. К сожалению, в этой работе не проводилось сравнение ответа ЭЭГ на медленные поглаживания, оптимальные для стимуляции СТ-афферентов, и на быстрые поглаживания, в меньшей степени активирующие С-тактильную систему и в большей — А $\beta$ -тактильную систему, что в определенной степени ограничивает возможность интерпретации полученных данных. Нам представляется, что без проведения дополнительных исследований невозможно однозначно связать продемонстрированные в этой работе компоненты ЭЭГ с активностью С-тактильной или А $\beta$ -тактильной систем. Кроме того, часть поздних компонентов может быть связана с ответом А $\beta$ -тактильной системы на прекращение стимуляции, так называемым off-ответом (off-response) (Хорунжий, 2014). Этот ответ достаточно хорошо описан для слуховой системы, как на уровне отдельных рецепторов (Ehret, Merzenich, 1988; Бибииков, 2005), так и на уровне когнитивных ВП на слуховые стимулы (Pantev et al., 1996); существование подобного ответа для соматосенсорных систем подтверждается результатами исследования К. Ямаширо и соавт. (Yamashiro et al., 2008), показавшего выраженные компоненты P100 и N140 на прекращение соматосенсорной стимуляции.

В другом исследовании, недавно опубликованном К. Хаггарти и соавт. (Haggarty et al., 2020), где проводилось прямое сравнение ЭЭГ-коррелятов восприятия поглаживаний со скоростью 3 и 30 см/с, было показано, что амплитуда средне- и позднелатентных (до 1000 мс) компонентов ВП значительно выше на быстрые, чем на медленные поглаживания, однако для медленных поглаживаний наблюдался сверхпоздний позитивный потенциал (3000–4000 мс), отсутствовавший для быстрых поглаживаний, при этом амплитуда этого сверхпозднего потенциала отрицательно коррелировала с выраженностью аутистических черт. В этой работе стимуляция осуществлялась вручную, что могло отрицательно отразиться на точности синхронизации и амплитуде среднелатентных компонентов ВП. Поскольку длительность предъявления медленного поглаживания составляла около 3 с, полученные данные также не позволяют однозначно исключить, что наблюдавшийся сверхпоздний потенциал был

связан с афферентацией от С-тактильной системы, а не ответом Аβ-тактильной системы на прекращение стимуляции. Нам представляется, что для получения однозначного ответа на вопрос, связан ли этот сверхпоздний потенциал с отрывом кисти от руки испытуемого, следует использовать стимулы, длительность предъявления которых будет заметно больше или заметно меньше, чем 3 с, что позволит разнести по времени момент прекращения тактильной стимуляции и момент, в который предположительный ответ С-тактильных афферентов будет достигать коры головного мозга. Необходимо также отметить, что и в исследовании Р. Акерли, и в исследовании К. Хаггарти испытуемым давалось задание определять редкие отклоняющиеся стимулы, в связи с чем на сенсорные и эмоциональные компоненты ВП могли накладываться когнитивные компоненты, связанные с принятием решения, является ли предъявляемый стимул отклоняющимся.

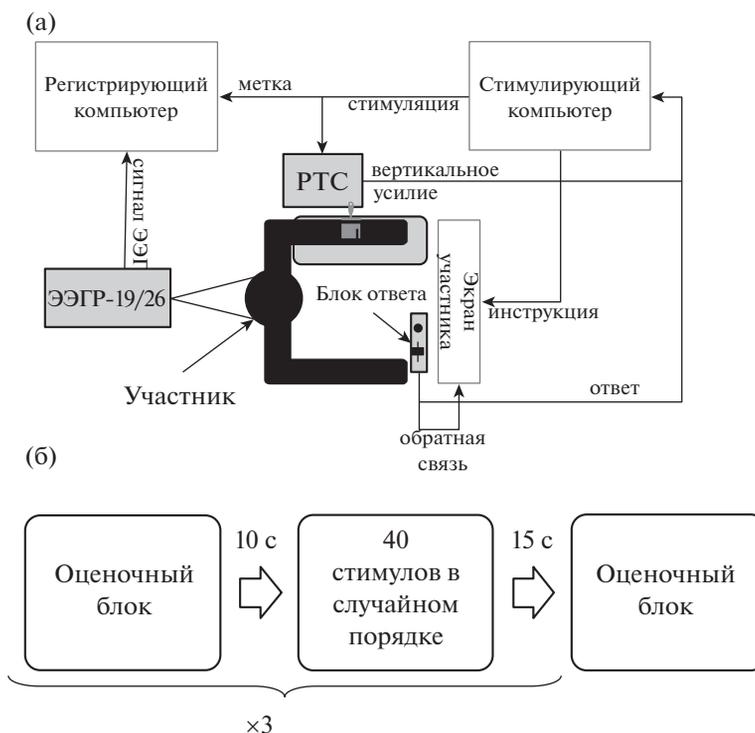
Наше исследование направлено на то, чтобы сравнить изменения вызванных потенциалов ЭЭГ на медленные и быстрые поглаживания в рамках экспериментальной схемы, позволяющей разграничить по времени момент прекращения тактильной стимуляции и момент поступления афферентации от С-тактильной системы, что позволит дать более однозначную интерпретацию происхождения сверхпоздних потенциалов. Для этого была разработана экспериментальная схема, в которой длительность медленных поглаживаний составляла 1.8 с. Для минимизации когнитивных компонентов ВП, которые могли бы повлиять на интерпретацию результатов, участникам исследования давалась инструкция просто прислушиваться к собственным сенсорным и эмоциональным ощущениям и не давалось задание на различение стимулов, связанное с необходимостью принятия какого бы то ни было решения. В соответствии с экспериментальной гипотезой ожидалось, что медленные поглаживания будут восприниматься как более приятные и менее возбуждающие по сравнению с быстрыми; при этом в ответ на медленные поглаживания будет наблюдаться более низкая амплитуда ранних компонентов ВП, соответствующих ответу Аβ-тактильной системы, но возможно появление более поздних компонентов ВП, связанных с реакцией Аβ-тактильной системы на прекращение тактильной стимуляции с предположительной латентностью 1900–

2500 мс, а также поздних компонентов ВП, связанных с обработкой афферентации от С-тактильной системы.

## МЕТОДИКА

*1. Испытуемые.* В исследовании приняли участие 13 здоровых испытуемых – правшей, из них 7 мужчин и 6 женщин, в возрасте от 20 до 49 лет (средний возраст 28.8 года, SD = 8.6 года). Испытуемые были предварительно ознакомлены с процедурой и дали письменное согласие на участие в исследовании. На проведение исследования было получено разрешение этического комитета Гос. ИРЯ им. А.С. Пушкина.

*2. Стимулы и экспериментальная процедура.* В ходе экспериментальной процедуры испытуемым предъявлялись тактильные стимулы в виде поглаживания кисточкой из искусственного беличьего меха по дорсальной поверхности левого предплечья. Стимуляция осуществлялась при помощи установки роботизированной ротационной тактильной стимуляции (РТС) Dancer Design (см., например, Ackerley et al., 2013), обеспечивающей возможность предъявления стимулов с заданными скоростью и силой воздействия. Стимулы предъявлялись с двумя различными скоростями (5 и 30 см/с) и равной силой (пиковое вертикальное усилие 0.8 Н) в псевдослучайном порядке. Испытуемые располагались на стуле с жесткой спинкой перед 21" монитором и справа от установки РТС, левая рука располагалась на вакуумной фиксирующей подушке, принимающей форму руки и обеспечивающей комфортное положение и минимизацию движений предплечья (рис. 1 (а)). Испытуемым предъявлялось четыре коротких блока стимулов по четыре стимула (по два стимула со скоростью 5 см/с и со скоростью 30 см/с) с заданием на оценку ощущений; в таких блоках испытуемый должен был оценивать каждое поглаживание по трем аналоговым шкалам: шкала знака эмоции (неприятно – приятно), шкала щекотки (не щекотно – щекотно) и шкала эмоциональной активации (спокоен – возбужден). Ответ на каждый вопрос давался при помощи блока ответа и вспомогательной шкалы, выводимой на экран испытуемого. Блок ответа представлял собой устройство, сочетающее ползунковый потенциометр и кнопку. Положение ползунка регистрировалось в диапазоне от 0 (до упора вниз) до 10 (до упора вверх) с



**Рис. 1.** Схематическое изображение положения испытуемого во время исследования (а) и общая схема экспериментальной процедуры (б).

**Fig. 1.** A diagram depicting the layout of the laboratory during the experiment (a) and the experimental scheme (b).

шагом 0.1. Испытуемому демонстрировалось положение метки на вспомогательной шкале, соответствующее положению ползунка. Установив метку в положение, соответствующее степени выраженности ощущения, испытуемый подтверждал свой выбор нажатием на кнопку. Испытуемые не были ограничены во времени при оценке своих ощущений, следующий стимул предъявлялся через 1500 мс после ответа на последний вопрос. Между этими короткими “оценочными” блоками предъявлялось три длинных блока стимулов (40 стимулов в каждом, при восприятии которых испытуемые должны были просто сидеть с закрытыми глазами и прислушиваться к собственным ощущениям. Интервал между блоками составлял 15 с перед началом блока с заданием и 10 с перед началом блока без задания. Схема эксперимента представлена на рис. 1 (б). Всего было предъявлено 136 стимулов, предъявление занимало около 20 мин.

**3. Регистрация ЭЭГ и предварительный анализ данных.** ЭЭГ регистрировали с использованием 26-канального усилителя “Энцефалан ЭЭГР 19/26” и 19-канальной шапочки с вставными Ag/AgCl электродами (положение

и обозначения электродов соответствовали международной схеме 10–20%). Для референтного отведения использовали объединенный мастоидальный электрод, заземляющий электрод располагался в центре лба, сопротивление электродов было не более 10 кОм. При предъявлении каждого стимула посылалась синхронизационная метка, соответствующая типу стимула, при этом роботизированная установка осуществляла регистрацию вертикального усилия на платформе, к которой крепилась стимулирующая насадка, с частотой дискретизации 500 Гц. По этим данным определялся момент реального касания предплечья стимулирующей кистью для каждого предъявления. По нашим оценкам, итоговая точность определения момента касания составляла 10–20 мс, что превышает точность предшествующих исследований (Ackerley et al., 2013; Haggarty et al., 2020). В качестве первого этапа обработки данных осуществлялась полосовая фильтрация (0.3 Гц–35 Гц). Окулографический артефакт удалялся с использованием метода независимых компонент, качество удаления артефакта проверялось экспертом и было устойчиво

высоким для всех испытуемых. Для каждого из двух анализируемых экспериментальных условий (быстрых и медленных поглаживаний) выделялись эпохи ЭЭГ, эпохи брались избыточной длины (от  $-2500$  до  $5500$  мс от начала предъявления стимула), чтобы исключить влияние краевых артефактов, связанных с фильтрацией и сглаживанием. После этого проводилось дополнительное исключение эпох с миографическими, двигательными и иными артефактами (число исключенных эпох по каждому экспериментальному условию составило не более 30% для каждого испытуемого). При анализе ВП коррекция базового уровня проводилась с использованием предстимульного интервала от  $-200$  до  $0$  мс. Для предварительного анализа данных ЭЭГ использовалось программное обеспечение Brainvision Analyser 2.2 и Matlab.

4. *Статистический анализ данных.* Временные окна компонентов ВП определялись на основании предварительного качественного анализа, после чего для каждого испытуемого были осуществлены определение и экспорт пиковой амплитуды (локальные максимальные или минимальные амплитуды для соответствующего временного интервала) (Luck, 2014) для следующих комплексов компонентов ВП:

а) комплекс, соответствующий первой реакции на касание кожи предплечья кистью: компоненты Р600 (временное окно 400–800 мс) и N900 (700–1600 мс);

б) комплекс, наблюдавшийся для медленных поглаживаний и предположительно соответствующий реакции на прекращение стимуляции (отрыв кисти от кожи предплечья): компоненты Р2100 (1900–2200 мс) и N2300 (2200–2600 мс).

Дополнительно определялась средняя амплитуда ультрапозднего положительного потенциала для временного окна в 3000–4000 мс.

Для оценки значимости различий для амплитуды каждого из компонентов ВП использовался многофакторный дисперсионный анализ ANOVA с повторными измерениями для отведений, по которым наблюдалась максимальная амплитуда для данного компонента; схемы соответствующих анализов ANOVA приведены в соответствующих разделах. Данные субъективного отчета анализировались отдельно для каждой шкалы с использованием факторов Экспериментальное условие (2)  $\times$  Блок (4). Сравнения post hoc

осуществлялись с использованием критерия Тьюки. Для коррекции значимости полученных результатов при проведении множественных сравнений использовалась поправка Бонферрони (для таких случаев приведенные ниже значения  $p$  приводятся уже после коррекции). При проведении статистических анализов использовалось программное обеспечение Statistica 12.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

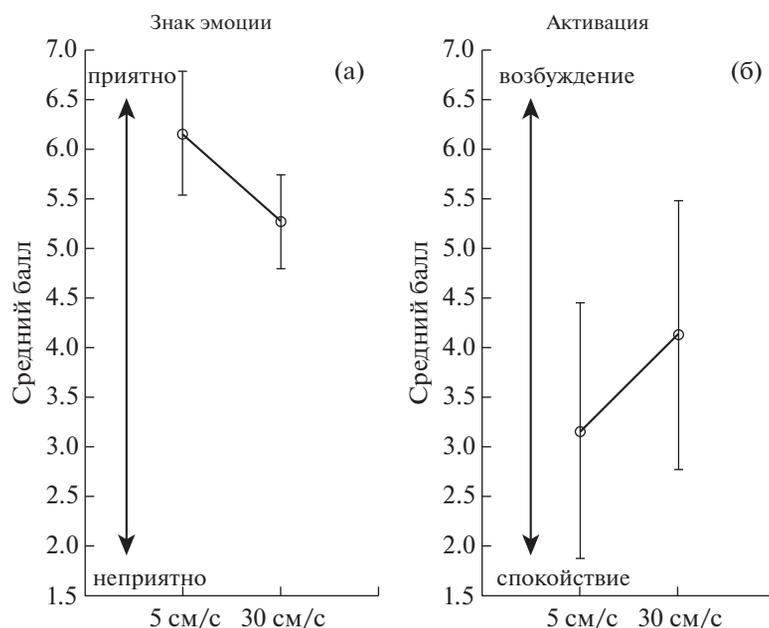
### 1. Субъективный отчет

Анализ данных субъективного отчета показал, что для шкалы знака эмоции наблюдался значимый эффект экспериментального условия ( $F(1, 12) = 11.73, p = 0.005$ ), свидетельствующий о том, что медленные поглаживания оценивались как более приятные по сравнению с быстрыми (см. рис. 2 (а)). Для шкалы эмоциональной активации также наблюдался значимый эффект экспериментального условия ( $F(1, 12) = 5.91, p = 0.031$ ), показавший, что быстрые поглаживания оценивались как более возбуждающие по сравнению с медленными (см. рис. 2 (б)). Для шкалы шекотки значимых различий получено не было.

### 2. Анализ данных ВП

Качественный анализ группового усреднения кривых вызванных потенциалов для экспериментальных условий показал, что в ответ на быстрые поглаживания наблюдался один выраженный комплекс компонентов ВП, Р600-N900, а в ответ на медленные поглаживания наблюдалось два комплекса компонентов ВП, Р600-N900 и Р2100-N2300 (см. рис. 3). Максимальная амплитуда этих компонентов наблюдалась по латеральным фронтальным (F3, F4) и передневисочным (F7, F8) отведениям, как для медленных, так и для быстрых поглаживаний. Кроме того, в интервале 3000–4000 мс в ответ на медленные поглаживания наблюдался сверхпоздний положительный компонент, не характерный для быстрых поглаживаний (рис. 4), амплитуда которого была выше для правых фронтальных и центральных отведений (С4, F4). Средние значения и стандартные отклонения амплитуды компонентов для указанных электродов приводятся в табл. 1.

2.1. *Комплекс Р600-N900.* Дисперсионный анализ с повторными измерениями, прове-



**Рис. 2.** Средние значения и стандартные ошибки для знака эмоции (а) и степени активации (б) в зависимости от скорости поглаживания.

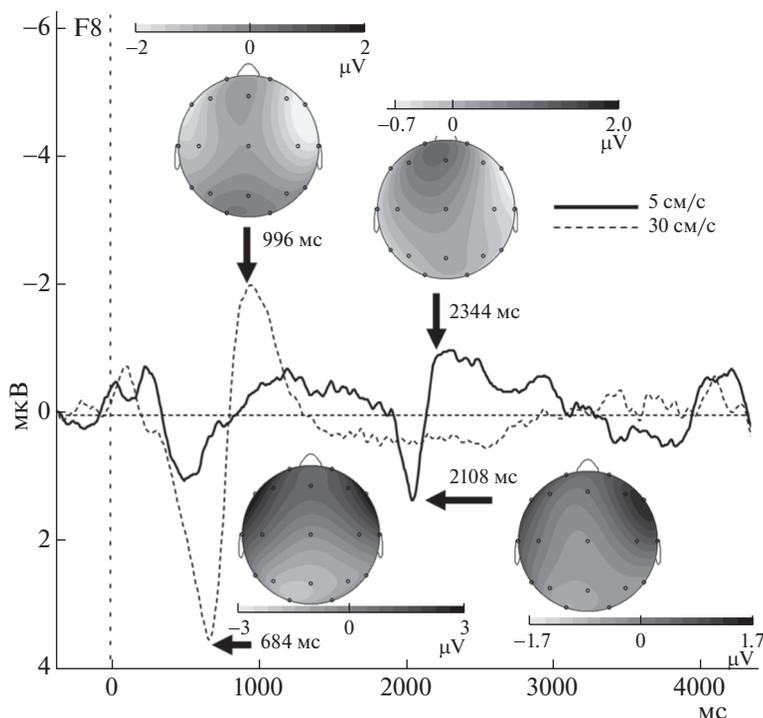
**Fig. 2.** Means and SEs for valence (a) and arousal (б) for different velocities of stroking.

денный для фронтальных и передневисочных отведений (F3, F4, F7, F8) для компонента Р600 по схеме Электрод (2) × Полушарие (2) × Экспериментальное условие (2), показал значимый эффект экспериментального условия ( $F(1, 12) = 7.46, p = 0.018$ ), свидетельству-

ющий, что в этих отведениях амплитуда Р600 была выше для быстрых поглаживаний по сравнению с медленными. Такой же анализ для компонента N900 также показал значимый эффект экспериментального условия ( $F(1, 12) = 6.92, p = 0.022$ ), указывающий на

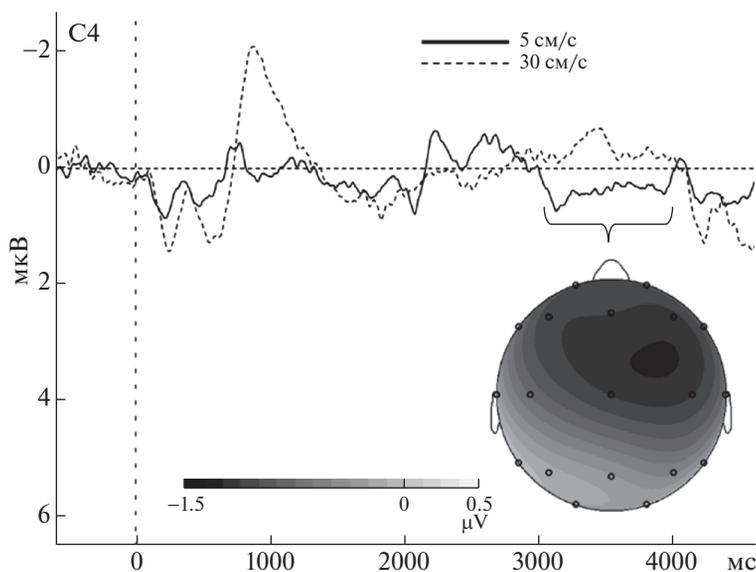
**Таблица 1.** Средние значения амплитуды компонентов ВП и стандартные отклонения для релевантных отведений  
**Table 1.** Mean amplitudes and SDs for the electrodes of interest

	Быстрые поглаживания				Медленные поглаживания			
	F3	F4	F7	F8	F3	F4	F7	F8
Р600								
Среднее значение	2.43	2.44	4.62	4.03	1.59	1.35	1.71	1.48
Стандартное отклонение	3.23	2.01	8.42	4.74	1.9	1.21	2.42	1.38
N900								
Среднее значение	-2.52	-2.57	-3.01	-2.35	-1.13	-0.83	-0.89	-0.83
Стандартное отклонение	2.12	1.35	4.86	3.02	0.87	0.73	0.93	1.11
P2100								
Среднее значение	0.71	0.89	0.33	0.52	0.93	1.43	1.79	1.48
Стандартное отклонение	1.08	0.62	1.06	0.83	1.45	0.95	3.5	2.17
N2300								
Среднее значение	-0.73	-0.4	-0.62	-0.22	-1.15	-1.4	-1.41	-1.95
Стандартное отклонение	0.82	0.59	0.76	0.68	1.22	1.38	3.16	2.08
СПК								
Среднее значение	-0.37	-0.34	-0.32	-0.36	0.21	0.28	0.23	0.36
Стандартное отклонение	0.33	0.27	0.29	0.4	0.56	0.5	0.68	0.55



**Рис. 3.** Усредненные кривые ВП при быстром и медленном поглаживании для отведения F8 с топографическими картами для компонентов P600, N900, P2100 и N2300.

**Fig. 3.** ERP grand averages and maps for fast and slow stroking (F8 electrode).



**Рис. 4.** Усредненные кривые ВП при быстром и медленном поглаживании для отведения C4.

**Fig. 4.** ERP grand averages for fast and slow stroking (C4 electrode).

более высокую амплитуду для быстрых поглаживаний. Значимых межполушарных различий получено не было.

**2.2. Комплекс P2100-N2300.** Дисперсионный анализ с повторными измерениями,

проведенный для фронтальных и передневисочных отведений (F3, F4, F7, F8) по схеме Электрод (2) × Полушарие (2) × Экспериментальное условие (2) для компонента P2100, не показал значимых различий между быст-

рыми и медленными поглаживаниями. Анализ пиковой амплитуды компонента N2300, проведенный по аналогичной схеме, показал наличие значимого взаимодействия Полушарие  $\times$  Экспериментальное условие ( $F(1, 12) = 7.71, p = 0.017$ ); *post hoc* сравнения показали, что для фронтальных электродов правого полушария амплитуда компонента N2300 была значимо выше для медленных поглаживаний, чем для быстрых ( $p < 0.01$ ).

2.3. *Сверхпоздний позитивный компонент* (СПК, 3000–4000 мс). Дисперсионный анализ, проведенный для фронтальных и центральных отведений (F3, F4, C3, C4) по схеме Электрод (2)  $\times$  Полушарие (2)  $\times$  Экспериментальное условие (2), показал выраженный значимый эффект экспериментального условия ( $F(1, 12) = 29.97, p = 0.0001$ ), свидетельствующий о том, что амплитуда СПК была выше для медленных поглаживаний по сравнению с быстрыми. Несмотря на некоторую тенденцию к правополушарной латерализации различий (см. карту на рис. 3), этот эффект не был значимо связан с эффектом полушария.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ данных субъективного отчета показал, что медленные поглаживания воспринимались испытуемыми как более приятные и менее активирующие по сравнению с быстрыми поглаживаниями, что подтверждает нашу экспериментальную гипотезу и соответствует ранее полученным психофизическим данным и современным представлениям о функциях А $\beta$ -тактильной системы и С-тактильной системы. Характер кривых вызванных потенциалов ЭЭГ, полученных в результате группового усреднения, показал, что использованный при анализе данных подход, обеспечивающий синхронизацию данных ЭЭГ и установки РТС, действительно позволяет получить высокую точность синхронизации, достаточную для полноценного анализа относительно ранних компонентов ВП, связанных с активацией А $\beta$ -тактильной системы. Амплитуда первого комплекса компонентов ВП Р600–N900 была выше для быстрых поглаживаний, что подтверждает нашу экспериментальную гипотезу и соответствует результатам исследования К. Хаггарти и соавт. (Haggarty et al., 2020). Относительно небольшая латентность данного комплекса и более высокая амплитуда его компонентов, наблю-

даемая в ответ на быстрые поглаживания, позволяют однозначно ассоциировать комплекс Р600–N900 с реакцией распознающей А $\beta$ -тактильной системы, которая на уровне рецепторов также отличается линейным увеличением амплитуды ответа в зависимости от скорости движения стимула (Löken et al., 2009).

Латентность комплекса компонентов Р2100–N2300, наблюдавшегося исключительно для медленных поглаживаний через 200–600 мс после момента отрыва стимулирующей кисти от кожи предплечья испытуемых, позволяет предположить, что он связан с ответом А $\beta$ -тактильной системы на прекращение стимуляции (см. также Yamashiro et al., 2008). На это же указывает и схожесть формы и топографических характеристик этого комплекса компонентов с комплексом Р600–N900: подобное сходство формы комплексов наблюдается и для комплексов слуховых потенциалов N100–P200, наблюдающихся в ответ на предъявление слуховых стимулов и на окончание предъявления длящихся звуков (Pantev et al., 1996). Такая специфика реакции А $\beta$ -системы соответствует и субъективному восприятию медленного поглаживания как длящегося стимула, состояния, имеющего начало и конец. Кроме того, “острый” характер пика Р2100 показывает, что вариативность латентности этого компонента среди испытуемых была невелика; это тоже является косвенным показателем его связи с А $\beta$ -системой, характеризующейся высокой скоростью проведения импульса, а не с С-тактильной системой, характеризующейся низкой скоростью проведения и, соответственно, более высокой потенциальной вариативностью латентности, связанной с вариативностью как скорости проведения, так и линейной длины проводящих путей у разных испытуемых.

Помимо комплекса Р2100–N2300, для медленных поглаживаний была характерна более высокая амплитуда сверхпозднего позитивного компонента, наблюдавшегося в интервале 3000–4000 мс с момента начала предъявления медленных тактильных стимулов. Несмотря на относительно небольшие различия по амплитуде между медленными и быстрыми поглаживаниями (1–1.5 мкВ) и небольшой объем выборки нашего пилотного исследования, значимость полученных различий была достаточно высокой, а латентность и топографические характеристики этого компо-

нента соответствовали результатам, ранее полученным К. Хаггарти и соавт. (Haggarty et al., 2020). Поскольку длительность предъявления медленных поглаживаний в данном исследовании и в исследовании К. Хаггарти значительно различалась ( $\approx 1800$  и  $\approx 3000$  мс), а латентность данного компонента была схожей, мы считаем возможным предположить, что его латентность не связана с моментом прекращения стимуляции. Таким образом, полученные данные позволяют считать, что именно этот сверхпоздний позитивный компонент отражает реакцию С-тактильной системы, а его латентность связана с задержкой проведения импульса по немиелинизированным афферентным волокнам. Использование экспериментальных схем, обеспечивающих несколько типов длительных тактильных стимулов с разным временем отрыва кисти, может обеспечить дополнительное подтверждение независимости латентности этого компонента от момента прекращения тактильной стимуляции. В нашем исследовании осуществлялась стимуляция левого предплечья, при этом амплитуда сверхпозднего компонента была несколько больше для правополушарных фронтальных и центральных отведений; в исследовании (Haggarty et al., 2020), наоборот, стимулировалась правая рука, а амплитуда сверхпозднего компонента была выше для левого полушария. Это позволяет предположить, что данный компонент наблюдается контралатерально зоне стимуляции. Дальнейшие исследования с использованием ЭЭГ высокого разрешения и методов локализации источника активности могли бы более полно охарактеризовать особенности локализации и физиологическую природу данного компонента.

Одним из перспективных направлений дальнейших исследований представляется оценка потенциальной взаимосвязи сверхпозднего позитивного компонента, особенностей эмоциональной реакции на воспринимаемые стимулы, устойчивых индивидуальных характеристик и нейрогормонального ответа организма. В исследовании К. Хаггарти было показано, что амплитуда сверхпозднего позитивного компонента отрицательно коррелирует с выраженностью аутистических характеристик, однако представленных данных недостаточно, чтобы установить, связан ли этот эффект непосредственно с аутистическими чертами либо с высоким уровнем тактильной дефензивности, часто характерной

для аутизма (Baranek, Foster, 2017), но наблюдающейся не только при расстройствах аутистического спектра, но и при широком круге иных психоэмоциональных нарушений, включающем, например, расстройства аффективного спектра, нарушения пищевого поведения и посттравматические расстройства (Feldman et al., 2004; Field, 2005). Ряд исследований показали, что тактильная стимуляция, социальные тактильные контакты и легкое физическое воздействие, например, массаж, могут снижать уровень стресса и приводить к увеличению уровня окситоцина (для подробного обзора см. (Walker et al., 2017)). В то же время показано, что такое увеличение уровня окситоцина наблюдается не во всех случаях и может модулироваться устойчивыми индивидуальными характеристиками, эмоциональным состоянием и социальным контекстом (Feldman et al., 2010; 2014; Holt-Lunstad et al., 2011; Riem et al., 2017). Более того, установлено, что и выброс окситоцина, и снижение активационных индексов ЭЭГ в ответ на тактильную стимуляцию наблюдаются только у тех испытуемых, для которых характерна выраженная положительная эмоциональная реакция на тактильное воздействие (Portnova et al., 2020). Более глубокое понимание взаимосвязи механизмов эмоционального тактильного восприятия и стресс-протективного нейрогормонального ответа могло бы способствовать разработке новых эффективных методик, использующих терапевтический тактильный контакт и способствующих социальной и психоэмоциональной реабилитации.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные при проведении данного пилотного исследования, подтвердили экспериментальную гипотезу, в соответствии с которой ответ на быстрые поглаживания связан с большей амплитудой ранних компонентов вызванных потенциалов ЭЭГ, а ответ на медленные поглаживания — с увеличением амплитуды поздних компонентов ВП. Полученные данные показывают, что некоторые компоненты вызванных потенциалов, наблюдающиеся в ответ на медленные поглаживания, осуществляемые со скоростью, оптимальной для активации медленной, “эмоциональной” С-тактильной системы (а именно — комплекс компонентов P2100-N2300), предположительно связаны не

с обработкой афферентации, поступающей от С-тактильной системы, а с ответом быстрой, распознающей Аβ-тактильной системы на прекращение стимуляции. Однако другой компонент, сверхпоздний позитивный потенциал, наблюдавшийся во фронтоцентральных отведениях контралатерально зоне стимуляции в интервале 3000–4000 мс с момента начала предъявления стимула, по-видимому, отражает именно реакцию С-тактильной системы. Дальнейшие исследования могут помочь более полно охарактеризовать специфику этого компонента, а также установить потенциальную взаимосвязь между его амплитудой, устойчивыми индивидуальными характеристиками и нейрогормональной реакцией в ответ на тактильное воздействие.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-00-01670 (18-00-01616). Авторы благодарят членов военно-исторического клуба “Армэ” за активное участие в исследовании и анонимных рецензентов за ценные замечания и рекомендации.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бибиков Н.Г.* Кодирование длительности сигналов в слуховой системе. Обзор. Сенсорные системы. 2005. 19 (3): 229–239.
- Варламов А.А., Портнова Г.В., Макглоун Ф.Ф.* С-тактильная система и нейробиологические механизмы “эмоционального” тактильного восприятия: история открытия и современное состояние исследований. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2019. 69 (3): 280–293.
- Хорунжий Г.Д.* Динамика временных характеристик активности в рецептивных полях нейронов задних холмов среднего мозга и слуховой коры мыши: дис. канд. биол. наук: 03.03.01. СПб, 2014.
- Abraira V.E., Ginty D.D.* The sensory neurons of touch. *Neuron*. 2013. 79 (4): 618–639.
- Ackerley R., Eriksson E., Wessberg J.* Ultra-late EEG potential evoked by preferential activation of unmyelinated tactile afferents in human hairy skin. *Neurosci. Lett*. 2013. 535: 62–66.
- Baranek G.T., Foster L.G.* Tactile Defensiveness and Stereotyped Behaviors. 2017. 91–95.
- Björnsdotter M., Löken L., Olausson H., Vallbo A., Wessberg J.* Somatotopic Organization of Gentle Touch Processing in the Posterior Insular Cortex. *J. Neurosci*. 2009. 29 (29): 9314–9320.
- Borhani K., Lådavas E., Fotopoulou A., Haggard P.* “Lacking warmth”: Alexithymia trait is related to warm-specific thermal somatosensory processing. *Biological psychology*. 2017. 128: 132–140.
- Ehret G., Merzenich M.M.* Complex sound analysis (frequency resolution, filtering and spectral integration) by single units of the inferior colliculus of the cat. *Brain Res. Rev*. 1988. 472 (2): 139–163.
- Essick G.K., McGlone F., Dancer C., Fabricant D., Ragin Y., Phillips N., Jones T., Guest S.* Quantitative assessment of pleasant touch. *Neurosci. Biobehav. Rev*. 2010. 34 (2): 192–203.
- Essick G.K., James A., McGlone F.P.* Psychophysical assessment of the affective components of non-painful touch. *Neuroreport*. 1999. 10 (10): 2083–2087.
- Feldman R., Keren M., Gross-Rozval O., Tyano S.* Mother-child touch patterns in infant feeding disorders: Relation to maternal, child, and environmental factors. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry*. 2004. 43 (9): 1089–1097.
- Feldman R., Gordon I., Schneiderman I., Weisman O., Zagoory-Sharon O.* Natural variations in maternal and paternal care are associated with systematic changes in oxytocin following parent–infant contact. *Psychoneuroendocrinology*. 2010. 35 (8): 1133–1141.
- Feldman R., Golan O., Hirschler-Guttenberg Y., Ostfeld-Etzion S., Zagoory-Sharon O.* Parent–child interaction and oxytocin production in preschoolers with autism spectrum disorder. *Br. J. Psychiatry*. 2014. 205 (2): 107–112.
- Field T.* Touch deprivation and aggression against self among adolescents. *Developmental Psychobiology of Aggression*. Под ред. David M. Stoff, Elizabeth J. Susman. Кембридж, Великобритания: Cambridge University Press, 2005. 117–140.
- Francis S., Rolls E.T., Bowtell R., McGlone F., O’Doherty J., Browning A., Clare S., Smith E.* The representation of pleasant touch in the brain and its relationship with taste and olfactory areas. *Neuroreport*. 1999. 10 (3): 453–459.
- Gordon I., Voos A.C., Bennett R.H., Bolling D.Z., Pelphrey K.A., Kaiser M.D.* Brain mechanisms for processing affective touch. *Hum. Brain Mapp*. 2013. 34 (4): 914–922.
- Haggarty C.J., Malinowski P., McGlone F.P., Walker S.C.* Autistic traits modulate cortical responses to affective but not discriminative touch. *Eur. J. Neurosci*. 2020. 51 (8): 1844–1855.
- Holt-Lunstad J., Birmingham W., Light K.C.* The influence of depressive symptomatology and perceived stress on plasma and salivary oxytocin before, during and after a support enhancement intervention. *Psychoneuroendocrinology*. 2011. 36 (8): 1249–1256.
- Krämer H.H., Lunblad L., Birklein F., Linde M., Karlsson T., Elam M., Olausson H.* Activation of the cortical pain network by soft tactile stimulation after injection of sumatriptan. *Pain*. 2007. 133 (1–3): 72–78.

- Löken L.S., Wessberg J., Morrison I., McGlone F., Olausson H. Coding of pleasant touch by unmyelinated afferents in humans. *Nat. Neurosci.* 2009. 12 (5): 547–548.
- Luck S.J. An Introduction to the Event-Related Potential Technique. 2-е изд. Бостон: MIT Press, 2014. 575 p.
- McGlone F., Wessberg J., Olausson H. Discriminative and Affective Touch: Sensing and Feeling. *Neuron.* 2014. 82 (4): 737–755.
- Morrison I., Löken L.S., Olausson H. The skin as a social organ. *Exp. Brain Res.* 2010. 204 (3): 305–314.
- Olausson H., Cole J., Rylander K., McGlone F., Lamarre Y., Wallin B.G., Krämer H., Wessberg J., Elam M., Bushnell M.C., Vallbo A. Functional role of unmyelinated tactile afferents in human hairy skin: Sympathetic response and perceptual localization. *Exp. Brain Res.* 2008. 184 (1): 135–140.
- Olausson H., Wessberg J., Morrison I., McGlone F., Vallbo A. The neurophysiology of unmyelinated tactile afferents. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2010. 34 (2): 185–191.
- Pantev C., Eulitz C., Hampson S., Ross B., Roberts L.E. The auditory evoked “off” response: Sources and comparison with the “on” and the “sustained” responses. *Ear Hear.* 1996. 17 (3): 255–265.
- Portnova G.V., Proskurnina E.V., Sokolova S.V., Skorokhodov I.V., Varlamov A.A. Perceived pleasantness of gentle touch in healthy individuals is related to salivary oxytocin response and EEG markers of arousal. *Exp. Brain Res.* 2020. 238 (10): 2257–2268.
- Riem M.M.E., De Carli P., van Ijzendoorn M.H., Linting M., Grewen K.M., Bakermans-Kranenburg M.J. Emotional maltreatment is associated with atypical responding to stimulation of endogenous oxytocin release through mechanically-delivered massage in males. *Psychoneuroendocrinology.* 2017. 85: 115–122.
- Rolls E.T. The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain Cogn.* 2004. 55 (1): 11–29.
- Vallbo Á.B., Olausson H., Wessberg J. Unmyelinated afferents constitute a second system coding tactile stimuli of the human hairy skin. *J. Neurophysiol.* 1999. 81 (6): 2753–2763.
- Walker S.C., Trotter P.D., Swaney W.T., Marshall A., McGlone F.P. C-tactile afferents: Cutaneous mediators of oxytocin release during affiliative tactile interactions? *Neuropeptides.* 2017. 64: 27–38.
- Yamashiro K., Inui K., Otsuru N., Kida T., Akatsuka K., Kakigi R. Somatosensory off-response in humans: An ERP study. *Exp. Brain Res.* 2008. 190 (2): 207–213.

## A PILOT STUDY OF EVENT-RELATED BRAIN POTENTIALS TO FAST AND SLOW STROKES: TOWARDS DISTINGUISHING RESPONSES FROM FAST AND SLOW TOUCH SYSTEMS

A. A. Varlamov<sup>a,b,#</sup>, M. A. Ivanova<sup>a</sup>, I. V. Skorokhodov<sup>b</sup>, A. N. Semirechenko<sup>a</sup>, and G. V. Portnova<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Cognition and Language Laboratory, Pushkin Institute, Moscow, Russia

<sup>b</sup> NGO “Our Sunny World”, Rehabilitation center for children with ASD, Moscow, Russia

<sup>c</sup> Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>#</sup>e-mail: antonvarlamov@gmail.com

The findings of last decades revealed that humans have several systems of skin mechanoreception, which are structurally independent and functionally different. A better-described discriminative rapid touch system is comprised of fast conducting myelinated A $\beta$ -afferents and provides detailed information on touch location and features of a tactile stimulus. A recently discovered slow emotional touch system comprises unmyelinated C type afferents (C-tactile afferents) and yields virtually no information on the stimulus character but instead provides a feeling of pleasure in response to slow gentle touch, promoting affiliative behaviors. Neuroimaging studies revealed that C-tactile afferents project through spinothalamic tract to insula and prefrontal cortical networks related to social behavior but the dynamics of the cortical response is yet poorly studied. This pilot study aims to assess event-related potentials elicited by gentle stroking touch delivered by a robotic device with fast (30 cm/s) and slow (5 cm/s) velocities. Earlier ERP components, P600 and N900 were observed primarily at frontolateral electrodes; their amplitude was significantly larger for fast strokes which, taken together with their latency, links them to cortical processing of A $\beta$ -afferents response. Exclusive for slow strokes, we discovered P2100–N2300 complex, presumably related to A $\beta$ -response to stroke offset, and an ultra-late positive potential observed at 3000–4000 ms after stimulus onset, suggestively linked to processing of C-tactile afferent input. The data confirm earlier findings relating ultra-late positive potential to slow pleasant touch and help to distinguish between ERP components linked to A $\beta$ - and C-tactile afferent input.

**Keywords:** affective touch, C-tactile afferents, A $\beta$ -afferents, EEG, ultra-late potential, offset potentials

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

УДК 612.821 + 612.825

**ИНВАЗИВНАЯ РЕГИСТРАЦИЯ ФОКАЛЬНЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ  
У ПАЦИЕНТОВ С ЭПИЛЕПСИЕЙ ПРИ НАБЛЮДЕНИИ,  
ПРЕДСТАВЛЕНИИ И ВЫПОЛНЕНИИ ДВИЖЕНИЙ**

© 2021 г. Е. Д. Каримова<sup>1,2,\*</sup>, С. Е. Буркитбаев<sup>1,2</sup>, И. С. Трифонов<sup>3</sup>, М. В. Синкин<sup>4</sup>,  
Ф. К. Ридер<sup>2</sup>, А. Б. Гехт<sup>2,5</sup>, Н. Н. Лебедева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> ГБУЗ Научно-практический психоневрологический центр им. З.П. Соловьева, ДЗМ, Москва, Россия

<sup>3</sup> Клинический медицинский центр МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия

<sup>4</sup> НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва, Россия

<sup>5</sup> РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

\*e-mail: e.d.karimova@gmail.com

Поступила в редакцию 24.11.2020 г.

После доработки 16.02.2021 г.

Принята к публикации 02.03.2021 г.

Существование нейронов с “зеркальными” свойствами у человека было показано в инвазивном исследовании на пациентах с эпилепсией только в 2010 г., спустя почти 15 лет изучения зеркальной системы мозга (ЗСМ). Сложность исследования ЗСМ у человека заключается в ограничениях используемых методов оценки активности структур, таких как ЭЭГ и фМРТ. В данной работе регистрировали активность подкорковых структур мозга с помощью погружных электродов при реализации различных моторных задач у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией. Характеристики фокальных потенциалов (local field potential, LFP) были получены для левых и правых лобных и височных областей. Мощность LFP-сигнала достоверно повышалась при выполнении социально окрашенных задач в левом лобном электроде, что может свидетельствовать о наличии нейрональных связей ЗСМ с системой базальных ганглиев, обеспечивающих контроль и затормаживание нежелательных моторных действий при восприятии, а также принимающих участие в процессе моторного ассоциативного обучения.

*Ключевые слова:* зеркальная система мозга, эпилепсия, социальное взаимодействие, фокальные потенциалы, LFP, базальные ганглии

DOI: 10.31857/S0044467721050063

**ВВЕДЕНИЕ**

Зеркальные нейроны обладают важным свойством избирательной активации. Активность определенных зеркальных нейронов повышается как при наблюдении, так и при представлении и выполнении определенного действия. Зеркальная система мозга (ЗСМ) в связи с этим играет важнейшую роль в обучении через подражание в раннем возрасте и в социальном поведении и взаимоотношениях людей во взрослом возрасте. Основной проблемой в исследованиях зеркальных нейронов является то, что непрямые методы регистрации активности нейронов, такие как фМРТ и ЭЭГ, не обладают способностью с

точностью выявить активацию зеркальных нейронов. Методы нейровизуализации позволяют указать на области активации ЗСМ, применение ЭЭГ – оценить уровень активации ЗСМ по степени десинхронизации мю-ритма, однако лишь инвазивные методы позволяют зарегистрировать активность ЗСМ напрямую. Исследование зеркальной системы мозга у пациентов, страдающих фармакорезистентной эпилепсией, с помощью погружных инвазивных электродов дает уникальную возможность приблизиться к изучению активности отдельных зеркальных нейронов, способствует пониманию их свойств.

Зеркальные нейроны впервые были обнаружены в 90-х годах итальянскими исследователями под руководством Риццолатти во время опытов с обезьянами (Gallese et al., 1996). Сразу в этом же году появилось первое исследование ЗСМ человека, опять же под руководством Риццолатти (Grafton et al., 1996). Дальнейшие исследования ЗСМ у людей продолжили уже с использованием других приемлемых методов, таких как фМРТ, ТМС и ЭЭГ. Были обнаружены новые свойства – повышение активности ЗСМ при представлении наблюдаемого двигательного акта, а также при просмотре и повторении эмоциональных выражений лица человека. Исследования с использованием ЭЭГ обнаружили взаимосвязь между десинхронизацией мю-ритма и активацией ЗСМ.

Большую часть современных исследований ЗСМ занимают работы, посвященные роли зеркальных нейронов в эмоциональных реакциях, эмпатии, понимании эмоций и мотиваций других людей. Одна из работ, посвященных роли ЗСМ в эмоциональной сфере, была выполнена Марком Якобони, разработчиком теории сети зеркальных нейронов (Carr et al., 2003). В результате были обнаружены достоверные изменения в правой островковой доле и нижней лобной коре. Дальнейшие исследования также подтвердили, что островок, имеющий обширные связи с моторными отделами мозга, рассматривается как своего рода посредник между лимбической корой и системой зеркальных нейронов (Косоногов, 2009).

Обширные исследования ЗСМ за последние 10 лет с помощью косвенных методов регистрации привели к тому, что понятие зеркальных нейронов, их функции и локализация сети значительно расширились и размылись. С другой стороны, противоречивые результаты некоторых исследований стали основанием для того, что многие ученые дискредитировали теорию зеркальных нейронов. Множество методически неверных работ, а также применение непрямых методов регистрации активности мозга породили сомнения в вопросе существования зеркальных нейронов у человека.

Однако в 2010 г. Мукамель выпустил статью, которая поставила точку в вопросе существования зеркальных нейронов у человека (Mukamel et al., 2010). Мукамель с коллегами нейрохирургами впервые зарегистрировал активность единичных нейронов у человека

при исследовании ЗСМ. Для этого пациентам с фармакорезистентной эпилепсией демонстрировали стимульный материал для активации ЗСМ во время регистрации внеклеточной активности нейронов с погружных инвазивных электродов. Всего была зарегистрирована активность 1177 нейронов, 7% из которых реагировали одинаково на наблюдение, представление и выполнение одного и того же действия. Большой процент зеркальных нейронов был найден в гиппокампе, моторной и премоторной областях.

Совсем немного работ с тех пор было сделано на пациентах с вживленными электродами, хотя, если брать во внимание сложность подобных работ и уникальность пациентов, это совсем неудивительно. Насколько нам известно, пока существует только одно исследование ЗСМ, выполненное Мукамель с коллегами, в котором анализировались записи активности отдельных нейронов (Mukamel et al., 2010). Вслед за ним было еще несколько исследований.

При использовании электродов глубокой стимуляции головного мозга для прямой записи активности субталамического ядра базальных ганглиев у пациентов с болезнью Паркинсона была также выявлена двусторонняя десинхронизация бета-активности во время движения и наблюдения за движением, что предполагает субкортикальную активацию ЗСМ (Alegre et al., 2010). В 2014 г. при исследовании возможностей инвазивного интерфейса “мозг-компьютер” было показано, что и при наблюдении, и при выполнении захвата предметов субдуральные электроды регистрировали схожие паттерны активности в альфа-бета- и гамма-диапазонах (Collinger et al., 2014).

Другое исследование ЭКоГ, в котором анализировали гамма-диапазон частот и сравнивали его с десинхронизацией на более низких частотах, фокусировалось исключительно на премоторной коре во время наблюдения, при этом не использовали задачи выполнения и представления, а также не анализировали другие области этой сети (Caguana et al., 2014). В работе на макаках рассматривались локальные потенциалы поля (local field potential – LFP), зарегистрированные в премоторной и первичной моторной коре двух обезьян (Waldert et al., 2015). В данном исследовании показали, что низкочастотный сигнал LFP может модулироваться во время

наблюдения за действием в этих двух областях коры головного мозга.

Сравнительное исследование сенсомоторных и речевых функций ЗСМ с использованием записи ЭКоГ было сделано в 2015 г. (Halje et al., 2015), при этом было показано, что не только моторные задачи, но и вербально-речевые вызывают десинхронизацию альфа- и бета-ритмов. Полученные изменения наблюдались в лобной, теменной, височной областях и нижней лобной извилине при наблюдении и выполнении как зрительно-моторных, так и речевых задач.

Группа соавторов под руководством Вавилони проводила исследование динамики ритмов ЭКоГ у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией в сенсомоторных, премоторных и префронтальных областях коры в задачах на “отзеркаливание” (Babiloni et al., 2016; Babiloni et al., 2017). В результате наблюдались снижение мощности сигнала в альфа- и бета-диапазоне и повышение мощности в гамма-диапазоне частот при активации ЗСМ.

В недавней работе Перри и соавт. (Perry et al., 2018) исследовали активность ЗСМ с помощью ЭКоГ, полученной с корковых электродов — полосок и сеток, установленных над префронтальной, моторной, височной или теменной областями правого или левого полушария. В качестве стимульного материала использовалось видео с захватом трех разных предметов, которые стояли на подносе перед экраном. Результаты показали повышение мощности гамма-диапазона при наблюдении и выполнении задач. Также были обнаружены области, более активные во время паузы между заданиями.

При одновременной регистрации мультинейрональной активности (multi unit activity), фокальных потенциалов (local field potentials, LFP) и ЭЭГ от вентральной премоторной коры у обезьян было обнаружено, что активность нейронов премоторной коры достоверно коррелирует с повышением мощности гамма-диапазона LFP, а также со снижением мощности в верхнем альфа- и нижнем бета-диапазонах ЭЭГ центральных отведений (Vimbi et al., 2018). Более того, в данной работе обнаружили, что повышение гамма-активности LFP предшествует десинхронизации мю-ритма в задачах выполнения и наблюдения действия, а это значит, что зеркальные нейроны модулируют генерацию мю-ритма.

Таким образом, пока существует совсем немного работ, освещающих работу зеркальной системы мозга с использованием регистрации внеклеточной активности нейронов. Безусловно, это прежде всего связано с тем, что инвазивные методы регистрации нейрональной активности невозможно применять у здоровых людей по этическим соображениям, а проводятся подобные хирургические воздействия только у пациентов в случаях крайней медицинской необходимости.

Инвазивные методики регистрации электрической активности нейронов позволяют получить несколько видов сигналов, которые зависят от типа используемых электродов. При наложении электродов на внешнюю поверхность коры полученный сигнал представляет собой электрокортикограмму (ЭКоГ) — суммацию колебаний потенциалов, генерируемых достаточно большим объемом нейронов. ЭКоГ обычно используют в протоколе хирургического лечения эпилепсии (DiLorenzo et al., 2014; Kuruvilla, 2003). Сигнал ЭКоГ в основном является результатом активности кортикальных пирамидальных клеток, таким образом, он проходит через несколько слоев коры головного мозга и спинномозговой жидкости. Визуально сигнал ЭКоГ схож с ЭЭГ, имеет тот же спектральный состав, однако на порядок большую амплитуду, поскольку не проходит еще и костную ткань, имеющую низкую проводимость, и лишен физиологических артефактов, привносимых мышечным напряжением (Asano et al., 2005; Hashiguchi et al., 2007).

Погружные электроды, внедряемые на 4–5 см в глубину мозга, также в основном используют для предоперационного мониторинга пациентов с эпилепсией для локализации эпилептического очага, а также у пациентов с болезнью Паркинсона. Физические характеристики таких электродов позволяют регистрировать фокальные потенциалы (в международной терминологии LFP), которые являются результатом суммации колебаний потенциалов, генерируемых небольшим числом нейронов, расположенных вблизи контактов (Mitzdorf, 1985; Viswanathan, Freeman, 2007).

Принято считать, что фокальные потенциалы, или LFP, отражают активность нейронов, находящихся в непосредственной близости от регистрирующего электрода. Это предположение коренится в биофизическом объяснении сигнала LFP как пространствен-

но взвешенного среднего значения синаптических трансмембранных токов (Mitzdorf, 1985; Viswanathan, Freeman, 2007). Действительно, исследования показали, что сигнал LFP в конкретном месте может быть хорошо предсказан спайковой активностью нейронов, зарегистрированных в достаточно большой области, окружающей электрод (Nauhaus et al., 2009). Эта точка зрения подтверждается выводом о том, что LFP сильно коррелирует с флуктуациями мембранного потенциала соседних нейронов (Poulet, Petersen, 2008) даже при отсутствии спайковой активности в регистрируемых клетках (Okun et al., 2010). Двумя наиболее важными факторами, влияющими на LFP, являются клеточно-синаптическая архитектурная организация сети и синхронность источников тока (Buzsáki et al., 2012).

Медленные колебания LFP, как полагают, связаны с синаптическими и сомато-дендритными токами (Michmizos et al., 2012). Также низкочастотные колебания LFP могут быть обусловлены сложными электрическими свойствами внеклеточного пространства. Тот факт, что внеклеточное пространство неоднородно и состоит из сложной совокупности высокопроводящих жидкостей и низкопроводящих и емкостных мембран, может оказывать сильное фильтрующее воздействие на нижние частоты (Védard et al., 2004). Ионная диффузия, которая играет важную роль в вариациях мембранного потенциала, также может выступать в качестве фильтра нижних частот. В связи с этим спектральный состав LFP-сигнала довольно сильно отличается от ЭЭГ и ЭКоГ: в спектре превалирует как низкочастотная компонента дельта- и тета-диапазонов, так и быстрые гамма-колебания. При этом экспериментально было показано, что амплитудные и фазовые характеристики LFP-сигнала напрямую связаны с синхронной спайковой активностью окружающих нейронных сетей (Denker et al., 2007, 2011), что дает возможность оценивать их активность по динамике LFP-сигнала.

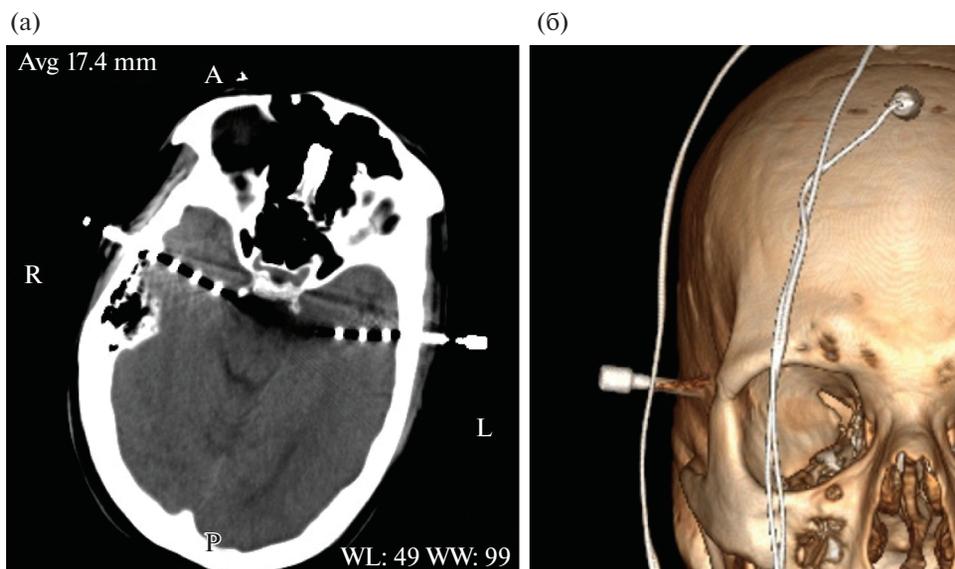
Возвращаясь к проблеме исследования зеркальной системы мозга у человека, можно предположить, что инвазивная регистрация сигнала LFP, отражающего активность близлежащих нейронных сетей, позволит приблизиться к пониманию механизмов работы зеркальных нейронов и их связей с другими системами мозга. Подобных работ до сих пор практически нет, что вполне понятно с уче-

том необходимости внедрения электродов в живой мозг пациента, кроме того, больше половины инвазивных работ было сделано на субдуральных электродах, регистрирующих ЭКоГ с поверхности моторной и премоторной коры. Проведение подобных исследований, безусловно, важно, поскольку возможно проанализировать изменения электрических колебаний на поверхности коры без миографических артефактов, в отличие от ЭЭГ, однако подобные работы не освещают вопрос взаимодействия зеркальных нейронов с глубинными структурами и архитектоники зеркальной системы мозга. Анализ локальных изменений потенциалов в глубинных структурах мозга, в отличие от непрямых методов исследования активности, таких как ЭЭГ и фМРТ, позволяет оценивать активность ближайших нейронных сетей. Таким образом, исследование LFP-сигнала, отражающего уровень активности определенных структур в экспериментальной парадигме, позволит значительно улучшить понимание принципов работы зеркальной системы мозга.

Целью данной работы было изучить активность нейронных сетей в височных и лобных областях правого и левого полушария при реализации задач, активирующих зеркальную систему мозга, у пациентов, страдающих эпилепсией, с использованием инвазивных погружных электродов.

## МЕТОДИКА

В исследовании принимали участие 11 пациентов (10 мужчин, 1 женщина, правши, возраст от 21 года до 39 лет, в среднем 29 лет) с диагнозом “фокальная эпилепсия”, готовящихся к хирургическому удалению эпилептического очага. Все пациенты были госпитализированы в нейрохирургическое отделение Клинического медицинского центра МГМСУ им. А.И. Евдокимова (Москва); перед проведением записи пациенты заполняли форму информированного согласия о добровольном участии в исследовании. Перед операцией данной группе пациентов для определения “зоны начала приступа” и “ирритативной зоны” устанавливали глубинные электроды для проведения инвазивного видео-ЭЭГ-мониторинга, который длился в среднем около 100 ч. Электроды имплантировались в области гиппокампа правого и левого виска, также в большинстве случаев и в лобные доли, если на это были показания. Для мониторинга



**Рис. 1.** Компьютерная томография (а) и 3D-реконструкция (б) черепа одного из пациентов с внедренными инвазивными височными и лобными электродами.

**Fig. 1.** Computed tomography (а) and 3D reconstruction (б) of the skull for one patient with embedded invasive temporal and frontal electrodes.

эпилептиформной активности использовались стерильные одноразовые электроды AD-TECH® с платиновыми контактами. Каждый погружной электрод представлял собой тонкий стержень диаметром 1.12 мм с 4 или 6 контактами. Платиновые контакты имели характерный размер 1.32 мм, располагались по длине стержня через 1 см друг от друга. Расстояние между первым и последним контактом электрода — 32 мм для четырех контактных и 52 мм для шести контактных электродов; первый по счету контакт был самым глубоким и располагался на глубине около 6 см. В лобные доли электроды проводили через нижнюю лобную извилину с кончиком в проекции головки хвостатого ядра в левое и правое полушарие. Височные электроды заводили через среднюю или верхнюю височную извилину с кончиком, расположенным в проекции головки правого гиппокампа, также в левое и правое полушарие (рис. 1). В качестве референтного и заземляющего электрода использовали электроды-штопоры, вкручивающиеся в кожу скальпа. Поскольку в основном использовались электроды с 4 контактами, при этом они располагались на расстоянии 1 см друг от друга, начиная с самого кончика электрода, который заводился в глубинные структуры мозга, наибольший вклад в сигнал вносили подкорковые структуры. Контроль локализации инва-

зивных электродов осуществляли с помощью компьютерной томографии (КТ).

Исследование активности зеркальной системы мозга проводилось не ранее, чем спустя 5 ч после операции по внедрению электродов, когда пациент уже находился в полном сознании и проявлял адекватную активность. Впоследствии, когда была определена локализация очага каждого пациента, из пула данных исключались электроды этой доли мозга.

Методика проведения исследования активации ЗСМ должна включать в себя задачи наблюдения и выполнения (также часто используется представление) биологических жестов, для чего был смонтирован видеоролик, включающий в себя фрагменты с различными движениями руки (пробы на “отзеркаливание”), а также фрагмент с небиологическим движущимся объектом (шарик, который катается по столу). На видеоролике все движения выполняет актер в рубашке, в объектив при этом попадают только руки, предплечья и часть стола, за которым находится актер (лица при этом не видно). Были выбраны три различных движения: простой моторный акт (сжатие кисти правой руки), эмоциональное движение, задействующее обе руки (хлопки в ладоши), целенаправленное движение (захват и перемещение чашки). Пациенту давали инструкцию снача-

ла наблюдать демонстрацию движения (задача “наблюдение”), затем представить, как он выполняет это движение (задача “представление”), затем повторить самостоятельно это движение (задача “выполнение”). Длительность каждой задачи составляла 10 с, между задачами были паузы, во время которых исследователь напоминал, какой будет следующая задача. В качестве фона перед демонстрацией движений регистрировали активность в состоянии спокойного бодрствования с открытыми глазами в том же положении тела. Также в видеоролик был включен 10-секундный фрагмент со статической картиной, где этот же актер не показывает никаких движений (задача наблюдения “статической картины”). Демонстрация статической картины проводилась для того, чтобы дифференцировать реакцию на “картинку” и на социальное движение. Демонстрацию видеоролика каждому пациенту проводили 1–3 раза в зависимости от готовности и желания пациента, всего длительность исследования не превышала 15 мин.

Видеоролик демонстрировали с монитора ноутбука диагональю 17 дюймов, который располагался на подставке перед пациентом, расстояние от экрана монитора до лица пациентов составляло 40–50 см. Пациенты в это время располагались на своей больничной койке, спинку койки приводили в полувертикальное положение, до начала эксперимента пациентов приводили в максимально удобное положение для просмотра видео с экрана монитора и выполнения движений правой рукой. Перед началом эксперимента пациентам разъясняли суть исследования, давали необходимые инструкции, после чего они подписывали информированное согласие.

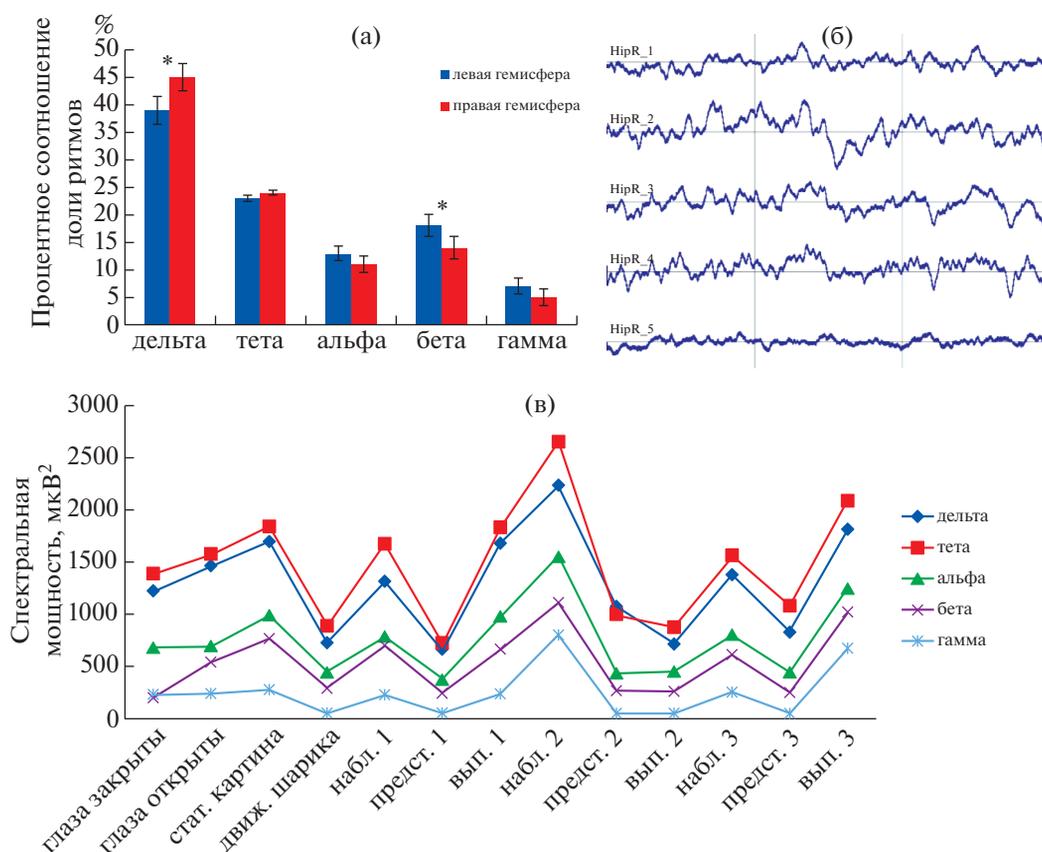
Регистрация биопотенциалов с погружных электродов проводилась с частотой дискретизации 2 кГц (у 3 пациентов), 8 кГц (у 1 пациента) и 4 кГц (у 7 пациентов) в зависимости от технических требований используемого компьютера, затем применялись полосовой фильтр 1–300 Гц и фильтр сетевой наводки 50 Гц с гармониками, с использованием свободной программы EDF browser. Из анализа исключали электроды с сильно зашумленным сигналом. Для каждого пациента по каждой пробе были получены спектральные значения мощности дельта- (1–4 Гц), тета- (4–8 Гц), альфа- (8–13 Гц), бета- (13–35 Гц) и гамма- (35–300 Гц) ритмов с помощью быстрого преобразования Фурье по двухсекундным

эпохам анализа, затем полученные значения мощности спектра усредняли для каждой пробы. Далее рассчитывали логарифмированные относительные значения мощности ритмов, производя деление значений мощности ритмов в активной пробе к значению мощности в фоне  $\ln(P_{\text{задача}}/P_{\text{фон}})$  для каждого контакта погружных электродов. Логарифмирование натуральным логарифмом применялось для приближения распределения к нормальному. Абсолютные и относительные значения мощности ритмов анализировали с помощью дисперсионного анализа (Statistica v. 7.0, StatSoft © Inc., США) с такими факторами, как “глубина электрода”, “полушарие” и “локализация электрода” в зависимости от того, располагались ли регистрирующие электроды в правом или левом полушарии мозга и в височной или лобной доле. Также отдельно проводился многофакторный анализ с учетом фактора “вид движения” в зависимости от типа наблюдаемого и выполняемого движения руки.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Поскольку регистрируемый сигнал с погружных электродов достаточно сильно отличается по спектральному составу от сигнала, получаемого методом ЭЭГ, на рис. 2 представлены некоторые характеристики регистрируемого сигнала. Рисунок 2 (а) демонстрирует соотношение долей каждого ритма в усредненном спектре фонового сигнала для левого и правого полушария. Дисперсионный анализ, проведенный с целью выявить влияние факторов положения электрода или глубины контакта на соотношения долей ритмов в сигнале, показал только эффект правого и левого полушария:  $F(4, 376) = 8.79$ ,  $p < 0.001$ . Мощность низких частот была выше в сигнале, зарегистрированном в правом полушарии, а мощность высоких частот выше в левом полушарии (достоверно для дельта-, бета-ритмов, апостериорный тест Тьюки,  $p < 0.05$ ). Предварительный сравнительный анализ изменений сигнала в разных контактах каждого погружного электрода не показал каких-либо значимых различий, в связи с чем сигналы от разных контактов одного и того же электрода в дальнейшем анализе рассматривались совместно.

На рис. 2 (б) приведен в качестве примера трехсекундный фрагмент регистрируемых сигналов правого височного электрода с 5 контак-

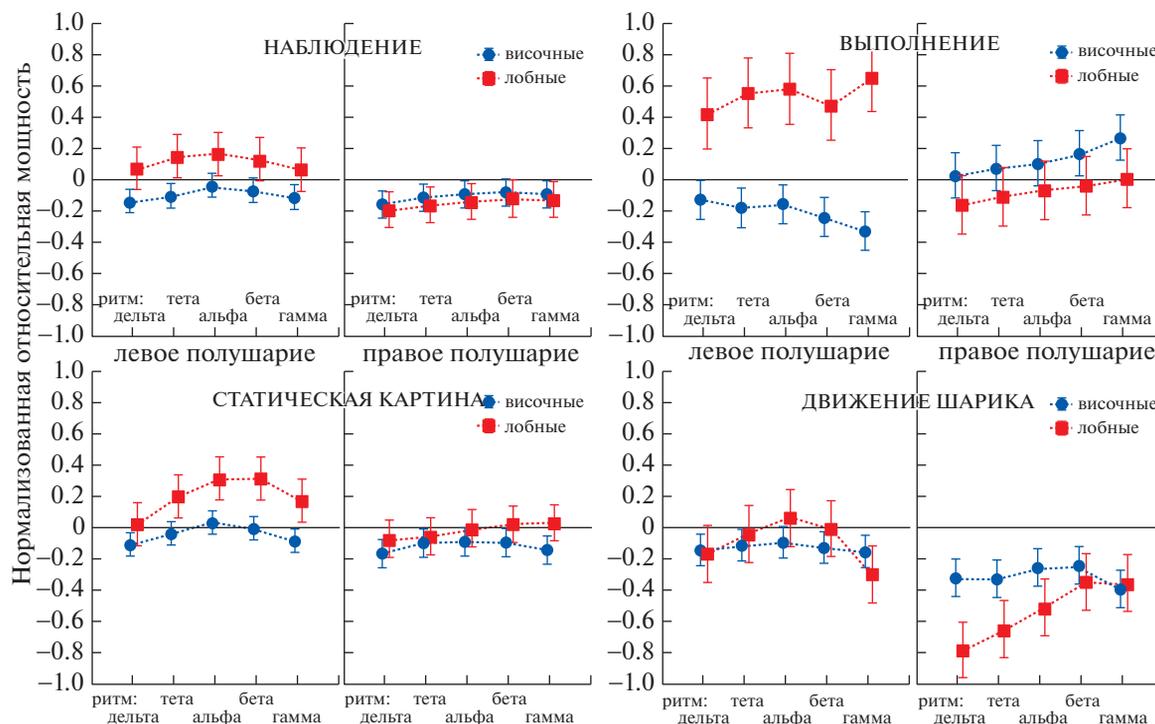


**Рис. 2.** Характеристики регистрируемых сигналов с погружных электродов: (а) – на графике представлено процентное соотношение доли каждого ритма в усредненном спектре регистрируемых сигналов с погружных электродов отдельно для левого и правого полушария; вертикальные планки соответствуют 95%-му доверительному интервалу; \* – различия в значениях для левого и правого полушария достоверно отличаются по дельта- и бета-ритмам, апостериорный тест Тьюки:  $p < 0.01$ ,  $p = 0.03$  соответственно; (б) – трехсекундный фрагмент регистрируемых сигналов с 5 контактов правого височного погружного электрода одного из пациентов после фильтрации; (в) – пример типичной динамики мощности ритмов во время проведения эксперимента у одного из пациентов правого височного электрода – изменения мощности происходят синхронно во всех частотных диапазонах.

**Fig. 2.** Characteristics of recorded signals from submerged electrodes: (a) – the graph shows the percentage of each rhythm in the average spectrum of recorded signals from submerged electrodes separately for the left and right hemispheres; the vertical bars correspond to the 95% confidence interval; \* – differences in values for the left and right hemispheres significantly differ in delta and beta rhythms, post-hoc Tukey test:  $p < 0.01$ ,  $p = 0.03$ , respectively; (б) – a three-second fragment of recorded signals from 5 contacts of the right temporal immersion electrode for one patient after filtration; (в) – an example of a typical dynamics of the rhythms power during an experiment in the right temporal electrode – power changes occur synchronously in all frequency ranges.

тов на разной глубине (более глубокий под номером 1). Рисунок 2 (в) демонстрирует динамику абсолютных мощностей ритмов при проведении исследования у одного из пациентов с правого височного электрода. Особенностью регистрируемых сигналов с погружных электродов было синхронное изменение всех спектральных ритмов при реализации различных задач, что, например, совершенно нетипично для ЭЭГ-сигнала.

Для анализа изменения мощности ритмов при реализации задач по сравнению с фоном использовались логарифмированные относительные значения мощности ритмов (рис. 3). Дисперсионный анализ с учетом факторов “ритм”, “полушарие” и “локализация” выявил достоверное для каждой задачи влияние сочетания факторов “полушарие” × “локализация” ( $p < 0.01$ , дисперсионный анализ проводился отдельно для каждой задачи). Иллюстрирует эти изменения рис. 3, на кото-



**Рис. 3.** Относительные изменения мощности ритмов в различных полушариях и разных долях мозга при наблюдении и выполнении моторных движений, а также при наблюдении статической картины с неподвижным актером и при наблюдении видео с движением шарика — небиологического объекта. Значения в фоне соответствуют нулю по оси *y*. Вертикальные планки соответствуют 95%-му доверительному интервалу.

**Fig. 3.** Relative changes in the rhythms power in different hemispheres and different parts of the brain when observing and performing motor movements, as well as when observing a static picture and a video with the movement of a ball (a non-biological object). The values in the background correspond to zero on the *y*-axis. The vertical bars correspond to a 95% confidence interval.

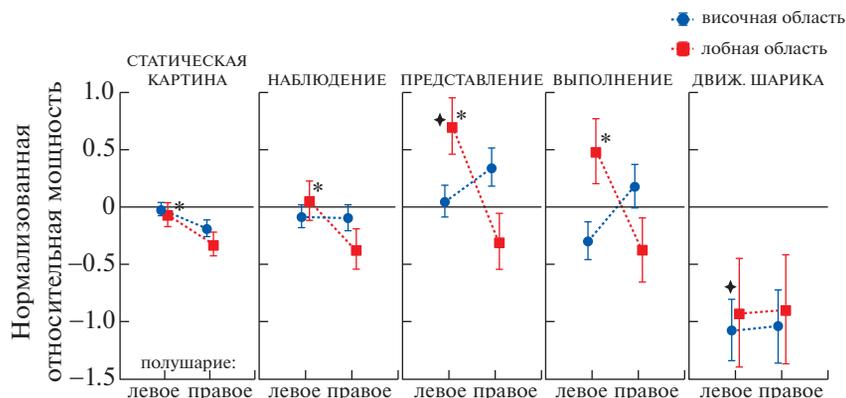
ром представлены относительные мощности каждого ритма лобных и височных электродов в левом и правом полушарии в задачах: “наблюдение”, “выполнение”, наблюдение “статической картины”, “наблюдение движения шарика” (значение в фоне соответствует нулю на оси *y*).

Поскольку дисперсионный анализ не выявил влияния фактора “ритм” на динамику показателей мощности ритмов относительно фона, изменения происходили синхронно, при этом в самом сигнале не было выявлено четких ритмических паттернов, дальнейший анализ проводился с использованием показателя суммарной мощности сигнала, которая отражала бы изменения амплитуды сигнала LFP.

Дисперсионный анализ относительных значений суммарной мощности спектра проводился по протоколу повторных измерений (пробы “статическая картина”, “наблюдение”

”, “представление”, “выполнение”, “движение шарика”) с учетом факторов “локализация” и “полушарие” (рис. 4). Было выявлено достоверное влияние ( $F(4,692) = 8.98, p < 0.001$ ) взаимодействия всех факторов. Апостериорный тест Тьюки выявил значительную долю попарных достоверных различий между значениями относительной мощности сигнала. Рисунок 4 иллюстрирует изменения суммарной мощности LFP-сигнала в различных задачах и областях мозга.

В задачах на активацию ЗСМ (“наблюдение”, “представление”, “выполнение”) изменения происходят в левой лобной доле — мощности ритмов повышаются (достоверные отличия в левом лобном электроде во всех трех задачах от значений в пробе “движение шарика”, апостериорный тест Тьюки,  $p < 0.001$ ). Наибольшее повышение мощности было зарегистрировано с левого лобного электрода в задачах “представление” и “выполнение”. В то же время при наблюдении



**Рис. 4.** Динамика суммарной мощности спектра LFP-сигнала в различных полушариях и областях при реализации различных проб. Вертикальные планки соответствуют 95%-му доверительному интервалу. \* – достоверные различия мощности в левой лобной области по сравнению с пробой “движение шарика”, апостериорный тест Тьюки,  $p < 0.05$ . ◆ – достоверные различия мощности в левой лобной области по сравнению с пробой “статическая картина”, апостериорный тест Тьюки,  $p < 0.05$ .

**Fig. 4.** Dynamics of the total power of the LFP spectrum in different hemispheres and regions during the implementation of various samples. The vertical bars correspond to a 95% confidence interval. \* – significant power differences in the left frontal region compared to the “ball movement” test, a posteriori Tukey test,  $p < 0.05$ . ◆ – significant power differences in the left frontal region compared to the “static picture” test, a posteriori Tukey test,  $p < 0.05$ .

небиологического движения (движущегося шарика) значительно снижается суммарная мощность сигнала относительно фона (достоверные попарные отличия с другими задачами во всех областях, кроме правой лобной доли, апостериорный тест Тьюки,  $p < 0.001$ ). При наблюдении статической картины неподвижного актера повышения суммарной мощности сигнала не происходило, однако достоверных попарных отличий с задачей “наблюдение” (апостериорный тест Тьюки) обнаружено не было.

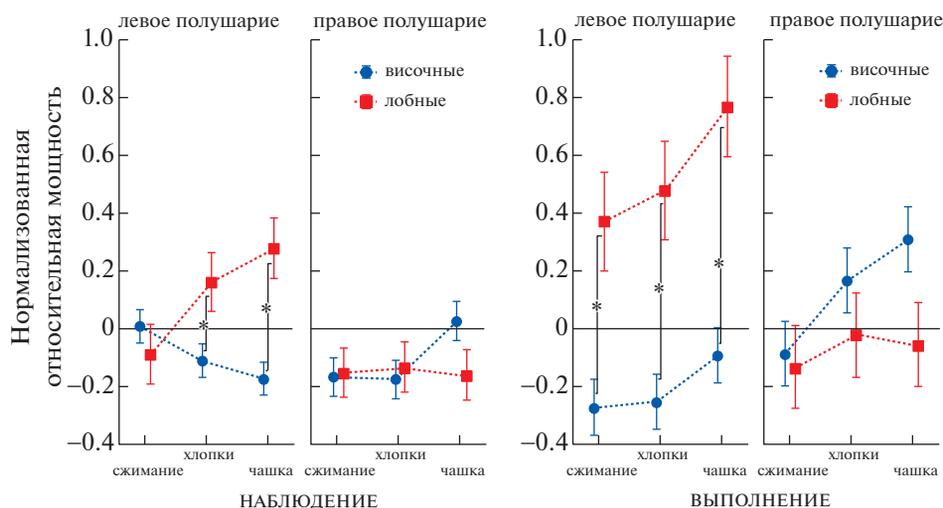
Далее для того, чтобы выявить, какой тип движения вызывал наибольшие изменения мощности сигнала, был проведен дисперсионный анализ с учетом факторов “вид движения”, “полушарие” и “локализация” отдельно для задач “наблюдение” и “выполнение” движений. Поскольку в задачах “наблюдение” и “выполнение” не было выявлено различий в динамике разных ритмов, дисперсионный анализ выполнялся также для суммарной мощности спектра. Дисперсионный анализ показал значимое влияние как одного фактора – “вид движения”, так и взаимодействия всех факторов: “вид движения” × “полушарие” × “локализация” – и при наблюдении, и при выполнении (табл. 1). Апостериорный тест Тьюки выявил достоверные отличия ( $p < 0.05$ ) относительной суммарной мощности сигнала в левом полушарии между лобными и височными электродами в задаче “выполне-

ние” (во всех типах движения) и в задаче “наблюдение” (в движениях “хлопки” и “чашка”).

Рисунок 5 иллюстрирует результаты дисперсионного анализа с учетом трех вышеперечисленных факторов – изменения суммарной мощности спектра при реализации различных типов движений: наблюдении и выполнении сжимания кисти, хлопков и перемещения чашки. На рис. 5 можно проследить, при каких типах движений происходят более значимые изменения суммарной мощности сигнала, в отличие от рис. 4. Видно, что наибольшие изменения, а также различия в динамике в височных и лобных долях происходили при наблюдении и выполнении наи-

**Таблица 1.** Показатели дисперсионного анализа с учетом влияния отдельно фактора “вид движения” и взаимодействия факторов “вид движения” × “полушарие” × “локализация” при наблюдении и выполнении задач

Влияние фактора	Задача	
	Наблюдение	Выполнение
“вид движения”	$F(2, 1428) = 5.21$ , $p = 0.005$	$F(2, 376) = 14.85$ , $p < 0.001$
“вид движения” × “полушарие” × “локализация”	$F(2, 1428) = 20.48$ , $p < 0.001$	$F(4, 376) = 3.89$ , $p = 0.02$



**Рис. 5.** Динамика суммарной мощности спектра в различных полушариях и областях при наблюдении и выполнении различных типов моторных движений – сжатия кисти, хлопков и перемещения чашки. Вертикальные планки соответствуют 95%-му доверительному интервалу. \* – достоверные различия мощности в левом полушарии между височной и лобной областью при попарном сравнении задач, апостериорный тест Тьюки,  $p < 0.05$ .

**Fig. 5.** Dynamics of the spectrum total power in different hemispheres and regions when observing and performing various types of motor movements – squeezing the hand, clapping and moving the cup. The vertical bars correspond to a 95% confidence interval. \* – significant power differences in the left hemisphere between the temporal and frontal regions in pairwise comparison of tasks, a posteriori Tukey test,  $p < 0.05$ .

более сложной задачи с перемещением чашки. Повышение суммарной спектральной мощности относительно фона (ноль по оси у на графиках) происходило при наблюдении и выполнении движений “хлопки” и “перемещение чашки” в левых лобных областях, а также при выполнении наиболее простого движения “сжатие кисти”. Также было выявлено увеличение суммарной мощности сигнала при выполнении задач “хлопки” и “перемещение чашки” в правой лобной области.

Таким образом, динамика мощности сигнала сильно различалась в разных полушариях и долях мозга в зависимости от пробы и типа движения.

*Повышение* мощности спектра происходило в *левой лобной доле* при реализации задач на активацию ЗСМ (наблюдение, представление и выполнение моторного акта), в большей степени при наиболее сложном типе движения – перемещении чашки.

*Снижение* мощности спектра сигнала происходило при просмотре *движущегося шарика*, причем более сильные изменения происходили в правой лобной доле.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### Трактовка изменения мощности LFP-сигнала

Как уже было сказано во введении, в коре головного мозга сигнал LFP, по-видимому, в основном происходит от трансмембранных нейрональных токов, следующих за синаптическим входом. Было показано, что для LFP-сигнала характерно сильное затухание при пространственном распространении более высоких частот (более 60 Гц) по сравнению с низкими частотами (около 1 Гц) (Bédard et al., 2004; Michmizos et al., 2012). Так, низкочастотные компоненты LFP-сигнала могут простираются даже за пределы активной нейронной популяции из-за эффекта объемной проводимости (Łęski et al., 2013). Кроме того, пространственные профили LFP для таких популяций обычно охватывают всю вертикальную протяженность дендритов в популяции нейронов. В связи с этим мы можем наблюдать преобладание медленноволновой части спектра в регистрируемом LFP-сигнале и синхронное изменение амплитуды мощности спектра. Однако оценка численной совокупности нейронов, вносящих свой вклад в регистрируемый сигнал, или пространственная разрешающая способность LFP-сигнала, как и возможность сопоставления результа-

тов с другими инвазивными исследованиями, осложняется тем, что на это будут влиять характеристики используемых электродов, значения сопротивления на них и локализация референтного электрода. Кроме того, положение инвазивных электродов в каждой подобной работе продиктовано в первую очередь клинической необходимостью и, несомненно, будет различаться в разных работах.

При трактовке изменений LFP-сигнала мы опирались на работы Денкер и соавт., которые экспериментально подтвердили гипотезу о том, что именно спайковая активность (причем именно синхронная спайковая активность большого количества нейронов) представляет собой основной темпорально и пространственно организованный компонент LFP-сигнала. В более ранней статье (Denker et al., 2007) были приведены доказательства в поддержку гипотезы о том, что увеличение амплитуды колебаний LFP-сигнала связано с большей степенью синхронизации между сигналами LFP и спайками. В следующей работе (Denker et al., 2011) было показано, что LFP-сигнал, являясь суммацией потенциалов, генерируемых близлежащими нейронами, отражает специфическую информацию о сетевых процессах. На мозге макак была продемонстрирована взаимосвязь между повышением амплитуды LFP и синхронизацией спайков нейронов, хотя существовала значительная доля одиночных спайков, не коррелирующая с амплитудой или фазой LFP. Таким образом, Денкер утверждает, что повышение амплитуды LFP-колебаний (в частности, в бета-диапазоне), является отражением активации нейронных сетей, распространяющихся по своей сети синхронный спайковый залп.

#### *Повышение мощности LFP-сигнала в левых лобных электродах*

Самые значительные изменения мощности LFP-сигнала при реализации социально окрашенных задач (наблюдение, представление и выполнение различных жестов) были зарегистрированы в левых лобных электродах. Стоит напомнить, что все моторные задачи выполнялись правой рукой (кроме хлопков, которые выполняли обеими руками). Каждый левый лобный электрод погружался примерно на 6 см в глубину мозга, заводился через нижнюю лобную извилину в головку хвостатого ядра слева и, соответственно, проходил через вентролатеральную

префронтальную кору, переднюю поясную кору, доходя до передних структур базальных ганглиев (головки хвостатого ядра). Рассмотрим каждую из структур, которая может давать вклад в изменение LFP-сигнала.

*Нижняя лобная извилина* уже достаточно давно рассматривается как часть зеркальной системы мозга человека. Еще Риццолатти в своем обзоре писал, что большое количество исследователей ЗСМ человека отмечают при наблюдении и выполнении активацию сложной сети, расположенной в ростральной части нижней теменной доли, нижней части прецентральной извилины и задней части нижней лобной извилины – эти области образуют ядро системы зеркальных нейронов человека (Rizzolatti, Craighero, 2004). Другие анатомические исследования на обезьянах показали, что премоторные области коры, в которых указывали наличие зеркальных нейронов, имеют множество других анатомических связей, которые могут расширить функциональные свойства данных областей (Vogta et al., 2017; Rizzolatti et al., 2014). В частности, кортико-кортикальные связи F5 распространяются также на области префронтальной коры (Gerbella et al., 2013), где были описаны нейроны, связанные с движением (Simone et al., 2015). Эти данные свидетельствуют о том, что специфическая область вентролатеральной префронтальной коры (12, 44, 45, 47 поля Бродмана) участвует в контекстно-ориентированном контроле действий и в наблюдении за действиями (Simone et al., 2017). Последующие работы также подтверждают участие нижней лобной извилины в наблюдении за действием и его повторении (Iacoboni, 2005; Molnar-Szakacs et al., 2005), кроме того, инвазивные исследования на обезьянах показали, что вентролатеральная префронтальная кора также участвует в социальном взаимодействии у макак и имеет зеркальные свойства (Sliwa, Freiwald, 2017). Авторы работы указывают на то, что часть медиальной и вентролатеральной префронтальной коры, а также передней поясной коры головного мозга макак составляют сеть социального взаимодействия.

Известно, что *области передней поясной коры* связывают с выполнением когнитивных задач, таких как принятие решений, управление эмоциями (DiCarlo et al., 2012; Li et al., 2019b; Lockwood, 2016; Raine, 2019). За счет своих связей с дополнительной моторной областью передняя поясная кора участвует в

планировании движений исходя из предполагаемых целей (Rolls, 2015). Многие работы, посвященные исследованию ЗСМ, также свидетельствуют о том, что поясная кора активизируется во время работы ЗСМ (Karakale et al., 2019; Li et al., 2019a; Saito et al., 2018). В работе Р. Мукамеля, в которой были зарегистрированы ответы отдельных нейронов у пациентов с височной эпилепсией, было показано, что в этой области действительно находятся нейроны с зеркальными свойствами (Mukamel et al., 2010). В работе, описывающей различия активации ЗСМ при имитации жестов и мимики (Ferrari et al., 2017), приводятся данные о том, что область F5 у макак имеет обширные связи с передней поясной корой, передним островком и базолатеральной миндалиной. Нейровизуализационные исследования у людей также показали, что наблюдение и имитация мимических выражений лица активируют область передней поясной коры (Carr et al., 2003; Singer, 2004). Функционально проекции в переднюю поясную кору могут быть связаны с оценкой релевантности имитационного поведения и выявлением эмоциональной окрашенности наблюдаемых жестов (Cai, Padoa-Schioppa, 2012; Chang et al., 2013). Стоит отметить, что поясная кора головного мозга, связанная с зеркальной системой, также участвует в управлении моторикой рта и в голосовой коммуникации, как это было продемонстрировано в исследовании на обезьянах (West, Larson, 1995). Таким образом, исследования говорят о том, что передняя поясная кора может участвовать в эмоциональном распознавании и повторении мимических выражений лица во время социальных контактов, а также в процессах моторных эмоциональных реакций, таких как смех и улыбка (Caruana et al., 2017; Ferrari et al., 2017).

Еще одна важная функция передней поясной коры, которая может задействоваться в процессе восприятия и “отзеркаливания” действий — это контроль и выявление конфликтов между параллельными моторными процессами (Carter, van Veen, 2007; Campbell, Cunningham, 2017). В ситуации восприятия моторного движения оппонента зеркальная система, как предполагается, активирует моторную сеть по той же схеме проекций, как если бы данное движение делал сам индивид. Тем самым может возникнуть конфликт между собственными моторными программами и воспринимаемыми репрезентациями.

Таким образом, в передней поясной коре может решаться задача одновременного удержания воспринимаемой моторной репрезентации и планирования собственного действия (Cross, Iacoboni, 2014).

Кончик лобного электрода располагался в *головке хвостатого ядра* — структуры, отвечающей не только за планирование выполнения движения, но также участвующей в процессах обучения, памяти, вознаграждения, мотивации, эмоциональных реакций (ten Donkelaar et al., 2020; Grahn et al., 2008). При этом хвостатое ядро получает от корковых структур (в основном из лобных долей) множество афферентных сигналов, содержащих интегральную информацию о внешнем мире, о положении тела, которая потом распространяется в другие структуры базальных ганглиев и таламус, причем в большинстве этих связей преобладает торможение, а не возбуждение. Головку хвостатого ядра можно условно назвать когнитивной и эмоциональной частью стриатума, так как она связана с латеральной и медиальной префронтальной корой и участвует в процессах рабочей памяти, исполнительном функционировании, возникновении эмоций (Graff-Radford et al., 2017). Ассоциативное обучение — еще одна важная функция хвостатого ядра, которое играет важную роль в соединении зрительных стимулов с двигательными реакциями, а также в обучении с подкреплением. Переднее хвостатое ядро кодирует одновременно пространственную информацию и информацию о вознаграждении и риске совместно с лобной корой, с которой оно имеет множество прочных связей (Yanike, Ferrera, 2014).

*Система базальных ганглиев* отвечает за сложные двигательные акты, безусловные и условные рефлексы, контроль двигательных программ, выражения эмоций, хранение двигательных навыков, требующих предварительного обучения (ten Donkelaar et al., 2020). Два недавних исследования показали, что базальные ганглии могут участвовать в процессе “отзеркаливания” во время социального взаимодействия: в исследованиях участвовали пациенты с болезнью Паркинсона, при этом схожие изменения активности в субталамическом ядре происходили как при наблюдении за движением, так и при выполнении этого движения, достоверно отличаясь от двух контрольных состояний (Alegre et al., 2010). С чем может быть связано вовлечение системы базальных ганглиев в процесс вос-

приятия и “проецирования” социальных жестов и мимики? Во-первых, безусловно, с необходимостью затормаживать двигательную активность при наблюдении за собеседником. Ведь по определению зеркальных нейронов, данная функциональная сеть мозга должна “включать” моторную репрезентацию наблюдаемых действий для их восприятия и “отзеркаливания”, в этот самый момент должна подключаться затормаживающая система, чтобы каждое наблюдаемое действие не вызывало моторную реакцию повторения у собеседника. На эту роль лучше всего подходит система базальных ганглиев, но для того, чтобы это торможение произошло, система базальных ганглиев должна получить входящую информацию от системы зеркальных нейронов.

#### *Функциональные связи ЗСМ*

Марко Якобони, один из ветеранов исследования зеркальных нейронов, для описания их функциональных связей с другими системами предложил гипотезу “минимальной нейронной архитектуры подражания” (Iacoboni, 2005), согласно которой импульсы от сенсорных отделов коры приходят в верхнюю височную борозду, а затем — в задние теменные отделы в качестве соматосенсорной информации, необходимой для подражания. Из задних теменных отделов они поступают в нижнюю лобную извилину, где определяется мотив действия оппонента, затем импульсы приходят вновь в верхнюю височную борозду, где сравнивается полученное ранее представление о действии оппонента и принимается решение о необходимости подражания. Якобони также предполагал, что зеркальные нейроны находятся во всех вышеописанных областях, причем нейроны каждой зоны специфичны по своим функциям, традиционно приписываемым этим зонам (Косоногов, 2009).

Сейчас стало ясно, что процесс “отзеркаливания” при социальном взаимодействии — это не просто восприятие и отображение моторных реакций оппонента, но намного более сложный процесс, включающий стадии моторной репрезентации, контроля параллельных моторных программ, затормаживания повторения действий, определения эмоциональной окраски и мотива действия, принятия решения о собственном моторном ответе. Мы предполагаем, что на более поздних стадиях “отзеркаливания”, когда инфор-

мация из соматосенсорных отделов переходит в нижнюю лобную извилину для определения мотиваций и принятия собственных решений, далее она распространяется через переднюю поясную кору и головку хвостатого ядра к системе базальных ганглиев. При этом в поясной коре может происходить эмоциональная оценка увиденного действия, мимические эмоциональные реакции, отслеживание конфликтов между собственными и воспринимаемыми моторными актами; головка хвостатого ядра может быть связана с процессами ассоциативного обучения и мотивации в ЗСМ; базальные ганглии в процессах “отзеркаливания” должны выполнять контроль собственных моторных актов и затормаживать воспринимаемые двигательные акты, которые активируют соответствующие области моторной коры через зеркальные нейроны. Мы полагаем, что повышение мощности LFP-сигнала вдоль всего левого лобного погружного электрода, описанное в нашей работе, может являться отражением активации пути ЗСМ “*вентро-латеральная префронтальная кора — передняя поясная кора — головка хвостатого ядра*” в доминантном полушарии. Безусловно, данная гипотеза нуждается в дальнейшей разработке и проверке, на которые и будут направлены наши последующие работы.

#### *Изменения мощности LFP выше при представлении и выполнении действий*

Несмотря на то что повышение мощности LFP-сигнала в левых лобных электродах происходило при наблюдении, представлении и выполнении моторных задач, более значительные изменения происходили при представлении и выполнении. В одной из инвазивных работ по изучению ЗСМ было показано, что у семи больных фармакорезистентной эпилепсией как сам захват предметов, так и наблюдение этих действий вызывали десинхронизацию субдуральных альфа- и бетаритмов ЭКоГ в первичной соматосенсорномоторной, латеральной премоторной и вентральной префронтальной областях (Vabiloni et al., 2016). Кроме того, эти изменения были больше во время выполнения действия, чем во время его наблюдения. В следующей работе Вавилони и соавт. показывают, что запаздывающая линейная коннективность между первичной соматосенсорно-моторной, латеральной премоторной и вентральной пре-

фронтальной областью усилена во время выполнения действия по сравнению с наблюдением из-за большего потока визуальной и соматомоторной информации (Babiloni et al., 2017). Результаты нового анализа показали, что запаздывающая коннективность дельта-тета-ритмов между вентральной префронтальной и латеральной премоторной областями была больше во время выполнения действия, чем при его наблюдении. Кроме того, фаза медленных ритмов связана с амплитудой более быстрых альфа-бета-ритмов ЭКОГ. Вавилони и его коллеги предположили, что во время выполнения подобных транзитивных действий нейрофизиологические низкочастотные колебательные механизмы, работающие во фронтальной нейронной сети, сформированной ВА6 и ВА44/45, будут лежать в основе интеграции моторных команд и зрительно-соматосенсорной обратной связи, сопровождающей собственное выполнение.

В нашем случае более значительное повышение мощности сигнала левых лобных электродов, проходящих через переднюю поясную кору и головку хвостатого ядра, в задачах “представление” и “выполнение” может быть связано с тем, что этот путь связан с реальным или воображаемым осуществлением воспринятой моторной программы, для чего активируются связи с базальными ганглиями. В пробе “наблюдение” за движением руки перед человеком стояла задача восприятия и проецирования действия, при этом по нашей гипотезе активация путей, связывающих ЗСМ с базальными ганглиями, может задействоваться в меньшей степени, в отличие от задач представления и повторения действия.

*Повышение мощности в правой височной доле при представлении и выполнении моторных задач*

Повышение суммарной мощности при представлении и выполнении было наиболее выражено для правой височной области в заданиях “хлопки в ладоши” и “перемещение чашки”. Данное повышение мощности может быть связано с работой ЗСМ: вовлечение гиппокампа в работу ЗСМ было показано на мышцах (Ushakov et al., 2013), а исследования у людей, проводимые с помощью фМРТ, указывают на то, что гиппокамп вносит вклад в деятельность ЗСМ человека (Ge et al., 2018; Krautheim et al., 2019). Также в работе Мукамеля, в которой были зарегистрированы от-

веты отдельных нейронов у пациентов с височной эпилепсией, было показано, что в гиппокампе, миндалевидном теле и энторинальной коре располагаются нейроны с зеркальными свойствами (Mukamel et al., 2010). Кроме того, возможно, активация гиппокампа связана с тем, что при выполнении этих заданий испытуемые обращаются к ассоциативным воспоминаниям, связанным с этими движениями, т.е. с декларативной памятью (Skelin et al., 2019; Solomon et al., 2019).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе впервые проводили анализ изменений локальных потенциалов поля, зарегистрированных с погружных инвазивных электродов в лобных и височных подкорковых областях мозга у пациентов с эпилепсией в рамках исследования зеркальной системы мозга и ее связей с другими структурами мозга. Подводя итог, можно отметить, что мощность сигнала повышалась при наблюдении, представлении и выполнении моторных действий в левом лобном погружном электроде, кроме того, наибольшие изменения происходили во время представления и выполнения, а также при более сложных моторных задачах “хлопки в ладоши” и “перемещение чашки”. При этом повышение активности в левой лобной области происходило только при реализации социально окрашенных задач (пробы на “отзеркаливание”), в то время как наблюдение статической картины или движущегося небиологического объекта — шарика — не вызывало повышения активности ни в одной из рассматриваемых областей. Поскольку левый лобный электрод заводили через левую нижнюю лобную извилину к головке хвостатого ядра, повышение мощности LFP-сигнала вдоль этого электрода может отражать активацию нейрональных связей ЗСМ с системой базальных ганглиев через переднюю поясную кору и головку хвостатого ядра. Участие вентролатеральной префронтальной коры и передней поясной коры подтверждается другими работами и связано с определением эмоциональной оценки и мотива наблюдаемого движения, и принятием собственного решения об ответной реакции. Однако связь ЗСМ с системой базальных ганглиев может функционально обеспечивать контроль конфликтов параллельных моторных актов (воспринимаемого и собственного) и затормаживание нежелательно-

го повтора воспринимаемого действия, а также принимать участие в процессе моторного ассоциативного обучения. Данное исследование ЗСМ с использованием инвазивных методик требует, однако, дальнейшего набора пациентов и увеличения числа выборки, что позволит повысить статистическую точность и приблизиться к пониманию механизмов работы зеркальных нейронов и их взаимосвязей с моторной, лимбической и другими системами мозга.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации на 2018–2020 гг.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Косоногов В.* Зеркальные нейроны: краткий научный обзор. Ростов-на-Дону: Антей, 2009. 22 с.
- Alegre M., Rodríguez-Oroz M.C., Valencia M., Pérez-Alcázar M., Guridi J., Iriarte J., Obeso J.A., Artieda J.* Changes in subthalamic activity during movement observation in Parkinson's disease: Is the mirror system mirrored in the basal ganglia? *Clinical Neurophysiology*. 2010. 121 (3): 414–425. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2009.11.013>
- Asano E., Juhasz C., Shah A., Muzik O., Chugani D.C., Shah J., Sood S., Chugani H.T.* Origin and Propagation of Epileptic Spasms Delineated on Electro-corticography. *Epilepsia*. 2005. 46 (7): 1086–1097. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.05205.x>
- Babiloni C., Del Percio C., Lopez S., Di Gennaro G., Quarato P.P., Pavone L., Morace R., Soricelli A., Noce G., Esposito V., Gallese V., Mirabella G.* Frontal Functional Connectivity of Electro-corticographic Delta and Theta Rhythms during Action Execution Versus Action Observation in Humans. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2017. 11. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00020>
- Babiloni C., Del Percio C., Vecchio F., Sebastiano F., Di Gennaro G., Quarato P.P., Morace R., Pavone L., Soricelli A., Noce G., Esposito V., Rossini P.M., Gallese V., Mirabella G.* Alpha, beta and gamma electrocorticographic rhythms in somatosensory, motor, premotor and prefrontal cortical areas differ in movement execution and observation in humans. *Clinical Neurophysiology*. 2016. 127 (1): 641–654. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.04.068>
- Bédard C., Kröger H., Destexhe A.* Modeling Extracellular Field Potentials and the Frequency-Filtering Properties of Extracellular Space. *Biophysical Journal*. 2004. 86 (3): 1829–1842. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(04\)74250-2](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(04)74250-2)
- Bimbi M., Festante F., Coudé G., Vanderwert R.E., Fox N.A., Ferrari P.F.* Simultaneous scalp recorded EEG and local field potentials from monkey ventral premotor cortex during action observation and execution reveals the contribution of mirror and motor neurons to the mu-rhythm. *NeuroImage*. 2018. 175: 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.03.037>
- Borra E., Gerbella M., Rozzi S., Luppino G.* The macaque lateral grasping network: A neural substrate for generating purposeful hand actions. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2017. 75: 65–90. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.01.017>
- Buzsáki G., Anastassiou C.A., Koch C.* The origin of extracellular fields and currents – EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nature Reviews Neuroscience*. 2012. 13 (6): 407–420. <https://doi.org/10.1038/nrn3241>
- Cai X., Padoa-Schioppa C.* Neuronal Encoding of Subjective Value in Dorsal and Ventral Anterior Cingulate Cortex. *Journal of Neuroscience*. 2012. 32 (11): 3791–3808. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3864-11.2012>
- Campbell M.E.J., Cunnington R.* More than an imitation game: Top-down modulation of the human mirror system. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2017. 75: 195–202. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.01.035>
- Carr L., Iacoboni M., Dubeau M.-C., Mazziotta J.C., Lenzi G.L.* Neural mechanisms of empathy in humans: A relay from neural systems for imitation to limbic areas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003. 100 (9): 5497–5502. <https://doi.org/10.1073/pnas.0935845100>
- Carter C.S., van Veen V.* Anterior cingulate cortex and conflict detection: An update of theory and data. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*. 2007. 7 (4): 367–379. <https://doi.org/10.3758/CABN.7.4.367>
- Caruana F., Avanzini P., Gozzo F., Pelliccia V., Casaceli G., Rizzolatti G.* A mirror mechanism for smiling in the anterior cingulate cortex. *Emotion*. 2017. 17 (2): 187–190. <https://doi.org/10.1037/emo0000237>
- Caruana F., Sartori I., Lo Russo G., Avanzini P.* Sequencing Biological and Physical Events Affects Specific Frequency Bands within the Human Premotor Cortex: An Intracerebral EEG Study. *PLoS ONE*. 2014. 9 (1): e86384. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086384>
- Chang L.J., Yarkoni T., Khaw M.W., Sanfey A.G.* Decoding the Role of the Insula in Human Cognition: Functional Parcellation and Large-Scale Reverse Inference. *Cerebral Cortex*. 2013. 23 (3): 739–749. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs065>
- Collinger J.L., Vinjamuri R., Degenhart A.D., Weber D.J., Sudre G.P., Boninger M.L., Tyler-Kabara E.C., Wang W.* Motor-related brain activity during ac-

- tion observation: a neural substrate for electrocorticographic brain-computer interfaces after spinal cord injury. *Frontiers in Integrative Neuroscience*. 2014. 8.  
<https://doi.org/10.3389/fnint.2014.00017>
- Cross K.A., Iacoboni M. Neural systems for preparatory control of imitation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2014. 369 (1644): 20130176.  
<https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0176>
- Denker M., Roux S., Lindén H., Diesmann M., Riehle A., Grün S. The Local Field Potential Reflects Surplus Spike Synchrony. *Cerebral Cortex*. 2011. 21 (12): 2681–2695.  
<https://doi.org/10.1093/cercor/bhr040>
- Denker M., Roux S., Timme M., Riehle A., Grün S. Phase synchronization between LFP and spiking activity in motor cortex during movement preparation. *Neurocomputing*. 2007. 70 (10–12): 2096–2101.  
<https://doi.org/10.1016/j.neucom.2006.10.088>
- DiCarlo J.J., Zoccolan D., Rust N.C. How Does the Brain Solve Visual Object Recognition? *Neuron*. 2012. 73 (3): 415–434.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.01.010>
- DiLorenzo D.J., Mangubat E.Z., Rossi M.A., Byrne R.W. Chronic unlimited recording electrocorticography-guided resective epilepsy surgery: technology-enabled enhanced fidelity in seizure focus localization with improved surgical efficacy. *Journal of Neurosurgery*. 2014. 120 (6): 1402–1414.  
<https://doi.org/10.3171/2014.1.JNS131592>
- ten Donkelaar H.J., van de Warrenburg B., Willemsen M., Küsters B., Hashizume Y., Hori A. Basal Ganglia. *Clinical Neuroanatomy*. P. 591–667. Cham, Springer International Publishing. (also available at [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-41878-6\\_11](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-41878-6_11))
- Ferrari P.F., Gerbella M., Coudé G., Rozzi S. Two different mirror neuron networks: The sensorimotor (hand) and limbic (face) pathways. *Neuroscience*. 2017. 358: 300–315.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.06.052>
- Gallese V., Fadiga L., Fogassi L., Rizzolatti G. Action recognition in the premotor cortex. *Brain*. 1996. 119 (2): 593–609.  
<https://doi.org/10.1093/brain/119.2.593>
- Ge S., Liu H., Lin P., Gao J., Xiao C., Li Z. Neural Basis of Action Observation and Understanding From First- and Third-Person Perspectives: An fMRI Study. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2018. 12.  
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00283>
- Gerbella M., Borra E., Tonelli S., Rozzi S., Luppino G. Connectional Heterogeneity of the Ventral Part of the Macaque Area 46. *Cerebral Cortex*. 2013. 23 (4): 967–987.  
<https://doi.org/10.1093/cercor/bhs096>
- Graff-Radford J., Williams L., Jones D.T., Benarroch E.E. Caudate nucleus as a component of networks controlling behavior. *Neurology*. 2017. 89 (21): 2192–2197.  
<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004680>
- Grafton S., Arbib M., Fadiga L., Rizzolatti G. Localization of grasp representations in humans by positron emission tomography. *Experimental Brain Research*. 1996. 112 (1).  
<https://doi.org/10.1007/BF00227183>
- Grahn J.A., Parkinson J.A., Owen A.M. The cognitive functions of the caudate nucleus. *Progress in Neurobiology*. 2008. 86 (3): 141–155.  
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2008.09.004>
- Halje P., Seeck M., Blanke O., Ionta S. Inferior frontal oscillations reveal visuo-motor matching for actions and speech: evidence from human intracranial recordings. *Neuropsychologia*. 2015. 79: 206–214.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2015.08.015>
- Hashiguchi K., Morioka T., Yoshida F., Miyagi Y., Nagata S., Sakata A., Sasaki T. Correlation between scalp-recorded electroencephalographic and electrocorticographic activities during ictal period. *Seizure*. 2007. 16 (3): 238–247.  
<https://doi.org/10.1016/j.seizure.2006.12.010>
- Iacoboni M. Understanding others: imitation, language, empathy. *Perspectives on Imitation: From Cognitive Neuroscience to Social Science*. 2005.
- Karakale O., Moore M.R., Kirk I.J. Mental Simulation of Facial Expressions: Mu Suppression to the Viewing of Dynamic Neutral Face Videos. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2019. 13.  
<https://doi.org/10.3389/fnhum.2019.00034>
- Krauthaim J.T., Dannowski U., Steines M., Neziroğlu G., Acosta H., Sommer J., Straube B., Kircher T. Ingroup empathy: Enhanced neural resonance for ingroup facial emotion in a shared neural production-perception network. *NeuroImage*. 2019. 194: 182–190.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.03.048>
- Kuruvilla A., Flink R. Intraoperative electrocorticography in epilepsy surgery: useful or not? *Seizure*. 2003. 12 (8): 577–584.  
[https://doi.org/10.1016/S1059-1311\(03\)00095-5](https://doi.org/10.1016/S1059-1311(03)00095-5)
- Łęski S., Lindén H., Tetzlaff T., Pettersen K.H., Einevoll G.T. Frequency Dependence of Signal Power and Spatial Reach of the Local Field Potential. *PLoS Computational Biology*. 2013. 9 (7): e1003137.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003137>
- Li Q., Becker B., Jiang X., Zhao Z., Zhang Q., Yao S., Kendrick K.M. Decreased interhemispheric functional connectivity rather than corpus callosum

- volume as a potential biomarker for autism spectrum disorder. *Cortex*. 2019a. 119: 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2019.05.003>
- Li Y.S., Nassar M.R., Kable J.W., Gold J.I. Individual Neurons in the Cingulate Cortex Encode Action Monitoring, Not Selection, during Adaptive Decision-Making. *The Journal of Neuroscience*. 2019b. 39 (34): 6668–6683. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0159-19.2019>
- Lockwood P.L. The anatomy of empathy: Vicarious experience and disorders of social cognition. *Behavioural Brain Research*. 2016. 311: 255–266. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.05.048>
- Michmizos K.P., Sakas D., Nikita K.S. Parameter identification for a local field potential driven model of the Parkinsonian subthalamic nucleus spike activity. *Neural Networks*. 2012. 36: 146–156. <https://doi.org/10.1016/j.neunet.2012.10.003>
- Mitzdorf U. Current source-density method and application in cat cerebral cortex: investigation of evoked potentials and EEG phenomena. *Physiological Reviews*. 1985. 65 (1): 37–100. <https://doi.org/10.1152/physrev.1985.65.1.37>
- Molnar-Szakacs I., Iacoboni M., Koski L., Mazziotta J.C. Functional Segregation within Pars Opercularis of the Inferior Frontal Gyrus: Evidence from fMRI Studies of Imitation and Action Observation. *Cerebral Cortex*. 2005. 15 (7): 986–994. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhh199>
- Mukamel R., Ekstrom A.D., Kaplan J., Iacoboni M., Fried I. Single-Neuron Responses in Humans during Execution and Observation of Actions. *Current Biology*. 2010a. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.02.045>
- Mukamel R., Ekstrom A.D., Kaplan J., Iacoboni M., Fried I. Single-Neuron Responses in Humans during Execution and Observation of Actions. *Current Biology*. 2010b. 20 (8): 750–756. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.02.045>
- Nauhaus I., Busse L., Carandini M., Ringach D.L. Stimulus contrast modulates functional connectivity in visual cortex. *Nature Neuroscience*. 2009. 12(1): 70–76. <https://doi.org/10.1038/nn.2232>
- Okun M., Naim A., Lampl I. The Subthreshold Relation between Cortical Local Field Potential and Neuronal Firing Unveiled by Intracellular Recordings in Awake Rats. *Journal of Neuroscience*. 2010. 30 (12): 4440–4448. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5062-09.2010>
- Perry A., Stiso J., Chang E.F., Lin J.J., Parvizi J., Knight R.T. Mirroring in the Human Brain: Deciphering the Spatial-Temporal Patterns of the Human Mirror Neuron System. *Cerebral Cortex*. 2018. 28 (3): 1039–1048. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx013>
- Poulet J.F.A., Petersen C.C.H. Internal brain state regulates membrane potential synchrony in barrel cortex of behaving mice. *Nature*. 2008. 454 (7206): 881–885. <https://doi.org/10.1038/nature07150>
- Raine A. The neuromoral theory of antisocial, violent, and psychopathic behavior. *Psychiatry Research*. 2019. 277: 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2018.11.025>
- Rizzolatti G., Cattaneo L., Fabbri-Destro M., Rozzi S. Cortical Mechanisms Underlying the Organization of Goal-Directed Actions and Mirror Neuron-Based Action Understanding. *Physiological Reviews*. 2014. 94 (2): 655–706. <https://doi.org/10.1152/physrev.00009.2013>
- Rizzolatti G., Craighero L. THE MIRROR-NEURON SYSTEM. *Annual Review of Neuroscience*. 2004. 27 (1): 169–192. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.27.070203.144230>
- Rolls E.T. Limbic systems for emotion and for memory, but no single limbic system. *Cortex*. 2015. 62: 119–157. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2013.12.005>
- Saito Y., Kubicki M., Koerte I., Otsuka T., Rathi Y., Pasternak O., Bouix S., Eckbo R., Kikinis Z., von Hohenberg C.C., Roppongi T., Del Re E., Asami T., Lee S.-H., Karmacharya S., Meshulam-Gately R.I., Seidman L.J., Levitt J., McCarley R.W., Shenton M.E., Niznikiewicz M.A. Impaired white matter connectivity between regions containing mirror neurons, and relationship to negative symptoms and social cognition, in patients with first-episode schizophrenia. *Brain Imaging and Behavior*. 2018. 12 (1): 229–237. <https://doi.org/10.1007/s11682-017-9685-z>
- Simone L., Bimbi M., Rodà F., Fogassi L., Rozzi S. Action observation activates neurons of the monkey ventrolateral prefrontal cortex. *Scientific Reports*. 2017. 7 (1): 44378. <https://doi.org/10.1038/srep44378>
- Simone L., Rozzi S., Bimbi M., Fogassi L. Movement-related activity during goal-directed hand actions in the monkey ventrolateral prefrontal cortex. *European Journal of Neuroscience*. 2015. 42 (11): 2882–2894. <https://doi.org/10.1111/ejn.13040>
- Singer T. Empathy for Pain Involves the Affective but not Sensory Components of Pain. *Science*. 2004. 303 (5661): 1157–1162. <https://doi.org/10.1126/science.1093535>
- Skelin I., Kilianski S., McNaughton B.L. Hippocampal coupling with cortical and subcortical structures in the context of memory consolidation. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2019. 160: 21–31. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.04.004>
- Sliwa J., Freiwald W.A. A dedicated network for social interaction processing in the primate brain. *Sci-*

- ence. 2017. 356 (6339): 745–749.  
<https://doi.org/10.1126/science.aam6383>
- Solomon E.A., Stein J.M., Das S., Gorniak R., Sperling M.R., Worrell G., Inman C.S., Tan R.J., Jobst B.C., Rizzuto D.S., Kahana M.J. Dynamic Theta Networks in the Human Medial Temporal Lobe Support Episodic Memory. *Current Biology*. 2019. 29 (7): 1100–1111.e4.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.02.020>
- Ushakov V.L., Kartashov S.I., Zavyalova V.V., Bezverhiy D.D., Posichanyuk V.I., Terentev V.N., Anokhin K.V. Network activity of mirror neurons depends on experience. *Journal of Integrative Neuroscience*. 2013. 12(01): 35–46.  
<https://doi.org/10.1142/S0219635213500040>
- Viswanathan A., Freeman R.D. Neurometabolic coupling in cerebral cortex reflects synaptic more than spiking activity. *Nature Neuroscience*. 2007. 10 (10): 1308–1312.  
<https://doi.org/10.1038/nn1977>
- Waldert S., Vigneswaran G., Philipp R., Lemon R.N., Kraskov A. Modulation of the Intracortical LFP during Action Execution and Observation. *The Journal of Neuroscience*. 2015. 35 (22): 8451–8461.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5137-14.2015>
- West R.A., Larson C.R. Neurons of the anterior mesial cortex related to faciovocal activity in the awake monkey. *Journal of Neurophysiology*. 1995. 74 (5): 1856–1869.  
<https://doi.org/10.1152/jn.1995.74.5.1856>
- Yanike M., Ferrera V.P. Representation of Outcome Risk and Action in the Anterior Caudate Nucleus. *Journal of Neuroscience*. 2014. 34 (9): 3279–3290.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3818-13.2014>

## INVASIVE REGISTRATION OF LOCAL FIELD POTENTIALS DURING OBSERVATION, REPRESENTATION, AND EXECUTION OF MOVEMENTS IN PATIENTS WITH EPILEPSY

**E. D. Karimova<sup>a,b,#</sup>, S. E. Burkitbayev<sup>a,b</sup>, I. S. Trifonov<sup>c</sup>, M. V. Sinkin<sup>d</sup>, F. K. Rider<sup>b</sup>,  
 A. B. Gekht<sup>b,e</sup>, and N. N. Lebedeva<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> *Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia*

<sup>b</sup> *Research and Clinical Center for Neuropsychiatry of Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia*

<sup>c</sup> *Clinical Medical Center of Moscow State Medical and Dental University, Moscow, Russia*

<sup>d</sup> *Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow, Russia*

<sup>e</sup> *Russian National Research Medical University, Moscow, Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: e.d.karimova@gmail.com*

The existence of neurons with “mirror” properties in humans was shown in an invasive study on patients with epilepsy only in 2010 after almost 15 years of studying the mirror neuron system (MNS). The complexity of the MNS study in humans lies in the limitations of the methods used to assess the activity of structures, such as EEG and fMRI. In this work, the activity of subcortical structures of the brain was recorded using submerged electrodes in the implementation of various motor tasks in patients with pharmaco-resistant epilepsy. Characteristics of local field potentials (LFP) were obtained for the left and right frontal and temporal regions. The power of the LFP signal significantly increased when implementing social “mirroring” tasks in the left frontal electrode. This may indicate the presence of neuronal connections of the MNS with the basal ganglia system, which provide control and inhibition of undesirable motor actions during perception, as well as participating in the process of motor associative learning.

*Keywords:* mirror neuron system, epilepsy, social interaction, LFP, basal ganglia

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПАТОЛОГИЯ  
ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

УДК 616.894-053.8-092.9:575

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ И АНАЛИЗА НАРУШЕНИЙ СОЦИАЛЬНОГО  
ПОВЕДЕНИЯ И КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ У ЖИВОТНЫХ  
С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОЛЕЗНЬЮ АЛЬЦГЕЙМЕРА

© 2021 г. Я. В. Горина<sup>1,2,\*</sup>, А. Б. Салмина<sup>1,2</sup>, Д. П. Чернюк<sup>1</sup>, А. В. Большакова<sup>1</sup>, П. М. Балабан<sup>1,3</sup>,  
И. Б. Безпрозванный<sup>1,4</sup>, О. Л. Власова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Лаборатория молекулярной нейродегенерации, Санкт-Петербургский политехнический университет  
Петра Великого, г. Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, Красноярский государственный медицинский университет  
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, Россия

<sup>3</sup> Лаборатория клеточной нейробиологии обучения, Институт высшей нервной деятельности, г. Москва, Россия

<sup>4</sup> Отделение физиологии юго-западного медицинского центра Техасского университета, г. Даллас, США

\*e-mail: yana\_20@bk.ru

Поступила в редакцию 20.11.2020 г.

После доработки 22.12.2020 г.

Принята к публикации 22.12.2020 г.

Болезнь Альцгеймера является наиболее распространенным нейродегенеративным заболеванием во всем мире, которое вызывает значимые негативные социально-экономические последствия. Несмотря на многочисленные исследования патогенеза заболевания, нейropатологические механизмы остаются в полной мере неясными, а современные методы лечения недостаточно эффективными. В последние десятилетия генетические модели болезни Альцгеймера на грызунах использовались для детального изучения молекулярных механизмов развития заболевания, что имеет решающее значение для ее ранней диагностики и эффективной терапии. Принимая во внимание значимое влияние бета-амиоида на проявление нарушений в поведении и развитие когнитивной дисфункции, в этом обзоре мы представляем детальную характеристику трансгенной мышинной модели 5xFAD как наиболее ценного и необходимого инструмента для изучения основных механизмов, лежащих в основе когнитивных и психических нарушений при БА, а также их взаимосвязь с церебральной микросредой.

*Ключевые слова:* болезнь Альцгеймера, генетические модели на грызунах, мышинная модель 5xFAD, поведение

DOI: 10.31857/S0044467721050051

Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее распространенной формой деменции, которая поразила около 40 млн человек во всем мире, и, по прогнозам ученых, за счет старения населения к 2040 г. этот показатель увеличится до 80 млн человек (Garre-Olmo, 2018). Специфические симптомы БА включают прогрессирующее необратимое снижение когнитивных функций и потерю памяти; при этом, как правило, у пациентов с БА клинические симптомы не проявляются вплоть до стадии ранней деменции, что в значительной степени затрудняет своевременную диагностику и клиническое изучение патогенеза БА (Scheltens et al., 2016).

Ключевыми неврологическими особенностями БА являются наличие бляшек бета-амиоида (A $\beta$ ) и нейрофибриллярных клубков, а также потеря нейронов (холинергических, норадренергических, серотонинергических), что, в свою очередь, сопряжено с нарушениями памяти (Strassnig, Ganguli, 2005). В основном внеклеточные амилоидные бляшки состоят из дистрофических нейритов, окруженных центральным ядром, тогда как нейрофибриллярные клубки – из гиперфосфорилированных доменов тау-белка, связанного с микротрубочками, в перинуклеарной зоне нейронов (Price et al., 2001).

Спорадическая форма БА является наиболее распространенной, но ее этиология до конца не выяснена. Однако есть убедительные доказательства генетического вклада, способствующего развитию наследственной формы БА, называемой семейной (Goate, 2006; O'Connor et al., 2020; Zhang et al., 2020). Несмотря на то что семейная форма составляет менее 5% от всех пациентов с БА, по симптоматике и патогенезу она не отличается от спорадической (D'Argenio, Sarnataro, 2020). Так, в обоих случаях на ранней стадии заболевание характеризуется локализацией Аβ в базальной части переднего мозга и нейрофибриллярных клубков – в энторинальной коре, тогда как на поздней стадии поражение охватывает всю кору, а также наблюдается выраженная потеря кортикальных нейронов и нейронов гиппокампа (Perl, 2010), что считается одной из причин снижения функции мозга (Fjell, Walhovd, 2010).

Помимо когнитивных нарушений, включающих потерю памяти (Jahn, 2013), у многих пациентов с БА также проявляются и психические расстройства, а именно: депрессия, тревога, апатия, возбуждение, агрессия и снижение интереса к социальному общению (Scheltens et al., 2016; Zhao et al., 2016). Так, у 80% пациентов с БА когнитивная дисфункция ассоциирована с проявлением по крайней мере одного из признаков психического расстройства, что, в свою очередь, не наблюдается у 50% пациентов с легкими когнитивными нарушениями (Cummings et al., 2019; Köhler et al., 2016). Стоит отметить и то, что развитие апатии, агрессии и депрессии также коррелирует с возрастом, прогрессированием заболевания или когнитивными нарушениями у пациентов с БА, причем агрессивное поведение чаще встречается у мужчин, чем у женщин (Lövhelm et al., 2008; Resnick et al., 2020).

Однако, несмотря на многочисленные исследования патогенеза БА, нейрпатологические механизмы остаются до конца неясными, а современные методы лечения – неэффективными. Кроме того, в связи с прогнозируемым увеличением распространенности и разрушительным характером симптоматики возникает необходимость детального изучения основных механизмов, лежащих в основе когнитивных и психических нарушений, в частности, с использованием современных генетических моделей БА на животных. Остается актуальным вопрос, насколько про-

явления аберрантного поведения корректно воспроизводятся у животных с моделями БА, в том числе генетическими моделями, каковы особенности проявления поведенческих расстройств у экспериментальных животных, и могут ли самые распространенные модели БА быть использованы для создания новых терапевтических стратегий, ориентированных на коррекцию нарушенного поведения. С учетом того, что одной из наиболее распространенных моделей БА является модель 5xFAD, в своем обзоре мы остановимся преимущественно на обсуждении некоторых аспектов ее применения для решения указанного вопроса.

### МОДЕЛИРОВАНИЕ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА НА ЖИВОТНЫХ

Для изучения патогенеза БА, ее прогрессирования и взаимосвязи с когнитивными и психическими изменениями был использован ряд моделей на животных (грызунах). В настоящее время существует несколько основных подходов к моделированию БА на животных (табл. 1).

Идентификация мутаций гена-предшественника Аβ (APP) и пресенилина (PS), связанных с развитием семейной формы БА (Argozi et al., 2017; Cruchaga et al., 2018; Giau et al., 2019), привела к разработке значительного количества моделей с патологией Аβ на трансгенных мышах, которые являются важными инструментами для выяснения патогенеза БА, а также поиска маркеров для диагностики заболевания на ранней стадии развития БА (Li et al., 2016a; Park et al., 2020; Zhang, 2018). При этом мутации тау-белка, характерные при развитии лобно-височной долевой дегенерации, использовались для индукции таупатий у мышей (Forrest et al., 2018). Несмотря на данные о том, что умеренная сверхэкспрессия мышинового тау-белка может приводить к возраст-ассоциированному гиперфосфорилированию тау-белка (Adams et al., 2009), и полученные экспериментальные результаты о развитии естественной патологии, связанной с аккумуляцией Аβ, у старых мышей (Ahlemeyer et al., 2018), при разработке трансгенных моделей чаще всего используют человеческие генетические конструкции, которые могут дать непредвиденные эффекты по сравнению с эндогенными гомологами мыши. Важно отметить то, что использование мутаций нескольких генов для создания

**Таблица 1.** Ключевые характеристики основных протоколов моделирования БА у экспериментальных животных  
**Table 1.** Key characteristics of the main protocols for modeling AD in experimental animals

Трансгенез	Химическое повреждение ткани головного мозга или введение амилоида в ткань головного мозга
<p>Экспрессия APP (с разными промоторами (PDGF, Thy) и с разной длиной фрагмента), tau, PS для достижения аккумуляции A<math>\beta</math> в ткани головного мозга (например, экспрессия химерного мышинового и человеческого APP и мутантной формы человеческого пресенилина, экспрессия мутантной формы человеческого пресенилина и мутантной формы человеческого APP)</p> <p>Клиническая картина и патоморфологические изменения развиваются в срок от 6 до 15 мес</p> <p>Экспрессия различна в различных регионах мозга и может меняться в динамике развития заболевания</p>	<p>1) Депонирование в ткани и медленное высвобождение сульфата железа, бутионин-сульфоксимида и бета-амилоида. Через 4 нед – нарушения памяти и появление тау-белка в спинномозговой жидкости, депозиты амилоида в ткани мозга</p> <p>2) Введение D-галактозы 90 мг/кг интраперитонеально, 90 дней индуцирует развитие окислительного стресса, повреждение астроцитов, агрегацию амилоида</p> <p>3) Введение AlCl<sub>3</sub> парентерально (в желудочки мозга, внутривентрикулярно), 0.4–1.6 мг/кг массы – 40 мг/кг (в период 12–26 мес или 3 мес, соответственно), после чего развиваются прогрессирующая когнитивная дисфункция, гиперфосфорилирование tau, окислительный стресс, дегенерация нейронов гиппокампа. В ряде протоколов рекомендовано введение комбинации хлорида алюминия и галактозы</p> <p>4) Интрацеребральная инъекция A<math>\beta</math> изолированно или в сочетании с тиорфаном для подавления активности неприлизина (фермента, деградирующего амилоид)</p>

трансгенной модели позволяет ускорить развитие БА (Johnson et al., 2020).

Наиболее распространенным подходом к созданию трансгенных моделей мышей с БА является гиперэкспрессия человеческого APP, что ассоциирует эту болезнь с развитием семейной формы БА. В настоящее время в различных исследованиях используют более 50 моделей трансгенных мышей, большинство из которых характеризуются высокой экспрессией человеческого дикого типа или мутантного APP, родственного белку, характерному для семейной формы БА (Elder et al., 2010; Sommer et al., 2000; Volloch et al., 2020). Важными преимуществами данной трансгенной модели являются быстрая аккумуляция A $\beta$  в головном мозге и проявление характерных симптомов заболевания. Так, у большинства трансгенных мышей, экспрессирующих мутантный APP человека, выявлены зависимое от возраста снижение когнитивных функций подобно пациентам с БА (Creighton et al., 2019), а также появление дистрофических отростков нейронов, развитие реактивного астроглиоза, признаки активации микроглии и развития нейровоспаления, потеря синапсов и нарушение межклеточной коммуникации (Kitazawa et al., 2012). Однако

только у некоторых трансгенных животных наблюдалось формирование нейрофибриллярных клубков, что дает возможность предположить, что избыточной экспрессии APP у животных недостаточно, чтобы полностью имитировать молекулярный патогенез БА у человека (Poon et al., 2020). В целом важно учитывать то, что использование так называемых гуманизированных генетических моделей имеет серьезные ограничения, например, невозможно воссоздать спорадические формы БА, практически нивелируются эффекты естественного старения, хотя, разумеется, ключевые механизмы развития БА (аккумуляция олигомеров A $\beta$ , развитие нейровоспаления и когнитивного дефицита) в таких моделях воспроизводятся (Gerakis, Hetz, 2019).

Необходимо отметить и тот факт, что прогрессирование отложения A $\beta$  у этих мышей в значительной степени зависит от экспрессии того или иного трансгена, а также от образования конкретных вариантов A $\beta$  в головном мозге. В связи с этим возникает необходимость применения другой стратегии, нацеленной на усиление образования бляшек A $\beta$ , которая состоит в объединении нескольких мутаций, связанных с семейной формой БА (Chishti et al., 2001).

Помимо мутаций APP, несколько экспериментальных данных указывают на то, что мутации PS, из которых на сегодняшний день идентифицировано более 200, также вносят вклад в развитие семейной формы БА (Bagyinszky et al., 2016; Canevelli et al., 2014). Показано, что мутации PS вызывают изменение  $\gamma$ -секретаза-опосредованного протеолиза APP, которое образует больше амилоидогенных пептидов A $\beta$ 42, тем самым увеличивая соотношение A $\beta$ 42 : A $\beta$ 40 в головном мозге. Интересно, что у трансгенных мышей с мутацией PS1 или PS2 на фоне выраженного нарушения когнитивных функций и поведения не выявлено церебральной агрегации амилоидных бляшек, что может быть объяснено различиями в последовательностях A $\beta$  между мышами и людьми (Otvos et al., 1993). В то же время у некоторых моделей мышей с мутацией PS1 наблюдались возрастная нейродегенерация и синаптическая дисфункция в CA1-области гиппокампа (Jaffar et al., 2001; Li et al., 2016b).

Стоит отметить, что двойные трансгенные мышечные модели, широко используемые для изучения A $\beta$ -патологии и оценки эффективности терапии, были созданы путем скрещивания трансгенных линий APP и PS человека. Данная модель демонстрирует высокий уровень A $\beta$ 42 и активное образование бляшек A $\beta$  уже в раннем возрасте (Holcomb et al., 1998). Другой важный пример модели двойных трансгенных мышей APP/PS1 — это мыши линии 5xFAD, коэкспрессирующие пять мутаций, характерных для семейной формы БА, а именно: три мутации в APP и две мутации в PS1 (Oakley et al., 2006). Данная комбинация мутаций придает модели 5xFAD неоспоримые преимущества относительно других моделей (Tg2576, TgAPP23, PDAPP, 3xTg-AD и др.), в частности, способность практически исключительно продуцировать A $\beta$ 42 и выраженное быстрое накопление высоких уровней A $\beta$ 42 в головном мозге (Oakley et al., 2006).

Примечательно, что у мышей данной линии наблюдалось нарушение миелинизации аксонов в прелимбической области, энторинальной коре и CA1-зоне гиппокампа, накопление внутринейронального A $\beta$ 42 уже в возрасте 1.5 мес, а также последующее отложение A $\beta$  и глиоз, особенно в гиппокампе и глубоких кортикальных слоях, в возрасте 2 мес (Eimer, Vassar, 2013). Кроме того, были установлены снижение метаболизма глюко-

зы в обонятельной луковице в возрасте 3 мес и уменьшение уровня синаптофизина во всех отделах головного мозга в возрасте 4 мес, что в конечном итоге приводило к потере нейронов и выраженной нейродегенерации (Gu et al., 2018; Xiao et al., 2015).

Важно отметить, что использование трансгенных мышечных моделей дает возможность получить не только ценную информацию о новых методах лечения (DeBay et al., 2017; Hüttenrauch et al., 2015), но и позволяет изучить когнитивные, поведенческие и неврологические изменения, характерные для БА (Jafari et al., 2017).

### ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕЙРОПАТОЛОГИИ, ПОВЕДЕНЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ И КОГНИТИВНОГО ДЕФИЦИТА У МЫШЕЙ 5XFAD

Генетическая модель болезни Альцгеймера была воспроизведена на животных — мышах, экспрессирующих человеческий APP и PS1 с пятью мутациями в этих генах, которые ассоциированы с развитием БА у человека: мутация Swedish (K670N/M671L), мутация Florida (I716V), мутация London (V717I) в APP, мутации M146L и L286V в PS1. Изначально были созданы три линии: Tg6799 (экспрессирует наибольший уровень мутантного APP, доступна на мышах линий B6SJL и C57BL6, Tg7031 (экспрессирует минимальный уровень мутантного APP) и Tg7092 (экспрессирует промежуточный уровень мутантного APP) (Oakley et al., 2006). Tg6799 характеризуется наибольшей скоростью аккумуляции A $\beta$  (до 140 нг/мг ткани головного мозга мыши), большим соотношением A $\beta$ 42/A $\beta$ 40, развитием реактивного глиоза и более ранним началом накопления A $\beta$  в ткани головного мозга — в 1.5 мес по сравнению с 2 и 4 мес постнатальной жизни у мышей Tg7031 и Tg7092 соответственно (Oakley et al., 2006). Важно, что количество активированных астроцитов увеличивается с возрастом, при этом, как показал генный анализ, стойкая активация микроглии наблюдается в возрастном диапазоне 4–9 мес. Более того, у данной линии мышей обнаружено изменение нескольких генов, связанных с активацией микроглии, которые, как известно, изменяются у пациентов с БА, что позволяет предположить, что эта линия является действительной моделью для понимания патогенеза БА и для скрининга потенци-

альных терапевтических молекул (Landel et al., 2014).

Примечательно, что признаки регион-специфической нейродегенерации (гибель нейронов — пирамидальных, холинергических, интернейронов — и потеря синапсов в регионах головного мозга, задействованных в развитии БА человека) регистрируются даже у “высокоагрессивной” линии Tg6799 только к 4 мес постнатальной жизни (в это же время начинает проявляться когнитивный дефицит) и сохраняются на уровне около 75% от контрольных значений к 9–12 мес (Oakley et al., 2006; Wirths, Zampar, 2020; Yan et al., 2018).

Депозиция амилоида в головном мозге животных 5xFAD сопровождается развитием нейровоспаления (с соответствующими изменениями экспрессии генов, кодирующих белки с провоспалительным действием), окислительного стресса и апоптоза клеток, начиная со 2-го месяца постнатального периода жизни, причем выраженность нейровоспаления сохраняется высокой в последующие возрастные периоды (6–12-й месяцы) (Preuss et al., 2020). Уже с 1–2 мес развития мыши 5xFAD демонстрируют признаки дефицита миелинизации, которые прогрессируют с возрастом, что характерно и для БА у человека (Gu et al., 2018). Прогрессирующее отложение A $\beta$  в ткани головного мозга сопровождается у 5xFAD-мышей признаками повреждения гематоэнцефалического барьера и развития церебральной амилоидной ангиопатии (Giannoni et al., 2016; Xu et al., 2014). Таким образом, мыши 5xFAD демонстрируют основные закономерности развития нейродегенерации альцгеймеровского типа, характерные для БА человека. Кроме того, у животных линии 5xFAD удается зарегистрировать ассоциированные нарушения, которые, вероятно, могут быть актуальными для прогрессии нейродегенерации и развития неврологических дефицитов и метаболических нарушений при БА. Например, локальная инсулинорезистентность, характерная для БА, подтверждается детекцией изменений в экспрессии лептина и рецепторов лептина в астроцитах гиппокампа мышей 5xFAD в возрасте 12 мес (Pratap, Holsinge, 2020). Мы ранее зарегистрировали aberrантную экспрессию белков-компонентов инсулин-опосредованной сигнальной трансдукции в клетках миндалевидного тела головного мозга 5xFAD-мышей: снижение экспрессии IRAP,

GLUT4, соответствующее нарушениям ассоциативного обучения и эмоциональной памяти (Горина и др., 2017а; Горина и др., 2017с; Sadleir et al., 2018). Следует отметить, что особенности метаболических нарушений у животных с 5xFAD-моделью требуют дополнительного изучения, так, было показано, что по сравнению с обычными мышами 5xFAD-мыши в меньшей степени чувствительны к развитию системных метаболических нарушений (ожирение, гипертрофия адипоцитов) при потреблении пищи, насыщенной жирами, однако церебральная амилоидная ангиопатия и когнитивный дефицит при избыточном поступлении жира в организм развиваются у них значительно более интенсивно при поступлении большого количества жира в организм (Lin et al., 2016).

В целом не удивительно, что 5xFAD-мыши с экспериментальной БА стали хорошей моделью для изучения молекулярного патогенеза этого типа нейродегенерации, а также разработки новых фармакологических препаратов (Abe et al., 2020; Devi, Ohno, 2010; 2013; 2015). Например, в недавней работе (Cao et al., 2020) были показаны позитивные эффекты модулятора эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов (НЗК4-специфичный ингибитор метилтрансферазы) на 5xFAD-мышцах, что является патогенетически оправданным: в нейронах префронтальной коры головного мозга этих животных были зарегистрированы аномально высокие уровни метилирования гистонов (НЗК4-триметилирование), что соответствует находкам в клетках головного мозга людей с БА (Caldwell et al., 2020).

Кроме того, 5xFAD-мыши стали основой для разработки других трансгенных моделей БА, например, линии 5xFAD/PS19 и 5xFAD/Tg30, несущих широкий спектр мутаций, связанных с экспрессией мутантного tau-белка (APPK670N/M671L, I716V, V717I, PS1M146L, L286V, MAPTP301S; APPK670N/M671L, I716V, V717I, PS1M146L, L286V, Tau(1N4R)P301S, G272V соответственно) (Wirths, Zampar, 2020). Применение таких более сложных моделей позволило значительно увеличить выраженность нейродегенеративных изменений (гибель пирамидальных нейронов гиппокампа) по сравнению с базовой 5xFAD-моделью (Héraud et al., 2014; Wirths, Zampar, 2020).

Вместе с тем следует упомянуть о том, что не все клеточно-молекулярные механизмы развития БА, в частности, LOAD-формы

(late-onset Alzheimer's disease) воспроизводятся в модели 5xFAD, например, это касается особенностей экспрессионного профиля генов, контролирующих процессы нейровоспаления (Preuss et al., 2020), возможности достижения существенной утраты нейронов, характерной для прогрессирования БА (Wirhth, Zampar, 2020). В частности, 5xFAD-мыши не характеризуются драматическим снижением числа нейронов CA1-субрегиона гиппокампа, хотя и демонстрируют гибель гиппокампальных интернейронов (Wirhth, Zampar, 2020). Кроме того, существуют противоречивые данные о тех или иных патологических проявлениях нейродегенерации у животных с 5xFAD-моделью, например, в контексте развития ER-стресса, связанного с накоплением белков с поврежденной трансформацией и индукцией соответствующего клеточного ответа (Reinhardt et al., 2014; Sadleir et al., 2018). Несмотря на эти ограничения, 5xFAD-модель БА является в настоящее время одной из лидирующих не только для изучения клеточно-молекулярных механизмов повреждения нейронов и глии, но и для изучения когнитивного дефицита и нарушений сложных форм поведения, характерных для нейродегенерации альцгеймеровского типа (Oakley et al., 2006). Так, согласно результатам ряда исследований, мыши с различными моделями БА демонстрируют повышенную агрессию, о чем свидетельствуют данные нейроповеденческого теста “резидент-нарушитель”, который считается стандартом для оценки агрессии у грызунов (Filali et al., 2009; Owona et al., 2019; Petrusek et al., 2018). Тест включает период социальной изоляции животного в домашней клетке, с последующим подселением нового однополного сородича, что, как правило, приводит к нападению на последнего (Koolhaas et al., 2013). При этом самцы линии 5xFAD демонстрируют значимо меньшее латентное время атаки, большее количество и продолжительность атак по сравнению с контрольными животными дикого типа, а также повышенное количество травм, возникших в результате агрессии в домашней клетке при содержании с новым сородичем (Kosel et al., 2020). Любопытно, что окружающая среда также может играть роль в проявлении агрессивного поведения, поскольку трансгенные самцы линии 5xFAD не проявляли повышенной агрессии во время свободного социального взаимодей-

ствия с новым сородичем в новой среде (Kosel et al., 2020).

Стоит отметить, что у пациентов с БА зачастую наблюдается депрессивное поведение (Babulal et al., 2018), которое у мышей обычно проявляется поведенческим отчаянием, характеризующимся отсутствием стремления к побегу в ответ на неприятную и/или стрессовую ситуацию, что измеряется в тесте принудительного плавания или тесте подвешивания за хвост. В обоих тестах для испытуемых мышей создают ситуацию, из которой нет выхода — либо они плавают в наполненном водой цилиндре с высокими бортами, либо подвешиваются за хвост за поднятую планку, — при этом в ходе испытания оценивается общее время пребывания в неподвижном состоянии, включая пассивное плавание или раскачивание (Cryan et al., 2005; Juszczak et al., 2006).

Примечательно, что, несмотря на активное и выраженное отложение А $\beta$ , а также его токсическое действие на нейроны головного мозга, у мышинной модели 5xFAD наблюдались противоречивые результаты. Patel и соавт. сообщали о повышенной неподвижности в тесте принудительного плавания в возрасте 4.5–5 мес, что свидетельствовало об усилении депрессивно-подобного поведения (Patel et al., 2014). Тогда как Yamazaki и соавт. выявили низкую неподвижность в обоих тестах в возрасте 6 мес, что указывало на уменьшение депрессивно-подобного поведения по сравнению с контрольными мышами дикого типа (Yamazaki et al., 2015).

В целом результаты показывают, что депрессивное поведение у мышинной модели 5xFAD связано со стремительно прогрессирующими нейродегенеративными изменениями в связи с церебральным накоплением амилоидных бляшек (Nyarko et al., 2019). Это согласуется и с данными о том, что прямая интрацеребровентрикулярная инъекция олигомеров А $\beta$  коррелировала с усилением депрессивно-подобного поведения, предполагая, что А $\beta$  оказывает непосредственное влияние на развитие депрессии (Ledo et al., 2020; Kim et al., 2016).

У мышей-самцов линии 5xFAD в таких классических тестах на оценку уровня тревожности и двигательной активности, как “Открытое поле”, “Приподнятый крестообразный лабиринт” и “Черно-белая камера”, наблюдалось значительное снижение тре-

возможности в сочетании с гиподинамией и уменьшением исследовательского интереса в возрасте 9 мес (Schneider et al., 2014). При этом снижение двигательной активности может быть связано с такими сопутствующими симптомами, как апатия и депрессия (Walker et al., 2011). Кроме того, некоторые самцы линии 5xFAD в возрасте 9 мес демонстрировали такие специфические элементы в поведении, находясь в домашней клетке, как прыжки, бег по кругу и сальто (Schneider et al., 2014), что можно интерпретировать как предэпилептические движения, возникающие в результате аномальной активности нейронов в нескольких областях мозга, особенно в стволе головного мозга и мозжечке, что наблюдается в основном на поздних стадиях развития БА (Lalonde et al., 2012). Также были отмечены двигательный дефицит, отсутствие рефлексов и ригидность передних и задних лап, начиная с 9-месячного возраста, что может быть обусловлено паренхиматозным накоплением А $\beta$ -бляшек и аксональной невропатологией в головном и спинном мозге (Lalonde et al., 2012).

Интересно, что у мышей-самцов линии 5xFAD на фоне прогрессирования заболевания отмечается выраженное стремление к социальной изоляции (Kosel et al., 2020), что может быть связано с нарушением синаптической передачи в областях мозга, которые опосредуют социальное взаимодействие (Bogies et al., 2012). Кроме того, экспериментальные данные свидетельствуют о том, что степень коммуникабельности у животных с моделью 5xFAD зависит от окружающей среды и социального взаимодействия с конкретным сородичем (например, в домашней клетке или во время выполнения теста по предпочтению социальной новизны) (Flanigan et al., 2014; Kosel et al., 2019; 2020), причем уровень возбуждения может влиять на общительность (Kosel et al., 2019).

Примечательно, что у мышей линии 5xFAD отмечаются нарушение режима сна и бодрствования, сокращение периода быстрого сна, а также изменение ритма электроэнцефалограммы во время сна (Sethi et al., 2015), что может быть связано с эффектами А $\beta$ , накопление которого увеличивается пропорционально количеству времени, проведенному в бодрствовании (Roh et al., 2014), и тем самым поддерживает гипотезу о важной роли сна, особенно быстрого, в процессах консолидации памяти и глимфатического дренажа

в ткани головного мозга (Diekelmann, Born, 2010; Poe et al., 2010).

Столь характерные симптомы БА, как нарушение процесса обучения и памяти, наблюдаемые у пациентов, имеют место и в мышинной модели 5xFAD, о чем свидетельствуют результаты теста “Водный лабиринт Морриса” (ВЛМ), согласно которым у животных в возрасте 9 мес выявлены значительные нарушения пространственного обучения и памяти (Schneider et al., 2014), при этом им требовалось гораздо больше времени на поиск платформы в целевом квадрате по сравнению с мышами контрольной группы (Ohno et al., 2006). Известно, что ВЛМ используется для изучения пространственного (гиппокамп-зависимого) обучения и референсной памяти. По сравнению с протоколом теста “Fear conditioning” (FC) ВЛМ является более простой (технически) процедурой, но, подобно FC, имеет много разнообразных вариантов проведения. Помимо гиппокампа, в процесс пространственного обучения и референсной памяти вовлечены энторинальная, периринальная, префронтальная кора, неостриатум и мозжечок (Vorhees, Williams, 2006). Интересно, что различные фазы прохождения водного лабиринта соответствуют разным видам нарушений в различных регионах головного мозга: повреждение гиппокампа приводит к нарушению начальной траектории движения животных, тогда как повреждение дорсолатерального стриатума находит свое отражение в нарушении заключительного этапа поиска скрытой платформы (Rice et al., 2015). В целом тестирование животных с нейродегенерацией альцгеймеровского типа хорошо зарекомендовало себя в ВЛМ: применение этого протокола позволило установить, что АРР-трансгенные животные с экспериментальной моделью БА вынуждены преимущественно использовать во время навигации так называемую непространственную стратегию, демонстрируя дефицит в референсной памяти (Janus, 2004). Однако важно учитывать то, что животные с генетическими моделями БА могут демонстрировать принципиально разные характеристики нарушений социального поведения и когнитивных функций или даже не проявлять отдельные, специфичные для БА, нарушения поведения (в частности, депрессию), что, вероятно, связано с дифференцированным повреждением различных регионов головного мозга вследствие развития патоло-

гии, не воспроизводящей в полной мере последовательность и причинно-следственные связи, характерные для прогрессирующей БА у человека (Samaey et al., 2019).

В своих исследованиях (Горина и др., 2017b) мы ранее показали, что у мышей-самцов линии 5xFAD по мере прогрессирования хронической нейродегенерации альцгеймеровского типа обнаружены такие особенности в поведении, как повышение степени тревожности и заторможенности, нарушение ассоциативного обучения и запоминания, а также социальных контактов и взаимодействий.

Кроме того, нами выявлено, что у мышей на ранних стадиях заболевания (модель с интрагиппокампальным введением Аβ) уже наблюдаются патологические изменения процесса ассоциативного обучения, эмоциональной памяти и памяти социального распознавания (Горина и др., 2018).

В целом это свидетельствует не только о выраженном расстройстве эмоционального поведения, но и о дисфункции социальной, эмоциональной и долговременной памяти, что в свою очередь является проявлением нарушения механизмов, связанных с активностью миндалевидного тела и гиппокампа при экспериментальной БА.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Генетическая модель БА на мышах (5xFAD) с выраженной активацией продукции и аккумуляцией Аβ и отложением амилоидных бляшек является ценным инструментом для изучения многих аспектов патогенеза БА (нейродегенерация, нейровоспаление, ассоциированные метаболические расстройства). Не в меньшей мере она применима для оценки aberrантного поведения, характерного для развития БА, что соответствует регион-специфичным проявлениям БА у животных 5xFAD-модели, а также для разработки новых терапевтических подходов к купированию поведенческих расстройств (депрессия, нарушения социального поведения). В целом мышинная модель 5xFAD дает уникальную возможность изучить последствия ранних, средних и поздних стадий нейродегенерации альцгеймеровского типа, а прогрессирующие нарушения сложных форм поведения и когнитивных функций, выявляемые в ходе проведения нейроповеденческого тестирования мышей линии 5xFAD, достаточно полно воспроизво-

дят изменения в поведении, наблюдаемые у пациентов с БА. Вместе с тем эта модель имеет важные лимитирующие факторы, касающиеся особенностей развития гибели нейронов или спектра формируемых нарушений сложных форм поведения, поэтому экстраполяция данных, полученных с использованием 5xFAD-модели, на человека может носить весьма ограниченный характер. Создание более сложных трансгенных моделей на базе 5xFAD (например, с учетом особенностей вовлеченности в патогенез БА тау-опосредованных механизмов), несомненно, обеспечит прогресс в этом направлении трансляционных исследований в экспериментальной неврологии и нейрофармакологии.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (РНФ) (проект № 20-65-46004).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Горина Я.В., Комлева Ю.К., Лопатина О.Л., Черных А.И., Салмина А.Б. Влияние инсулинорезистентности на нарушение метаболизма глюкозы в миндалине головного мозга при экспериментальной болезни Альцгеймера. Бюллетень сибирской медицины. 2017а. 6: 1–5.
- Горина Я.В., Комлева Ю.К., Лопатина О.Л., Черных А.И., Салмина А.Б. Поведенческий фенотипический анализ животных с генетической моделью болезни Альцгеймера. Биомедицина. 2017б. 3: 47–59.
- Горина Я.В., Комлева Ю.К., Лопатина О.Л., Черных А.И., Салмина А.Б. Инсулинорезистентность в развитии нарушений сложных форм поведения и памяти при хронической нейродегенерации альцгеймеровского типа. Нейронаука для медицины и психологии: XIII Международный Междисциплинарный Конгресс (Судак, Крым, Россия, 30 мая – 10 июня 2017 года). 2017. с. 128–129.
- Горина Я.В., Лопатина О.Л., Комлева Ю.К., Черных А.И., Салмина А.Б. Роль нейровоспаления в реализации когнитивных функций и социального взаимодействия у мышей с возрастзависимой нейродегенерацией. Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2018. 12 (2): 27–32.
- Abe Y., Ikegawa N., Yoshida K., Muramatsu K., Hattori S., Kawai K., Murakami M., Tanaka T., Goda W., Goto M., Yamamoto T., Hashimoto T., Yamada K., Shibata T., Misawa H., Mimura M., Tanaka K.F., Miyakawa T., Iwatsubo T., Hata J.-I., Niikura T., Yasu M. Behavioral and electrophysiological evidence for a neuroprotective role of aquaporin-4 in

- the 5xFAD transgenic mice model. *Acta Neuropathol Commun.* 2020. 8 (1): 67.
- Adams S.J., Crook R.J.P., Deture M., Randle S.J., Innes A.E., Yu X.Z., Lin W.-L., Dugger B.N., McBride M., Hutton M., Dickson D.W., McGowan E. Overexpression of wild-type murine tau results in progressive tauopathy and neurodegeneration. *Am J Pathol.* 2009. 175 (4): 1598–1609.
- Ahlemeyer B., Halupczok S., Rodenberg-Frank E., Valerius K.-P., Baumgart-Vogt E. Endogenous Murine Amyloid- $\beta$  Peptide Assembles into Aggregates in the Aged C57BL/6J Mouse Suggesting These Animals as a Model to Study Pathogenesis of Amyloid- $\beta$  Plaque Formation. *J Alzheimers Dis.* 2018. 61 (4): 1425–1450.
- Arrozi A.P., Shukri S.N.S., Ngah W.Z.W., Yusof Y.A.M., Damanhuri M.H.A., Makpol S. Evaluation of the Expression of Amyloid Precursor Protein and the Ratio of Secreted Amyloid Beta 42 to Amyloid Beta 40 in SH-SY5Y Cells Stably Transfected with Wild-Type, Single-Mutant and Double-Mutant Forms of the APP Gene for the Study of Alzheimer's Disease Pathology. *Biochem Biotechnol.* 2017. 183 (3): 853–866.
- Babulal G.M., Chen S., Williams M.M., Trani J.F., Bakhshi P., Chao G.L., Stout S.H., Fagan A.M., Benzinger T.L.S., Holtzman D.M., Morris J.C., Roe C.M. Depression and Alzheimer's Disease Biomarkers Predict Driving Decline. *J Alzheimers Dis.* 2018. 66 (3): 1213–1221.
- Bagyinszky E., Park S.A., Kim H.J., Choi S.H., An S.S., Kim S.Y. PSEN1 L226F mutation in a patient with early-onset Alzheimer's disease in Korea. *Clin Interv Aging.* 2016. 11: 1433–1440.
- Bories C., Guitton M.J., Julien C., Tremblay C., Vandal M., Msaid M., De Koninck Y., Calon F. Sex-dependent alterations in social behaviour and cortical synaptic activity coincide at different ages in a model of Alzheimer's disease. *PLoS One.* 2012. 7 (9): 1–8.
- Caldwell A.B., Liu Q., Schroth G.P., Galasko D.R., Yuan S.H., Wagner S.L., Subramaniam S. Dedifferentiation and neuronal repression define familial Alzheimer's disease. *Sci Adv.* 2020. 6 (46): ea-ba5933.
- Canevelli M., Piscopo P., Talarico G., Vanacore N., Blasimme A., Crestini A., Tosto G., Troili F., Lenzi G.L., Confaloni A., Bruno G. Familial Alzheimer's disease sustained by presenilin 2 mutations: systematic review of literature and genotype-phenotype correlation. *Neurosci Biobehav Rev.* 2014. 42: 170–179.
- Cao Q., Wang W., Williams J.B., Yang F., Wang Z.-J., Yan Z. Targeting histone K4 trimethylation for treatment of cognitive and synaptic deficits in mouse models of Alzheimer's disease. *Sci Adv.* 2020. 6 (50): eabc8096.
- Chishti M.A., Yang D.S., Janus C., Phinney A.L., Horne P., Pearson J., Strome R., Zuker N., Lukacshon J., French J., Turner S., Lozza G., Grilli M., Kunicki S., Morissette C., Paquette J., Gervais F., Bergeron C., Fraser P.E., Carlson G.A., George-Hyslop P.S., Westaway D. Early-onset amyloid deposition and cognitive deficits in transgenic mice expressing a double mutant form of amyloid precursor protein 695. *J Biol Chem.* 2001. 276 (24): 21562–21570.
- Creighton S.D., Mendell A.L., Palmer D., Kalisch B.E., MacLusky N.J., Prado V.F., Prado M.A.M., Winters B.D. Dissociable cognitive impairments in two strains of transgenic Alzheimer's disease mice revealed by a battery of object-based tests. *Sci Rep.* 2019. 9 (1): 57.
- Cruchaga C., Del-Aguila J.L., Saef B., Black K., Fernandez M.V., Budde J., Ibanez L., Deming Y., Kapoor M., Tosto G., Mayeux R.P., Holtzman D.M., Fagan A.M., Morris J.C., Bateman R.J., Goate A.M., Dominantly Inherited Alzheimer Network (DIAN), Disease Neuroimaging Initiative (ADNI), NIA-LOAD family study, Harari O. Polygenic risk score of sporadic late-onset Alzheimer's disease reveals a shared architecture with the familial and early-onset forms. *Alzheimers Dement.* 2018. 14 (2): 205–214.
- Cryan J.F., Mombereau C., Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005. 29 (4–5): 571–625.
- Cummings J., Ritter A., Rothenberg K. Advances in Management of Neuropsychiatric Syndromes in Neurodegenerative Diseases. *Curr Psychiatry Rep.* 2019. 21 (8): 79.
- D'Argenio V., Sarnataro D. New Insights into the Molecular Bases of Familial Alzheimer's Disease. *J Pers Med.* 2020. 10 (2): 26.
- DeBay D.R., Reid G.A., Macdonald I.R., Mawko G., Burrell S., Martin E., Bowen C.V., Darvesh S. Butyrylcholinesterase-knockout reduces fibrillar  $\beta$ -amyloid and conserves 18FDG retention in 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Res.* 2017. 1671: 102–110.
- Devi L., Ohno M. Phospho-eIF2 $\alpha$  level is important for determining abilities of BACE1 reduction to rescue cholinergic neurodegeneration and memory defects in 5XFAD mice. *PLoS One.* 2010. 5 (9): e12974.
- Devi L., Ohno M. Mechanisms that lessen benefits of  $\beta$ -secretase reduction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry.* 2013. 3 (7): e284.
- Devi L., Ohno M. A combination Alzheimer's therapy targeting BACE1 and neprilysin in 5XFAD transgenic mice. *Mol Brain.* 2015. 8: 19.
- Diekelmann S., Born J. The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci.* 2010. 11 (2): 114–126.
- Eimer W.A., Vassar R. Neuron loss in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease correlates with intraneuronal A $\beta$ 42 accumulation and Caspase-3 activation. *Mol Neurodegener.* 2013. 8: 2.

- Elder G.A., Sosa M.A.G., Gasperi R.D.* Transgenic mouse models of Alzheimer's disease. *Mt Sinai J Med.* 2010. 77 (1): 69–81.
- Filali M., Lalonde R., Rivest S.* Cognitive and non-cognitive behaviors in an APP<sup>swe</sup>/PS1 bigenic model of Alzheimer's disease. *Genes Brain Behav.* 2009. 8 (2): 143–148.
- Fjell A.M., Walhovd K.B.* Structural brain changes in aging: courses, causes and cognitive consequences. *Rev Neurosci.* 2010. 21 (3): 187–221.
- Flanigan T.J., Xue Y., Rao S.K., Dhanushkodi A., McDonald M.P.* Abnormal vibrissa-related behavior and loss of barrel field inhibitory neurons in 5xFAD transgenics. *Genes Brain Behav.* 2014. 13 (5): 488–500.
- Forrest S.L., Kril J.J., Stevens C.H., Kwok J.B., Hallupp M., Kim W.S., Huang Y., McGinley C.V., Werka H., Kiernan M.C., Götz J., Spillantini M.G., Hodges J.R., Ittner L.M., Halliday G.M.* Retiring the term FTDP-17 as MAPT mutations are genetic forms of sporadic frontotemporal tauopathies. *Brain.* 2018. 141 (2): 521–534.
- Garre-Olmo J.* Epidemiology of Alzheimer's disease and other dementias. *Rev Neurol.* 2018. 66 (11): 377–386.
- Gerakis Y., Hetz C.* Brain organoids: a next step for humanized Alzheimer's disease models? *Mol Psychiatry.* 2019. 24 (4): 474–478.
- Giannoni P., Arango-Lievano M., Neves I.D., Rousset M.-C., Baranger K., Rivera S., Jeanneteau F., Claeyssen S., Marchi N.* Cerebrovascular pathology during the progression of experimental Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease, Elsevier.* 2016. 88: 107–117.
- Giau V.V., Bagyinszky E., Youn Y.C., An S.S.A., Kim S.* APP, PSEN1, and PSEN2 Mutations in Asian Patients with Early-Onset Alzheimer Disease. *Int J Mol Sci.* 2019. 20 (19): 4757.
- Goate A.* Segregation of a missense mutation in the amyloid beta-protein precursor gene with familial Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2006. 9: 341–347.
- Gu L., Wu D., Tang X., Qi X., Li X., Bai F., Chen X., Ren Q., Zhang Z.* Myelin changes at the early stage of 5XFAD mice. *Brain Res. Bull.* 2018. 137: 285–293.
- Héraud C., Goufak D., Ando K., Leroy K., Suain V., Yilmaz Z., Decker R.D., Authalet M., Laporte V., Octave J.-N., Brion J.-P.* Increased misfolding and truncation of tau in APP/PS1/tau transgenic mice compared to mutant tau mice. *Neurobiol Dis.* 2014. 62: 100–112.
- Holcomb L., Gordon M.N., McGowan E., Yu X., Benkovic S., Jantzen P., Wright K., Saad I., Mueller R., Morgan D., Sanders S., Zehr C., O'Campo K., Hardy J., Prada C.M., Eckman C., Younkin S., Hsiao K., Duff K.* Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes. *Nat Med.* 1998. 4 (1): 97–100.
- Hüttenrauch M., Baches S., Gerth J., Bayer T.A., Weggen S., Wirths O.* Nephilysin deficiency alters the neuropathological and behavioral phenotype in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2015. 44 (4): 1291–1302.
- Jafari Z., Okuma M., Karem H., Mehla J., Kolb B.E., Mohajerani M.H.* Prenatal noise stress aggravates cognitive decline and the onset and progression of beta amyloid pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2019. 77: 66–86.
- Jaffar S., Counts S.E., Ma S.Y., Dadko E., Gordon M.N., Morgan D., Mufson E.J.* Neuropathology of mice carrying mutant APP (swe) and/or PS1(M146L) transgenes: alterations in the p75(NTR) cholinergic basal forebrain septohippocampal pathway. *Exp Neurol.* 2001. 170 (2): 227–243.
- Jahn H.* Memory loss in Alzheimer's disease. *Dialogues Clin Neurosci.* 2013. 15 (4): 445–454.
- Janus C.* Search strategies used by APP transgenic mice during navigation in the Morris water maze. *Learn Mem.* 2004. 11: 337–346.
- Johnson E.C.B., Ho K., Yu G.Q., Das M., Sanchez P.E., Djukic B., Lopez I., Yu X., Gill M., Zhang W., Paz J.T., Palop J.J., Mucke L.* Behavioral and neural network abnormalities in human APP transgenic mice resemble those of App knock-in mice and are modulated by familial Alzheimer's disease mutations but not by inhibition of BACE1. *Mol Neurodegener.* 2020. 15 (1): 53.
- Juszczak G.R., Sliwa A.T., Wolak P., Tymosiak-Zielinska A., Lisowski P., Swiergiel A.H.* The usage of video analysis system for detection of immobility in the tail suspension test in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006. 85 (2): 332–338.
- Kim H.Y., Lee D.K., Chung B.-R., Kim H.V., Kim Y.* Intracerebroventricular Injection of Amyloid- $\beta$  Peptides in Normal Mice to Acutely Induce Alzheimer-like Cognitive Deficits. *J Vis Exp.* 2016. 109: 53308.
- Kitazawa M., Medeiros R., Laferla F.M.* Transgenic mouse models of Alzheimer disease: developing a better model as a tool for therapeutic interventions. *Curr Pharm Des.* 2012. 18 (8): 1131–1147.
- Köhler C.A., Magalhaes T.F., Oliveira J.M.M.P., Alves G.S., Knochel C., Oertel-Knöchel V., Pantel J., Carvalho A.F.* Neuropsychiatric Disturbances in Mild Cognitive Impairment (MCI): A Systematic Review of Population-Based Studies. *Curr Alzheimer Res.* 2016. 13 (10): 1066–1082.
- Koolhaas J.M., Coppens C.M., de Boer S.F., Buwalda B., Meerlo P., Timmermans P.J.A.* The resident-intruder paradigm: a standardized test for aggression, violence and social stress. *J Vis Exp.* 2013. 77: e4367.
- Kosel F., Hamilton J.S., Harrison S.L., Godin V., Franklin T.B.* Reduced social investigation and in-

- creased injurious behavior in transgenic 5xFAD mice. *J. Neurosci. Res.* 2020.
- Kosel F., Torres Munoz P., Yang J.R., Wong A.A., Franklin T.B.* Age-related changes in social behaviours in the 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Behav. Brain Res.* 2019. 362: 160–172.
- Lalonde R., Fukuchi K., Strazielle C.* Neurologic and motor dysfunctions in APP transgenic mice. *Rev Neurosci.* 2012. 23 (4): 363–379.
- Landel V., Baranger K., Virard I., Loriod B., Khrestchatisky M., Rivera S., Benech P., Féron F.* Temporal gene profiling of the 5XFAD transgenic mouse model highlights the importance of microglial activation in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener.* 2014. 9: 33.
- Larner A.J.* Presenilin-1 mutations in Alzheimer's disease: an update on genotype-phenotype relationships. *J Alzheimers Dis.* 2013. 37 (4): 653–659.
- Ledo J.H., Azevedo E.P., Clarke J.R., Ribeiro F.C., Figueiredo C.P., Foguel D., De Felice F.G., Ferreira S.T.* Correction: Amyloid-beta oligomers link depressive-like behavior and cognitive deficits in mice. *Mol Psychiatry.* 2020.
- Li X., Bao X., Wang R.* Experimental models of Alzheimer's disease for deciphering the pathogenesis and therapeutic screening. *Int J Mol Med.* 2016a. 37 (2): 271–283.
- Li X.Y., Men W.W., Zhu H., Lei J.F., Zuo F.X., Wang Z.J., Zhu Z.H., Bao X.J., Wang R.Z.* Age- and Brain Region-Specific Changes of Glucose Metabolic Disorder, Learning, and Memory Dysfunction in Early Alzheimer's Disease Assessed in APP/PS1 Transgenic Mice Using 18F-FDG-PET. *Int J Mol Sci.* 2016b. 17 (10): 1707.
- Lin B., Hasegawa Y., Takane K., Koibuchi N., Cao C., Kim-Mitsuyama S.* High-Fat-Diet Intake Enhances Cerebral Amyloid Angiopathy and Cognitive Impairment in a Mouse Model of Alzheimer's Disease, Independently of Metabolic Disorders. *J Am Heart Assoc.* 2016. 5 (6): e003154.
- Lövheim H., Sandman P.O., Karlsson S., Gustafson Y.* Behavioral and psychological symptoms of dementia in relation to level of cognitive impairment. *Int Psychogeriatr.* 2008. 20 (4): 777–789.
- Nyarko J.N.K., Quartey M.O., Baker G.B., Mousseau D.D.* Can Animal Models Inform on the Relationship between Depression and Alzheimer Disease? *Can J Psychiatry.* 2019. 64 (1): 18–29.
- Oakley H., Cole S.L., Logan S., Maus E., Shao P., Craft J., Guillozet-Bongaarts A., Ohno M., Disterhoft J., Eldik L.V., Berry R., Vassar R.* Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: Potential factors in amyloid plaque formation. *J. Neurosci.* 2006. 26 (40): 10129–10140.
- O'Connor A., Weston P.S.J., Pavisic I.M., Ryan N.S., Collins J.D., Lu K., Crutch S.J., Alexander D.C., Fox N.C., Oxtoby N.P.* Quantitative detection and staging of presymptomatic cognitive decline in familial Alzheimer's disease: a retrospective cohort analysis. *Alzheimers Res Ther.* 2020. 12 (1): 126.
- Ohno M., Chang L., Tseng W., Oakley H., Citron M., Klein W.L., Vassar R., Disterhoft J.F.* Temporal memory deficits in Alzheimer's mouse models: rescue by genetic deletion of BACE1. *Eur J Neurosci.* 2006. 23 (1): 251–260.
- Otvos L. Jr., Szendrei G.I., Lee V.M., Mantsch H.H.* Human and rodent Alzheimer beta-amyloid peptides acquire distinct conformations in membrane-mimicking solvents. *Eur J Biochem.* 1993. 211 (1–2): 249–257.
- Owona B.A., Zug C., Schluesener H.J., Zhang Z.-Y.* Amelioration of Behavioral Impairments and Neuropathology by Antiepileptic Drug Topiramate in a Transgenic Alzheimer's Disease Model Mice, APP/PS1. *Int J Mol Sci.* 2019. 20 (12): 3003.
- Park S.A., Han S.M., Kim C.E.* New fluid biomarkers tracking non-amyloid- $\beta$  and non-tau pathology in Alzheimer's disease. *Exp Mol Med.* 2020. 52 (4): 556–568.
- Patel S., Grizzell J.A., Holmes R., Zeitlin R., Solomon R., Sutton T.L., Rohani A., Charry L.C., Iarkov A., Mori T., Moran V.E.* Cotinine halts the advance of Alzheimer's disease-like pathology and associated depressive-like behavior in Tg6799 mice. *Front. Aging Neurosci.* 2014. 6: 162.
- Perl D.P.* Neuropathology of Alzheimer's disease. *Mt Sinai J Med.* 2010. 77 (1): 32–42.
- Petrasek T., Vojtechova I., Lobellova V., Popelikova A., Janikova M., Brozka H., Houdek P., Sladek M., Sumova A., Kristofikova Z., Vales K., Stuchlik A.* The McGill Transgenic Rat Model of Alzheimer's Disease Displays Cognitive and Motor Impairments, Changes in Anxiety and Social Behavior, and Altered Circadian Activity. *Front Aging Neurosci.* 2018. 10: 250.
- Poe G.R., Walsh C.M., Bjorness T.E.* Cognitive neuroscience of sleep. *Prog Brain Res.* 2010. 185: 1–19.
- Poon C.H., Wang Y., Fung M.-L., Zhang C., Lim L.W.* Rodent Models of Amyloid-Beta Feature of Alzheimer's Disease: Development and Potential Treatment Implications. *Aging Dis.* 2020. 11 (5): 1235–1259.
- Pratap A.A., Holsinge R.M.D.* Altered Brain Leptin and Leptin Receptor Expression in the 5XFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Pharmaceuticals (Basel).* 2020. 13 (11): 401.
- Preuss C., Pandey R., Piazza E., Fine A., Uyar A., Perumal T., Garceau D., Kotredes K.P., Williams H., Mangravite L.M., Lamb B.T., Oblak A., Howell G.R., Sasner M., Logsdon B.A., MODEL-AD Consortium, Carter G.W.* A novel systems biology approach to evaluate mouse models of late-onset Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener.* 2020. 15 (1): 67.

- Price J.L., Ko A.I., Wade M.J., Tsou S.K., McKeel D.W., Morris J.C. Neuron number in the entorhinal cortex and CA1 in preclinical Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2001. 58 (9): 1395–1402.
- Reinhardt S., Schuck F., Grösgen S., Riemenschneider M., Hartmann T., Postina R., Grimm M., Endres K. Unfolded protein response signaling by transcription factor XBP-1 regulates ADAM10 and is affected in Alzheimer's disease. *FASEB J.* 2014. 28 (2): 978–997.
- Resnick B., Galik E., Kolanowski A., VanHaitsma K., Boltz M., Zhu S., Ellis J., Behrens L., Eshraghi K. Gender differences in presentation and management of behavioral and psychological symptoms associated with dementia among nursing home residents with moderate to severe dementia. *J Women Aging.* 2020. 1–18.
- Rice J.P., Wallace D.G., Hamilton D.A. Lesions of the hippocampus or dorsolateral striatum disrupt distinct aspects of spatial navigation strategies based on proximal and distal information in a cued variant of the Morris water task. *Behav Brain Res.* 2015. 289: 105–117.
- Roh J.H., Jiang H., Finn M.B., Stewart F.R., Mahan T.E., Cirrito J.R., Heda A., Snider B.J., Li M., Yanagisawa M., de Lecea L., Holtzman D.M. Potential role of orexin and sleep modulation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J. Exp. Med.* 2014. 211 (3): 2487–2496.
- Sadleir K.R., Popovic J., Vassar R. ER stress is not elevated in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. *J Biol Chem.* 2018. 293(48): 18434–18443.
- Samaey C., Schreurs A., Stroobants S., Balschun D. Early Cognitive and Behavioral Deficits in Mouse Models for Tauopathy and Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci.* 2019. 11: 335.
- Scheltens P., Blennow K., Breteler M.M., de Strooper B., Frisoni G.B., Salloway S., Van der Flier W.M. Alzheimer's disease. *Lancet.* 2016. 388 (10043): 505–517.
- Schneider F., Baldauf K., Wetzel W., Reymann K.G. Behavioral and EEG changes in male 5xFAD mice. *Physiol Behav.* 2014. 135: 25–33.
- Sethi M., Joshi S.S., Webb R.L., Beckett T.L., Donohue K.D., Murphy M.P., O'Hara B.F., Duncan M.J. Increased fragmentation of sleep-wake cycles in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Neuroscience.* 2015. 290: 80–89.
- Sommer B., Sturchler-Pierrat C., Abramowski D., Wiederhold K.H., Calhoun M., Jucker M., Kelly P., Staufenbiel M. Transgenic approaches to model Alzheimer's disease. *Rev Neurosci.* 2000. 11 (1): 47–51.
- Strassnig M., Ganguli M. About a peculiar disease of the cerebral cortex: Alzheimer's original case revisited. *Psychiatry (Edgmont).* 2005. 2 (9): 30–33.
- Volloch V., Olsen B., Rits S. Alzheimer's Disease is Driven by Intraneuronally Retained Beta-Amyloid Produced in the AD-Specific,  $\beta$ APP-Independent Pathway: Current Perspective and Experimental Models for Tomorrow. *Ann Integr Mol Med.* 2020. 2 (1): 90–114.
- Vorhees C.V., Williams M.T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature protocols.* 2006. 1 (2): 848–858.
- Walker J.M., Fowler S.W., Miller D.K., Sun A.Y., Weisman G.A., Wood W.G., Sun G.Y., Simonyi A., Schachtman T.R. Spatial learning and memory impairment and increased locomotion in a transgenic amyloid precursor protein mouse model of Alzheimer's disease. *Behav Brain Res.* 2011. 222 (1): 169–175.
- Wirhth O., Zampar S. Neuron Loss in Alzheimer's Disease: Translation in Transgenic Mouse Models. *Int J Mol Sci.* 2020. 21 (21): 8144.
- Xiao N.A., Zhang J., Zhou M., Wei Z., Wu X.L., Dai X.M., et al., Zhu Y.-G., Chen X.-C. Reduction of glucose metabolism in olfactory bulb is an earlier Alzheimer's disease-related biomarker in 5XFAD mice. *Chin. Med. J.* 2015. 128 (16): 2220–2227.
- Xu W., Xu F., Anderson M.E., Kotarba A.E., Davis J., Robinson J.K., Nostrand W.E. Cerebral microvascular rather than parenchymal amyloid- $\beta$  protein pathology promotes early cognitive impairment in transgenic mice. *J Alzheimers Dis.* 2014. 38 (3): 621–632.
- Yan H., Pang P., Chen W., Zhu H., Henok K.A., Li H., Wu Z., Ke X., Wu J., Zhang T., Pan K., Pei L., Han Y., Lu Y. The Lesion Analysis of Cholinergic Neurons in 5XFAD Mouse Model in the Three-Dimensional Level of Whole Brain. *Mol Neurobiol.* 2018. 55 (5): 4115–4125.
- Yamazaki H., Jin Y., Tsuchiya A., Kanno T., Nishizaki T. Adipose-derived stem cell-conditioned medium ameliorates antidepressant-related behaviors in the mouse model of Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* 2015. 609: 53–57.
- Zhang F., Wei J., Li X., Ma C., Gao Y. Early Candidate Urine Biomarkers for Detecting Alzheimer's Disease Before Amyloid- $\beta$  Plaque Deposition in an APP (swe)/PSEN1dE9 Transgenic Mouse Model. *J Alzheimers Dis.* 2018. 66 (2): 613–637.
- Zhang W., Jiao B., Xiao T., Liu X., Liao X., Xiao X., Guo L., Yuan Z., Yan X., Tang B., Shen L. Association of rare variants in neurodegenerative genes with familial Alzheimer's disease. *Ann Clin Transl Neurol.* 2020. 7 (10): 1985–1995.
- Zhao Q.F., Tan L., Wang H.F., Jiang T., Tan M.S., Tan L., Xu W., Li J.Q., Wang J., Lai T.J., Yu J.T. The prevalence of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord.* 2016. 190: 264–271.

## FEATURES OF THE DEVELOPMENT AND ANALYSIS OF DISORDERS OF SOCIAL BEHAVIOR AND COGNITIVE FUNCTIONS IN ANIMALS WITH EXPERIMENTAL ALZHEIMER'S DISEASE

Y. V. Gorina<sup>a,b,#</sup>, A. B. Salmina<sup>a,b</sup>, D. P. Chernyuk<sup>a</sup>, A.V. Bolshakova<sup>a</sup>, P. M. Balaban<sup>a,c</sup>,  
I. B. Bezprozvanny<sup>a,d</sup>, and O. L. Vlasova<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Laboratory of Molecular Neurodegeneration, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia*

<sup>b</sup> *Scientific Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia*

<sup>c</sup> *Laboratory of Cellular Neurobiology of Learning, Institute of Higher Nervous Activity, Moscow, Russia*

<sup>d</sup> *Department of Physiology, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, USA*

<sup>#</sup> *e-mail: yana\_20@bk.ru*

Alzheimer's disease is the most common neurodegenerative disease worldwide, with significant negative social and economic consequences. Despite numerous studies of the pathogenesis of the disease, neuropathological mechanisms remain completely unclear, and modern methods of treatment are not sufficiently effective. In recent decades, genetic models of Alzheimer's disease in rodents have been used to study in detail the molecular mechanisms of the disease. This is critical for her early diagnosis and effective therapy. Taking into account the significant effect of beta-amyloid on the manifestation of behavioral disorders and the development of cognitive dysfunction, in this review we present a detailed characterization of the transgenic 5xFAD mouse model as the most valuable and necessary tool for studying the main mechanisms underlying cognitive and mental disorders in Alzheimer's disease, as well as their relationship with the cerebral microenvironment.

*Keywords:* Alzheimer's disease, genetic models in rodents, 5xFAD mouse model, behavior

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПАТОЛОГИЯ  
ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

УДК 612.822+616.895

ВЛИЯНИЕ ДАЛАРГИНА НА ИЗМЕНЕНИЕ ТРЕВОЖНОСТИ У КРЫС  
С РАЗЛИЧНЫМИ ИНДИВИДУАЛЬНО-ТИПОЛОГИЧЕСКИМИ  
ОСОБЕННОСТЯМИ ПОВЕДЕНИЯ В МОДЕЛИ ПТСР

© 2021 г. О. Г. Семенова<sup>1,\*</sup>, А. В. Вьюшина<sup>1</sup>, А. В. Притворова<sup>1</sup>, В. В. Ракицкая<sup>1</sup>, Н. Э. Ордян<sup>1</sup>

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

\*e-mail: [SemanovaOG@infran.ru](mailto:SemanovaOG@infran.ru)

Поступила в редакцию 09.07.2020 г.

После доработки 05.02.2021 г.

Принята к публикации 02.03.2021 г.

В Т-образном лабиринте из общей популяции крыс-самцов линии Вистар по индексам поведенческой активности (ИПА) и пассивности (ИПП) отбирали активных и пассивных животных, которые в ПКЛ были разделены на группы низкотревожных (активные (АНТ), пассивные (ПНТ)) и высокотревожных (активные (АВТ), пассивные (ПВТ)). Для формирования экспериментального аналога ПТСР использовали водно-иммерсионное воздействие в парадигме “стресс-рестресс”. Через 20 сут после первого стресса опытным крысам в течение недели внутримышечно вводили раствор даларгина в дозе 0.1 мг/кг, а контрольным – физиологический раствор в эквивалентном объеме. Спустя 2 сут после недельного курса инъекций все животные были протестированы в ПКЛ. В модели ПТСР у АНТ крыс наблюдалось только снижение общей моторно-исследовательской активности, воздействие даларгина в модели ПТСР способствовало повышению у них реактивной тревожности. У АВТ крыс в модели ПТСР одновременно с уменьшением общей моторно-исследовательской активности усилилась их исходно высокая тревожность, а даларгин оказал на этих животных антистрессорное воздействие. У ПНТ крыс в модели ПТСР уменьшилась общая моторно-исследовательская активность и повысилась реактивная тревожность, инъекции даларгина ускорили и усилили развитие ПТСР-подобного состояния. У ПВТ крыс в модели ПТСР заметного изменения поведенческих характеристик не наблюдалось, инъекции даларгина видимого влияния на поведение этих животных в ПКЛ тоже не оказали.

*Ключевые слова:* ПТСР, даларгин, активность, тревожность, крысы

DOI: 10.31857/S0044467721050099

Основная роль в адаптационных процессах, восстанавливающих гомеостаз организма после стрессорного воздействия, принадлежит кортикостероидам, секреция которых в результате стресс-реакции усиливается. Сильный или хронический стресс способен привести к серьезному нарушению гормональной функции гипофизарно-адренкортикальной системы (ГАС) с последующим развитием постстрессорных психопатологий. Развитие постстрессорного депрессивного расстройства связывают с гиперактивацией ГАС в результате снижения чувствительности мозговых структур к кортикостероидам (в первую очередь гиппокампа) и возникающего вследствие этого нарушения регуляции ме-

ханизмами “обратной связи” (Шаляпина, 2005; Belanoff et al., 2001; Osterlund et al., 2016; Young, Vazquez, 1996). Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) характеризуется, наоборот, снижением гормональной функции ГАС в связи с развитием ее гиперчувствительности к сигналам “обратной связи” и включением быстрого глюкокортикоидного торможения, что уже на ранних стадиях нарушает нормальную динамику реакции ГАС и ее адаптивные функции (Рыбникова и др., 2010; Deslauriers et al., 2018; Liberzon et al., 1997; Moulton et al., 2018; Yehuda, Antelman, 1993). В обоих случаях существует опасность разрушения стероид-чувствительных структур мозга (Bremner, 2006;

Kino, 2015) либо при длительном повышении уровня кортикостероидов в случае развития постстрессорного депрессивного состояния, либо в результате внезапного повышения стрессореактивности ГАС с интенсивным выбросом гормонов в кровь у пациентов с ПТСР. Одним из эндогенных факторов, ограничивающих развитие стрессорной реакции и включающих центральные и периферические механизмы адаптации, являются эндогенные опиоидные пептиды (Ласукова, Маслов, 2007; Лишманов и др., 2012; Маслов и др., 2002; Французова и др., 2010). Известно, что опиоидная система тесно взаимодействует с кортиколиберинергическими структурами гипоталамуса и всеми моноаминергическими подкорковыми системами, притормаживая секрецию кортиколиберина и норадреналина (Шаляпина, 2005). Одновременно при стрессорном воздействии массивный выброс катехоламинов сопровождается увеличением содержания  $\beta$ -эндорфина в крови (Соколова и др., 2002). Хорошо известна способность опиоидов при стрессе ограничивать гистотоксическое действие катехоламинов (Соколова и др., 2002) и снижать уровень кортикостероидов в крови (Лишманов и др., 2012), блокируя выведение последних из коры надпочечников. Предполагается, что стресс-лимитирующий эффект опиоидов связан с активацией периферических опиоидных рецепторов (Ласукова, Маслов, 2007; Лишманов и др., 2012). Синтетический аналог лей-энкефалина фармакологический препарат “Даларгин” плохо проникает через гематоэнцефалический барьер, не вызывает физической зависимости (Лишманов и др., 2012; Маслов и др., 2002) и взаимодействует преимущественно с  $\mu$ - и  $\delta$ -опиоидными рецепторами (Ласукова, Маслов, 2007; Лихванцев и др., 2012; Маслов и др., 2002). В условиях хронического стресса даларгин предупреждает истощение депо катехоламинов и глюкокортикоидов в надпочечниках, ограничивает проявление стресс-реакции и повышает выживаемость животных в экстремальных условиях (Лихванцев и др., 2012; Лишманов и др., 2012; Французова и др., 2010).

В основе поведенческой стратегии лежит вовлечение разных медиаторов возбуждающего или тормозного характера (Шаляпина, 2005). У пассивных животных в регуляторной системе преобладают тормозные механизмы, связанные с усилением регуляции ГАС-сигналами обратной связи, что объясняет мало-

подвижность и низкую пластичность их стресс-системы (Шаляпина, 2005; Шаляпина и др., 2006б). У активных особей в системе регуляции ГАС преобладают возбуждательные механизмы (Семенова и др., 2018; Шаляпина и др., 2006б). Кривая гормонального стрессорного ответа у этих животных характеризуется более быстрым и высоким подъемом и более медленным снижением (Шаляпина, Ракицкая, 2003). Высокий уровень кортикостероидов обеспечивает активным особям яркое восприятие внешних стимулов, хотя в условиях хронического стресса может стать основой длительной гиперкортизолемии (Belanoff et al., 2001) с последующим нарушением механизмов “обратной связи” и развитием психопатологии.

Общая популяция крыс состоит из неравномерных групп, различающихся по показателям поведенческой активности и тревожности. Мы предполагаем, что влияние даларгина на эти группы в модели ПТСР будет отличаться. В задачу данного исследования входило изучение влияния даларгина в модели ПТСР “стресс-рестресс” на постстрессорную тревожность у крыс, различающихся по показателям поведенческой активности и тревожности.

#### МЕТОДИКА

Работа проведена на животных из биокolleкции “Colleкция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности” Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. В исследовании использовали крыс-самцов линии Вистар весом 250–280 г, в возрасте 2.5 мес, с соблюдением рекомендаций по этике работы с животными (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes). Животные содержались в пластиковых клетках, по 6 штук, на стандартной диете при свободном доступе к воде и пище и при обычном 12-часовом световом режиме. Поведенческие тесты проводились в период с 13 до 17 ч.

После недельного периода адаптации к условиям лаборатории у крыс определяли стратегию приспособительного поведения в Т-образном лабиринте (Шаляпина и др., 2006а). Лабиринт выполнен из непрозрачного пластика с прозрачной верхней крышкой для наблюдения и состоит из трех рукавов, два из которых образуют основной коридор

(140 × 10 × 15 см), разделенный посередине перпендикулярно расположенным третьим рукавом (19 × 4 × 4 см). Крыса входит в лабиринт через средний рукав, время нахождения в котором фиксируется как латентный период. Для облегчения задачи анализа соотношения поведенческих показателей и определения стратегии приспособительного поведения была использована статистико-вероятностная модель, рассматривающая поведенческую активность и пассивность как функцию времени (Великжанин, 2004). Были предложены нормированные индексы поведенческой активности (ИПА) и поведенческой пассивности (ИПП), которые определяли у каждого животного по результатам тестирования в Т-образном лабиринте (Шалыпина и др., 2006а). К поведенческой активности относили все формы вертикальной и горизонтальной активности, исключая груминг, а ИПА рассчитывали как процент времени, когда животное совершало побежки, стойки и двигалось на месте (за исключением груминга), от общего времени наблюдения (ИПА =  $(180 - (LP + tN + Gr)) \times 100/180$ ; где 180 – общее время наблюдения, с; LP – латентный период входа в лабиринт, с; tN – время неподвижности, с; Gr – продолжительность реакции груминга, с). ИПП рассчитывали как процент времени, когда животное было неподвижно, от общего времени тестирования (ИПП =  $(LP + tN) \times 100/180$ ; где 180 – общее время наблюдения, с; LP – латентный период входа в лабиринт, с; tN – время неподвижности, с). Поскольку распределения полученных индексов резко асимметричны, данные были прологарифмированы и на их основании рассчитаны границы групп. В качестве границ групп были взяты 25%-ные квантили и среднее, которые делят распределение на части:  $X_1 = M - 0.67SD$ ,  $X_2 = M \pm SD$ ,  $X_3 = M + 0.67SD$ , где M – среднее значение, а SD – среднее квадратичное отклонение (стандартное отклонение). По рассчитанным индексам из всех протестированных крыс были отобраны животные с высокой (интервал значений ИПА от 85 до 100%, интервал значений ИПП от 0 до 4.6%) и низкой активностью (интервал значений ИПА от 70 до 0%, интервал значений ИПП от 15 до 100%). Таким образом, из взятой в эксперимент популяции крыс ( $n = 140$ ) были отобраны группы активных ( $n = 56$ ) и пассивных ( $n = 36$ ) особей, а животные, не входящие в их число, были удалены.

Для определения исходного уровня тревожности крысы были протестированы в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ), установка которого состояла из двух открытых и двух закрытых рукавов размерами 50 × 14 и 50 × 14 × 33 см соответственно, соединенных центральной площадкой размером 14 × 14 см. Лабиринт был приподнят над уровнем пола на высоту 60 см. Во время тестирования открытые рукава лабиринта дополнительно освещались лампами 40 Вт, расположенными на высоте 30 см. В течение 5 мин регистрировали время нахождения животных в открытых (ОР) и закрытых (ЗР) рукавах ПКЛ, продолжительность реакции замирания, частоту дефекаций. Известно, что продолжительность нахождения особей в ОР ПКЛ обратно пропорциональна уровню тревожности, а паттерн “замирание” характеризует уровень тревожности и страха (Pellow et al., 1985; Rodgers, Johnson, 1995). По результатам тестирования в ПКЛ были сформированы группы, различающиеся по уровню тревожности: активные низкотревожные (АНТ,  $n = 27$ ); активные высокотревожные (АВТ,  $n = 29$ ); пассивные низкотревожные (ПНТ,  $n = 18$ ); пассивные высокотревожные (ПВТ,  $n = 18$ ). Поведенческие характеристики АНТ, АВТ, ПНТ и ПВТ животных представлены в табл. 1. Результаты выражены через Mean ± SEM, анализ данных был сделан с применением t-критерия Стьюдента. Уровень общей моторно-исследовательской активности оценивался по сумме показателей (общая моторно-исследовательская активность =  $N_1 + N_2 + N_3 + N_4 + N_5 + N_6$ ; где  $N_1$  – число заходов в ОР ПКЛ;  $N_2$  – число заходов в ЗР ПКЛ;  $N_3$  – число выглядываний из ЗР ПКЛ;  $N_4$  – количество реакций свешивания с ОР ПКЛ;  $N_5$  – число вертикальных стоек;  $N_6$  – число переходов через центр ПКЛ). Каждая группа была разделена на три подгруппы, равнозначные по показателям реактивной тревожности и общей моторно-исследовательской активности: 1 подгруппа – контроль 1, **K1** (интактные крысы), 2 подгруппа – активный контроль 2, **K2** (стресс-рестресс + инъекции физиологического раствора) и 3 подгруппа – **Опыт** (стресс-рестресс + инъекции даларгина).

Для формирования экспериментального аналога ПТСР использовали водно-иммерсионное воздействие в парадигме стресс-рестресс: опытных и животных из группы активного контроля (**K2**) жестко фиксировали в железных пеналах и погружали по шею на 1 ч

**Таблица 1.** Поведенческие характеристики активных (АНТ, АВТ) и пассивных (ПНТ, ПВТ) крыс в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ)**Table 1.** Behavioral characteristics of active (ALA, ANA) and passive (PLA, PHA) rats in the elevated plus maze (EPM)

Показатели поведения	АНТ, <i>n</i> = 27	АВТ, <i>n</i> = 29	ПНТ, <i>n</i> = 18	ПВТ, <i>n</i> = 18
Время нахождения в ОР ПКЛ, <i>c</i>	18.3 ± 6.6	0*	12.9 ± 3.1	0**
Время нахождения в ЗР ПКЛ, <i>c</i>	268.9 ± 8.0	293.8 ± 3.0*	272.0 ± 7.0	295.2 ± 1.8**
Σ продолжительность реакции замирания, <i>c</i>	2.3 ± 1.3	25.3 ± 9.1*	17.6 ± 12.7	39.5 ± 16.7
Частота дефекации, <i>n</i>	0	1.8 ± 0.8*	0	4.3 ± 1.5**
Число заходов в ОР ПКЛ, <i>n</i>	2.4 ± 0.5	0*	1.9 ± 0.4	0**
Число заходов в ЗР ПКЛ, <i>n</i>	7.3 ± 1.2	5.2 ± 0.4*	5.3 ± 0.7	3.5 ± 0.5**
Число реакций свешиваний с ОР ПКЛ, <i>n</i>	2.7 ± 0.8	0*	1.5 ± 0.6	0**
Число стоек, <i>n</i>	18.8 ± 2.9	16.5 ± 2.0	14.2 ± 1.8	12.6 ± 2.5
Число выглядываний из ЗР ПКЛ, <i>n</i>	7.6 ± 1.2	4.8 ± 0.6*	5.6 ± 1.1	1.8 ± 0.6**
Число переходов через центр ПКЛ, <i>n</i>	1.8 ± 0.5	0*	1.3 ± 0.4	0**

Примечание: результаты выражены через Mean ± SEM; \* – отличие от АНТ;

\*\* – отличие от ПНТ; различия считаются статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

Note: Data are presented as Mean ± SEM; \* – in contrast of ALA; \*\* – in contrast of PLA; differences are statistically significant ( $p < 0.05$ ).

в воду (16°C), через 10 сут повторная процедура длилась в течение 30 мин. Тяжесть первого стресса по температурному режиму и продолжительности была экспериментально подобрана в предыдущих исследованиях с целью предотвращения летальных исходов в группе пассивных животных (Шаляпина и др., 2006 а,б). Согласно проведенным в нашей лаборатории исследованиям через 20 сут после первого стресса у животных формируется ПТСР-подобное состояние. Поэтому через 20 сут после первого стресса опытным крысам в течение недели один раз в день внутримышечно вводили раствор даларгина в дозе 0.1 мг/кг, а животным из группы **К2** – физиологический раствор в эквивалентном объеме. Следует отметить, что при системном введении в дозах до 1 мг/кг даларгин не проникает через гематоэнцефалический барьер (Лишманов и др., 2012; Маслов и др., 2002) и взаимодействует с опиоидными рецепторами только на периферии. Спустя 2 сут после недельного курса инъекций все животные были протестированы в ПКЛ. На рис. 1 представлена схема опыта.

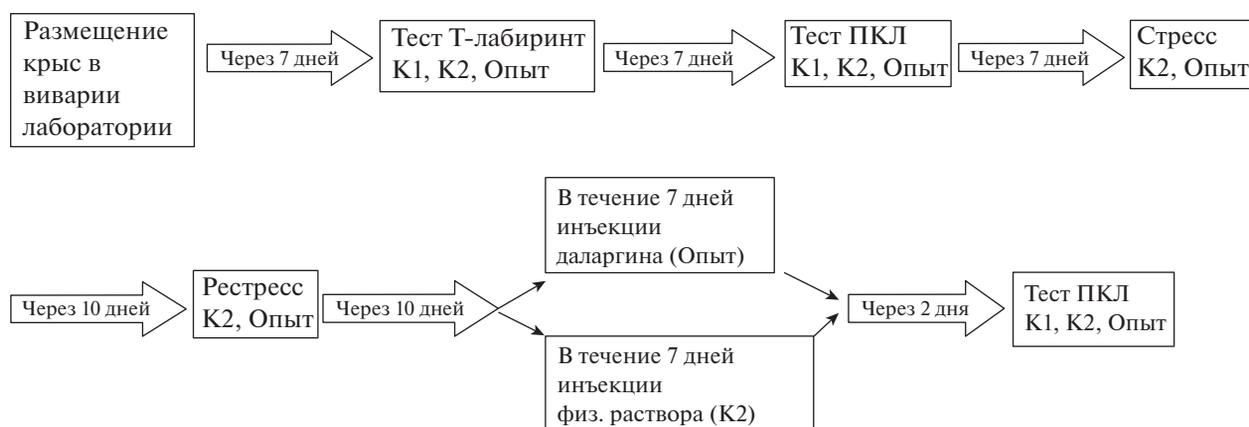
Статистическая обработка полученных результатов производилась с использованием пакета программ STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc.). Сравнение проводилось между подгруппами **К1** (интактные крысы) и **К2**

(стресс-рестресс + инъекции физиологического раствора), а также между подгруппами **К2** и **Опыт** (стресс-рестресс + инъекции даларгина) отдельно для каждой из групп – АНТ, АВТ, ПНТ и ПВТ. Данные анализировали с помощью *t*-критерия Стьюдента или непараметрического *U*-теста Манна–Уитни после того, как была проведена оценка нормальности распределения значений в выборках с помощью критерия Шапиро–Уилкса. Данные представлены в виде средних (Mean) и стандартных ошибок среднего (SEM), а также медиан (Me) и интерквартильного размаха (IQR) между значениями 25 и 75 перцентилей. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0.05$ , при  $0.05 \leq p \leq 0.1$  отмечали наличие тенденций.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Группа АНТ.** Сравнение подгрупп **К2** и **К1**. У АНТ крыс в модели ПТСР снизилась общая моторно-исследовательская активность ( $p < 0.05$ ) и увеличилась продолжительность реакции замирания ( $p < 0.05$ ), тогда как время нахождения в ОР ПКЛ ( $p = 0.284$ ) и частота дефекаций ( $p = 0.17$ ) не изменились (табл. 2).

Сравнение подгрупп **Опыт** и **К2**. Введение даларгина вызвало уменьшение времени нахождения АНТ крыс в ОР ПКЛ ( $p < 0.05$ ) и увеличение продолжительности их реакции



**Рис. 1.** Схема опыта.

Примечание: **К1** – подгруппа 1 (интактные крысы), **К2** – подгруппа 2 (стресс-рестресс + инъекции физиологического раствора), **Опыт** – подгруппа 3 (стресс-рестресс + инъекции даларгина).

**Fig. 1.** Experiment scheme.

Note: K1 – subgroup 1 (intact rats), K2 – subgroup 2 (stress-restress + injections saline), Experiment – subgroup 3 (stress-restress + injections dalargin).

замирания ( $p < 0.05$ ), вместе с тем время нахождения в ЗР ПКЛ ( $p = 0.19$ ), частота дефекаций ( $p = 0.55$ ) и общая моторно-исследовательская активность ( $p = 0.48$ ) не изменились (табл. 2).

**Группа АВТ.** Сравнение подгрупп К2 и К1. У АВТ крыс в модели ПТСР увеличилась продолжительность реакции замирания ( $p < 0.05$ ) и частота дефекаций ( $p < 0.05$ ), а общая моторно-исследовательская активность уменьшилась ( $p < 0.05$ ), тогда как показатели времени нахождения в ЗР ( $p = 0.53$ ) и ОР ( $p = 0.24$ ) ПКЛ не изменились (табл. 3).

Сравнение подгрупп Опыт и К2. Введение даларгина вызвало у АВТ крыс уменьшение продолжительности реакции замирания ( $p = 0.04$ ) и частоты дефекаций ( $p < 0.05$ ), одновременно наблюдалась тенденция к увеличению общей моторно-исследовательской активности ( $p = 0.09$ ), тогда как показатели времени нахождения АВТ крыс в ЗР ( $p = 0.81$ ) и ОР ( $p = 0.87$ ) ПКЛ не изменились (табл. 3).

**Группа ПНТ.** Сравнение подгрупп К2 и К1. У ПНТ крыс в модели ПТСР время нахождения в ОР ПКЛ ( $p < 0.05$ ) и общая моторно-исследовательская активность ( $p < 0.05$ ) снизились, а продолжительность реакции замира-

**Таблица 2.** Поведенческие характеристики активных низкотрещовых (АНТ) крыс при тестировании в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ)

**Table 2.** Behavioral characteristics of active low-anxiety (ALA) rats in the elevated plus maze (EPM)

Показатели поведения	<b>К1</b> , $n = 10$	<b>К2</b> , $n = 9$	<b>Опыт</b> , $n = 8$
Время нахождения в ОР ПКЛ, с	14.2 ± 1.5	10.8 ± 3.9	1.8 ± 0.4**
Время нахождения в ЗР ПКЛ, с	272.6 ± 3.4	269.7 ± 14.2	289.6 ± 2.6
Σ продолжительность реакции замирания, с	2.4 ± 0.5	17.1 ± 3.3*	77.5 ± 9.1**
Частота дефекации, $n$	0.0 (0–0)	1.0 (0.0–4.0)	0.0 (0.0–4.5)
Общая моторно-исследовательская активность, $n$	40.7 ± 3.1	19.6 ± 2.8*	16.4 ± 3.5

Примечание: показатель “Частота дефекации” выражен через Ме (IQR); остальные показатели поведения выражены через Mean ± SEM, **К1** – подгруппа 1 (интактные крысы), **К2** – подгруппа 2 (стресс-рестресс + инъекции физиологического раствора), **Опыт** – подгруппа 3 (стресс-рестресс + инъекции даларгина). \* – отличие от группы **К1**; \*\* – отличие от группы **К2**; различия считаются статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

Note: defecation frequency is presented as Me (IQR); other data are presented as Mean ± SEM, K1 – subgroup 1 (intact rats), K2 – subgroup 2 (stress-restress + injections saline), Experiment – subgroup 3 (stress-restress + injections dalargin). \* – in contrast of K1; \*\* – in contrast of K2; differences are statistically significant ( $p < 0.05$ ).

**Таблица 3.** Поведенческие характеристики активных высокотрещных (АВТ) крыс при тестировании в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ)**Table 3.** Behavioral characteristics of active high-anxiety (АНА) rats in the elevated plus maze (EPM)

Показатели поведения	<b>K1</b> , <i>n</i> = 10	<b>K2</b> , <i>n</i> = 9	<b>Опыт</b> , <i>n</i> = 10
Время нахождения в ОР ПКЛ, <i>c</i>	0.0 (0–0)	4.0 (2.0–6.0)	1.0 (0.0–3.0)
Время нахождения в ЗР ПКЛ, <i>c</i>	293.9 ± 0.9	292.7 ± 1.9	291.8 ± 2.7
Σ продолжительность реакции замирания, <i>c</i>	25.4 ± 3.9	94.0 ± 16.4*	52.2 ± 15.9**
Частота дефекации, <i>n</i>	1.7 ± 0.1	4.6 ± 0.9*	1.6 ± 0.2**
Общая моторно-исследовательская активность, <i>n</i>	26.6 ± 1.6	11.0 ± 1.9*	17.6 ± 3.1

*Примечание:* показатель “Время нахождения в ОР ПКЛ” выражен через Me (IQR); остальные показатели поведения выражены через Mean ± SEM, **K1** – подгруппа 1 (интактные крысы), **K2** – подгруппа 2 (стресс-рестресс + инъекции физиологического раствора), **Опыт** – подгруппа 3 (стресс-рестресс + инъекции даларгина). \* – отличие от группы **K1**; \*\* – отличие от группы **K2**; различия считаются статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

*Note:* time spent in the open arms of the maze is presented as Me (IQR); other data are presented as Mean ± SEM, K1 – subgroup 1 (intact rats), K2 – subgroup 2 (stress-restress + injections saline), Experiment – subgroup 3 (stress-restress + injections dalargin). \* – in contrast of K1; \*\* – in contrast of K2; differences are statistically significant ( $p < 0.05$ ).

**Таблица 4.** Поведенческие характеристики пассивных низкотрещных (ПНТ) крыс при тестировании в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ)**Table 4.** Behavioral characteristics of passive low-anxiety (PLA) rats in the elevated plus maze (EPM)

Показатели поведения	<b>K1</b> , <i>n</i> = 6	<b>K2</b> , <i>n</i> = 6	<b>Опыт</b> , <i>n</i> = 6
Время нахождения в ОР ПКЛ, <i>c</i>	12.9 ± 2.2	6.8 ± 0.8*	0.7 ± 0.1**
Время нахождения в ЗР ПКЛ, <i>c</i>	272.1 ± 5.0	277.8 ± 6.8	295.0 ± 1.8**
Σ продолжительность реакции замирания, <i>c</i>	17.6 ± 4.2	86.7 ± 19.0*	137.8 ± 4.7**
Частота дефекации, <i>n</i>	0.3 ± 0.1	1.8 ± 0.3*	5.3 ± 1.3**
Общая моторно-исследовательская активность, <i>n</i>	26.6 ± 1.9	16.3 ± 3.7*	6.5 ± 1.9**

*Примечание:* результаты выражены через Mean ± SEM, **K1** – подгруппа 1 (интактные крысы), **K2** – подгруппа 2 (стресс-рестресс + инъекции физиологического раствора), **Опыт** – подгруппа 3 (стресс-рестресс + инъекции даларгина). \* – отличие от группы **K1**; \*\* – отличие от группы **K2**; различия считаются статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

*Note:* Data are presented as Mean ± SEM, K1 – subgroup 1 (intact rats), K2 – subgroup 2 (stress-restress + injections saline), Experiment – subgroup 3 (stress-restress + injections dalargin). \* – in contrast of K1; \*\* – in contrast of K2; differences are statistically significant ( $p < 0.05$ ).

ния ( $p < 0.05$ ) и частота дефекаций ( $p < 0.05$ ) увеличились (табл. 4).

Сравнение подгрупп Опыт и K2. Введение даларгина вызвало у ПНТ крыс уменьшение времени нахождения в ОР ПКЛ ( $p < 0.05$ ) и снижение их общей моторно-исследовательской активности ( $p < 0.05$ ), при этом время нахождения в ЗР ПКЛ ( $p < 0.05$ ), продолжительность реакции замирания ( $p < 0.05$ ) и частота дефекаций ( $p < 0.05$ ) увеличились (табл. 4).

**Группа ПВТ.** У ПВТ крыс ни в модели ПТСР, ни после введения даларгина достоверных отличий исследованных параметров поведения не выявлено (табл. 5).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что ПТСР возникает как оставленная реакция на тяжелое стрессорное воздействие (Пшенникова, 2000). Важную роль в развитии этого патологического тревожного состояния играет условно-рефлекторный страх. Условными сигналами становятся события и предметы, сопутствующие травматической ситуации. При каждом столкновении с этими условными сигналами воспроизводится первичная причина потрясения, что служит фактором прогрессирования психопатологии во времени. У больных с ПТСР отмечают повышенную активность симпатoadренальной системы и недостаточную функцию ГАС (Пшенникова, 2000; Шаляпина,

**Таблица 5.** Поведенческие характеристики пассивных высокотревожных (ПВТ) крыс при тестировании в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ)**Table 5.** Behavioral characteristics of passive high-anxiety (PHА) rats in the elevated plus maze (EPM)

Показатели поведения	<b>K1, n = 6</b>	<b>K2, n = 6</b>	<b>Опыт, n = 6</b>
Время нахождения в ОР ПКЛ, с	0.0 (0–0)	5.0 (2.0–5.0)	1.0 (1.0–1.0)
Время нахождения в ЗР ПКЛ, с	295.2 ± 1.0	289.8 ± 4.0	291.8 ± 3.3
Σ продолжительность реакции замирания, с	39.5 ± 11.8	72.8 ± 17.4	80.2 ± 24.0
Частота дефекации, n	4.3 ± 0.8	3.5 ± 0.6	3.7 ± 0.4
Общая моторно-исследовательская активность, n	17.9 ± 2.4	11.3 ± 1.2	11.7 ± 1.8

*Примечание:* показатель “Время нахождения в ОР ПКЛ” выражен через Me (IQR); остальные показатели поведения выражены через Mean ± SEM, **K1** – подгруппа 1 (интактные крысы), **K2** – подгруппа 2 (стресс-рестресс + инъекции физиологического раствора), **Опыт** – подгруппа 3 (стресс-рестресс + инъекции даларгина).

*Note:* time spent in the open arms of the maze is presented as Me (IQR); other data are presented as Mean ± SEM, K1 – subgroup 1 (intact rats), K2 – subgroup 2 (stress-restress + injections saline), Experiment – subgroup 3 (stress-restress + injections dalargin).

2005; Bhattacharya et al., 2019). Для исследования развития этой тревожной патологии у крыс с различными индивидуально-типологическими особенностями поведения мы использовали распространенную модель ПТСР – “стресс-рестресс” (Миронова, Рыбникова, 2008; Deslauriers et al., 2018; Liberzon et al., 1997), формирующую устойчивое тревожное состояние у грызунов, сходное с ПТСР человека. В данной модели у животных наблюдали нарастающее с течением времени увеличение тревожности, пониженный уровень кортикостерона в крови, усиленное торможение ГАС глюкокортикоидными гормонами, изменение в экспрессии минерало- и глюкокортикоидных рецепторов гиппокампа (Миронова, Рыбникова, 2008; Deslauriers et al., 2018; Harvey et al., 2003; Liberzon et al., 1997). Известно, что важную роль в предрасположенности к развитию ПТСР играет исходное состояние стресс-системы (Пшенникова, 2000; Шаляпина, 2005; Bhattacharya et al., 2019). Было отмечено, что данная психопатология развивается на фоне слабой стресс-реакции после одиночного стресса, а на фоне высокого выброса кортизола ПТСР никогда не развивается (Пшенникова, 2000; Шаляпина, 2005).

В нашей работе, по результатам тестирования в ПКЛ, мы наблюдали у ПНТ крыс после стресс-рестресса (K2 ПНТ) резкое увеличение тревожности. Есть данные (Шаляпина, 2005; Шаляпина и др., 2006б), что у пассивных особей после стресс-рестресса одновременно происходит снижение функциональной активности ГАС (уменьшение содержания кортикостерона в крови), повышается

чувствительность ГАС к сигналам обратной связи и развивается десенситизация ее к кортиколиберину. Было также замечено, что после одиночного стресса уровень кортикостерона в крови уменьшается только у пассивных животных (Семенова и др., 2005). Одновременно было показано, что при хроническом стрессе резкое снижение содержания кортикостерона в крови пассивных животных протекает по типу дистрофической патологии и завершается истощением гормональной функции коры надпочечников (Семенова и др., 2005). Сопоставив данные литературы с нашими наблюдениями, мы можем предположить у ПНТ животных развитие ПТСР-подобного состояния.

Для активных особей характерны повышенное содержание кортикостерона в крови и сохранение чувствительности к кортиколиберину как на протяжении длительного периода после одиночного стресса (Шаляпина, Ракицкая, 2003), так и в парадигме “стресс-рестресс” (Шаляпина и др., 2006б). В наших опытах у стрессированных АНТ крыс (K2 АНТ), по сравнению с интактными животными (K1 АНТ), наблюдалось уменьшение общей моторно-исследовательской активности без развития признаков реактивной тревожности, тогда как активные крысы, демонстрирующие высокую реактивную тревожность (АВТ группа), реагировали на стрессорное воздействие в модели ПТСР (K2 АВТ), по сравнению с K1 АВТ, повышением уровня эмоциональной тревожности и страха с одновременным снижением в 2 раза общей моторно-исследовательской активности. В литературе есть данные, что линейные высокотре-

возные крысы high anxiety behavior (HAB) отличаются от низкотревожных low anxiety behavior (LAB) повышенным базальным уровнем кортикостероидов и нарушением регуляции ГАС по механизму обратной связи (Keck et al., 2002; Wegener et al., 2012). Возможно, в модели ПТСР нарушения поведения у АВТ особей также связаны с дисрегуляцией у них отрицательной обратной связи в ГАС и повышением уровня кортикостероидов в крови. Это предположение нуждается в дальнейшем изучении.

По данным опубликованных исследований, у животных, демонстрирующих адаптацию к стрессу, содержание эндорфинов в крови и тканях увеличивается (Лишманов и др., 2012; Пшенникова, 2000; Соколова и др., 2002), т.е. повышается функциональная активность периферического звена стресс-лимитирующей опиоидной системы, предупреждающей стресс-индуцированные повреждения в организме. Известно также, что фармакологический препарат “Даларгин”, воздействуя только на периферические опиоидные рецепторы (Лишманов и др., 2012; Маслов и др., 2002), способен блокировать выработку глюкокортикоидов и нормализовать их содержание в крови стрессированных животных (Лишманов и др., 2012). В нашем исследовании инъекции даларгина оказали на АВТ крыс антистрессорное воздействие, снизив их эмоциональное напряжение. Вероятно, этот препарат возместил недостаток эндогенных опиоидов (Лишманов и др., 2012; Соколова и др., 2002) и смягчил последствия стрессогенной ситуации для АВТ особей. Интересно, что у АНТ крыс в модели ПТСР тревожная патология не развивается. При этом инъекции даларгина резко повысили реактивную тревожность АНТ крыс. Известно, что при синдроме ПТСР тревожное состояние сопровождается патологически быстрым торможением выведения глюкокортикоидов из коры надпочечников и, как следствие, увеличением выброса кортиколиберина для экстренного запуска стресс-системы в связи с восстановлением необходимого для адаптации уровня глюкокортикоидов в крови (Рыбников и др., 2010). В наших опытах инъекции даларгина в модели ПТСР у АНТ животных, возможно, вызвали слишком быстрое падение уровня глюкокортикоидов в крови, с последующим увеличением реактивной тревожности у этих крыс. Возможно, что ПТСР-подобное состояние развивается у животных

с высокой стрессореактивностью ГАС в условиях сильного дисбаланса между периферическим и центральным звеньями опиоидной системы. В нашем исследовании такой дисбаланс в группе АНТ был спровоцирован инъекциями даларгина. Это предположение не противоречит литературным данным, согласно которым, при развитии ПТСР функциональность центрального звена опиоидной системы снижена (Пшенникова, 2000; Kung et al., 2010) и, соответственно, в результате реципрокного взаимодействия центрального и периферического отделов эндогенной опиоидной системы (Судаков, Тригуб, 2008), можно предположить высокую активность периферического отдела. Таким образом, в нашем исследовании мы наблюдали поведенческую реакцию, характерную для особей с ПТСР-подобным состоянием, только у стрессированных ПНТ крыс (К2 ПНТ) и у стрессированных АНТ крыс с введением даларгина (т.е. при искусственном повышении уровня эндогенных опиоидных пептидов на периферии). Инъекции даларгина ПНТ крысам в модели ПТСР ускорили развитие тревожной патологии. Блокируя выведение глюкокортикоидных гормонов из надпочечников, даларгин, возможно, предохраняет ГАС от истощения, хотя ПТСР-подобное состояние у ПНТ крыс при этом усиливается.

Для лучшего понимания процессов адаптации животных с различными индивидуально типологическими особенностями поведения необходимо проведение дополнительных исследований с определением содержания глюкокортикоидов и опиоидов у исследуемых нами групп крыс в экспериментальной модели ПТСР “стресс-рестресс”.

## ВЫВОДЫ

1. Инъекции даларгина в модели ПТСР у АНТ крыс вызвали повышение реактивной тревожности.
2. На АВТ крыс инъекции даларгина в модели ПТСР оказали антистрессорное воздействие, снизив повышенную реактивную тревожность, наблюдаемую после стресс-рестресса.
3. Развитие ПТСР-подобного состояния, проявляющегося в повышенной тревожности, мы наблюдали только у крыс ПНТ, а инъекции даларгина усилили проявление этого состояния.
4. У крыс из группы ПНТ не было выявлено изменения в поведении, ни при стрессорном воздействии, ни после инъекций даларгина.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследования выполнены в рамках Государственного задания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН на 2020 год, тема № 0134-2019-0002.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Настоящая статья не содержит результатов исследований с участием людей в качестве объектов исследования.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Великжанин В.И.* Генетика поведения сельскохозяйственных животных (этология. Темперамент, продуктивность). Спб. 2004. 203 с.
- Ласукова Т.В., Маслов Л.Н.* Опиоидные рецепторы и устойчивость сердца к патогенным воздействиям. Сибирский медицинский журн. 2007. 22 (3): 46–50.
- Лихванцев В.В., Гребенчиков О.А., Шапошников А.А., Борисов К.Ю., Черпаков Р.А., Шульгина Н.М.* Фармакологическое прекондиционирование: роль опиоидных пептидов. Общая реаниматология. 2012. VIII (3): 51–54.
- Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Нарыжная Н.В., Пей Ж.-М., Колар Ф., Жанг И., Портниченко А.Г., Ванг Х.* Эндогенная опиоидная система как звено срочной и долговременной адаптации организма к экстремальным воздействиям. Перспективы клинического применения опиоидных пептидов. Вестник РАМН. 2012. 6: 73–82.
- Маслов Л.Н., Лишманов Ю.Б., Гросс Г.Дж., Стефано Дж.* Феномен повышенной устойчивости сердца к аритмогенному действию ишемии и реперфузии при активации периферических опиоидных рецепторов. Вестник аритмологии. 2002. 26: 77–90.
- Миронова В.И., Рыбникова Е.А.* Устойчивые модификации экспрессии нейрогормонов в гипоталамусе крыс в модели посттравматического стрессового расстройства. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2008. 94 (11): 1277–1284.
- Пшенникова М.Г.* Феномен стресса, эмоциональный стресс и его роль в патологии. Актуальные проблемы патофизиологии (избранные лекции). М.: Медицина. 2000. 220–353.
- Рыбникова Е.А., Миронова В.И., Пивина С.Г.* Тест для выявления нарушений саморегуляции гипоталамико-адреноренальной системы. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2010. 60 (4): 500–506.
- Семенова М.Г., Ракицкая В.В., Шаляпина В.Г.* Морфофункциональные изменения коры надпочечников в ходе развития постстрессорных депрессий у крыс с активной и пассивной стратегиями приспособительного поведения. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2005. 91 (5): 551–557.
- Семенова О.Г., Вьюшина А.В., Притворова А.В., Ордян Н.Э.* Влияние блокады ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов на изменения ориентировочно-исследовательской активности и тревожности, вызванных кортиколиберинем. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2018. 104 (12): 1478–1488.
- Соколова Н.А., Маслова М.В., Маклакова А.С., Ашмарин И.П.* Пренатальный гипоксический стресс: физиологические и биохимические последствия, коррекция регуляторными пептидами. Успехи физиологических наук. 2002. 33 (2): 56–67.
- Судаков С.К., Тригуб М.М.* Гипотеза реципрокного взаимодействия центрального и периферического звена эндогенной опиоидной системы. Бюлл. Экспер. Биол. и Мед. 2008. 146 (12): 604–607.
- Французова Т.И., Чистяков С.И., Балашов В.П., Овсянникова Л.А.* Фармакологические способы профилактики стресс-индуцированных состояний в эксперименте. Медицинские науки. 2010. 4 (16): 26–35.
- Шаляпина В.Г.* Кортиколиберин в регуляции приспособительного поведения и патогенезе постстрессорной психопатологии. В кн.: Основы нейроэндокринологии. Ред. В.Г. Шаляпина, П.Д. Шабанов. Элби-СПб. 2005. 84–146.
- Шаляпина В.Г., Вершинина Е.А., Ракицкая В.В., Рыжова Л.Ю., Семенова М.Г., Семенова О.Г.* Изменение приспособительного поведения активных и пассивных крыс Вистар в водно-иммерсионной модели депрессии. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2006а. 56 (4): 543–547.
- Шаляпина В.Г., Ракицкая В.В.* Реактивность гипоталамико-адреноренальной системы на стресс у крыс с активной и пассивной стратегиями поведения. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2003. 89 (5): 585–590.
- Шаляпина В.Г., Ракицкая В.В., Семенова М.Г., Семенова О.Г.* Гормональная функция гипоталамико-адреноренальной системы в патогенетической гетерогенности постстрессорных депрессий. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2006б. 92 (4): 480–487.
- Belanoff J.K., Kalehzan M., Sund B., Ficek S.K.F., Schatzberg A.F.* Cortisol activity and cognitive changes in psychotic major depression. Amer. J. Psychiatry. 2001. 158 (10): 1612–1616.
- Bhattacharya S., Fontaine A., MacCallum Ph.E., Drovner J., Blundell J.* Stress across generations: DNA methylation as a potential mechanism underlying intergenerational effects of stress in both post-traumatic stress disorder and pre-clinical predator stress rodent models. Front. Behav. Neurosci. 2019. 13: 113. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00113>

- Bremner J.D.* Stress and brain atrophy. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*. 2006. 5 (5): 503–512.
- Deslauriers J., Toth M., Der-Avakian A., Risbrough V.B.* Current status of animal models of PTSD: behavioral and biological phenotypes, and future challenges in improving translation. *Biol. Psychiatry*. 2018. 83 (10): 895–907.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.11.019>
- Harvey B.H., Naciti C., Brand L., Stein D.J.* Endocrine, cognitive and hippocampal/cortical 5HT<sub>1A/2A</sub> receptor changes evoked by a time-dependent sensitisation (TDS) stress model in rats. *Brain Res*. 2003. 983: 97–107.
- Keck M.E., Wigger A., Welt T., Muller M.B., Gesing A., Reul J.M., Holsboer F., Landgraf R., Neumann I.D.* Vasopressin mediates the response of the combined dexamethasone/CRH test in hyper-anxious rats: implications for pathogenesis of affective disorders. *Neuropsychopharmacology*. 2002. 26 (1): 94–105.  
[https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00351-7](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00351-7)
- Kino T.* Stress, glucocorticoid hormones, and hippocampal neural progenitor cells: implications to mood disorders. *Front. Physiol*. 2015. 6: 230.  
<https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00230>
- Kung J.-C., Chen T.-C., Shyu B.-C., Hsiao S., Huang A.C.W.* Anxiety- and depressive-like responses and c-fos activity in preproenkephalin knockout mice: oversensitivity hypothesis of enkephalin deficit-induced posttraumatic stress disorder. *Journal of Biomedical Science*. 2010. 17–29.  
<https://doi.org/10.1186/1423-0127-17-29>
- Liberzon I., Krstov M., Young E.A.* Stress-restress: effects on ACTH and fast feedback. *Psychoneuroendocrinol*. 1997. 22 (6): 443–453.
- Moulton E., Chamness M., Knox D.* Characterizing changes in glucocorticoid receptor internalization in the fear circuit in an animal model of posttraumatic stress disorder. *PLOS ONE*. 2018. 13 (12): e0205144.  
<https://doi.org/10.1371/j.pone.0205144>
- Osterlund C.D., Rodriguez-Santiago M., Woodruff E.R., Newsom R.J., Chadayammuri A.P., Spencer R.L.* Glucocorticoid fast feedback inhibition of stress-induced ACTH secretion in the male rat: rate independence and stress-state resistance. *Endocrinol*. 2016. 157 (7): 2785–2798.
- Pellow S., Chopin P., File S.E., Briley M.* Validation of open : closed arm entries in the elevated plus-maze as measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods*. 1985. 14 (3): 149–167.
- Rodgers R.J., Johnson N.J.* Factor analysis of spatio-temporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav*. 1995. 52 (2): 297–303.
- Wegener G., Mathe A.A., Neumann I.D.* Selectively bred rodents as models of depression and anxiety. *Curr Topics Behav Neurosci*. 2012.  
[https://doi.org/10.1007/7854\\_2011\\_192](https://doi.org/10.1007/7854_2011_192)
- Yehuda R., Antelman S.M.* Criteria for rationally evaluating animal models of posttraumatic stress disorder. *Biol. Psychiatry*. 1993. 33 (7): 479–486.
- Young E.A., Vazquez D.* Hypercortisolemia, Hippocampal Glucocorticoid Receptors, and Fast Feedback. *Mol. Psychiatry*. 1996. 1 (2): 149–159.

## EFFECTS OF DALARGIN ON ANXIETY CHANGES IN RATS WITH DIFFERENT INDIVIDUAL-TYOLOGICAL BEHAVIORAL FEATURES IN THE PTSD MODEL

O. G. Semenova<sup>a, #</sup>, A. V. Vyushina<sup>a</sup>, A. V. Pritvorova<sup>a</sup>, V. V. Rakitskaya<sup>a</sup>, and N. E. Ordyan<sup>a</sup>

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

<sup>#</sup>e-mail: SemenovaOG@infran.ru

In the T-maze, active and passive animals were selected from the general population of male Wistar rats based on the index of behavioral activity (IBA) and passivity (IBP). Active and passive rats were divided into groups of low-anxiety (active (ALA), passive (PLA)) and high-anxiety (active (AHA), passive (PHA)) in the elevated plus maze. Water-immersion model in the “stress-restress” paradigm used to get an experimental analog of post-traumatic stress disorder (PTSD). 20 days after the first stress, the experimental and the control rats were intramuscularly injected with respectively solution of dalargin (0.1 mg/kg) and saline in an equivalent volume for a week. 2 days later a week-long course of injections, all animals were tested in the elevated plus maze. In the model of PTSD in ALA rats, the total motor research activity decreased; additional exposure to dalargin contributed to an increase reactive anxiety. In the model of PTSD in AHA rats, the total motor research activity decreased and initially high anxiety increased; additional exposure to dalargin had on these animals’ antistress effects. In PLA rats in the PTSD model, the total motor research activity decreased and reactive anxiety increased; dalargin injections intensified the stress effect. In PHA rats, initially anxious behavior does not change in the PTSD model, and injections of dalargin did not effect on the anxiety of these animals either.

**Keywords:** post-traumatic stress disorder, dalargin, activity, anxiety, rats

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПАТОЛОГИЯ  
ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

УДК 612.821

**ВЛИЯНИЕ СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ И ОБОГАЩЕННОЙ СРЕДЫ  
НА ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС В НОРМЕ  
И ПОСЛЕ РАННЕГО ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**

© 2021 г. И. В. Павлова<sup>1,\*</sup>, Н. Д. Брошевицкая<sup>1</sup>, М. И. Зайченко<sup>1</sup>, Г. А. Григорьян<sup>1</sup>

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

\*e-mail: pavlovm@mail.ru

Поступила в редакцию 14.12.2020 г.

После доработки 04.02.2021 г.

Принята к публикации 02.03.2021 г.

Исследовали влияние содержания в различных условиях (стандартные, социальная изоляция, кратковременное пребывание в обогащенной среде) в возрасте с 1.5 до 3.5 мес на тревожно-депрессивное поведение взрослых крыс, перенесших ранний провоспалительный стресс. На 3-й и 5-й день от рождения одной группе крысят вводили бактериальный липополисахарид (50 мкг/кг, группа ЛПС), другой группе — физиологический раствор (группа ФИЗ, контроль). Тестирование в возрасте 3–3.5 мес в “Открытом поле” и “Приподнятом крестообразном лабиринте” показало, что содержание в условиях социальной изоляции по сравнению со стандартными условиями приводило к увеличению тревожности крыс и поведения по оценке риска (вытягивания), к некоторому снижению двигательной и исследовательской активности. Наибольшие изменения после социальной изоляции происходили у крыс ЛПС-групп. Кратковременное пребывание в условиях обогащенной среды у крыс ФИЗ-групп не влияло на уровень тревожности, но у самок ЛПС-группы при этом в “Открытом поле” наблюдалось увеличение тревожности. Тест на предпочтение сахарозы выявил признаки депрессивно-подобного поведения у самок ЛПС-группы после социальной изоляции и обогащения среды. Содержание в социальной изоляции приводило к наибольшему увеличению уровня кортикостерона в крови после дополнительного стрессирующего воздействия (теста вынужденного плавания). Таким образом, перенесенный ранний провоспалительный стресс увеличивал реактивность на негативные стрессирующие воздействия во взрослом возрасте, при этом самки были наиболее уязвимы.

*Ключевые слова:* провоспалительный стресс, липополисахарид, социальная изоляция, обогащенная среда, половые различия, тревожность, депрессивно-подобное поведение

DOI: 10.31857/S0044467721050087

Стрессы и отрицательные воздействия в раннем возрасте оказывают серьезное влияние на здоровье и поведение взрослого человека и животных (Kessler et al., 2012). Они могут приводить к развитию тревожных расстройств, депрессии, посттравматического синдрома и ряда других психоневрологических заболеваний. Известно, что ранний стресс вызывает дисрегуляцию гипоталамо-гипофизарной надпочечниковой системы (ГГНС) и нарушает нормальное развитие и функционирование иммунной системы (см. обзор Григорьян, 2020). В результате происходит изменение чувствительности (сенсити-

зация) нейровоспалительной системы, которая чрезмерно или неадекватно реагирует на повторные негативные воздействия (Fonken et al., 2018).

В настоящее время для создания нейровоспалительного процесса в раннем или ином возрасте наиболее часто используется модель провоспалительного стресса, вызываемого путем введения бактериального липополисахарида (ЛПС) крысам в разные периоды развития (см. обзор Григорьян, 2020, Tishkina et al., 2016; Custódio et al., 2018; Брошевицкая и др., 2020 и др.). Липополисахариды являются составными компонентами

внешней части мембраны грамотрицательных бактерий, и их введение приводит к высвобождению большого числа эндогенных провоспалительных медиаторов (цитокины, хемокины и др.) через TLR4\*MD-2-комплекс (Alexander, Rietschel, 2001).

В литературе имеются сведения о том, что введение ЛПС в раннем онтогенезе приводит к увеличению тревожности и уменьшению социальных взаимодействий у взрослых крыс, усилению депрессивно-подобного поведения (Tishkina et al., 2016; Custódio et al., 2018). Причем в одних случаях реактивность на ранний провоспалительный стресс была больше выражена у самцов (Walker et al., 2009; Custódio et al., 2018), а в других — у самок (Tenk et al., 2013). В наших предыдущих исследованиях было показано (Брошевицкая и др., 2020), что введение ЛПС на 3-й и 5-й дни жизни вызывает снижение двигательной активности, уменьшение исследовательского поведения и увеличение тревожности и депрессивно-подобного поведения крыс в подростковом возрасте (1–1.5 мес). У самцов изменения в поведении проявились в большей степени, чем у самок.

В настоящее время остается до конца не ясным, как проявляются последствия раннего стресса в дальнейшей жизни животных при столкновении с различными воздействиями. Как будут реагировать животные после раннего провоспалительного стресса на негативные стрессирующие воздействия? Можно ли ослабить последствия провоспалительного стресса путем содержания в особых условиях? Рассматриваемая проблема имеет непосредственное отношение к пониманию механизмов влияния ранних стрессов на возможное возникновение различных психопатологий у человека во взрослом возрасте.

Среди многих хронических стрессирующих воздействий, применяемых в экспериментах на грызунах, широко используется социальная изоляция. Показано, что социальная изоляция, проведенная с раннего возраста, способна вызывать у взрослых животных повышенную тревожность и признаки депрессивно-подобного поведения (Bledsoe et al., 2011; Lukkes et al., 2012; Zhang et al., 2012; Guarnieri et al., 2020; Wang et al., 2017; Mileva, Bielajew, 2015; Takatsu-Coleman et al., 2013). Наоборот, проживание в условиях обогащенной среды может противодействовать развитию тревожного и депрессивно-подобного поведения (Guarnieri et al., 2020; Wukitsch et al., 2020; Mi-

leva, Bielajiw, 2015; Grippo et al., 2014; Brenes et al., 2009; 2020). Исходя из этих данных, следует ожидать, что социальная изоляция будет усиливать, а обогащенная среда, наоборот, ослаблять тревожное и депрессивно-подобное поведение у взрослых крыс, получавших ЛПС-стресс в раннем неонатальном периоде. Причем эти процессы, по-видимому, должны проходить неодинаково у самцов и самок, поскольку данные литературы указывают на то, что нейровоспалительный процесс у них протекает по-разному, у самцов повышена реактивность микроглии, у самок процессы выражены слабее, на что существенно влияют женские половые гормоны (Fonken et al., 2018; Berkiks et al., 2019; Vegeto et al., 2001).

Целью настоящей работы было изучить влияние длительной социальной изоляции и кратковременного пребывания в обогащенной среде на тревожно-депрессивное поведение крыс, перенесших ранний провоспалительный стресс. В задачи работы входило: 1) проанализировать влияние раннего провоспалительного стресса и измененных условий содержания (с 1.5 до 3.5 мес) на тревожно-депрессивное поведение взрослых крыс в тестах “Открытое поле” (ОП), “Приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ), тесте на предпочтение сахарозы (ТПС) и в тесте вынужденного плавания (ТВП); 2) сопоставить влияние различных условий содержания на поведение самцов и самок; 3) проанализировать влияние различных условий содержания на уровень кортикостерона в плазме крови.

## МЕТОДИКА

*Объект исследования.* В опытах участвовало 153 крысы линии Вистар в возрасте от 25 дней до 3.5 мес (81 самец и 72 самки). Крысята (18 пометов) были выведены в виварии ИВНД и НФ от родителей, полученных из филиала “Столбовая” ФГБУН НЦБМТ ФМБА, Россия. На 3-й и 5-й дни жизни у одной половины крысят из помета вызывали провоспалительный стресс путем введения бактериального липополисахарида (ЛПС) в дозе 50 мкг/кг в объеме 10 мкл/г (группа ЛПС, всего 75 крысят). Во время этой процедуры крысят отлучали от матери на 15–20 мин, взвешивали на электронных весах с точностью до 0.01 г, и они получали подкожную инъекцию ЛПС в холку с помощью инсулинового шприца. Этим крысятам дополнительно

метили с помощью подкожного введения у основания хвоста 10 мкл черной краски, которая используется для татуировок. Другой половине крысят из помета в этом же возрасте подкожно вводили физиологический раствор в объеме 10 мкл/г (группа ФИЗ, контроль, всего 78 крысят). При разделении помета старались уравнивать число самцов и самок в группах ЛПС и ФИЗ. Разделение пометов делали с целью ослабить влияние генетического фактора на результаты экспериментов. В возрасте 25 дней крысят отлучали от матери, и формировали клетки таким образом, что в одной клетке проживали 4–6 крыс одного пола из 2–3 пометов из одной группы (либо ЛПС, либо ФИЗ). В дальнейшем животных содержали в виварии при обычном 12-часовом световом режиме в свободном доступе к воде и стандартному корму. В отличие от ранее проведенных исследований (Брошевицкая и др., 2020), в настоящей работе не было создано группы интактного контроля, поскольку ранее мы не наблюдали статистически значимых различий между крысами группы ФИЗ и интактными животными.

В возрасте 45 дней каждую группу крыс делили на три группы в зависимости от условий содержания, которые оставались неизменными до конца экспериментов (до 3.5 мес). Одну группу крыс содержали в стандартных групповых условиях содержания (СТАНД,  $n = 90$ ), вторую кратковременно помещали в обогащенную среду (группа ОС,  $n = 34$ ), третью подвергали социальной изоляции (группа СИ,  $n = 29$ ). В обогащенную среду помещали 4–6 крыс (1 клетка) на 20 мин через день, ее создавали в пластиковой коробке размером  $51 \times 40.5 \times 30$  см, в которой находились лесенки, беличье колесо, трубки, материал для зарывания (опилки, пенопластовый наполнитель, бумага и др.). Параллельно с исследованием обогащенной среды крыс приучали к рукам экспериментатора (handling). При социальной изоляции крыс содержали поодиночке в клетках размером  $30 \times 30 \times 17.5$  см, каждая из которых была оборудована индивидуальной вытяжкой. Животные, находящиеся в изоляции, не могли контактировать с другими крысами ни визуально, ни тактильно, ни посредством запахов. Таким образом, в работе анализировали поведение 6 групп крыс: ФИЗ + СТАНД (46 крыс), ФИЗ + ОС (18 крыс), ФИЗ + СИ (14 крыс), ЛПС + СТАНД (44 крысы), ЛПС +

+ ОС (16 крыс), ЛПС + СИ (15 крыс). В экспериментах соблюдали принципы гуманности, изложенные в директивах Европейского Сообщества (2010/63/EU) и положения ИВНД и НФ РАН о работе с экспериментальными животными.

*Тестирование уровня тревожности.* В работе изучали поведение крыс в двух тестах на тревожность: в “Открытом поле” (ОП) и в “Приподнятом крестообразном лабиринте” (ПКЛ). Крыс тестировали в возрасте 30–40 дней (подростковый возраст, до помещения в обогащенную среду и изоляцию) и 90–100 дней (взрослые, при разных условиях содержания). Первое тестирование было необходимым для формирования групп, равноценных по уровню тревожности, которые в дальнейшем помещали в разные условия содержания. Перед первым тестированием для снижения стрессирующей нагрузки на животных проводили 10–15-минутное приручение (хендлинг) в течение 3–4 дней. Использовали общепринятые размеры и конфигурации ПКЛ и ОП. Время наблюдения в каждом тесте – 5 мин. Для фиксирования траектории движения крыс и элементов поведения использовали программу Etho Vision, а также видеорегистрацию. Анализировали показатели, отражающие тревожность/смелость крыс (время нахождения на периферии ОП, число и длительность выходов в центр ОП, число и длительность выходов в открытые рукава ПКЛ), двигательную активность крыс (пройденную дистанцию, скорость движения, время движения, число переходов между рукавами в ПКЛ), исследовательское поведение (стойки, выглядывания в открытые рукава в ПКЛ), поведение по оценке риска (свешивания в ПКЛ, вытягивания (stretch-attend postures)), элементы “смещенной активности” (число эпизодов и длительность груминга), а также ряд показателей, отражающих вегетативные реакции (число дефекаций и уринаций). При дальнейшей обработке для оценки тревожности в ПКЛ подсчитывали процент времени нахождения в открытых рукавах от общего времени нахождения в открытых и закрытых рукавах, а также процент заходов в открытые рукава от общего числа заходов в открытые и закрытые рукава. Всегда вначале тестировали крысу в ОП, а через 2–3 дня – в ПКЛ. Перед помещением в камеру животного другого пола, кроме обычной влажной и сухой уборки, лабиринт протирали 20%-м раствором этилового спирта. Для переноски самцов и самок

из вивария в экспериментальную комнату и для ожидания своей очереди использовали разные клетки.

*Тест на предпочтение сахарозы.* Для оценки депрессивно-подобного поведения проводили тест на ангедонию у крыс в возрасте 40–45 и 100–102 дней. Тест проводили в течение одних суток. В клетку помещали 2 бутылки, одну с 1%-м раствором сахарозы, другую с водой. Два раза в сутки (утром и вечером) бутылки взвешивали и меняли местами. Определяли объем выпитого раствора сахарозы и воды за сутки каждой крысой, а также процент выпитой сахарозы от общего объема потребленной жидкости.

*Тест вынужденного плавания* проводили в возрасте 102–105 дней, для этих целей использовали цилиндры из оргстекла диаметром 20 см и высотой 50 см, которые заполняли водой температурой 25–26°C до уровня 30 см. Крыс помещали в воду на 5 мин. При зависании (неподвижности) в ходе плавания крысы осуществляли лишь слабые движения лапами и хвостом для коррекции положения тела около поверхности воды. Во время опыта проводили видеорегистрацию. При обработке данных подсчитывали время зависания крыс поминутно и суммарно за весь опыт, число эпизодов зависания и среднюю длительность таких эпизодов за опыт.

*Иммуноферментный анализ крови.* Забор крови проводили у взрослых крыс за один день до начала тестирования и через 30–40 мин после теста вынужденного плавания. Для этого крыс наркотизировали с помощью изофлуранового ингаляционного наркоза (Аерран), на кончике хвоста делали косые надрезы скальпелем и собирали периферическую кровь в объеме 0.5 мл. Затем кровь центрифугировали 15 мин при 4°C и 1500 g для получения сыворотки. Аликвоты сыворотки хранили при –80°C до проведения иммуноферментного анализа.

Для определения уровня кортикостерона в сыворотке крови использовали наборы для иммуноферментного анализа (DRG, Германия), с помощью которых детектировали как свободный, так и связанный с транспортными белками кортикостерон методом конкурентного иммуноферментного анализа.

*Статистическая обработка результатов.* Для вторичной обработки результатов использовали стандартную программу STATISTICA 8.0. Распределение исследованных па-

раметров было проверено на нормальность по критерию Колмогорова–Смирнова (Basic Statistics, раздел Descriptive Statistics). Если анализируемый параметр удовлетворял данному критерию, то при сравнении групп крыс использовали дисперсионный анализ ANOVA, раздел *factorial ANOVA*. При *post-hoc* анализе применяли критерий *Newman–Keuls test*. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ , отмечали наличие тенденции при  $0.05 \leq p < 0.1$ . Во всех экспериментах анализировали влияние факторов ПОЛ, ГРУППА, УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ, в некоторых случаях также анализировали влияние факторов ВОЗДЕЙСТВИЕ и ВРЕМЯ. При отсутствии нормальности распределения поведенческих параметров использовали *Kruskal–Wallis test*, с последующим сравнением групп с помощью *Multiple Comparisons (Nonparametric Statistics)*. При сравнении веса самцов и самок пользовались *t-test (Basic statistics)*. Данные на рисунках представлены в виде средних значений  $\pm$  ошибки средних.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

*Влияние условий содержания на вес крыс.* Вес самцов в три месяца был значительно больше, чем у самок (*t-test*,  $t = 23.7$ ,  $p = 0.000$ ). Влияние фактора ГРУППА (крыс) не было выявлено, но фактор УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ оказывал влияние на вес как самцов ( $F_{2,64} = 5.72$ ,  $p = 0.005$ ), так и самок ( $F_{2,55} = 15.12$ ,  $p = 0.000$ ). *Post hoc* анализ показал, что кратковременное содержание в условиях ОС приводило к увеличению ( $p < 0.05$ ) веса у самцов (в среднем  $356.9 \pm 6.4$  г) и самок ( $258.5 \pm 5.9$  г) по сравнению с животными в стандартных условиях ( $333.1 \pm 4.0$  г и  $223.6 \pm 4.8$  г соответственно). СИ вызывала увеличение веса ( $p < 0.05$ ) только у самцов ( $354.9 \pm 6.7$  г), но не сказалась на весе самок ( $227.4 \pm 6.5$  г) по сравнению с животными в стандартных условиях ( $333.1 \pm 4.0$  г и  $223.6 \pm 4.8$  г соответственно).

*Влияние условий содержания на поведение крыс в открытом поле.* Из всех анализируемых показателей поведения в ОП только часть имела нормальное распределение. С помощью *Factorial ANOVA* анализировали влияние факторов УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ, ПОЛ, ГРУППА на эти параметры, значения *F* и *p* представлены в табл. 1. Остальные параметры анализировали с помощью *Kruskal–Wallis test* и последующим сопостав-

**Таблица 1.** Значения  $F$  и  $p$  при анализе с помощью Factorial ANOVA некоторых показателей поведения в ОП и ПКЛ у крыс, содержащихся в разных условиях**Table 1.**  $F$  and  $p$  values of some parameters of behavior in the OF and EPM of rats in different housing conditions (Factorial ANOVA)

Тест	Показатель поведения	Факторы				
		УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ	ПОЛ	ГРУППА	УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ × ПОЛ	УСЛ.СОД × ПОЛ × ГРУППА
ОП	Дистанция	$F_{2,141} = 3.9$ $p = 0.021$	$F_{1,141} = 69.9$ $p = 0.000$	—	—	—
	Скорость	$F_{2,141} = 4.1$ $p = 0.020$	$F_{1,141} = 64.9$ $p = 0.000$	—	—	—
	% $T$ движения	—	$F_{1,141} = 32.3$ $p = 0.000$	—	—	—
	Стойки	$F_{2,141} = 8.5$ $p = 0.000$	$F_{1,141} = 25.9$ $p = 0.000$	—	—	—
	Число поворотов	—	$F_{1,141} = 19.6$ $p = 0.000$	—	$F_{2,141} = 4.0$ $p = 0.020$	—
ПКЛ	% $T$ выходов в ОР	$F_{2,141} = 10.1$ $p = 0.000$	$F_{1,141} = 8.7$ $p = 0.004$	—	—	—
	Дистанция	—	$F_{1,141} = 48.0$ $p = 0.000$	—	—	—
	Скорость	—	$F_{1,141} = 46.2$ $p = 0.000$	—	—	—
	% $T$ движения	—	$F_{1,141} = 27.9$ $p = 0.000$	—	—	—
	Число поворотов	$F_{2,141} = 7.6$ $p = 0.001$	$F_{1,141} = 63.2$ $p = 0.000$	—	—	—
	Число переходов через центр	$F_{2,141} = 9.1$ $p = 0.000$	$F_{1,141} = 35.1$ $p = 0.000$	—	—	—
	$T$ выглядывания в ОР	$F_{2,141} = 3.1$ $p = 0.049$	—	—	—	—

Примечание. Прочерк свидетельствует о статистически незначимом влиянии фактора.

Note. The dash indicates a statistically insignificant influence of the factor.

лением групп по *Multiple Comparisons*. Из таблицы видно, что фактор ПОЛ оказывал существенное влияние на все параметры поведения. У самок по сравнению с самцами были больше ( $p < 0.05$ ) пройденная дистанция, скорость и время движения, число стоек и поворотов. У самок были больше выходов в центр и меньше время, проведенное на периферии поля ( $p < 0.05$ , Mann–Whitney test). Таким образом, самки отличались меньшей тревожностью и большей двигательной и исследовательской активностью. Более подробно половые различия в поведении крыс в ОП были описаны нами ранее (Павлова и др., 2020).

На большинство показателей также влиял фактор УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ (табл. 1). Проведенный post hoc анализ показал (рис. 1), что **социальная изоляция** вызывала существенные изменения в поведении крыс в ОП, которые отличались у животных в группах ФИЗ и ЛПС (табл. 2). У самцов группы ФИЗ + СИ по сравнению с группой ФИЗ + СТАНД было меньше стоек (рис. 1 (д)), также несколько больше вытягиваний (тенденция, рис. 1 (е)). Кроме того, у самцов группы ФИЗ + СИ была больше латентность ухода из центра (рис. 1 (г),  $p = 0.002$ ,  $H(2, n = 44) = 12.51$ ,  $p = 0.001$ ), куда крысу сажали в самом начале эксперимента, что отражало,

**Таблица 2.** Изменение различных показателей поведения крыс после СИ и кратковременного пребывания в ОС по сравнению со стандартными условиями содержания.  $\uparrow\downarrow$  – увеличение/снижение, = без изменений,  $\uparrow = \downarrow =$  – тенденция к увеличению/снижению

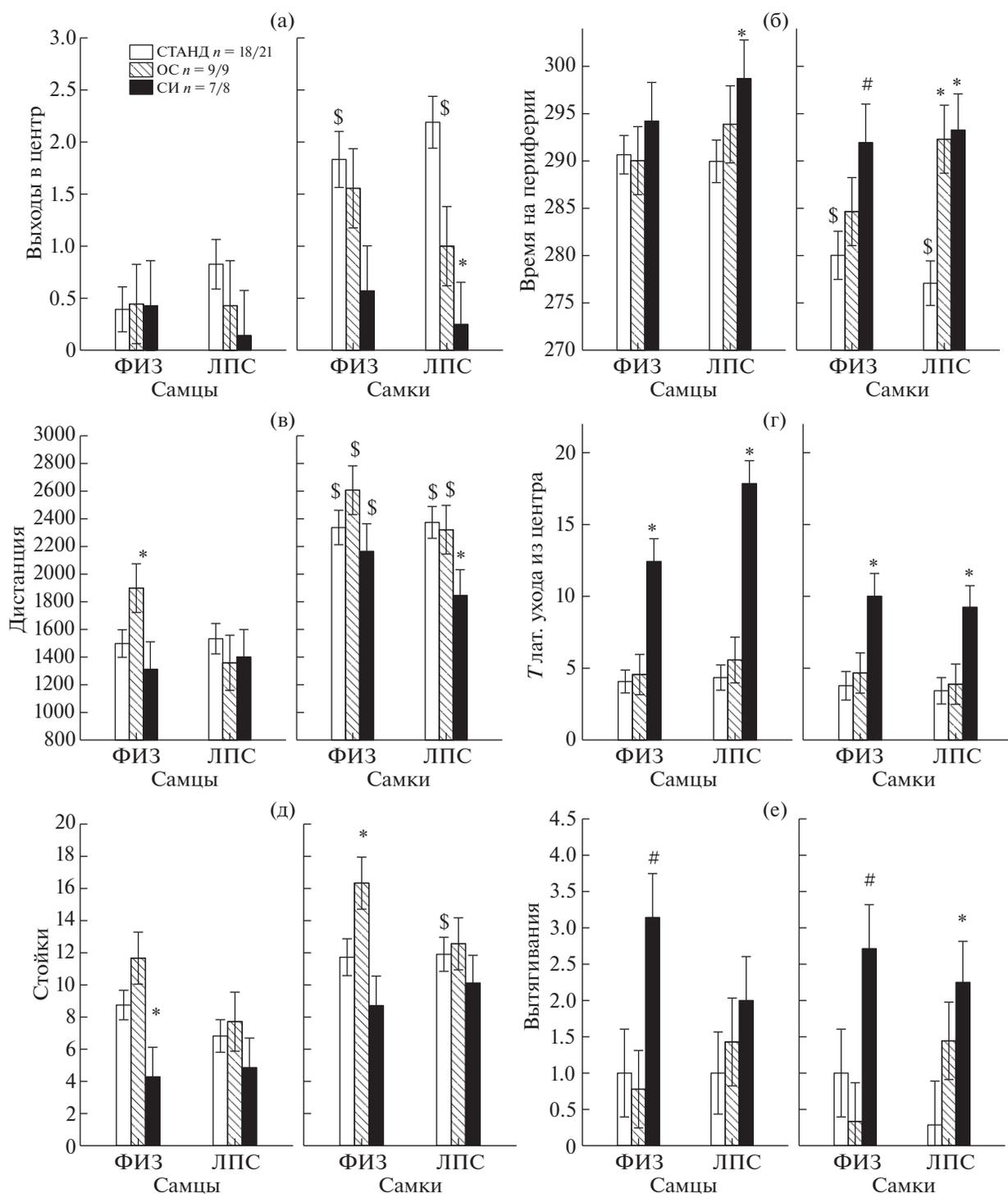
**Table 2.** Changes in various indicators of rat behavior after СИ and short-term stay in the ОС in comparison with standard housing conditions.  $\uparrow\downarrow$  – increase / decrease, = no change,  $\uparrow = \downarrow =$  – trend to increase/decrease

Тест	Показатель поведения	Группы самцов				Группы самок			
		ФИЗ + СИ	ЛПС + СИ	ФИЗ + ОС	ЛПС + ОС	ФИЗ + СИ	ЛПС + СИ	ФИЗ + ОС	ЛПС + ОС
ОП	Выходы в центр	=	=	=	=	=	↓	=	=
	Время на периферии	=	↑	=	=	↑=	↑	=	↑
	Дистанция	=	=	↑	=	=	↓	=	=
	Скорость	=	=	↑	=	=	↓	=	=
	Латентность ухода из центра (с)	↑	↑	=	=	↑	↑	=	=
	Вытягивания	↑=	=	=	=	↑=	↑	=	=
	Стойки	↓	=	=	=	=	=	↑	=
	Грумминг (с)	=	=	=	=	=	=	=	↑=
	Уринации	=	=	=	=	=	=	=	=
	Дефекации	=	=	↑	↑=	=	=	=	=
ПКЛ	% выходов в ОР	=	↓	=	=	↓=	↓=	=	=
	% T в ОР	↓	↓	=	=	↓	↓	=	=
	Дистанция	=	=	↑=	=	=	=	=	=
	Скорость	=	=	↑=	=	=	=	=	=
	Переходы через центр	=	=	=	=	↓	↓	=	=
	Стойки	=	=	=	=	=	=	=	=
	Свешивания	=	=	↑	↑	=	=	↑	↑
	Выглядывания	=	=	=	=	=	=	↑	=
	Вытягивания	↑	↑	=	=	↑	↑=	=	=
	Грумминг (с)	=	↑=	=	=	=	=	=	=
	Уринации	=	=	=	=	=	=	=	=
	Дефекации	=	=	=	=	=	=	=	=

по-видимому, торможение двигательной активности крысы при попадании в авersiveную обстановку. Замирания при этом не наблюдали, животное совершало небольшие движения, крутилось на месте. У самок группы ФИЗ + СИ, по сравнению с группой ФИЗ + СТАНД, так же, как у самцов, были больше латентность ухода из центра (рис. 1 (г),  $p = 0.001$ ,  $H(2, n = 34) = 13.88$ ,  $p = 0.001$ ), число вытягиваний (тенденция, рис. 1 (е),  $p = 0.06$ ,  $H(2, n = 23) = 6.1$ ,  $p = 0.047$ ) и длительность пребывания на периферии поля (тенденция, рис. 1 (б),  $p = 0.06$ ,  $H(2, n = 34) = 5.4$ ,  $p = 0.067$ ). СИ у крыс группы ЛПС вызывала более значительные изменения в поведении. У самцов группы ЛПС + СИ по сравнению с группой ЛПС + СТАНД были больше время нахождения на периферии поля (рис. 1 (б),  $p =$

$= 0.006$ ,  $H(2, n = 37) = 9.65$ ,  $p = 0.008$ ) и латентность ухода из центра в начале эксперимента (рис. 1 (г),  $p = 0.001$ ,  $H(2, n = 37) = 13.3$ ,  $p = 0.001$ ). У самок группы ЛПС + СИ в отличие от группы ЛПС + СТАНД было меньше выходов в центр (рис. 1 (а),  $p = 0.008$ ,  $H(2, n = 38) = 10.31$ ,  $p = 0.006$ ), время нахождения в центре ( $p = 0.016$ ,  $H(2, n = 38) = 9.95$ ,  $p = 0.007$ ), пройденная дистанция (рис. 1 (в)) и скорость движения, вместе с тем было больше время на периферии (рис. 1 (б),  $p = 0.005$ ,  $H(2, n = 38) = 14.32$ ,  $p = 0.001$ ), латентность ухода из центра (рис. 1 (г),  $p = 0.000$ ,  $H(2, n = 38) = 18.86$ ,  $p = 0.000$ ) и число вытягиваний (рис. 1 (е),  $p = 0.044$ ,  $H(2, n = 24) = 7.35$ ,  $p = 0.025$ ).

Таким образом, животные ЛПС-группы были более чувствительны к СИ (табл. 2).



**Рис. 1.** Влияние условий содержания крыс на различные параметры поведения (а–е) в открытом поле. ФИЗ – группа крыс с постнатальным введением физиологического раствора, ЛПС – с введением липополисахарида. СТАНД – стандартные условия содержания, ОС – обогащенная среда, СИ – социальная изоляция. \* – статистически значимые различия ( $p < 0.05$ ) по сравнению со стандартными условиями содержания, # – тенденция ( $0.05 < p < 0.1$ ). \$ – различия между самцами и самками в сходных условиях содержания.

**Fig. 1.** The effects of the rats housing conditions on various parameters of behavior (a–e) in an open field. ФИЗ – a group of rats with postnatal injections of saline, ЛПС – with injections of lipopolysaccharide. СТАНД – standard grouped housing, ОС – enriched environment, СИ – social isolation. \* – the significant difference ( $p < 0.05$ ) relative to standard housing conditions, # – the marginal difference ( $0.05 < p < 0.1$ ). \$ – the difference between males and females in the same housing conditions.

Под влиянием изоляции у них происходило увеличение тревожности, снижение двигательной активности, торможение двигательной активности в начале эксперимента, а также увеличение поведения по оценке риска. СИ у контрольных животных вызывала меньшие изменения в поведении: увеличивалось число элементов по оценке риска (вытягивания), уменьшалась исследовательская активность, тормозилась двигательная активность в самом начале эксперимента. Самки ЛПС-группы по сравнению с самцами ЛПС-группы были более подвержены изменениям в связи с СИ.

Из рис. 1 видно, что кратковременное **обогащение среды** вызывало небольшие изменения в поведении у крыс группы ФИЗ в открытом поле: у самцов группы ФИЗ + ОС по сравнению с группой ФИЗ + СТАНД были больше длина пройденной дистанции (рис. 1 (в),  $p < 0.05$ , post hoc анализ), скорость движения, у самок – число стоек (рис. 1 (д),  $p < 0.05$ , post hoc анализ). По основным показателям, отражающим уровень тревожности (число и длительность выходов в центр, время на периферии поля), в группах ФИЗ + ОС и ФИЗ + СТАНД различий не наблюдали (рис. 1 (а), (б)). У самцов группы ЛПС + ОС и ЛПС + СТАНД не наблюдали различий по показателям двигательной активности, а у самок этих же групп – по показателям исследовательского поведения. Вместе с тем у самок группы ЛПС + ОС по сравнению с группой ЛПС + СТАНД было больше время нахождения на периферии (рис. 1 (б),  $p = 0.009$ ,  $H(2, n = 38) = 10.31$ ,  $p = 0.006$ ) и меньше время в центре поля (тенденция,  $p = 0.10$ ,  $H(2, n = 38) = 9.95$ ,  $p = 0.007$ ), что свидетельствовало об увеличении тревожности.

В ОП условия содержания не оказывали влияния на число и длительность актов груминга, а также число уринаций, иногда их влияние проявлялось только на уровне тенденции.

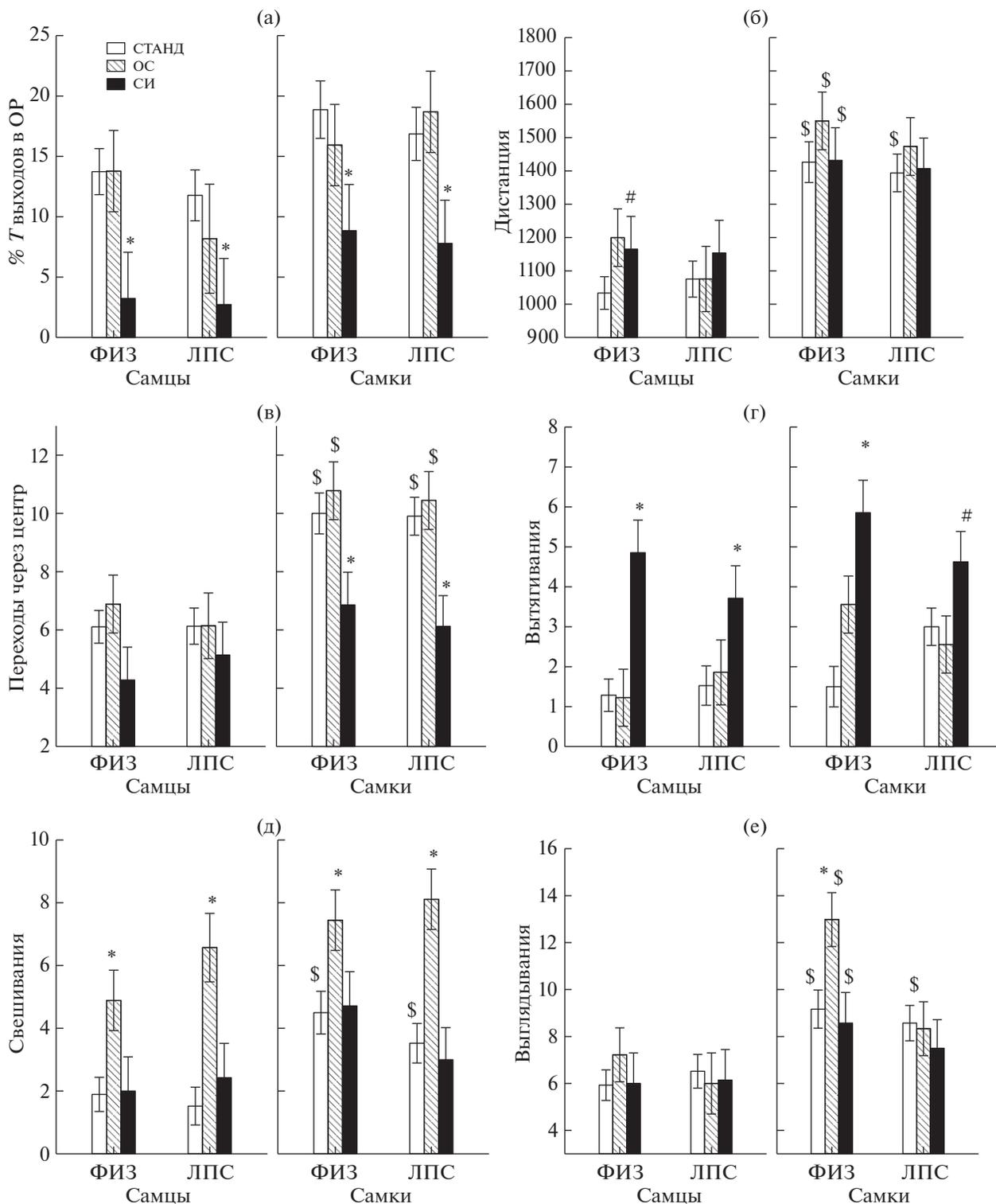
Таким образом, кратковременное ОС вызывало различные реакции у крыс ФИЗ- и ЛПС-групп (табл. 2). У контрольных животных происходило некоторое увеличение двигательной активности и исследовательского поведения без изменения уровня тревожности. ОС у самцов группы ЛПС не было способно вызвать такие изменения, а у самок наблюдалась неадекватная реакция – происходило увеличение тревожности.

*Влияние условий содержания на поведение крыс в приподнятом крестообразном лабиринте.* На рис. 2 показаны изменения основных параметров поведения под влиянием различных условий содержания, а в табл. 1 указаны  $F$  и  $p$  при анализе с помощью Factorial ANOVA показателей, имеющих нормальное распределение. Из табл. 1 видно, что фактор ПОЛ оказывал существенное влияние на большинство параметров поведения. Как и ранее (Павлова и др., 2020), самки больше ( $p < 0.05$ ) времени проводили в открытых рукавах, проходили большую дистанцию, с большей скоростью, больше времени находились в движении, совершали больше поворотов и переходов через центр, т.е. отличались меньшей тревожностью и большей двигательной активностью. Кроме того, на большинство показателей оказывал влияние фактор УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ (табл. 1).

**Социальная изоляция** вызывала значительные изменения в поведении крыс в ПКЛ (табл. 2). Проведенный post hoc анализ показал, что процент времени выходов в открытые рукава был ниже после изоляции у самцов и самок как в группах ФИЗ + СИ, так и ЛПС + СИ (рис. 2 (а)) по сравнению с аналогичными группами животными, содержащимися в стандартных условиях. Число переходов через центр было ниже после изоляции только у самок как в группе ЛПС + СИ по сравнению с ЛПС + СТАНД, так и в группе ФИЗ + СИ по сравнению с ФИЗ + СТАНД (рис. 2 (в)). Число поворотов было меньше после изоляции только у самок в группе ЛПС + СИ по сравнению с группой ЛПС + СТАНД. Характерной особенностью поведения крыс после изоляции были вытягивания (рис. 2 (г)). Число вытягиваний было больше у самцов в группе ФИЗ + СИ по сравнению с ФИЗ + СТАНД ( $p = 0.001$ ,  $H(2, n = 44) = 14.11$ ,  $p = 0.001$ ) и в группе ЛПС + СИ по сравнению с ЛПС + СТАНД ( $p = 0.006$ ,  $H(2, n = 33) = 9.92$ ,  $p = 0.007$ ). У самок число вытягиваний было больше только в группе ФИЗ + СИ по сравнению с ФИЗ + СТАНД ( $p = 0.001$ ,  $H(2, n = 34) = 12.71$ ,  $p = 0.002$ ).

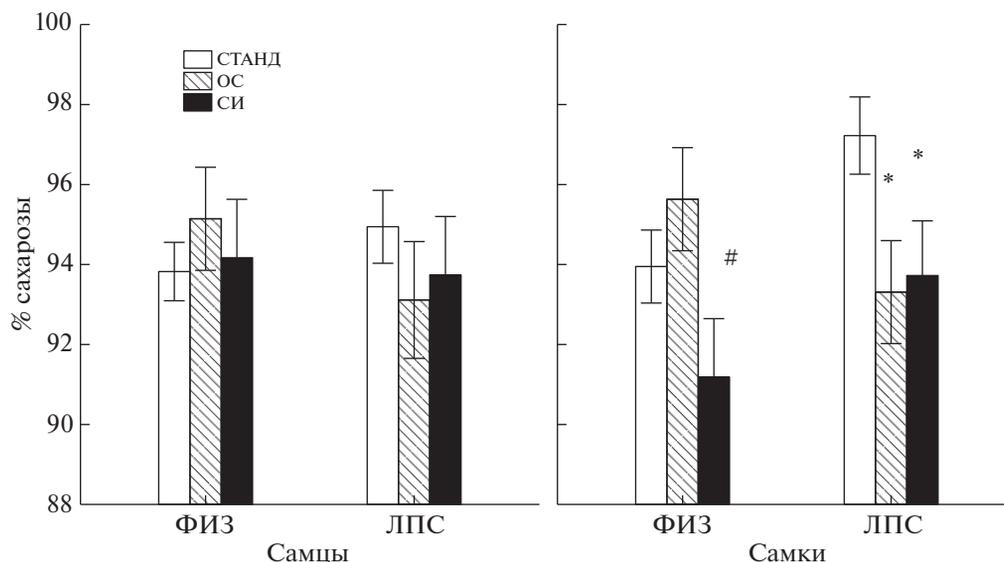
Таким образом, СИ вызывала у всех групп крыс увеличение тревожности, элементов поведения по оценке риска (вытягивания). Некоторое снижение двигательной активности происходило только у самок (табл. 2).

Кратковременное **обогащение среды** не приводило к изменениям уровня тревожности у контрольных групп крыс. Процент вре-



**Рис. 2.** Влияние условий содержания крыс на различные параметры поведения (а–е) в приподнятом крестообразном лабиринте. Остальные обозначения как на рис. 1.

**Fig. 2.** The influence of the rats housing conditions on various parameters of behavior (a–e) in an elevated plus maze. The rest designations are the same as in Fig. 1.



**Рис. 3.** Влияние условий содержания крыс на процент потребленной сахарозы в тесте на предпочтение сахарозы. Остальные обозначения как на рис. 1.

**Fig. 3.** The effects of the rats housing conditions on percentage of sucrose consumption in a sucrose preference test. The rest designations are the same as in Fig. 1.

мени выходов в открытые рукава (рис. 2 (а)) и процент выходов в открытые рукава у самцов и самок в группах ФИЗ + ОС и ФИЗ + СТАНД не отличался. После ОС у самцов в группе ФИЗ + ОС по сравнению с самцами ФИЗ + СТАНД была несколько больше (на уровне тенденции) длина пройденной дистанции (рис. 2 (б)), а также скорость движения и число поворотов. У самцов группы ЛПС + ОС указанные показатели двигательной активности не отличались от группы ЛПС + СТАНД. После ОС число свешиваний у самцов было больше в группе ФИЗ + ОС по сравнению с группой ФИЗ + СТАНД (рис. 2 (д),  $p = 0.013$ ,  $H(2, n = 44) = 8.41$ ,  $p = 0.015$ ) и в группе ЛПС + ОС по сравнению с группой ЛПС + СТАНД ( $p = 0.015$ ,  $H(2, n = 37) = 8.20$ ,  $p = 0.017$ ). У самок число свешиваний также было больше в группе ЛПС + ОС по сравнению с группой ЛПС + СТАНД ( $p = 0.012$ ,  $H(2, n = 38) = 10.71$ ,  $p = 0.005$ ) и в группе ФИЗ + ОС по сравнению с группой ФИЗ + СТАНД (тенденция,  $p = 0.08$ ,  $H(2, n = 34) = 5.37$ ,  $p = 0.068$ ). После ОС число выглядываний в открытые рукава у самок группы ФИЗ + ОС превышало данный показатель у самок группы ФИЗ + СТАНД (рис. 2 (е)).

В ПКЛ не было обнаружено влияния условий содержания крыс на число и длительность актов груминга, а также число дефекаций и уринаций.

Таким образом, ОС не влияло на уровень тревожности крыс, но вызывало слабое увеличение двигательной активности и исследовательского поведения у контрольных групп крыс (табл. 2). У групп после провоспалительного стресса указанных изменений не наблюдалось. У всех групп животных увеличивалось поведение по оценке риска (свешивания).

*Влияние условий содержания крыс на предпочтение сахарозы.* При анализе процента выпитой сахарозы было обнаружено взаимодействие факторов УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ  $\times$  ГРУППА ( $F_{2,131} = 3.74$ ,  $p = 0.026$ ). Post hoc анализ показал (рис. 3 (а)), что различные условия содержания не повлияли на процент выпитой сахарозы у самцов как в группе ФИЗ, так и ЛПС. У самок в группе ЛПС + СИ и ЛПС + ОС процент выпитой сахарозы был ниже, чем в группе ЛПС + СТАНД, а в группе ФИЗ + СИ несколько меньше (тенденция), чем в группе ФИЗ + СТАНД.

Таким образом, тест на предпочтение сахарозы выявил признаки депрессивно-подобного поведения только у самок ЛПС-группы после СИ и ОС.

*Влияние условий содержания крыс на поведение в тесте вынужденного плавания.* На время зависания крыс в течение пяти минут теста вынужденного плавания существенное влияние оказывали факторы УСЛОВИЯ СОДЕР-

ЖАНИЯ ( $F_{2,399} = 17.5, p = 0.000$ ), ВРЕМЯ ( $F_{4,399} = 211.7, p = 0.000$ ), ГРУППА ( $F_{1,399} = 12.5, p = 0.000$ ), наблюдалось взаимодействие факторов ПОЛ  $\times$  ГРУППА ( $F_{1,399} = 7.3, p = 0.007$ ), УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ  $\times$  ГРУППА ( $F_{2,399} = 3.4, p = 0.036$ ). Согласно результатам *post hoc* анализа, у самцов и самок после ОС в группах ФИЗ и ЛПС на второй минуте теста время зависания было больше (рис. 4 (а), (б)), чем у животных в стандартных условиях содержания. Наибольшее влияние условия содержания оказывали на самок ЛПС-группы. У самок ЛПС группы после содержания в условиях ОС общее время зависания в тесте было больше (рис. 4 (в)), а латентность первого зависания меньше (рис. 4 (г)) по сравнению с самками, содержащимися в стандартных условиях. СИ не привела к изменениям во времени зависания у самцов группы ФИЗ и ЛПС, а также самок группы ФИЗ (рис. 4 (а), (б)). У самок ЛПС-группы после изоляции время зависания было меньше на пятой минуте теста, чем у группы ЛПС + СТАНД (рис. 4 (б)).

Таким образом, судя по результатам теста вынужденного плавания, содержание в условиях ОС приводило к появлению признаков депрессивно-подобного поведения. Наибольшие изменения в поведении наблюдались у самок ЛПС-группы.

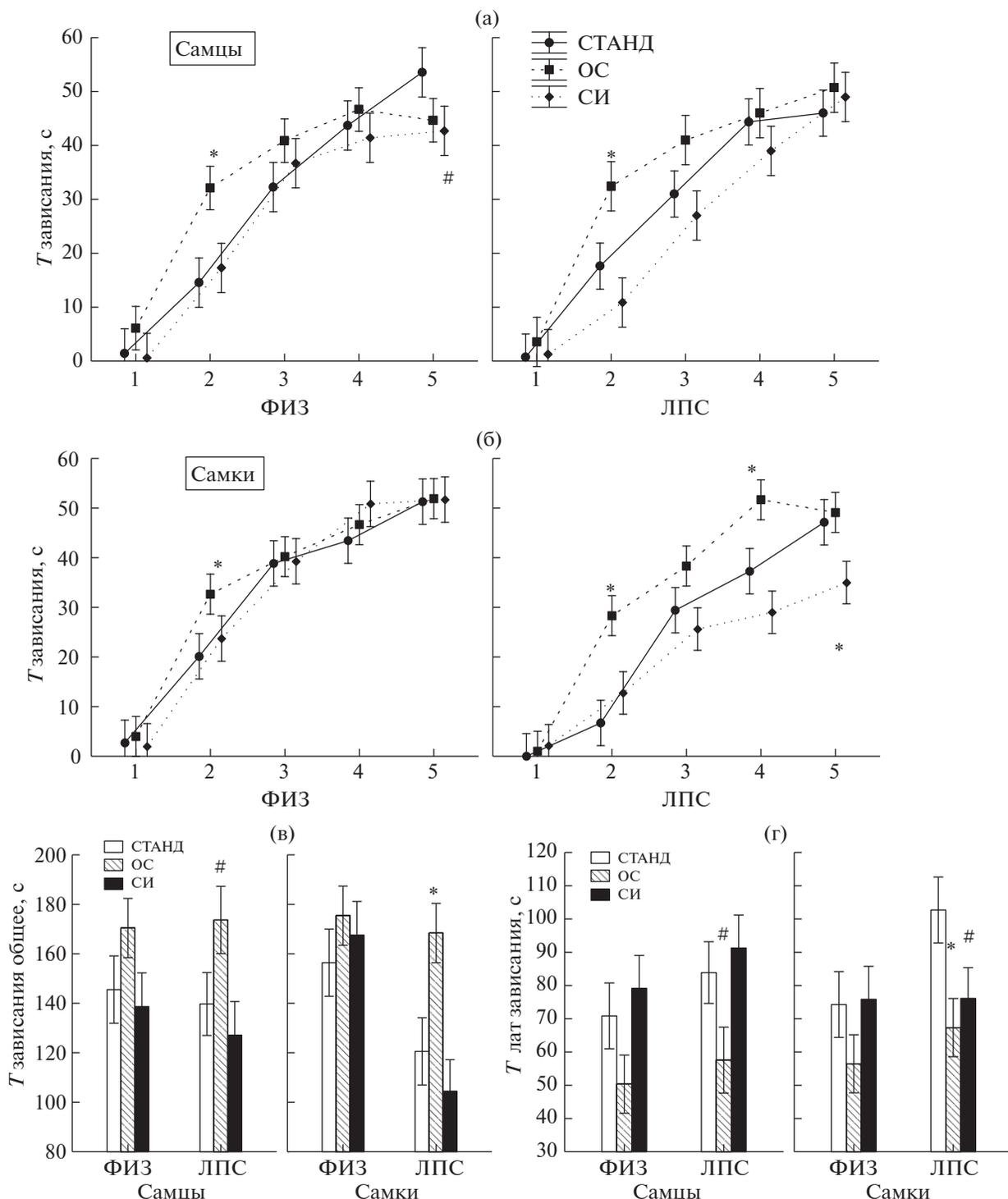
*Влияние условий содержания на уровень кортикостерона в сыворотке крови.* Анализ уровня кортикостерона до и после теста вынужденного плавания показал влияние факторов ВОЗДЕЙСТВИЕ ( $F_{1,141} = 48.1, p = 0.000$ ), ПОЛ ( $F_{1,141} = 176.7, p = 0.000$ ), а также взаимодействие факторов ВОЗДЕЙСТВИЕ  $\times$  УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ ( $F_{2,141} = 3.3, p = 0.040$ ), УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ  $\times$  ПОЛ ( $F_{2,141} = 5.5, p = 0.005$ ), УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ  $\times$   $\times$  ПОЛ  $\times$  ГРУППА  $\times$  ВОЗДЕЙСТВИЕ ( $F_{2,141} = 5.0, p = 0.008$ ). Через 30–40 мин после теста вынужденного плавания в среднем наблюдалось увеличение содержания кортикостерона в крови, при этом у самок уровень кортикостерона был выше ( $p < 0.05$ ), чем у самцов, как до ( $1150.9 \pm 39.1$  и  $729.5 \pm 39.6$  нмоль/л соответственно), так и после воздействия ( $1442.5 \pm 40.1$  и  $897.0 \pm 39.1$  нмоль/л соответственно) (рис. 5). Подробный *post hoc* анализ показал (рис. 5 (а)), что до воздействия (базовый уровень) содержание в условиях СИ или в ОС могло оказывать влияние на уровень кортикостерона, причем это наблюдалось

только в группах ЛПС. У самцов в группе ЛПС после содержания в ОС или СИ уровень кортикостерона был ниже, чем у животных, содержащихся в стандартных условиях. У самок в группе ЛПС после содержания в ОС, наоборот, уровень кортикостерона был выше, чем после стандартных условий. После стрессующего воздействия (рис. 5 (б)) статистически значимое увеличение уровня кортикостерона наблюдалось у всех групп крыс после СИ – как у ФИЗ-, так и ЛПС-групп, как у самцов, так и самок. У крыс, содержащихся в стандартных условиях, прирост кортикостерона наблюдался только у самок ЛПС-группы. У крыс, содержащихся в ОС, увеличение уровня кортикостерона наблюдалось у самцов ЛПС-группы и самок ФИЗ-группы.

Таким образом, содержание крыс в измененных условиях не влияло на базовый уровень кортикостерона у ФИЗ-групп, но могло приводить к изменениям данного уровня в ЛПС-группах, что свидетельствует о том, что животные после раннего провоспалительного стресса наиболее уязвимы к измененным условиям содержания. Стрессующее воздействие в виде теста вынужденного плавания выявило наибольший прирост уровня кортикостерона у крыс после СИ как в ФИЗ-, так и ЛПС-группах. Таким образом, содержание в СИ приводило к увеличению реактивности ГГН-оси на стрессующее воздействие при вынужденном плавании.

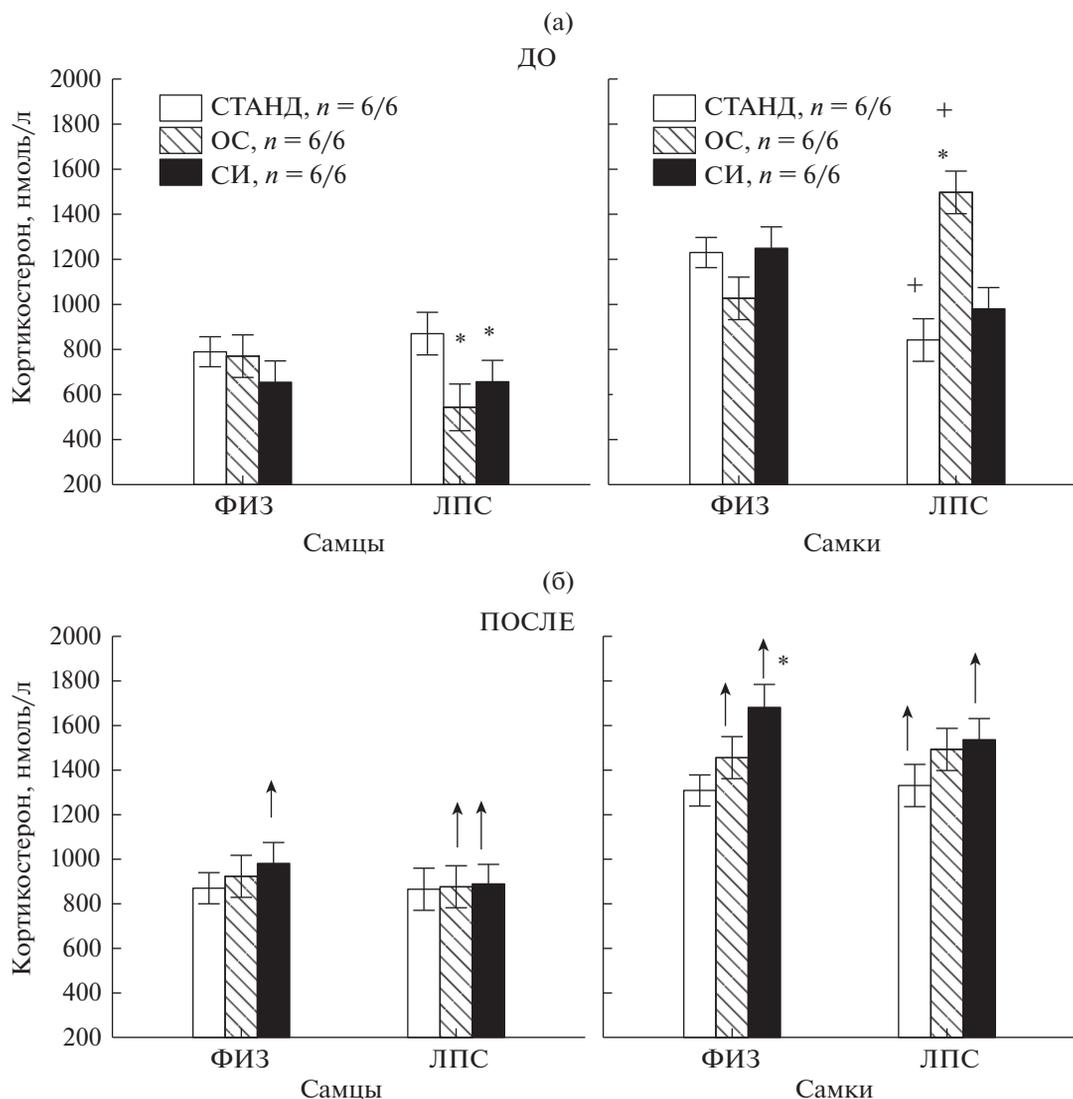
## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В наших опытах *социальная изоляция* приводила к увеличению уровня тревожности в ПКЛ у всех групп крыс, а в ОП – только у животных ЛПС-групп. Кроме того, характерной особенностью поведения крыс в обоих тестах после СИ являлось увеличение числа вытягиваний (*stretch attend postures*), что в литературе рассматривается как признаки поведения по оценке рисков, принятия решения (Rodgers, Johnson, 1995). По-видимому, такие вытягивания в сторону открытого рукава ПКЛ или в сторону центра ОП заменяли полноценные выходы в аверсивную часть лабиринта или поля, и, исходя из этого, такие вытягивания можно рассматривать как косвенные признаки увеличения тревожности. Эти предположения подтверждают данные об уменьшении числа вытягиваний под влиянием анксиолитиков и об их увеличении при



**Рис. 4.** Влияние условий содержания крыс на время зависания в тесте вынужденного плавания. (а) – время зависания по минутам в тесте у самцов, (б) – у самок. (в) – суммарное время зависания в тесте. (г) – латентность первого эпизода зависания. По оси абсцисс на (а) и (б) – время, мин. Остальные обозначения как на рис. 1.

**Fig. 4.** The effects of the rats housing conditions on immobility time in a forced swimming test. (а) – an immobility time measured by minutes during test in males. (б) – in females. (в) – a total amount of immobility time in test. (г) – a latency of the first episode of immobility. On horizontal axis – on (а) and (б) – time, min. The rest designations are the same as in Fig. 1.



**Рис. 5.** Влияние условий содержания на уровень кортикостерона в сыворотке крови до (а) и после (б) теста вынужденного плавания. \* – статистически значимые различия ( $p < 0.05$ ) по сравнению со стандартными условиями содержания, + – в ЛПС-группе по сравнению с ФИЗ-группой в сходных условиях содержания, ↑ – увеличение после теста вынужденного плавания.  $n$  – число крыс в группе (ФИЗ/ЛПС).

**Fig. 5.** The influence of housing conditions on the level of corticosterone in blood samples before (а) and after (б) a forced swimming test. \* – the significant difference ( $p < 0.05$ ) relative to standard housing conditions, + – in the ЛПС group relative to ФИЗ group at the same housing conditions, ↑ – increase after a forced swimming test,  $n$  – a number of rats in a group (ФИЗ/ЛПС).

действию некоторых анксиогенов (Molewijk et al., 1995). В ОП после СИ у всех групп крыс также увеличивалась латентность ухода из центра поля, куда экспериментатор сажал животное в самом начале опыта. Такое увеличение латентности можно рассматривать как торможение двигательной активности при попадании в авersiveную обстановку, признак безынициативности животного, замирания при этом не наблюдали. Вероятно, тор-

можение двигательной активности в начале опыта было следствием увеличения уровня тревожности. Важно подчеркнуть, что в наших опытах СИ не приводила к увеличению двигательной активности животных как в ОП, так и в ПКЛ, а у отдельных групп даже, наоборот, вызывала ее снижение.

В литературе имеются неоднозначные данные по влиянию СИ на проявления тревожного поведения у грызунов. В большин-

стве работ СИ усиливала тревожность (Bledsoe et al., 2011; Lukkes et al., 2012; 2009; Zhao et al., 2009; Rau et al., 2015; Brenes et al., 2020; Zhang et al., 2012; Weiss et al., 2004; Хоничева и др., 2002), в особенности если изоляция начиналась в раннем возрасте. Считается, что в раннем возрасте СИ, подобно другим стрессорирующим воздействиям, вызывает сенситизацию механизмов мозга, связанных со стрессом и негативными эмоциями (моноаминергические системы мозга, структуры гипоталамо-гипофизарной надпочечниковой и иммунной системы, и др.), которые в зрелом возрасте приводят к более серьезным реакциям на повторные стрессы. После СИ показано увеличение возбудимости пирамидных нейронов базолатерального ядра миндалины, что связывают с нарушениями функционирования Ca-каналов (Rau et al., 2015). Однако имеются данные как об уменьшении (Võikar et al., 2005; Thorsell et al., 2006; Kuleskaya et al., 2011; Weintraub et al., 2010), так и неизменности уровня тревожности после СИ (Alshammari et al., 2020; Pietropaolo et al., 2008). Анализ столь противоречивых данных позволяет сделать вывод о том, что на результаты СИ влияет возраст начала изоляции и ее длительность. Высказывалось предположение, что СИ в раннем подростковом возрасте является анксиогенной, а в позднем — анксиолитической. Требуется не меньше трех недель СИ для выявления поведенческого эффекта (Gorlova et al., 2018), краткосрочная изоляция в течение 10 дней не имела поведенческих эффектов (Alshammari et al., 2020).

В большинстве работ СИ вызывала у животных гиперлокомоцию, проявляющуюся в виде усиления двигательной и исследовательской активности в тестах на тревожность (Kuleskaya et al., 2011; Zhao et al., 2009; Voikar et al., 2005; Heidbreder et al., 2000; Krupina et al., 2020; Jahng et al., 2012 и др.). Реже наблюдалось снижение двигательной активности (Хоничева и др., 2002) или отсутствие эффекта (Weiss et al., 2004). Такие противоречивые данные объясняются особенностями аппарата (ОП, ПКЛ) тестирования, продолжительностью изоляции, возрастом, полом, линией животных и другими факторами (Lukkes et al., 2009).

В наших опытах СИ вызывала наибольшие изменения в поведении в тестах на тревожность у крыс ЛПС-групп. Применительно к влиянию двойного (ЛПС и СИ) стресса на

тревожное поведение в зрелом возрасте нам известна только одна работа (Walker et al., 2009). Как и в наших опытах, крысы линии Вистар получали на третий и пятый дни жизни инъекции ЛПС (50 мкг/кг) или физиологического раствора. В возрасте 85 дней часть животных получала в течение трех дней стресс иммобилизации (restraint stress) (30 мин) и СИ. Хотя условия изоляции в наших опытах и в работе (Walker et al., 2009) существенно отличались, результаты были схожими. Крысы ЛПС-группы, получавшие в зрелом возрасте комбинированный стресс, проявляли тревожное поведение в большей степени, чем контрольные животные, что можно рассматривать как подтверждение гипотезы “двойного удара”. Это происходило, на наш взгляд, потому, что провоспалительный ЛПС-стресс в раннем возрасте вызывает сенситизацию иммунной и гипоталамо-гипофизарной надпочечниковой системы, из-за чего реакция на второй стресс оказывается более сильной, чем в случае одиночного стресса (Walker et al., 2009; Брошевицкая и др., 2020). СИ сама по себе приводила к увеличению провоспалительных цитокинов в крови (Alshammari et al., 2020). В двух других работах введение ЛПС использовали в качестве второго стресса в комбинации с СИ, которая служила первым стрессом (Gibb et al., 2008; Gandhi et al., 2007). При этом СИ длительностью в 2–4 нед усиливала эффекты “болезненного состояния”, вызываемого интоксикацией ЛПС или введением poly I:C, а также увеличивала уровни кортикостерона и провоспалительных цитокинов IL-6, IL-1β, фактора некроза опухоли альфа. То есть также наблюдалась синергия двух эффектов.

Кратковременное помещение в *обогащенную среду* в наших опытах у контрольных крыс не оказывало существенного влияния на основные показатели, отражающие уровень тревожности, но вызывало слабое увеличение двигательной активности, исследовательского поведения, поведение по оценке риска (свешивания). Рост числа свешиваний в ПКЛ, по-видимому, был связан с увеличением исследовательского поведения после ОС. Другая реакция на ОС наблюдалась у крыс ЛПС-групп: у самцов изменений двигательной и исследовательской активности под влиянием ОС не наблюдалось, а у самок в открытом поле неожиданно увеличивался уровень тревожности. ОС подействовала на самок

ЛПС-группы как стрессирующий фактор, сходный с СИ. Эти данные свидетельствуют о неадекватной реакции самок ЛПС-группы, сходной в чем-то с психопатологическими реакциями у человека. В большинстве работ с ОС животные помещались в обогащенную обстановку для постоянного проживания, в нашей же работе крысы пребывали в ОС через день по 20 мин, что, по-видимому, дало более слабый эффект, влияние на тревожность не выявлялось даже у контрольных групп. Тем не менее влияние ОС все же проявилось не только в поведении крыс, но и в увеличении веса их тела, что, возможно, было связано с увеличением мышечной массы.

В литературе представлено много работ, в которых показано, что ОС вызывает улучшение когнитивных функций и уменьшение тревожности (Mora-Callegos et al., 2019; Leger et al., 2015; Grippo et al., 2014; Pritchard et al., 2013; Hellemans et al., 2004; Hendershott et al., 2016). Показано, что ОС, предпринятое после СИ, способно ослабить его негативные последствия (Hellemans et al., 2004; Cao et al., 2017; Brenes et al., 2020). В опытах на мышах было установлено, что трехнедельное ОС является оптимальным временем для улучшения когнитивных функций и проявления антитревожных эффектов (Leger et al., 2015). Однако в ряде работ ОС не вызывало анксиолитических влияний (Mileva, Bielajew, 2015; Yildirim et al., 2012), а в других, наоборот, приводило к увеличению тревожности. Например, ОС в течение двух месяцев у самок-мышей приводило к увеличению тревожности (Pietropaolo et al., 2006). Что касается влияния ОС на тревожное поведение в условиях раннего ЛПС-стресса, то подобных работ в литературе нам не известно.

В нашей работе, судя по уменьшению предпочтения раствора сахарозы в тесте на ангедонию, признаки депрессивно-подобного поведения наблюдались только у самок ЛПС-группы, находящихся в СИ или ОС. То есть опять, как и в случае тревожности, именно в этой группе происходили наибольшие изменения в поведении после пребывания в новых условиях содержания. Наблюдаемое нами увеличение веса тела у самцов после СИ может быть связано как с гиперфагией и проявлением депрессивного состояния (Jahng et al., 2012; Brenes et al., 2020), так и с их низкой физической активностью и увеличением процента жира в весе тела (Grippo

et al., 2014). В тесте вынужденного плавания, судя по небольшому увеличению общего времени иммобильности и уменьшению латентности первого эпизода зависания у крыс ЛПС-групп после ОС, можно предположить депрессивно-подобное поведение у самцов и самок после ОС. После СИ отличий со стандартными условиями содержания не возникло. Однако такая трактовка результатов не единственная. Подробный поминутный анализ времени зависания обнаружил наибольшие различия только на второй минуте теста, в конце теста различий не наблюдалось. Возможно, крысы, содержащиеся в ОС, быстрее обучались экономить силы в неизбежной ситуации пребывания в воде, тем более что данные литературы свидетельствуют об улучшении когнитивных способностей у животных, находящихся в ОС (Yildirim et al., 2012; Kuleshkaya et al., 2011).

В литературе в большинстве работ показано, что СИ оказывает депрессивное действие, что проявляется в уменьшении предпочтения раствора сахарозы и увеличении суммарного времени зависания в тесте вынужденного плавания, иногда проявляется только один признак (Guarnieri et al., 2020; Wang et al., 2017; Mileva, Bielajew, 2015; Takatsu-Coleman et al., 2013). Имеются работы, в которых у крыс при СИ могло увеличиваться потребление раствора сахарозы без изменения процента предпочтения сахарозы, что рассматривается как нарушение порога подкрепления, компенсация за нарушение чувствительности к подкреплению (Hong et al., 2012; Yildirim et al., 2012; Brenes et al., 2020). В ряде работ, однако, различий в уровне потребления сахарозы и времени зависания под влиянием СИ обнаружено не было (Alshammari et al., 2020; Goglova et al., 2018). В других работах при СИ уменьшалось общее время зависания в тесте вынужденного плавания (Huang et al., 2017; Voikar et al., 2005; Hong et al., 2012), что авторы трактуют как проявление антидепрессивного эффекта. В ряде работ была показана большая чувствительность самок к стрессу СИ (Hong et al., 2012; Huang et al., 2017). Это соответствует нашим данным: только самки ЛПС-группы показали признаки депрессивно-подобного поведения. Во многих работах животные, помещенные в ОС, проявляли меньше депрессивно-подобного поведения, чем животные после СИ или содержащиеся в стандартных условиях, что могло выявляться

как в тесте вынужденного плавания, так и в тесте предпочтения сахарозы (Mileva, Biela-jiw, 2015; Brenes et al., 2020). Содержание в ОС до или после СИ было способно предотвратить либо, соответственно, ослабить эффекты изоляции (Grippe et al., 2014).

Нам удалось найти только одну работу с комбинированным стрессом (СИ и провоспалительным стрессом, вызванным введением ЛПС), в которой изучалось депрессивно-подобное поведение. В опытах на мышах исследовали влияние ранней восьмидневной СИ совместно с действием ЛПС, который вводили за пять часов до начала теста у животных в возрасте 8–10 нед (Gong et al., 2018). Судя по уменьшению количества потребленной сахарозы и увеличению времени иммобильности в тесте вынужденного плавания, одиночные влияния как СИ, так и ЛПС вызывали депрессивные эффекты. Совместное же влияние двух стрессов вызывало не депрессивные, а наоборот, антидепрессивные эффекты (Gong et al., 2018). Авторы большое значение в развитии депрессивных эффектов после СИ придают потере микроглии в гиппокампе, которая после начальной активации претерпевает апоптоз. В ответ на ЛПС происходит пролиферация микроглии, число клеток микроглии не уменьшается после СИ, и исчезают поведенческие депрессивные эффекты. К сожалению, сравнивать с нашими данными невозможно ввиду больших методических отличий.

Анализ уровня кортикостерона в плазме крови показал, что не у всех групп животных наблюдался прирост после стрессирующего воздействия – ТВП. Возможно, меньшая реакция на стресс по сравнению с нашими ранее проведенными экспериментами связана с однодневным протоколом тестирования (Брошевицкая и др., 2020). Тем не менее статистически значимый прирост уровня кортикостерона наблюдался у всех групп крыс после СИ, что свидетельствовало об их большей реактивности на стрессирующее воздействие по сравнению с другими группами. В литературе имеются сведения о том, что СИ вызывает изменение функционирования ГГН-оси. Так, у крыс-изолянтов базовый уровень кортикостерона мог быть понижен (Martin, Brown, 2010; Roesckner et al., 2017; Mileva et al., 2017) либо увеличен, а ответ на острый стресс при этом сглажен (Jahng et al., 2012). В нашей работе пониженный базовый уровень корти-

костерона наблюдался после СИ и ОС только у самцов ЛПС-группы. Другие авторы также отмечают пониженный базовый уровень кортикостерона и АКТГ после СИ, ответ на стрессирующие стимулы был увеличенный (Boero et al., 2018), при этом наблюдался длительный ответ по кортикостерону, АКТГ и кортикотропин-релизинг-гормону. Авторы приходят к выводу, что СИ меняет базовую активность ГГН-оси и нарушает отрицательную обратную связь после острого стресса, опосредованную глюкокортикоидными рецепторами. Увеличенное выделение кортикостерона после стресса наблюдали у самцов-изолянтов и в другой работе (Weiss et al., 2004).

## ВЫВОДЫ

1. Тестирование крыс в открытом поле и приподнятом крестообразном лабиринте показало, что социальная изоляция приводила к увеличению тревожности животных, поведения по оценке риска (вытягивания), снижению двигательной и исследовательской активности. Наибольшие изменения после социальной изоляции происходили у крыс ЛПС-групп.

2. Содержание в условиях обогащенной среды у контрольных крыс не влияло на уровень тревожности, но вызывало слабое увеличение двигательной активности, исследовательского поведения и поведения по оценке риска (свешивания). После провоспалительного стресса у самцов изменений двигательной и исследовательской активности не наблюдалось, а у самок в открытом поле возникала неадекватная реакция – происходило увеличение тревожности.

3. Признаки депрессивно-подобного поведения согласно тесту на предпочтение сахарозы выявились у самок ЛПС-группы после социальной изоляции и обогащения среды.

4. Самки ЛПС-группы были наиболее подвержены влиянию условий содержания, у этой группы изменения показателей тревожно-депрессивного поведения были наиболее выражены.

5. Содержание в различных условиях могло приводить к изменениям базового уровня кортикостерона в плазме крови у крыс только в ЛПС-группах. Содержание крыс в условиях социальной изоляции приводило к наибольшему приросту уровня кортикостерона после

теста вынужденного плавания, что свидетельствовало об увеличении реактивности ГГН-оси на стрессирующее воздействие.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИВНД и НФ РАН по теме “Фундаментальные нейробиологические механизмы поведения, памяти и обучения в норме и при патологии (номер государственной регистрации АААА-А17-117-92040002-6) и при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 19-015-00129А и № 19-34-90022).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Брошевицкая Н.Д., Павлова И.В., Зайченко М.И., Груздева В.А., Григорьян Г.А.* Влияние раннего провоспалительного стресса на тревожное и депрессивно-подобное поведение крыс разного возраста. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2020. 106 (6): 823–842.
- Григорьян Г.А.* Половые различия в поведении и биохимических маркерах у животных в ответ на нейровоспалительный стресс. *Успехи физиол. наук.* 2020. 51 (1): 18–32.
- Павлова И.В., Брошевицкая Н.Д., Онуфриев М.В., Моисеева Ю.В.* Половые различия в тревожно-депрессивном и оборонительном поведении крыс Вистар. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова.* 2020. 70 (2): 243–258.
- Хоничева Н.М., Чабак-Гарбач Р., Крупина Н.А.* Поведенческие последствия изоляции в раннем онтогенезе у крыс: селективность тревожных состояний. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова.* 2002. 52 (6): 743–749.
- Alexander C., Rietschel E.T.* Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. *J. Endotoxin. Res.* 2001. 7 (3): 167–202.
- Alshammari T.K., Alghamdi H., Alkhader L.F., Alqahatani Q., Alrasheed N.M., Yacoub H., Alnaem N., AlNakiyah M., Alshammari M.A.* Analysis of the molecular and behavioral effects of acute social isolation on rats. *Behav. Brain Res.* 2020. 377: 112191.
- Berkiks I., Garcia-Segura L.M., Nassiri A., Mesfioui A., Ouichou A., Boulbaroud S., Bahbiti Y., Lopez-Rodriguez A.B., Hasnaoui E., El Hessni A.* The sex differences of the behavior response to early Life immune stimulation: Microglia and astrocytes involvement. *Physiol. Behav.* 2019. 199: 386–394.
- Bledsoe A.C., Oliver K.M., Scholl J.L., Forster G.L.* Anxiety states induced by post-weaning social isolation are mediated by CRF receptors in the dorsal raphe nucleus. *Brain Res. Bull.* 2011.85 (3–4): 117–222.
- Boero G., Pisu M.G., Biggio F., Muredda L., Carta G., Banni S., Paci E., Follesa P., Concas A., Porcu P., Serra M.* Impaired Glucocorticoid-mediated HPA axis negative feedback induced by juvenile social isolation in male rats. *Neuropharmacology.* 2018. 133: 242–253.
- Brenes J.C., Fornaguera J., Sequeira-Cordero A.* Environmental enrichment and physical exercise attenuate the depressive-like effects induced by social isolation stress in rats. *Front. Pharmacol.* 2020. 11: 804.
- Cao M., Pu T., Wang L., Marshall C., He H., Hu G., Xiao M.* Early enriched physical environment reverses impairments of the hippocampus, but not medial prefrontal cortex, of socially-isolated mice. *Brain Behav. Immun.* 2017: 232–243.
- Custódio C.S., Mello B.S.F., Filho A.J.M.C., de Carvalho Lima C.N., Cordeiro R.C., Miyajima F., Réus G.Z., Vasconcelos S.M.M., Barichello T., Quevedo J., de Oliveira A.C., de Lucena D.F., Macedo D.S.* Neonatal immune challenge with lipopolysaccharide triggers long-lasting sex- and age related behavioral and immune/neurotrophic alterations in mice: relevance to autism spectrum disorders. *Mol. Neurobiol.* 2018. 55 (5): 3775–3788.
- Fonken L.K., Frank M.G., Gaudet A.D., D’Angelo H.M., Daut R.A., Hampson E.C., Ayala M.T., Watkins L.R., Maier S.F.* Neuroinflammatory priming to stress is differentially regulated in male and female rats // *Brain Behav. Immun.* 2018. 70: 257–267.
- Gandhi R., Hayley S., Gibb J., Merali Z., Anisman H.* Influence of poly I:C on sickness behaviors, plasma cytokines, corticosterone and central monoamine activity: moderation by social stressors. *Brain Behav. Immun.* 2007. 21 (4): 477–489.
- Gibb J., Hayley S., Gandhi R., Poulter M.O., Anisman H.* Synergistic and additive actions of a psychosocial stressor and endotoxin challenge: Circulating and brain cytokines, plasma corticosterone and behavioral changes in mice. *Brain Behav. Immun.* 2008. 22 (4): 573–589.
- Gong Y., Tong L., Yang R., Hu W., Xu X., Wang W., Wang P., Lu X., Gao M., Wu Y., Xu X., Zhang Y., Chen Z., Huang C.* Dynamic changes in hippocampal microglia contribute to depressive-like behavior induced by early social isolation. *Neuropharmacology.* 2018.135: 223–233.
- Gorlova A.V., Pavlov D.A., Zubkov E.A., Morozova A.Y., Inozemtsev A.N., Chekhonin V.P.* Three-week isolation does not lead to depressive-like disorders in rats. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2018. 165 (2): 181–183.

- Grippe A.J., Ihm E., Wardwell J., McNeal N., Scotti M.A., Moenk D.A., Chandler D.L., LaRocca M.A., Preihs K.* The effects of environmental enrichment on depressive and anxiety-relevant behaviors in socially isolated prairie voles. *Psychosom. Med.* 2014. 76 (4): 277–284.
- Guarnieri L.O., Pereira-Caxeta A.R., Medeiros D.C., Aquino N.S.S., Szawka R.E., Mendes E.M.A., Moraes M.F.D., Pereira G.S.* Pro-neurogenic effect of fluoxetine in the olfactory bulb is concomitant to improvements in social memory and depressive-like behavior of socially isolated mice. *Transl. Psychiatry.* 2020. 10 (1): 33.
- Hendershott T.R., Cronin M.E., Langella S., McGuinness P.S., Basu A.C.* Effects of environmental enrichment on anxiety-like behavior, sociability, sensory gating, and spatial learning in male and female C57BL/6J mice. *Behav. Brain Res.* 2016. 314: 215–225.
- Hellemans K.G., Benge L.C., Olmstead M.C.* Adolescent enrichment partially reverses the social isolation syndrome. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 2004. 150 (2): 103–115.
- Hong S., Flashner B., Chiu M., ver Hoeve E., Luz S., Bhatnagar S.* Social isolation in adolescence alters behaviors in the forced swim and sucrose preference tests in female but not in male rats. *Physiol. Behav.* 2012. 105 (2): 269–275.
- Huang Q., Zhou Y., Liu L.Y.* Effect of post-weaning isolation on anxiety- and depressive-like behaviors of C57BL/6J mice. *Experimental Brain Research.* 2017. 235: 2893–2899.
- Jahng J.W., Yoo S.B., Ryu V., Lee J.H.* Hyperphagia and depression-like behavior by adolescence social isolation in female rats. *Int. J. Dev. Neurosci.* 2012. 30: 47–53.
- Kessler R.C., Petukhova M., Sampson N.A., Zaslavsky A.M., Wittchen H.-U.* Twelve-month and lifetime prevalence and lifetime morbid risk of anxiety and mood disorders in the United States. *Int. J. Methods Psychiatr. Res.* 21 (3): 169–184. 2012.
- Krupina N.A., Shirenova S.D., Khlebnikova N.N.* Prolonged social isolation, started early in life, impairs cognitive abilities in rats depending on sex. *Brain sciences.* 2020. 10: 799.
- Kuleskaya N., Rauvala H., Voikar V.* Evaluation of social and physical enrichment in modulation of behavioural phenotype in C57BL/6J female mice. *PLoS One.* 2011. 6 (9): e24755.
- Leger M., Paizanis E., Dzahini K., Quedeville A., Bouet V., Cassel J.C., Freret T., Schumann-Bard P., Boulouard M.* Environmental enrichment duration differentially affects behavior and neuroplasticity in adult mice. *Cereb. Cortex.* 2015. 25 (11): 4048–4061.
- Lukkes J.L., Watt M.J., Lowry C.A., Forster G.L.* Consequences of post-weaning social isolation on anxiety behavior and related neural circuits in rodents. *Front. Behav. Neurosci.* 2009. 3: 18.
- Lukkes J.L., Engelman G.H., Zelin N.S., Hale M.W., Lowry C.A.* Post-weaning social isolation of female rats, anxiety-related behavior, and serotonergic systems. *Brain Res.* 2012. 1443: 1–17.
- Martin A.L., Brown R.E.* The lonely mouse: verification of separation-unduced model of depression in female mice. *Behav. Brain Res.* 2010. 207 (1): 196–207.
- Mileva G.R., Bielajew C.* Environmental manipulation affects depressive-like behaviours in female Wistar-Kyoto rats. *Behav Brain Res.* 2015. 293: 208–216.
- Mileva G.R., Rooke J., Ismail N., Bielajew C.* Corticosterone and immune cytokine characterization following environmental manipulation in female WKY rats. *Behav. Brain Res.* 2017. 316: 197–204.
- Molewijk H.E., van der Poel A.M., Olivier B.* The ambivalent behavior “stretched approach posture” in the rat as a paradigm to characterize anxiolytic drugs. *Psychopharmacology. (Berl).* 1995. 121 (1): 81–90.
- Mora-Gallegos A., Fornaguera J.* The effects of environmental enrichment and social isolation and their reversion on anxiety and fear conditioning. *Behav. Processes.* 2019. 158: 59–69.
- Pietropaolo S., Feldon J., Yee B.K.* Nonphysical contact between cagemates alleviates the social isolation syndrome in C57BL/6 male mice. *Behav Neurosci.* 2008. 122 (3): 505–515.
- Pietropaolo S., Feldon J., Alleca E., Cirulli F., Yee B.K.* The role of voluntary exercise in enriched rearing: a behavioral analysis. *Behav. Neurosci.* 2006. 4: 787–803.
- Pritchard L.M., Van Kempen T.A., Zimmerberg B.* Behavioral effects of repeated handling differ in rats reared in social isolation and environmental enrichment. *Neurosci. Lett.* 2013. 536: 47–51.
- Rau A.R., Chappell A.M., Butler T.R., Ariwodola O.J., Weiner J.L.* Increased basolateral amygdala pyramidal cell excitability may contribute to the anxiogenic phenotype induced by chronic early-life stress. *J. Neurosci.* 2015 35 (26): 9730–9740.
- Rodgers R.J., Johnson N.J.T.* Factor analysis of spatio-temporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1995. 52: 297–303.

- Roeckner A.R., Bowling A., Butler T.R.* Chronic social instability increases anxiety-like behavior and ethanol preference in male Long Evans rats. *Physiol. Behav.*, 2017. 73: 179–187.
- Takatsu-Coleman A.L., Patti C.L., Zanin K.A., Zager A., Carvalho R.C., Borçoi A.R., Ceccon L.M., Berro L.F., Tufik S., Andersen M.L., Frussa-Filho R.* Short-term social isolation induces depressive-like behaviour and reinstates the retrieval of an aversive task: mood-congruent memory in male mice? *J. Psychiatry Neurosci.* 2013. 38 (4): 259–268.
- Tenk C.M., Kavaliers M., Ossenkopp K.P.* Neonatal treatment with lipopolysaccharide differentially affects adult anxiety responses in the light-dark test and taste neophobia test in male and female rats. *Int. J. Dev. Neurosci.* 2013. 31 (3): 171–180.
- Tishkina A., Stepanichev M., Kudryashova I., Freiman S., Onufriev M., Lazareva N., Gulyaeva N.* Neonatal proinflammatory challenge in male Wistar rats: Effects on behavior, synaptic plasticity, and adrenocortical stress response. *Behav. Brain Res.* 2016. 304: 1–10.
- Thorsell A., Slawecki C.J., El Khoury A., Mathe A.A., Ehlers C.L.* The effects of social isolation on neuropeptide Y levels, exploratory and anxiety-related behaviors in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2006. 83: 28–34.
- Vegeto E., Bonincontro C., Pollio G., Sala A., Viappiani S., Nardi F., Brusadelli A., Viviani B., Ciana P., Maggi A.* Estrogen prevents the lipopolysaccharide-induced inflammatory response in microglia. *J. Neurosci.* 2001. 21 (6): 1809–1818.
- Võikar V., Polus A., Vasar E., Rauvala H.* Long-term individual housing in C57BL/6J and DBA/2 mice: assessment of behavioral consequences. *Genes Brain Behav.* 2005. 4 (4): 240–252.
- Walker A.K., Nakamura T., Byrne R.J., Sundresan Naicker, Tynan R.J., Hunter M., Hodgson D.M.* Neonatal lipopolysaccharide and adult stress exposure predisposes rats to anxiety-like behaviour and blunted corticosterone responses: implications for the double-hit hypothesis. *Psychoneuroendocrinology.* 2009. 34 (10): 1515–1525.
- Wang H.T., Huang F.L., Hu Z.L., Zhang W.J., Qiao X.Q., Huang Y.Q., Dai R.P., Li F., Li C.Q.* Early-life social isolation-induced depressive-like behavior in rats results in microglial activation and neuronal histone methylation that are mitigated by minocycline. *Neurotox Res.* 2017. 31 (4): 505–520.
- Weintraub A., Singaravelu J., Bhatnagar S.* Enduring and sex-specific effects of adolescent social isolation in rats on adult stress reactivity. *Brain Res.* 2010. 1343: 83–92.
- Weiss I.C., Pryce C.R., Jongen-Relo A.L., Nanz-Bahr N.I., Feldon J.* Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behav. Brain Res.* 2004. 152: 279–295.
- Wukitsch T.J., Brase E.C., Moser T.J., Kiefer S.W., Cain M.E.* Differential rearing alters taste reactivity to ethanol, sucrose, and quinine. *Psychopharmacology (Berl).* 2020. 237 (2): 583–597.
- Yildirim E., Erol K., Ulupinar E.* Effects of sertraline on behavioral alterations caused by environmental enrichment and social isolation. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2012. 101 (2): 278–287.
- Zhang Y., Zu X., Luo W., Yang H., Luo G., Zhang M., Tang S.* Social isolation produces anxiety-like behaviors and changes PSD-95 levels in the forebrain. *Neurosci. Lett.* 2012. 514: 27–30.
- Zhao X., Sun L., Jia H., Meng Q., Wu S., Li N., He S.* Isolation rearing induces social and emotional function abnormalities and alters glutamate and neurodevelopment-related gene expression in rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2009. 3: 1173–1177.

## THE INFLUENCE OF SOCIAL ISOLATION AND ENRICHED ENVIRONMENT ON ANXIOUS AND DEPRESSIVE-LIKE BEHAVIOR OF RATS IN NORM AND AFTER THE EARLY PROINFLAMMATORY STRESS

I. V. Pavlova<sup>a, #</sup>, N. D. Broshevitskaya<sup>a</sup>, M. I. Zaichenko<sup>a</sup>, and G. A. Grigoryan<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, RAS, Moscow, Russia

<sup>#</sup>e-mail: pavlovfml@mail.ru

The influence of different housing conditions (standard living in groups, social isolation and enriched environment) at the age from 1.5 to 3.5 months on anxious and depressive-like behavior of adult rats after early proinflammatory stress was studied. On 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> day of postnatal life one group of pups received a subcutaneous injection of lipopolysaccharide (50 mkg/kg, LPS group) and another group received an injection of saline (Saline group, controls). The testing at the age of 3–

3.5 months in an open field and elevated plus maze showed that the housing in social isolation compared to the standard conditions of living led to increase of anxiety in rats, risk assessment behavior (stretch attend postures) and some decline in locomotor and investigatory activity. The most pronounced changes after social isolation occurred in rats of the LPS group. Housing in the enriched environment in rats of the Saline group did not affect a level of anxiety, but could elicit a weak increase of motor and search activity and a risk assessment behavior (hanging). The females of the LPS group showed a non-adequate reaction in the open field – an increase of anxious behavior. A sucrose preference test revealed the signs of depressive-like behavior in females of the LPS group after social isolation and enriched environment. Housing in the social isolation produced the most increase in the blood corticosterone level in response to additional stress. Thus, the early proinflammatory stress increased the reactivity to negative stressed impacts in adulthood, wherein the females were the most vulnerable.

*Keywords:* proinflammatory stress, lipopolysaccharide, social isolation, enriched environment, sex differences, anxiety, depressive-like behavior

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПАТОЛОГИЯ  
ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

УДК 159.9(063)

**ХРОНИЧЕСКИЕ СОЦИАЛЬНЫЕ СТРЕССЫ ИЗОЛЯЦИИ  
И СКУЧЕННОСТИ У КРЫС ПО-РАЗНОМУ ВЛИЯЮТ НА НАУЧЕНИЕ  
ИНСТРУМЕНТАЛЬНОМУ ПОВЕДЕНИЮ И СОСТОЯНИЕ  
ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ**

© 2021 г. В. В. Гаврилов<sup>1,а</sup>, М. В. Онуфриев<sup>2,а</sup>, Ю. В. Моисеева<sup>2</sup>,  
Ю. И. Александров<sup>1,б</sup>, Н. В. Гуляева<sup>2,б,\*</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт психологии РАН (Лаборатория психофизиологии им. В.Б. Швыркова), Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН  
(Лаборатория функциональной биохимии нервной системы), Москва, Россия

\*e-mail: nata\_gul@ihna.ru

Поступила в редакцию 23.11.2020 г.

После доработки 20.04.2021 г.

Принята к публикации 26.04.2021 г.

Социальный стресс – широко распространенная проблема в современном мире; он разнообразен и определяется спецификой условий существования как у людей, так и у животных. Активно и эффективно моделируемыми на взрослых грызунах хроническими состояниями являются стресс изоляции и стресс скученности. Задачей настоящей работы было исследование влияния этих типов социального стресса у крыс на скорость научения совершать одно и то же инструментальное пищедобывательное поведение в одиночку и кооперируя с конспецификом. В крови животных определяли уровни кортикостерона и АКТГ для оценки состояния стресс-реализующей гипоталамо-гипофизарно-адренортикарной системы (ГГАКС), а также нейротрофинов и провоспалительных цитокинов. Изоляционный стресс в отличие от скученности вызывал снижение эффективности научения – формирования нового опыта, как в индивидуальном, так и в кооперативном поведении. При этом усиления функционирования ГГАКС у стрессированных животных в обеих группах обнаружено не было. Более того, у животных в условиях скученности достоверно снижался уровень кортикостерона и возрастал уровень провоспалительного цитокина ИЛ-1бета. Полученные результаты позволяют предположить, что механизмы действия хронического стресса изоляции и скученности различны как на уровне стресс-реализующих систем организма, так и на уровне их влияния на интегративную функцию мозга.

*Ключевые слова:* обучение, инструментальное поведение, социальный стресс, изоляция, скученность, гипоталамо-гипофизарно-адренортикарная система, кортизол, цитокины  
DOI: 10.31857/S004446772105004X

**ВВЕДЕНИЕ**

Социальный стресс представляет собой существенную проблему для существования и развития человеческого общества. В частности, для современного человека важными являются как социальная изоляция, так и скученность – существование большого числа людей в малом пространстве. Обе эти проблемы широко распространены. Социальный стресс такого рода может служить важным зве-

ном развития психопатологий. В связи с важностью проблемы необходимы исследования физиологических и молекулярных механизмов последствий социального стресса на моделях изоляции и скученности на грызунах. У социально организованных млекопитающих основными стрессорами являются не столько физические события, сколько изменения социального окружения животного. Как изоляция, так и скученность приводят к развитию стресса с существенными психосоциальными компонентами, сопровождающиеся изменениями эмоционального состоя-

<sup>а,б</sup> – авторы внесли одинаковый вклад в исследование.

\* – автор для корреспонденции.

ния. В зависимости от природы, силы и продолжительности исходного стимула они могут изменять ответ гипоталамо-гипофизарно-адренортикаральной системы (ГГКС) как в сторону увеличения, так и снижения (Bugajski, 1999), а также способствовать развитию различных патологических состояний. Например, в экспериментах на крысах показано, что стресс социальной изоляции и скученности стимулирует повышенное потребление алкоголя (Anacker, Ryabinin, 2010).

ГГКС, обеспечивающая ответ организма на стрессорные факторы разной модальности, принципиально важна для реализации обучения и памяти как высшей формы нейропластичности (Gulyaeva, 2017). Одной из ключевых стадий каскадной нейроэндокринной системы трансдукции нейрогормональных сигналов из высших отделов мозга является выброс глюкокортикоидов в кровь (кортизола у человека, кортикостерона — у грызунов). Глюкокортикоиды, поступающие с кровью в мозг, связываются со специфическими рецепторами, плотность которых максимальна в отвечающих за эмоциональное состояние и обучение структурах лимбической системы (в первую очередь гиппокампе и амигдале), а также фронтальной коре, и таким образом оказывают прямое влияние на функционирование этих структур и регуляцию поведения (см. обзор Gulyaeva, 2019a). Глюкокортикоиды могут стимулировать воспалительные процессы, в том числе в гиппокампе, и нейровоспаление рассматривается как один из важнейших механизмов неблагоприятного действия хронического стресса на обучение и память (Gulyaeva, 2019 a,b).

Задача данной работы — исследовать влияние хронического стресса изоляции и скученности на скорость научения крысами инструментальному пищедобывательному поведению в одиночку и кооперируя с конспецификом, а также оценить состояние ГГКС и уровни провоспалительных цитокинов и нейротрофинов в крови животных.

## МЕТОДИКА

Эксперименты проводили с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского Сообщества (86/609/ЕС) и одобренных Комитетом по медицинской этике в соответствии с положением Института психологии и Института высшей нервной

деятельности и нейрофизиологии РАН о работе с экспериментальными животными.

В экспериментах участвовали 24 взрослых самца крыс Long Evans из вивария Института психологии РАН, которые в возрасте 1 мес были отсажены от матери и сибсов и рассажены в одинаковые клетки из пластика размером 35 × 26 × 20 см. Условия содержания: 12-часовой цикл день-ночь с неограниченным доступом к воде и пище до начала обучения. Животные были разделены на три группы: крысы первой группы (изоляты,  $n = 8$ ) с месячного возраста находились в домашних клетках в одиночестве, крысы из второй группы (контроль,  $n = 8$ ) содержались в таких же домашних клетках по 4 особи, крысы из третьей группы (скученные,  $n = 8$ ) содержались все вместе в одной клетке. Крысы все время с момента рассадки по клеткам в возрасте 1 мес до декапитации в 5–6-месячном возрасте находились в одних и тех же условиях (по 1, 4 или 8 особей в одной клетке) в зависимости от группы.

Исследование проводилось в экспериментальной клетке кубической формы с ребром 60 см, разделенной на две равные части прозрачной перегородкой. В каждой половине клетки по углам располагались кормушка и педаль, нажатие на которую приводило к автоматической подаче пищи в кормушку. Крысы помещались в клетку и самостоятельно (без помощи экспериментатора) должны были научиться нажимать на педаль для получения порции пищи. В исследуемом дефинитивном поведении научившиеся крысы совершали многократные побежки от педали к кормушке и обратно. При научении совместному поведению предварительно обученные крысы в разных половинах клетки должны были одновременно нажать на педали, что приводило к подаче порции пищи им обеим.

Животные подвергались частичной пищевой депривации при ежедневном контроле веса и состояния животного (снижение не более 20% от первоначального на начало обучения). Обучение проводили ежедневно в вечернее время обычно после 16 ч. Экспериментальная сессия у каждой крысы длилась 30 мин. Крысы обучались добывать себе пищу (кусочки сыра размером 1–2 мм<sup>3</sup>) индивидуально каждая в своей половине клетки, после чего уже индивидуально обученные крысы должны были научиться “кооперировать” — синхронизировать нажатие на свою

педаль с нажатием “партнера” на свою педаль, поскольку только при одновременном нажатии на педали они получали порцию пищи. Отмечали номер сессии, в которой крыса при индивидуальном научении начинала регулярно совершать циклическое поведение “педаль-кормушка”, а при научении кооперировать — номер сессии, в которой число “эффективных” нажатий (одновременных нажатий, приводящих к получению порции пищи) превышало 50% от числа всех нажатий, хотя бы одним из животных в паре. Видеозапись поведения проводили с использованием камеры Sony DCR-SR68, вмонтированной в потолок экспериментальной клетки, а также осуществляли фотоэлектрическую регистрацию отметок нажатия на педаль и опускания головы в кормушку для подсчета числа однотипных актов поведения.

Учитывая временные затраты на научение, поведенческая часть проводилась в 2 этапа: сначала обучались 14, потом 10 крыс (на каждом этапе были крысы из всех трех групп). Разница во времени между этапами составляла 1 мес. Для каждого этапа отбирались крысы одного возраста, так чтобы на начало обучения всем крысам было по 3 мес. Длительность одной сессии обучения как в индивидуальном, так и в кооперативном поведении одной крысы была 30 мин ежедневно. Пары для кооперативного научения формировались по мере научения и готовности к следующей стадии исследования из крыс той же группы и сходным временем научения индивидуальному поведению. Состав пар крыс оставался стабильным на протяжении всего эксперимента.

После завершения научения всех животных декапитировали (возраст на момент декапитации 5–6 мес, процедура проводилась с 10 до 12 ч утра) и собирали кровь (в течение 30 сек сразу после декапитации), которую центрифугировали при  $1500 \times g$ , а полученную сыворотку хранили при  $-80^{\circ}\text{C}$ . Уровни кортикостерона и АКТГ в сыворотке определяли при помощи соответствующих наборов для иммуноферментного анализа (EIA-5186 и EIA-3647; DRG Systems, Germany) в соответствии с инструкцией производителя. Концентрации нейротрофинов BDNF и NGF в сыворотке крови измеряли с использованием Total BDNF Quantikine ELISA Kit and Rat beta-NGF DuoSet ELISA kit (DBNT00 и DY556; R&D Systems, USA), а провоспалительных цитокинов IL-1beta, IL-6 и TNF-alpha при

помощи соответствующих наборов для иммуноферментного анализа (RLB00, R6000B и RTA00; R&D Systems).

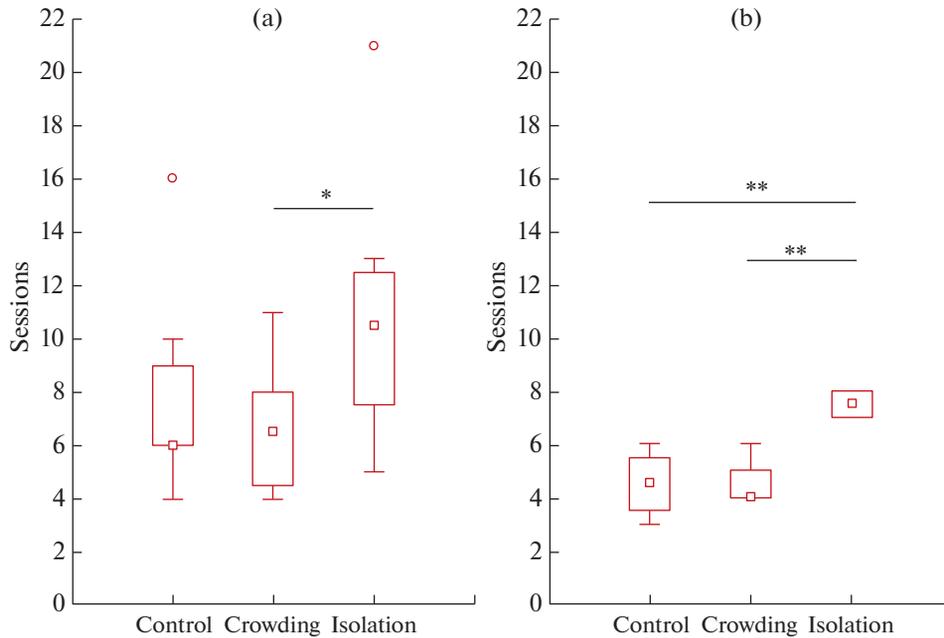
Обработка и анализ поведенческих данных проводились двумя экспериментаторами независимо, после чего результаты сопоставлялись. Материал для биохимического исследования передавался без указания на принадлежность животных к той или иной группе.

Для определения значимости различий поведенческих показателей между группами крыс использовали U-критерий Манна–Уитни. Сравнивали скорости научения по медианам распределений в группах. Полученные биохимические результаты после проверки на нормальность распределения (Shapiro-Wilk W-test) анализировали при помощи однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) с последующим апостериорным тестом Tukey (HSD multiple comparison test). При выявлении значимых эффектов проводили межгрупповые апостериорные сравнения с коррекцией Bonferroni для множественных сравнений. Оценивали корреляции между параметрами с помощью анализа по Pearson. Данные представлены в виде, соответствующем использованному статистическому анализу. Различия считали значимыми при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Крысы, находившиеся в условиях изоляции, достоверно дольше научались инструментальному пищедобывательному поведению как индивидуально, так и кооперируя с сородичами. Увеличение времени индивидуального научения в группе “изолятов” по сравнению с контролем было статистически недостоверно (рис. 1).

У крыс, подвергнутых воздействию скученности или изоляции, предполагаемой активации ГГКС по уровню кортикостерона и АКТГ в крови не произошло (рис. 2). В результате дисперсионного анализа выявлено влияние социального стресса на уровень кортикостерона в крови крыс ( $F(2,21) = 15.77$ ;  $p < 0.001$ ), но не на уровень АКТГ ( $F(2,21) = 2.60$ ;  $p = 0.097$ ). Кроме того, в группе “скученных” уровень кортикостерона в крови был статистически значимо ниже (более чем в 2 раза), а уровень АКТГ в 2.8 раза ниже (хотя и недостоверно из-за разброса данных), чем уровень данных гормонов в контрольной группе. Ни уровень кортикостерона, ни уро-



**Рис. 1.** Скорость научения индивидуальному (а) и кооперативному (б) инструментальному пищедобывательному поведению у крыс. По оси абсцисс – условия содержания крыс: контроль, скученность, изоляция; по оси ординат – число 30-минутных сессий, потребовавшихся для научения исследуемому поведению. Показаны значения медианы – □, значения квартилей 25–75%, минимумы – ⊥, максимумы – ⊤ и выбросы – ○. Статистически значимые различия U-критерия Манна–Уитни в сравниваемых группах (\* –  $p < 0.05$ ; \*\* –  $p < 0.01$ ).

**Fig. 1.** The rate of learning individual (a) and cooperative (b) instrumental food-obtaining behavior in rats. On the X-axis – the conditions of keeping rats: control, crowding, isolation; on the Y-axis – the number of 30-minute sessions required to learn the behavior under study. Median values – □, quartile values of 25–75%, min. value – ⊥, max. value – ⊤, and outliers – ○ are shown. Statistically significant differences in the Mann–Whitney U-test in the compared groups (\* –  $p < 0.05$ ; \*\* –  $p < 0.01$ ).

вень АКТГ в крови крыс после изоляции существенно не отличались от контроля.

Социальный стресс не оказал значимого влияния на уровень BDNF ( $F(2.18) = 2.97$ ;  $p = 0.076$ ) и NGF ( $F(2.19) = 4.67$ ;  $p = 0.22$ ) в крови крыс (рис. 3). Воздействие скученности или изоляции не повлияло на уровни нейротрофинов, которые статистически значимо не отличались от контрольных значений.

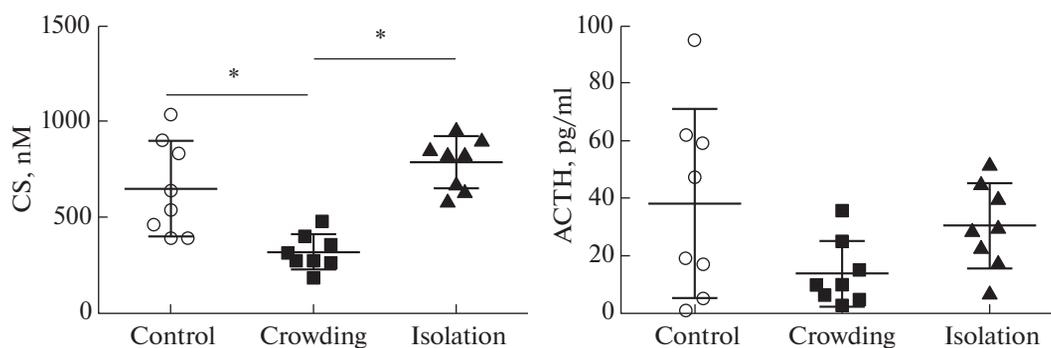
Дисперсионный анализ показал, что социальный стресс оказывал статистически значимое влияние только на уровень IL-1 $\beta$  ( $F(2.20) = 6.7$ ;  $p < 0.01$ ), но не на уровень IL-6 ( $F(2.21) = 1.2$ ;  $p = 0.32$ ) и TNF- $\alpha$  ( $F(2.21) = 2.3$ ;  $p = 0.12$ ) (рис. 4). Из двух типов стресса только воздействие скученности вызвало статистически значимое увеличение в 2.12 раза уровня IL-1 $\beta$  по сравнению с контролем, а изоляция не оказала значимого эффекта.

В результате корреляционного анализа по Пирсону были выявлены статистически значимые положительные корреляции между

уровнем кортикостерона и АКТГ ( $r = 0.67$ ) и уровнем NGF и IL-1 $\beta$  ( $r = 0.58$ ). При анализе корреляций отдельно в группах, в контроле отмечена положительная корреляция между уровнем BDNF и TNF ( $r = 0.67$ ), а в группе изоляция между уровнем кортикостерона и АКТГ ( $r = 0.88$ ).

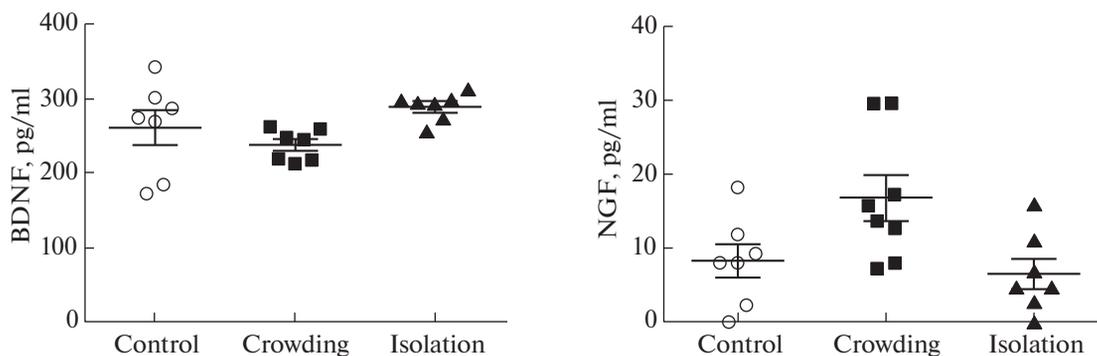
#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Задачей настоящей работы было исследование эффективности научения у крыс, с раннего возраста содержащихся в стрессогенных условиях изоляции или скученности, совершать инструментальное пищедобывательное поведение в одиночку или кооперируя с конспецификом. Результаты такого исследования, подкрепленные биохимическими данными о состоянии стресс-реализующих систем, могут способствовать выяснению специфики стрессорных состояний, возникающих при социальной изоляции и перенаселении. Установлено, что самцы крыс Long Evans, с



**Рис. 2.** Влияние скученности и изоляции на уровень кортикостерона (CS) и АКТГ (АКТГ) в крови крыс. Показаны значения среднего и индивидуальные значения для каждого животного. Проведен однофакторный дисперсионный анализ с последующим апостериорным тестом Tukey и коррекцией Bonferroni для множественных сравнений. \*  $p < 0.05$  – различия между группами.

**Fig. 2.** The effects of crowding and isolation on the levels of corticosterone (CS) and ACTH in the blood of rats. The values of the average and individual values for each animal are shown. A single-factor analysis of variance was performed, followed by a posteriori Tukey test and Bonferroni correction for multiple comparisons. \*  $p < 0.05$  – differences between groups.



**Рис. 3.** Влияние скученности и изоляции на уровень BDNF и NGF в крови крыс. Показаны значения среднего и индивидуальные значения для каждого животного. Проведен однофакторный дисперсионный анализ с последующим апостериорным тестом Tukey и коррекцией Bonferroni для множественных сравнений.

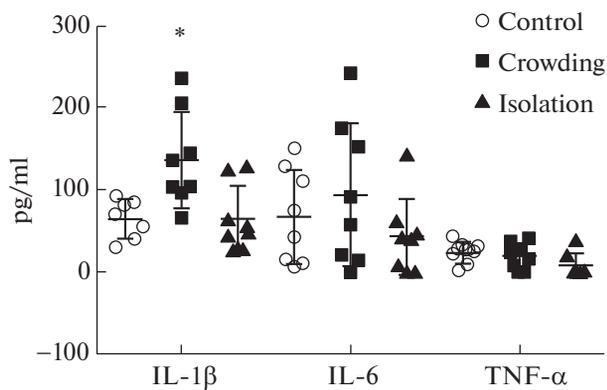
**Fig. 3.** The effects of crowding and isolation on the levels of BDNF and NGF in the blood of rats. M  $\pm$  SEM and individual values for each animal are shown.

A single-factor analysis of variance was performed, followed by a posteriori Tukey test and Bonferroni correction for multiple comparisons.

месячного возраста содержащиеся в условиях изоляции или скученности, при научении их начиная с 3-месячного возраста инструментальному пищеводобывательному поведению, показывают разные результаты, а именно, изолированные учатся дольше, чем крысы из контрольной группы, и крысы, содержащиеся скученно, между которыми, в свою очередь, не выявлено достоверных различий по скорости научения как индивидуальному, так и совместному поведению.

В обзорах исследований стресса, в том числе, социального, связанного с разными условиями содержания животных (Шабанов,

Лебедев, 2007; Sandi, Haller, 2015; Lupien et al., 2009), отмечается, что проявления стресса зависят от стадии развития особи, на которой она подверглась стрессу (в неонатальном, ювенильном или взрослом периоде жизни), что приводит к изменениям активности преимущественно разных гуморальных регуляторных систем и проявляется в виде разных поведенческих паттернов, включающих такие характеристики, как степень агрессивности, уровень социальной мотивации и социальных взаимодействий, а также антисоциальных проявлений. В большинстве исследований с изоляцией и скученностью анализировалась реак-



**Рис. 4.** Влияние скученности и изоляции на уровень IL-1β, IL-6 и TNF-α в крови крыс. Показаны значения среднего и индивидуальные значения для каждого животного. Проведен однофакторный дисперсионный анализ с последующим апостериорным тестом Тукея и коррекцией Bonferroni для множественных сравнений. \*  $p < 0.05$  — отличие от контроля.

**Fig. 4.** The effects of crowding and isolation on the level of IL-1β, IL-6, and TNF-α in the blood of rats.  $M \pm SEM$  and individual values for each animal are shown. \*  $p < 0.05$  — statistically significant differences between groups (one-way ANOVA followed by Tukey test and Bonferroni correction for multiple comparisons).

лизация поведения, а не его формирование (научение). Одним из первых среди немногочисленных исследований связи условий содержания животных с научением было исследование (Goeskner et al., 1973), в котором при научении крыс поведениям разной сложности были получены данные, свидетельствующие о том, что при скученности ухудшается научение сложному поведению (решение проблем в лабиринте), при этом скорость научения более простому поведению (избегание электрошока или торможение избегающего поведения) значимо не отличается от контроля. При изоляции в раннем онтогенезе затрудняется формирование инструментальных навыков (Шабанов, Лебедев, 2007). В доступной нам литературе мы не нашли полученных в рамках одного исследования данных о скорости научения инструментальному поведению крыс, социально депривированных (“изолятов”) или содержащихся в стесненных условиях (“скученных”).

Считается, что длительный социальный стресс вызывает тревожность и депрессию. Botelho и соавт. (Botelho et al., 2007) исследовали поведение в приподнятом крестообразном лабиринте у половозрелых самцов Wistar,

содержавшихся в одинаковых домашних клетках по 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16 или 24 особи. Изменения в поведении были обнаружены только у крыс, содержащихся в одиночку или вдвоем, а также в группах из 16 и 24 особей. Уменьшение числа заходов и времени пребывания в открытых рукавах лабиринта авторы связывают с усилением тревожности у крыс в этих группах. Было установлено, что длительность проживания в таких условиях влияла на величину эффекта. Анксиогенный эффект изоляции и скученности на время пребывания в открытых рукавах лабиринта был показан в ряде работ (Armario et al., 1984; Ferrari et al., 1998; Ruis et al., 1999; Weiss et al., 2004). Однако в других исследованиях (Morrison, Thatcher, 1969; Pellow et al., 1985; Hilakiv et al., 1989), напротив, наблюдалось увеличение времени пребывания в открытых рукавах у крыс из этих групп. Противоречивость данных может быть связана не только с числом животных, содержащихся в клетке, но и их видовой принадлежностью, полом и возрастом, содержанием в обедненной или обогащенной среде, а также типом теста и особенностями его проведения.

В ряде работ было показано, что крысы способны кооперировать для достижения результата (Schuster, 2002), в том числе, в инструментальном поведении (Гаврилов, Арутюнова, 2013; Lopuch, Popik, 2011). В этих исследованиях взрослые самцы крыс Long Evans содержались в индивидуальных клетках, и им требовалось значительно больше времени научиться кооперировать в инструментальном поведении по сравнению с научением этому же поведению в одиночку. Это наше исследование является первым, в котором изучалось влияние социального стресса на научение инструментальному кооперативному поведению. Использованная нами модель кооперативного инструментального пищедобывательного поведения была во многом сходна с описанной в работе Lopuch и Popik (2011). В их исследовании, целью которого было изучение влияния на формирование кооперации таких факторов, как зрительный, обонятельный и слуховой контакт животных, на половозрелых самцах крыс Sprague-Dawley, содержащихся в клетках по 4 особи, было установлено, что крысы могут кооперировать — одновременно засовывать нос в отверстия с поилками, расположенными на одной из стенок клетки, что являлось условием получения ими капли сахарозы.

Следует отметить, что показатель степени кооперации, измеряемый как отношение успешных одновременных актов к общему числу актов, на протяжении всего исследования был сравнительно низок — около 20%, по сравнению с таковым в нашем исследовании — около 50%, которого достигали крысы во всех исследованных нами группах, хотя крысам-изолятам для достижения такого результата требовалось достоверно больше времени, чем крысам из других групп.

В нашем исследовании крысы, которые были подвержены хроническому социальному стрессу изоляции или скученности в течение 2 мес, в дальнейшем ежедневно в течение 30 мин обучали инструментальному пищевому поведению как индивидуально, так и в кооперации с сородичами, находившимися в соседних отсеках клетки. Различные этапы обучения животных осуществлялись в течение 1 мес, причем после окончания каждой экспериментальной сессии крысы возвращали в условия изоляции или скученности. В связи с этим и изолированные животные, и крысы, подверженные стрессу скученности, на протяжении последнего месяца перед выведением из эксперимента были ежедневно на короткий срок извлечены из условий, обеспечивающих стрессорный эффект. Этот факт следует учесть при интерпретации полученных результатов. В первую очередь, это касается отсутствия достоверных изменений показателей ГГКС при изоляционном стрессе. Возможно, с вышеназванными условиями эксперимента связано и то, что ни один из типов хронического социального стресса не оказал статистически значимого влияния на уровень циркулирующих BDNF и NGF, а также IL-6 и TNF- $\alpha$ .

Некоторые авторы считают, что хронический стресс изоляции является более повреждающим, чем стресс скученности, и реактивность ГГКС и провоспалительного ответа на последующий гетеротипический стресс усиливается у животных, перенесших изоляционный стресс (Gądek-Michalska et al., 2019; 2017; Dronjak, Gavrilović, 2005). Среди патофизиологических механизмов, формирующихся в результате социальной изоляции, выявили увеличение чувствительности гипофиза к кортикотропин-рилизинг гормону и нарушение регуляции ГГКС по типу отрицательной обратной связи (Serra et al., 2005). По данным нашего биохимического исследо-

вания из двух типов примененного социального стресса более выраженный эффект на состояние ГГКС и провоспалительный ответ оказал стресс скученности, а не стресс изоляции.

В исследованиях других авторов различный по длительности стресс изоляции оказывал разнонаправленный эффект на активность ГГКС и провоспалительный ответ. Показано, что в результате 11 дней изоляционного стресса в крови крыс не изменился уровень кортикостерона и АКТГ, но существенно возрос уровень IL-1 $\beta$  (Gądek-Michalska et al., 2017). Увеличение протяженности изоляции на срок до 2 мес привело к снижению уровня кортикостерона в крови и к уменьшению реактивности ГГКС на последующий иммобилизационный стресс (Sánchez et al., 1998). После более длительной (13 нед) изоляции также зарегистрированы снижение уровня кортикостерона и повышение уровня АКТГ в крови крыс (Miachon et al., 1993). По нашим данным, совмещение изоляции с обучением животных, в котором задействованы регионы мозга, отвечающие за регуляцию ГГКС, по-видимому, могло компенсировать возможное снижение реактивности ГГКС.

Длительность стресса скученности также по-разному влияла на динамику изменения уровня кортикостерона, АКТГ и IL-1 $\beta$  в крови крыс. Так, уровень кортикостерона и IL-1 $\beta$  повышался только на 3-й день стресса и снижался до контрольного уровня на 7-й и 14-й день стресса, а уровень АКТГ возрос только через 14 дней стрессирования животных (Gądek-Michalska et al., 2017). В более раннем исследовании 7-дневный стресс скученности также не вызвал изменений уровня кортикостерона и АКТГ в крови крыс (Bugański et al., 2002). Применение “жестких” условий скученности, длительность которой была 27 дней, индуцировало увеличение уровня кортикостерона в крови и повышение аккумуляции стресс-гормона в шерсти крыс (Uarquin et al., 2016). Результаты нашего эксперимента свидетельствуют о снижении уровня кортикостерона, повышении уровня IL-1 $\beta$  при отсутствии изменений в уровне IL-6 и TNF- $\alpha$  в крови крыс после хронического стресса скученности, что может указывать на модулирующее действие периферического IL-1 $\beta$  на центральные механизмы регуляции активности ГГКС (Gądek-Michalska et al., 2011). Известно, что провоспалительные ци-

токсины, в том числе и IL-1 $\beta$ , индуцируют провоспалительный ответ в эндотелиальных клетках сосудов, формирующих ГЭБ. Кроме того, провоспалительные цитокины могут напрямую проникать в мозг через циркуляторные органы и стимулировать воспалительный ответ в регионах мозга (McCusker, Kelley, 2013; Quan, Bank, 2007). С другой стороны, катехоламины при стрессе опосредуют повышение периферического и центрального уровня провоспалительных цитокинов (Johnson et al., 2005). Поскольку в условиях острого стресса экспериментально показана активация воспалительных процессов при избытке глюкокортикоидов и активации вегетативной нервной системы (см. обзор Gulyaeva, 2019b), в наших экспериментах достаточно неожиданное на первый взгляд сочетание снижения активности ГГКАС и повышенного IL-1 $\beta$  может свидетельствовать о том, что запущенные в остром периоде и сохраняющиеся при хронизации стресса скученности провоспалительные процессы становятся независимыми от повышенного уровня глюкокортикоидов и сохраняются даже при истощении ГГКАС. Важно также отметить, что провоспалительный тренд прослеживался только на уровне IL-1 $\beta$ , а уровни IL-6 и TNF- $\alpha$  не были повышены. Изменения различных цитокинов в крови описаны при различных формах острого и хронического стресса, но, к сожалению, до сих пор не сформулирована концепция, которая позволила бы установить общие закономерности динамики отдельных цитокинов при действии стрессорных факторов. Результаты, хотя и достаточно многочисленные, в основном, феноменологические, разрозненные, и, по-видимому, зависят от линии, пола и возраста животных, специфических особенностей и периода действия стрессорного фактора, что мешает найти общие закономерности.

Сопоставляя результаты поведенческого и биохимического исследования, можно констатировать, что мы получили весьма неожиданный результат, который, несомненно, требует дальнейшего анализа и более глубокого исследования. Оказалось, что хронический социальный стресс скученности, объективно более тяжелый как по состоянию ГГКАС (функционирование этой системы подавлено в этой группе животных), так и по выраженному усилению воспалительных процессов, не влиял на инструментальное обучение в использованной в данной работе парадигме.

С другой стороны, хроническая изоляция на фоне адаптированной к этому стрессорному воздействию ГГКАС и отсутствию провоспалительного тренда, достоверно ухудшала обучение. Эти данные добавляют новые факты в большой пул работ о неоднозначном влиянии стрессорных факторов на процессы обучения. Интерпретация этих данных, в частности, может включать и ранее приведенные нами теоретические и эмпирические аргументы в пользу того, что стрессорный компонент, обуславливая обратимую блокаду части наиболее “сложного” имеющегося у индивида опыта, может при определенной выраженности стресса увеличивать скорость и эффективность обучения, упрощать его в новой для индивида ситуации (Александров и др., 2017).

Как и в случае неоднозначных соотношений между функционированием ГГКАС и уровнями цитокинов при стрессе, необходимость учесть разнообразные формы стресса (вызванного стрессорными факторами различной модальности, силы и длительности) и различные формы обучения оказалась существенным препятствием для формулировки общей концепции влияния стрессорных факторов на обучение, которая так и не была сформулирована до настоящего времени. Тем не менее работы по исследованию влияния на когнитивную функцию социально значимых форм стресса несомненно необходимы не только для установления фундаментальных закономерностей, но и для трансляции полученных результатов в медицину и социальную сферу.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе впервые проведено параллельное исследование хронического стресса изоляции и скученности у крыс на скорость научения совершать одно и то же инструментальное пищедобывательное поведение в одиночку и кооперируя с конспецификом и сопоставлено с активностью ГГКАС и уровнем цитокинов в крови у этих животных. Изоляционный стресс в отличие от скученности вызывал снижение эффективности научения – формирования нового опыта, как в индивидуальном, так и в кооперативном поведении без активации ГГКАС у стрессированных животных в обеих группах. В условиях скученности достоверно снижался уровень кортикостерона и возрастал уро-

вень провоспалительного цитокина ИЛ-1β. Полученные результаты указывают на различие механизмов действия хронического стресса изоляции и скученности как на уровне стресс-реализующих систем организма, так и на уровне их влияния на интегративную функцию мозга.

Исследование поддержано грантами РФФИ 18-00-00125 КОМФИ, 18-00-00245 КОМФИ, 18-00-00246 (К).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Александров Ю.И., Сварник О.Е., Знаменская И.И., Колбенева М.Г., Арутюнова К.Р., Крылов А.К., Булава А.И.* Стресс, болезнь и научение как условия регрессии. Вопросы психологии. 2017. № 4. С. 87–101.
- Гаврилов В.В., Арутюнова К. Р.* Формирование индивидуального опыта в модели кооперативного поведения у крыс. Эволюционная и сравнительная психология в России: традиции и перспективы. М.: Изд-во Институт психологии РАН, 2013. с. 106–112.
- Шабанов П.Д., Лебедев А.А.* Зоосоциальное поведение крыс. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2007. 5 (31): 2–77.
- Anacker A.M., Ryabinin A.E.* Biological contribution to social influences on alcohol drinking: evidence from animal models. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2010.7 (2): 473–493.
- Armario A., Castelhanos J.M., Balasch J.* Effect of crowding on emotional reactivity in male rats. Neuroendocrinology, 1984. 39: 330–333.
- Botelho S., Estanislau C., Morato S.* Effects of under- and overcrowding on exploratory behavior in the elevated plus-maze. Behavioural Processes, 2007. V. 74. P. 357–362.  
<https://doi.org/10.1016/j.beproc.2006.12.006>
- Bugajski J.* Social stress adapts signaling pathways involved in stimulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. J. Physiol. Pharmacol., 1999. 50 (3): 367–379.
- Bugajski J., Gadek-Michalska A., Bugajski A.J.* Effect of constitutive- and inducible-cyclooxygenase in the carbachol-induced pituitary-adrenocortical response during social stress. J Physiol Pharmacol. 2002 Sep. 53 (3): 453–462.
- Dronjak S., Gavrilović L.* Activity of pituitary–adrenal axis in rats chronically exposed to different stressors, Acta Vet. 55 (2005): 121–129.
- Ferrari P.F., Palanza P., Parmagiani S., Rodgers R.J.* Interindividual variability in Swiss male mice: relationship between social factors, aggression, and anxiety. Physiol. Behav., 1998. 5: 821–827.
- Gądek-Michalska A., Tadeusz J., Bugajski A., Bugajski J.* Chronic Isolation Stress Affects Subsequent Crowding Stress-Induced Brain Nitric Oxide Synthase (NOS) Isoforms and Hypothalamic-Pituitary-Adrenal (HPA) Axis Responses Neurotoxicity Research, 2019. 36: 523–539.
- Gądek-Michalska A., Bugajski J., Tadeusz J., Rachwalska P., Bugajski J.* Chronic social isolation in adaptation of HPA axis to heterotypic stress. Pharmacol Rep. 2017 Dec. 69 (6): 1213–1223.
- Gądek-Michalska A., Tadeusz J., Rachwalska P., Spyrcak J., Bugajski J.* Effect of prior stress on interleukin-1β and HPA axis responses to acute stress. Pharmacol Rep. 2011. 63 (6): 1393–1403.
- Goeckner D.J., Greenough W.T., Mead W.R.* Deficits in learning tasks following chronic overcrowding in rats. J. Personality and Social Psychol., 1973. 28 (2): 256–261.
- Gulyaeva N.V.* Molecular Mechanisms of Neuroplasticity: An Expanding Universe. Biochemistry (Moscow). 2017. 82 (3): 237–242.  
<https://doi.org/10.1134/S0006297917030014>
- Gulyaeva N.V.* Functional Neurochemistry of the Ventral and Dorsal Hippocampus: Stress, Depression, Dementia and Remote Hippocampal Damage. Neurochem Res. 2019a; 44 (6):1306–1322.  
<https://doi.org/10.1007/s11064-018-2662-0>
- Gulyaeva N.V.* Biochemical Mechanisms and Translational Relevance of Hippocampal Vulnerability to Distant Focal Brain Injury: The Price of Stress Response. Biochemistry (Mosc). 2019b. 84 (11): 1306–1328.
- Hilakiv L.A., Ota M., Lister R.G.* Effect of isolation on brain monoamines and the behavior of mice in tests of exploration, locomotion, anxiety and behavior ‘despair’. Pharmacol. Biochem. Behav., 1989. 33: 371–374.
- Johnson J.D., Campisi J., Sharkey C., Kennedy S.L., Nickerson M., Greenwood B., Fleshner M.* Catecholamines mediate stress-induced increases in peripheral and central inflammatory cytokines. Neuroscience 2005. 135: 1295–1307.
- Lopuch S., Popik P.* Cooperative Behavior of Laboratory Rats (*Rattus norvegicus*) in an Instrumental Task. Journal of Comparative Psychology, 2011. 125 (2). P. 250–253.
- Lupien S.J., McEwen B.S., Gunnar M.R., Heim C.* Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. Nature Rev. Neurosci., 2009. 10: 434–445.  
<https://doi.org/10.1038/nrn2639>
- McCusker R.H., Kelley K.W.* Immune-neural connections: how the immune system’s response to infectious agents influences behavior. J Exp Biol 2013. 216: 84–98.
- Miachon S., Rochet T., Mathian B., Barbagli B., Clausurat B.* Long-term isolation of Wistar rats alters

- brain monoamine turnover, blood corticosterone, and ACTH. *Brain Res Bull.* 1993. 32 (6): 611–614.
- Morrison B.J., Thatcher K. Overpopulation effect on social reduction of emotionality in the albino rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1969. 69, 658–662.
- Pellow S., Chopin P., File S.E., Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Meth.*, 1985. 14: 149–167.
- Quan N., Banks W.A. Brain-immune communication pathways. *Brain Behav Immun.* 2007. 21: 727–735.
- Ruis M.A., te Brake J.H., Buwalda B., De Boer S.F., Meerlo P., Korte S.M., Blokhuis H.J., Koolhaas J.M. Housing familiar male wildtype rats together reduces the long-term adverse behavioural and physiological effects of social defeat. *Psychoneuroendocrinology*, 1999. 24: 285–300.
- Sánchez M.M., Aguado F., Sánchez-Toscano F., Saphier D. Neuroendocrine and immunocytochemical demonstrations of decreased hypothalamo-pituitary-adrenal axis responsiveness to restraint stress after long-term social isolation. *Endocrinology*. 1998 Feb. 139 (2): 579–587.
- Sandi C., Haller J. Stress and the social brain: behavioural effects and neurobiological mechanisms. *Nature Reviews Neuroscience*, 2015, 16 (5): 290–304.  
<https://doi.org/10.1038/nrn3918>
- Schuster R. Cooperative coordination as a social behavior. *Human Nature*, 2002. 13: 47–83.  
<https://doi.org/10.1007/s12110-002-1014-5>
- Serra M., Pisu M.G., Floris I., Biggio G. Social isolation-induced changes in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. *Stress*. 2005. 8 (4): 259–264.
- Uarquin D.G., Meyer J.S., Cardenas F.P., Rojas M.J. Effect of Overcrowding on Hair Corticosterone Concentrations in Juvenile Male Wistar Rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2016 Nov. 55 (6): 749–755.
- Weiss I.C., Pryce C.R., Jongen-Relo A.L., Nanz-Bahr N.I., Feldon J. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behav. Brain Res.*, 2004. 152: 279–295.

## CHRONIC SOCIAL STRESSES OF ISOLATION AND CROWDING DIFFERENTLY AFFECT INSTRUMENTAL BEHAVIOR LEARNING AND THE HYPOTHALAMIC-PITUITARY-ADRENOCORTICAL SYSTEM IN RATS

V. V. Gavrilov<sup>a,§</sup>, M. V. Onufriev<sup>b,§</sup>, Yu. V. Moiseeva<sup>b</sup>, Yu. I. Alexandrov<sup>a,§§</sup>, and N. V. Gulyaeva<sup>b, #, §§</sup>

<sup>a</sup> *Institute of Psychology of the Russian Academy of Sciences (V. B. Shvyrkov Laboratory of Psychophysiology), Moscow, Russia*

<sup>b</sup> *Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Sciences  
(Laboratory of Functional Biochemistry of the Nervous System), Moscow, Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: nata\_gul@ihna.ru*

Social stress is a widespread problem in the modern world; it is diverse and is determined by the specific features of the living conditions of both humans and animals. The chronic conditions vigorously and effectively modeled on adult rodents are isolation stress and crowding stress. The aim of this work was to study the effect of these types of social stress in rats on the rapidity of learning to perform the same instrumental food-obtaining behavior alone and in cooperation with a conspecific. Corticosterone and ACTH levels were determined in the blood of animals to assess the state of the stress-implementing hypothalamic-pituitary-adrenocortical system (HPACS), as well as neurotrophins and proinflammatory cytokines. Isolation stress, in contrast to crowding, caused a decrease in the effectiveness of learning (the formation of new experiences), both in individual and cooperative behavior. At the same time, there was no increase in the functioning of HPACS in stressed animals of both groups. Moreover, the level of corticosterone significantly decreased and the level of the pro-inflammatory cytokine IL-1beta increased in animals under crowded conditions. The results suggest that the mechanisms of action of chronic isolation and crowding stress are different both at the level of stress-implementing systems of the body, and at the level of their influence on the integrative function of the brain.

**Keywords:** learning, instrumental behavior, social stress, isolation, crowding, hypothalamic-pituitary-adrenocortical system, cortisol, cytokines

§, §§ – the authors equally contributed to the study.

# – author for correspondence.

---

---

**ИСТОРИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ  
ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ**

---

---

УДК 612.821.6

**“ЛЕЗВИЕ” ВРЕМЕНИ В НЕОПУБЛИКОВАННОЙ РУКОПИСИ  
Н. А. БЕРНШТЕЙНА**

© 2021 г. В. Л. Талис<sup>1,\*</sup>, М. Л. Латаш<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *The Pennsylvania State University, USA*

\*e-mail: talis@iitp.ru

Поступила в редакцию 01.12.2020 г.

После доработки 22.12.2020 г.

Принята к публикации 22.12.2020 г.

Представляется новая неизвестная ранее рукопись Николая Александровича Бернштейна, написанная в августе–сентябре 1949 г. В ней ученый размышляет о природе времени, как четвертой координаты, и его принципиальном отличии от пространственных координат, рассматривает особенности передачи времени в русском языке, дает определение жизни и анализирует субъективность человеческого восприятия.

*Ключевые слова:* Н.А. Бернштейн, история науки, отображение, реакция, лингвистика

**DOI:** 10.31857/S0044467721050105

Николай Александрович Бернштейн (1896–1966) – выдающийся ученый, основоположник физиологии активности, оказавший влияние не только на развитие физиологии движения, нейрофизиологии и психологии во всем мире, но и на развитие биологии в целом. Его экспериментальные данные по физиологии труда, спортивной физиологии, нейрореабилитации и сегодня не утратили актуальности, а теоретические представления, разработанные на протяжении всей его жизни, еще до конца не освоены современной наукой. В последнее время интерес к Н.А. Бернштейну непрерывно растет, о чем свидетельствуют, например, переводы только в 2020 году на английский язык сразу двух его книг “Биомеханика для инструкторов” (1925) (Whyman, 2020) и “О построении движений” (1947) (Latash, 2020). С 2017 года в Институте проблем передачи информации РАН в Москве постоянно действует семинар, созданный для изучения научного наследия Н.А. Бернштейна. Силами этого семинара осенью 2019 года в МГУ состоялось заседание секции, посвященное Н.А. Бернштейну, в рамках международной конференции “Психическое здоровье человека и общества. Актуальные междисциплинарные проблемы”.

Настоящая публикация – еще один шаг на пути открытия наследия ученого, судьба которого на родине сложилась трагически: Н.А. Бернштейн сразу после присуждения ему в 1948 году Сталинской премии за его главную книгу “О построении движений” начал последовательно изгоняться из всех мест своей экспериментальной деятельности. Представляемая рукопись относится к концу августа 1949 года – времени широкого наступления на ученого, травли “зависти, полного непонимания”, которая производила “впечатление, как если где-нибудь врача, который лечил холерных больных во время эпидемии, темные крестьяне обличали в том, что он их заражает” (Талис, 2019). Весной 1949 г. в Институте Физкультуры, где работал тогда ученый, было выпущено “Заключение по письму профессора Н.А. Бернштейна от 7 марта 1949 года на имя товарища И.В. Сталина”, в котором его коллеги отчитывались о редакционной статье в газете “Советский спорт” от марта 1949 года, озаглавленной “До конца разоблачить космополитов и их подлолков” (Донской, 1949).

Представляемая рукопись, по-видимому, является конспектом задуманной, но неопубликованной монографии. В ней Бернштейн совершенно неожиданно для нас дискуссии-

рует с Кантом о “чуде”, говорит о “не-всесильности” Бога, дает определение жизни и логически выводит из него схему естественного отбора, дает определение времени и связи прошедшего с будущим через “лезвие” настоящего, “усовершенствует” в этой связи временные прилагательные русского языка, давая волю своей лингвистической страсти человека, знавшего 11 языков и исходно поступившего на филфак МГУ (в дальнейшем Бернштейн перевелся на медфак из желания участвовать в разгоревшейся в тот год Первой Мировой войне). Есть здесь и размышления Николая Александровича о неопределенности экспериментов, главного призвания ученого, ставить которые ему в 1949 году уже остается только несколько лет. В размышлениях Бернштейна о логике и бессмысленности некоторых дискуссий слышатся отголоски безнадежных дискуссий ученого с агрессивными оппонентами того времени.

Главный вопрос, который волновал Бернштейна в то время, это природа времени, как четвертой координаты, и его принципиальное отличие от пространственных координат. Почему мы можем легко передвигаться в пространстве во всех направлениях, а во времени даже мысленное путешествие в прошлое ведет к абсурдной путанице? Почему начало пространственных координат мало чем отличается от всех прочих точек, а прошлое и будущее, разделенные “лезвием настоящего”, качественно различны? Мы знаем многое или даже почти все о прошлом, но не в состоянии его изменить (даже Бог не может!), в то время как будущее нам почти не известно, но наши поступки его изменяют.

Сегодня, когда книги, популяризирующие науку, пользуются все большим спросом, самое время читать книги Николая Александровича Бернштейна, написанные для широкой аудитории, такие как “Биомеханика для инструкторов” (Бернштейн, 1926) и “О ловкости и ее развитии” (Бернштейн, 1991). Читая Бернштейна, видишь, что ученый, не заигрывая с читателем, все же с высоты своей гениальности иногда говорит с ним языком взрослого, обращающегося к ребенку (см. в статье рассуждения об Андромеде), а разворачивая перед читателем завораживающую линию своих прекрасных длинных мыслей, неожиданно приводит его к принципиальной ограниченности человеческой мысли!

Рукопись в желтой папке с обложкой “Полевая тетрадь офицера”, подписанная сверху

“Н.А. Бернштейн” печатными буквами (не рукой Бернштейна) (Рис. 1) ждала своей публикации более 50 лет. Она была бережно хранима учеником Николая Александровича, профессором факультета психологии МГУ, одним из основателей детской психологии В.В. Лебединским, человеком кристальной порядочности и преданности Бернштейну. После смерти Виктора Васильевича в 2008 году рукопись перешла его ученице, Леоноре Сергеевне Печниковой, ныне доценту кафедры нейро- и патопсихологии факультета психологии МГУ, которая и передала ее нам. В публикации сохранены выделения слов подчеркиванием, также курсивом выделены “определения”, сделанные Бернштейном, авторская пунктуация также сохранена.

Н.А. Бернштейн

“W-координата” времени и “I-координата” пространства.

“Я вижу мое представление”.

Изображение на сетчатке.

Определения времени. Рубежное лезвие “настоящего”. Naturфилософия двух знаков времени.

20.VIII.49

1. О точных определениях а) значения и б) содержания терминов. Положение о взаимно-условных терминах при споре.

2. Члены суждения как термины. Определение синтаксических связей и основных глаголов. Термины: “я” (аз), бытие, существование, предмет, материя, “внешний” мир и пр.

3. Два вида суждений: 1) объективные (предметные) и субъективные

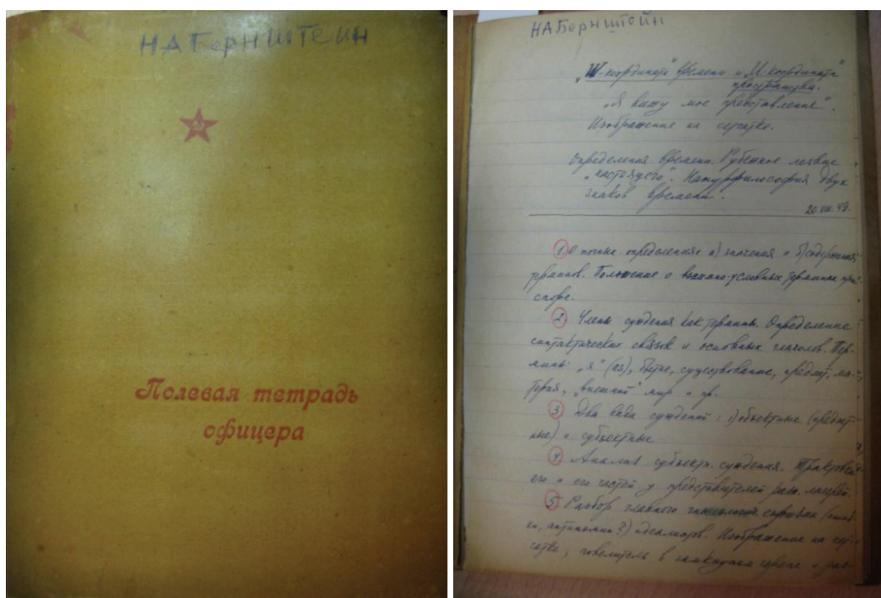
4. Анализ субъектного суждения. Трактровка его и его частей у представителей разных лагерей.

5. Разбор главного гносеологического софизма (ошибки, антиномии?) идеалистов. Изображение на сетчатке; повелитель в замкнутом черепе и разведчики, доступные проверке только посредством перекрестного допроса их же (“Мы видим и слышим не мир, а видим только разведчиков и (мы) слышим их”).

6. Эволюционный обзор восприятия, мышления и речи.

7. Задачи научной теории: а) предсказывающий закон и б) объяснения, т.е. описания + сведение к известному и более общему.

8. Роль и задачи гипотезы.



**Рис. 1.** Обложка, на которой имя Бернштейна подписано рукой неизвестного, и первая страница рукописи с образцом почерка Николая Александровича Бернштейна.

**Fig. 1.** The cover, with Bernstein's name written by another person and the first page from the manuscript, showing Bernstein's handwriting.

9. “Принцип экономии” и их критика. Принцип “равной простоты” и его эвристическое значение.

10. Отвод главного онтологического доказательства идеалистов.

#### 16. VIII.49

1. В логике, в отличие от прочих естественных наук, определения требуют не только термины (существительные и глаголы), применяемые в речи, но и самый синтаксис суждений — их формы, служебные элементы и т.д. Логика есть учение о речевом мышлении как орудии познания, и техника вооружения и применения речи для этой цели.

2. Не простая, но нужная задача — приспособление этимологии. Склоняемость русских имен и местоимений выгодна; поэтому следует найти способ сделать склоняемыми: личные местоимения (“я”), наречия (вчера, завтра, здесь, там и т.п.). Может понадобиться рационализация и расширение образования отглагольных существительных (то, что легко по-английски и по-немецки). Ряд суффиксов следует для обобщения строго определить, другие — ввести в употребление или расширить последние, например суффикс “абильный”: визибельный — не то, что видимый, существовабельный, неглижабельный; мыслимый, мысленный, мысливающийся, и

т.п. Полагаться на произвол трактовки читающего — нельзя; все равно что определять, например, эллипс, как яйцевидную кривую.

3. Анализ маятника. Теорема Галилея, таутохронный маятник Гюйгенса и действительные требования к маятнику. Разбор понятий: измерение времени, сравнение интервалов, “скорость” времени;  $dt$  в знаменателе и в числителе, детерминизм и время.

#### 22.VIII.49

##### Темы к записи:

I — Время в космосе Минковского, пленка и кино-проектор, и происхождение (неизбежного)  $dt/dw$ .

II — Определение существования применительно к прошедшему и будущему. Независимость. Прошедшее, “еле-прошедшее” и восприятие; эффекторика, будущее и зависимость.

Демонстрация независимого существования у классиков диалектики — через практику; она же доказывает зависимость. Диалектическое единство.

#### 24. VIII.49

I Исходное определение существующего: а) бытие в 4х координатах  $x, y, z, t (=it)$ , б) независимость от (воспринимающего, мыслящего, судящего) субъекта.

Далее это определение уточняется в зависимости от трактовки времени: последнее можно рассматривать либо 1) как одну из координат стационарного, целиком сосуществующего комплекса — космоса  $x, y, z, it$  Минковского, либо 2) как переменную, в которой оба знака (прошедшее и будущее) принципиально резко различны.

При второй трактовке  $t$ : определение существующего полностью справедливо применительно к прошедшему, характеристики которого суть:

а) однозначная определенность и б) всесторонняя независимость от субъекта. Таким образом признаки существующего в прошедшем целиком 1) бытие в системе  $x, y, z, t$  и 2) независимость.

Воспринимаемое, даже обычно мыслящееся как истинное настоящее, фактически неизменно есть уже прошедшее (“эле-прошедшее”): известное время уходит уже на психофизиологические процессы в рецепторах, центральные процессы узнавания — осмысления и т.п. В результате этих милли- и центисекунд фактически то, что воспринято, — то уже прошедшее, а не настоящее (пуля, свист которой услышан, уже не убила). Восприятие запаздывает против факта на достаточный срок, чтобы последний успел облечься во все атрибуты прошедшего: улечься в однозначные координаты и стать полностью независимым (“слово не воробей”, “что написано пером” и т.п.).

Наоборот, действия, эффекторика тем же порядком относятся к будущему (“эле”- или микро-будущему). Психофизиологически — это длительности от побуждения до импульса, от последнего через все психомоторные этапы — до реализации нацеленного эффекта в окружающем мире. Таким образом, когда возникло побуждение к действию, даже в момент отсылки корою эффекторного импульса — эффект действия еще в полном будущем.

В связи с этим, определение существующего применительно к будущему исключает пункт независимости, наоборот, заменяет его зависимостью от субъекта, в потенции или в пределе — полной. В разрезе будущего (и микро- и макро-) для первобытного человека мир был почти независим, для современного коллектива — зависим очень во многом, для будущего общества — перспективы безграничны.

Классики диалектики адресовались к человеческой практике, как к наиболее сильному аргументу за “объективное”, т.е. независимое, существование предметного мира. По вышесказанному, эта-же практика утверждает его возрастающую зависимость. Это — не логическая неувязка, не софизм и не результат разного смысла, придаваемого терминам (ошибки омонимии), а чистый случай диалектического, динамического единства противоположностей: суть перехода (“перевала”) от будущего через лезвие настоящего к прошедшему — в преодолении независимого, делании его зависимым в потенции и в действии, и опускании его в прошедшее (где оно застывает в независимую форму) в том виде, в каком это нам хотелось.

II. Не предрешая допустимости первой трактовки времени, как стационарного космоса  $x, y, z, it$ , укажем следующее:

Все равно, есть ли наше движение по координате  $t$  нечто целиком субъективное, или имеет гораздо более широкую и общую физическую природу, — обязательно это движение предполагает и требует координаты W. Действительно, координата  $t$  (или  $it$ ) в космосе сосуществует, как целое, с тремя пространственными, и характеристика движения по ней требует постановки ее в числитель дифференциального отношения; следовательно, знаменателем является иная переменная, которой мы и приписали символ W, не предрешая ее природы.

Очень ясная иллюстрация для этого положения и обязательности при нем функции  $dt/dw$  — в таком примере. С точки зрения данной трактовки космоса все бытие подобно кинофильму, заложенному в проектор. Кадры, находящиеся уже в приемной, нижней катушке проектора, ничем качественным (со стороны их содержания) не отличаются от таковых, находящихся еще в верхней. Принципиально различны катушки, а не кадры, — хотя бы потому, что каждому, находящемуся наверху, обязательно суждено попасть и вниз, а нижние все были и наверху, не испытывав при проекционной перемотке никаких перемен, кроме перемены положения. Таким образом, на пленке записаны и содержатся — стационарно — и координаты пространства (по крайней мере две из 3-х), и координата  $t$ . Реальное существование есть пропускание фильма через проектор; мотор последнего выражает своим движением переменную  $w$  и производную  $dt/dw$ . Мы можем пускать его

быстрее или медленнее (изменения  $dt/dw$ ), ни в чем не влияя на пленку и ее содержание. Временная (любой длительности  $ad\ inf.$ ) остановка мотора — аналогична субъективной стороне сна без сновидений или смерти.

III — к разбору: а) о единстве личности, мепсихозе, его координатах и т.п.

б) о синхронизме лезвия; о свободе воли и фатализме; о детерминизме и понятии причинности.

#### 24.VIII.49

1) Никому не придет в голову быть “адептом” учения о том, что куб гипотенузы равен сумме кубов катетов. Задача в том, чтобы с такою же строгостью, как в математике, а) доказать неправильность положений идеализма и б) поставить дело так, чтобы, как в математике же, каждый мог для себя вывести все теоремы истинной теории познания. Вся убедительность не-опытного математического знания — в возможности бесспорного вывода ее положений и результатов каждым.

#### 24.VIII.49

##### К разбору:

1) Два вида статистических вероятностей: а) вероятности, закономерно (и количественно-изобразимо) растущие и стремящиеся к 1 с возрастанием числа объектов: кинетическая теория, радиоактивность и т.п., и б) не проявляющие такого роста и, тем более закономерности — например метеорологические или медицинские прогнозы, наследственность и т.п., — собственно, вся область биологии. [К анализу *будущего времени*] (Пометка на полях “Приложимость закона Бернулли”, Талис, Латаш).

2) Бесконечна ли точность дробимости в эфире, или скачкообразна, или статистична?

а) тяготение: атом на солнце × атом на Плуто-не; линии сил и искривление пространства.

б) световые фронты через точку эфира. Какова функция изменений ее во времени и может ли она существовать?

3) Историческая эволюция содержаний понятий:

а) Бог-дух (духовные атомы etc., нематериальная материя)

б) Законы природы и ресурсы их нарушения; содержание понятия “чуда”.

#### 25.VIII.49

##### К разбору замера интервалов времени:

1. Единственный реальный способ такого измерения — констатирование синхронности

начального и конечного моментов интервала с показаниями *часов*, не прерывающих своего хода от начала до конца измеряемого интервала.

[Примечание: под *часами* понимается всякий облеченный нашим доверием эталон, в котором следуют друг за другом равнодлительные процессы, — например маятник, точное вращение земли и т.п.].

2. Констатация синхронности возможна безусловно только в настоящем, т.е. в пределах длительности психофизиологической реакции или реакции прибора. Интервалы времени в прошедшем, не зарегистрированные синхронными отметками своевременно, — безусловно неопределимы. [Об определении порядка последовательности событий в прошедшем см. ниже].

3. Констатация синхронности (короче: *засекание t*) живым субъектом-наблюдателем есть психофизиологическая реакция типа дуги, именно:

1-я полудуга — восприятие засекаемого события;

2-я полудуга — реакция на него пуском в ход секундомера или осмысляющим восприятием показания стрелок идущих часов и т.п. В последнем случае впечатление от циферблата со стрелкой может быть и непрерывным, но осмысление показания в данное мгновение и его перевод в цифровое выражение производится в порядке активной реакции на восприятие наступившего события.

4. Для засечки  $t$  живой субъект-наблюдатель не необходим; заменяя его прибором-автоматом, мы убеждаемся, что существенными моментами засечки являются только а) восприятие события и б) возможно-близкая к синхронности реакция на восприятие, дающая проекцию засекаемого мгновения на идущие часы. Например, пуск в ход секундомера (в момент восприятия конца явления — его остановка); или черты, наносимые на ленту, движущуюся равномерно, с точно-известной скоростью, и т.п. Таким образом и синхронность, и продолжительность интервала — категории, не нуждающиеся в субъекте (“объективные”).

Если на одной и той же ленте отмечаются автоматически а) черты — синхронные реакции автомата на события и б) изохронные отметки от часов, то замер интервала между двумя чертами можно осмыслить двояко:

1) Время ( $t$ ) подменяется пространственным движением ленты, зависимость которого от времени характеризуется функцией  $dx/dt$ . Отметки, наносимые на ленту идущими часами — это как раз способ автоматической регистрации протекания функции  $dx/dt$  для расшифровки значения перемещаемой ленты.

2) Если отметки времени от часов достаточно мелки или хорошо интерполируемы, так что можно наверняка найти в их числе синхронные отметки с чертами, нанесенными автоматом, то можно рассматривать ленту просто как графический протокол, на котором запечатлены непосредственные сопоставления между собой засечек с автомата и синхронных (совпавших) с ними отметок с часов.

Смысл процесса измерения интервалов от всего этого не меняется, и обязательно состоит в выполнении пунктов 1 и 2. Часто встречающаяся засечка временной координаты одного события есть, в замаскированном виде, точно также замер временного интервала двух событий (— данного наблюдаемого и наблюдаемого раньше, используемого условно в качестве начала координат по времени, например 0 часов 0 минут 1-го дня христианской эры). Необходимое условие для ценности такого quasi-одиночного замера мгновения времени — непрерывавшийся ход одних и тех же часов от начальной до конечной засечки. (Разумеется понятие “одних и тех же часов” допускает преемственную смену частных механизмов, взаимно-сверенных; но сомнительно, чтобы такая смена заслужила бы к себе доверие, не будь налицо реально-бессменных эталонных часов суточного вращения земли).

Заслуживает разбора: хотя время по всем данным абсолютно, в отличие от пространства; хотя его интервалы не перемещаемы и не допускают наложения друг на друга и т.п.<sup>1</sup>; хотя ход времени един для всех наблюдателей и, видимо, для всей вселенной, — все же, несмотря на это, засечка одной координаты времени (не интервала с началом и концом) не имеет никакого смысла.

25.VIII.49

#### На заметку:

1) Движение — (та или иная форма) функциональной связи пространства с временем.

<sup>1</sup> Здесь в рукописи со слова “хотя его интервалы” идет волнистая черта слева по полям (Талис, Латаш).

2) Нужна классификация бессмыслиц (например скрытые  $id. per id., dt/dt$ , омо- и синонимы и т.п.). Пример галиматьи по синонимам: вещь в настоящем — существует; она же в прошедшем? А утверждает, что не существует (более); В считает, что существует в прошедшем, С — что не существует, но существовала, Д — что ее существование — в прошедшем и т.д. Все спорят, хотя все говорят одно и то же (в пределах дурной определенности используемых терминов).

3) До сих пор философы добивались лишь распознавания “здоровых” мыслей от “больных”; больных (с их точки зрения) старались убедить том, что они больны и устранить затем с Поля действия. Сейчас своевременно создать клинику для “больных” мыслей — галиматическую, и обратиться к разработке “софо-патологии”, в такой же мере отбросив брезгливость, как патолого-анатомы. Нужно познать ошибки, чтобы преодолеть их, задача в том, чтобы сделать их невозможными — как оспу.

4) Задача: как, не прибегая к субъективным данным, пользуясь только объективными материалами, определить, в чем разница между тем, что было уже, и тем, чего (еще) не было?

5) Вопрос а) о бесконечной делимости мировых континуумов и б) о пределах точности этой дробимости. Малые отклонения причин ведут к большим отклонениям результатов (сравн. дивергирующие ряды); это выдвигает проблему точности возможных предсказаний: микро-отклонения, учет которых необходим для прогностики, близко-аналогичны тем, которые возникают, например, в проблеме ((атом  $\times$  атом)/св. год<sup>2</sup>). Будущее детерминировано в прошедшем вполне аналогично к предсуществованию всех грядущих поколений в семени Адама.

6) Если восходить от следствий к причинам во всевозможных случаях типа удара шаров или последовательных отражений луча в шарах, последовательных соударений молекул газа и т.п., — то это сходно с движением по быстро-сходящемуся математическому ряду по направлению от начала в направлении конца. Но ведь не все такие ряды продолжаемы в обе стороны (геометрическую прогрессию — можно, ряд для  $e^x$  — нельзя); поэтому что-же получается, если явление характеризуется рядом такого типа, а мы будем проследивать его в нормальном порядке, —

от причин к следствиям? (Это напоминает восторг человека, только что окончившего перечислять все десятые знаки  $\pi$  – в обратном порядке).

7) Случится фактически обязательно что-нибудь одно, а не два (см. замечание об этом тюремщика из “Рассказа о 7 повешенных” Л. Андреева), – т.к. *случаться* значит становиться из будущего – прошедшим, которое обязательно однозначно. Все будущее обязательно, в соответствии с значением его временной координаты (т.е. “в свое время”), стать прошедшим, с его необходимой однозначностью. Но пока оно еще не случилось, т.е. пока оно – будущее, нечто может случиться, а может и не случиться; более того: это во многих случаях от нас зависит. Нужно выяснить, в чем суть, т.к. это безусловно не субъективно, а между тем в этом – весь вопрос о свободе воли, фатализме и пр.

Примечание: очень мешает недостаток в нашем языке глагольного времени, которое выражало бы предстоящее в прошедшем. “Я был на даче и мне предстояло уехать.” “Поезд должен был отправиться.” “Я брился, после чего имел идти домой”, и т.п. В отличие от *plusquamperfectum*, (которого тоже по русски нет), в искомой форме текущим, переживаемым временем (хотя и в прошедшем) является обычное прошедшее время глагола: я брился, поезд еще стоял и т.д., по отношению к которому искомое время – будущее. В случае *plusquamperfectum* – наоборот: им выражается нечто предшествовавшее главному действию, выражаемому прошедшим: “когда я пришел, его уже не было (*il était allé*)”.

8) Собаки несомненно видят сны, но не в состоянии рассказать их кому бы то ни было. Электро-энцефалография будущего сможет констатировать их факт, записать являющиеся их подкладкой физиологические процессы и т.п., но сновидения не воспроизведет. Объективна ли такая вещь, как собачий сон? Что это за категория?

9) (Вкратце – параграф из “Машины времени”): Изобретателю машины, Смигу, пришло на мысль проехаться на ней ровно на одну неделю назад. Что вышло?

“Смит<sub>1</sub> сидел в кресле, додумывая последние детали изобретаемой, но еще не готовой машины. Вдруг дверь отворяется, и входит его двойник, Смит<sub>0</sub>. Он говорит изумленному сидящему, Смигу<sub>1</sub>:

“Я закончил машину, побывал уже в будущем и вздумал съездить на неделю назад. Ровно неделю назад я, С<sub>0</sub>, сидел здесь в кресле, где сейчас сидите вы, и думал над изобретением. Вдруг ко мне вошел двойник, С<sub>-1</sub>, сказал мне то самое, что я вам говорю сейчас, и уведомил, что только что закончил машину, ровно неделю спустя после того, как ему был нанесен визит его двойником, С<sub>-2</sub>; и т.д.”

С<sub>1</sub> выслушал сказанное, не стал задумываться о заключающемся во всех происходящих событиях фатализме, проводил двойника С<sub>0</sub> обратно в машину времени (и хорошо сделал, а то – еще путаннее) и стал кончать изобретение. Неделю спустя, закончив его и съездивши на нем в будущее он (*-volens-nolens*) сел на машину, проехал на ровно неделю назад и вошел к сидевшему в кресле двойнику С<sub>2</sub>, изумленно воззвизавшему на него. С<sub>1</sub> рассказал сидящему всю историю про белого бычка и предупредил, что он, С<sub>2</sub>, через неделю будет объяснять все то-же недоумевающему С<sub>3</sub>, и т.д.”

Так получилась двойная анфилада отражений двойников, бесконечная в стороны как отрицательных, так и положительных индексов, т.е. не имеющая существенно-нулевого индекса, отличного от прочих. Кто-же из Смитов, и когда-же, возымел эту идею поехать на неделю назад? И сколько всех Смитов?

27.VIII.49

#### Заметки:

1) Разнообразие значений термина “не существовать”: не существует мегатерий, птичье молоко, нарушение закона сохранения энергии, квадратный треугольник, зузь.

2) Два разных смысла слова “определенный”:

а) объективный смысл (-тот, а не другой, соответствующий сам себе, имеющий однозначное бытие и т.д.), и б) субъективный (подвергшийся определению фактически, или мыслящийся как предмет подвергшийся определению). Определить, подвергнуть определению – значит а) создать отображение предмета в мышлении и б) измерить его, т.е. сопоставить это отображение с теми или иными качествами или количественными эталонами. Применим для объективного смысла рабочий синоним “дефинитный”; тогда получатся разборы такого рода:

А. Имеется дефинитный экземпляр вещи, (объективно) существующей. Снимая ее отображение и эталонируя, получаем определение для вещи, определив ее отображение: это ворона самка, и т.п. Определение-процесс ведется над отображением, определение — результат относится к вещи и значимо в наших глазах — для нее.

Б. Идеально-упругий шар, которому сообщена некоторая скорость, проделывает ряд отражений от беспорядочно-расположенных кругом него несмещаемых других. Если мысленно заменить летающий шар — лучом света, а поверхности неподвижных шаров представлять себе зеркальными, то эти выпуклые поверхности являются сильно-уменьшительными зеркалами, в которых оптические отражения смежных шаров малы, а отражения высших порядков (шаров в шарах) очень быстро прогрессивно уменьшаются в геометрической прогрессии. Возможные направления для луча, который должен после отражений от  $N$  шаров, попасть в какую либо точку  $(N+1)$ -го, лежат, поэтому, внутри очень узкого телесного угла, быстро и беспредельно убывающего с возрастанием  $N$ . То-же самое справедливо для траектории центра запущенного подвижного шара.

После  $N$  проделанных шаром отражений ломаная траектория его центра есть вполне дефинитная линия на всем своем протяжении. Иными словами, движение шара от начального толчка до последнего рассматриваемого мгновения вполне дефинитно и причинно-обусловлено во всем объеме этой дефинитности.

Если мы захотим, в этом “мысленном эксперименте”, применить этот самый, известный нам, закон причинности к предопределению траектории центра шара, то мы должны прежде всего определить начальное направление полета, координаты и радиусы шаров и т.п., т.-е. а) получить их отображения, — а это возможно не иначе как с известной степенью точности, т.е. величиной констатационной (отобразительной) погрешности, — и б) измерить их, что опять таки сопряжено с неизбежной, измерительной погрешностью. Понятия точности и погрешности неприменимы к самой вещи, — в данном случае к дефинитной траектории; они, зато, неотъемлемо связаны с отображением и измерением вещи, т.е. с ее определением.

За определением перечисленных данных следует приложение к ним известного нам закона отражений соударяющихся шаров. По вышесказанному угловая погрешность, содержащаяся в оценке исходных данных, неминуемо нарастает в геометрической прогрессии с ростом  $N$ ; а так-как телесный угол не может быть больше  $4\pi$ , то после достаточно-большого  $N$  неизбежно наступает полная неопределенность для дальнейшей судьбы шара, при вполне стабильной и ничем не тревожимой ее дефинитности. Следует заметить, что, каковы бы ни были числовые параметры задачи, значение  $4\pi$  достигается при очень малых  $N$ , например, при средних расстояниях центров шаров в 5 раз больше диаметра — одна квадратная минута начального угла обращается в  $9\pi$ . ( $4\pi \cong 148\,451\,000$  кв. мин.) после семи отражений.<sup>2</sup>

Значение указанного различия между дефинитностью и определенностью — в устранении важных заблуждений: из за смешения обоих понятий делается вывод, что та или другая неопределенная величина или явление — не дефинитны; а этим ставятся ничем не оправданные ограничения закону причинности, или сомнения в нем.

Дефинитность относится к вещи, определенность — к ее отображению.

3) Слово “отображение” значит “мы познаем или познали вещь”. Сказать и уверять, что мы познаем только отображения, — все равно, что сказать “мы познаем только наши познания о вещах”. Это все равно, что полагать, будто видеть — это значит видеть изнутри мозга изображения, возникающие на сетчатке, — как будто в мозгу сидит человек с глазами, которыми он смотрит (получая в них оптические изображения второго порядка) с задней стороны на изображения, возникающие на сетчатке.

Эти аберрации — в ближайшем родстве с затруднениями психофизиологов, выразившимся в проблеме “как и когда человек научается не замечать и исправлять опрокинутость изображений на своих сетчатках”.

4) Величины, встречающиеся в геометрии, — это результаты измерения, т.е. имеют смысл только при указании для них (произвольного) измерительного эталона: длина,

<sup>2</sup> 1 кв. сек. → в 20 π после  $N = 10$ .

$4\pi \cong 41\,236,4$  кв. град =  $148\,451\,000$  кв. мин. =  $534\,423\,600\,000$  кв. сек.

площадь, интервал времени и т.п. Однако есть ряд геометрических и кинематических категорий, обладающих полной дефинитностью, т.е. реальностью безотносительно каких бы то ни было эталонов и измерительных процессов. Вычленение таких категорий необходимо для четкого отличия их от их измерительных отображений и для избежания ошибок. К (объективно-) дефинитным категориям относятся:

1) отрезок, т.е. две точки в пространстве, — в данный момент времени, или в отвлечении от времени.

2) угол, т.е. три точки, или две прямые, имеющие общую точку (с той же оговоркой относительно времени).

3) траектория, т.е. дефинитная совокупность точек космоса (x, y, z, t) занимавшихся двигавшейся материальной точкой. Точки самой траектории, как некоторой вещи, дефинитны, т.е. тождественны самим себе, объективны в смысле независимости от познающего.<sup>3</sup>

Отображение той-же траектории в целях ее изучения и измерения зависит от выбора системы и начала координат, эталона длины и т.д., т.е. может оказаться беспредельно разнообразным. Этот анализ разрешает вопрос о том, что считать “объективной” траекторией падающего камня, рассматриваемого с земли и с едущего поезда, и существует ли такая траектория. Вопрос кажется трудным из за смешения вещи и отображения, дефинитности и определенности.

5) Для устранения еще одной ошибки омонимности следует в дальнейшем обозначать термином “определение” только результат определения (“гипотенуза есть сторона прямоугольного треугольника, противолежащая прямому углу” и т.п.), процесс же всегда обозначать термином “процесс определения”.

29.VIII.49

Замечание 1 (здесь, видимо, хорошо уместна алгебра):

Условные и сослагательные (конъюнктивные) формы

А] Если — то :

а) если будет Р, то будет Q — выражение причинности,

<sup>3</sup> На 4)-м месте необходимо поместить категорию числа (только счетного количества объектов, а не отношения)

если завтра будет град — погибнет посев или предпосылки:

если жена позволит ему, он пойдет в гости

б) если (есть) Р, то (есть) Q — настоящее время для обозначения выноса времени за скобки обобщающее, — выражение общей закономерности:

если птица отстает от стаи — она гибнет (причина),

если у висящего камня перерезать веревку, он падает (предпосылка)

в) {если будет Р, сделай Q, или

если будет Р, я сделаю Q} : приказание или намерение, с условным ограничением:

если сдашь завтра зачет, то приходи ко мне  
если я сдам зачет,

если мой билет выиграет, { я поеду на курорт

г) если было Р, то — фиктивная форма, ставящая прошедшее субъективно в формальные соотношения будущего, — [см. ниже замечание 2].

Б] Если бы — то ( в двух равнозначных формах:

Если бы произошло Р, то произошло бы Q  
Произошло бы Q, если бы произошло Р).

а) со смыслом будущего времени — два значения (синтаксический омоним):

a<sub>1</sub> — синоним с если — то:

{ если бы погода прояснилась, сын бы пошел гулять

= если погода прояснится, сын пойдет гулять

a<sub>2</sub> — если бы произошло Р, то произошло бы Q, но.... и отрицание

если бы его (завтра) простили, он бы исправился, но ....все выйдет как раз наоборот, поскольку вы его не простите

если бы завтра ко мне явилась фея, то я попросил бы ее о чуде, но — чудес и фей нет.

б) со смыслом прошедшего времени — только с отрицающим но

если бы я пошел (в свое время) на медфак, я был бы сейчас врачом; (уже из формы предложения следует, что этого нет).

Замечание 2: Фиктивная (субъективная) форма будущего при незнании прошедшего: если я не знаю случившегося, я могу мыслить и говорить о нем, как о будущем, — в смысле неоднозначности, свойственной будущему (применимость формы “если было Р, то было Q”, “произошло либо Р, либо Q” и т.д.) Но

иллюзия может из ощущения неоднозначности (“Евгений бежит туда, где ждет его судьба с неведомым известьем, как с запечатанным письмом”....) перерасти в ощущение зависимости (молитва Левина после удара молнии о том, чтобы этот удар не был причиной гибели его семьи).

Богословский вопрос: посильно ли Богу изменить прошедшее? Властелинам – посильно.

3. Для целого ряда понятий суффикс “ение” служит в 2-х смыслах: а) процесс действия и б) его результата. Целесообразно сохранять за этим суффиксом “ение” только значение результата действия; для процесса же – либо неукоснительно применять слово “процесс того-то”, либо суффикс “ание”.

решение – решение

определение – определяние

отображение – отображение

ощущение – ощущение

представление – представляние

рассуждение – рассуждание

умозаключение – умозаключение, и т.п.

Исключение: воспоминание – воспомина-  
ние

31.VIII.49

К разбору: 1) Отображение относится к вещи, как переменная – к пределу.

2) Вещь и факт.

3) Мыслитель Laplace’a и его экстраполяция.

Ответ Канту: Чудо, гораздо более удивительное, чем звездное небо над нами и нравственный закон в нас, – в том, что сам всемогущий Бог не в состоянии сделать шевеление одною ресницей самого ничтожного из червяков, бывшее – секунду или век тому назад из бывшего небывшим.<sup>4</sup>

31.VIII.49

Заметки: К понятиям цели и целесообразности:

1. Цель – представление о будущем факте, являющееся побуждающей причиной моих действий.

2. Жизнь. Обобщение наблюдений позволяет констатировать, что многочисленным видам вещей (предметов) свойственны дей-

<sup>4</sup> См. у Уэльса “историю мистера Фотерингея” (но там отменен промежуток времени весь целиком).

ствия, направленные к их (вещей и видов) сохранению и продлению. А именно:

Если расклассифицировать все встречаемые воздействия на эти вещи на а) направленные к их сохранению и продлению и б) направленные против сохранения и продления; обозначить первые через +, вторые через –;

расклассифицировать, далее, все встречаемые действия, исходящие из этих вещей, как в результате воздействий на них (реакции), так и спонтанно (акции), – на направленные против воздействий (–) и направленные содружественно с воздействиями (+),

то обобщение наблюдений показывает, что из числа четырех возможных сочетаний между воздействиями и акциями:

1) (+ +) = +

2) (– –) = +

3) (+ –) = –

4) (– +) = –

резко количественно преобладают первые две формы сочетаний (сохранительные воздействия – с содружественными им акциями, и разрушительные воздействия – противодействующими акциями), дающие каждая в итоге формулы знак +. Вещи и виды их, характеризующие подобным резким преобладанием, обозначаются, как живые (живущие, наделенные жизнью); вещи же и их виды, обнаруживающие статистическое равновесие (равную встречаемость) всех 4-х сочетаний, относятся нами к неживой природе.

Сокращенно это, вполне объективное, обобщение наблюдений выражается таким нестрогим определением: живые объекты и виды – те, которые характеризуются стремлением (или проявляют стремление) к своему сохранению и продлению. Таким образом субъективный и телеологический термин “стремление” здесь не необходим существенно, и употребляется лишь для краткости определения жизни и живого.

3. Точно также, допуская нестрогость для краткости, можно обозначить акции и реакции живых объектов, направленные к сохранению и продлению, как (жизненно-) целесообразные, направленные против, как нецелесообразные или вредные. Таким образом понятие целесообразности в применении к живому миру не имеет ничего общего с целью, ее субъективным определением и телеологизмом.

Статистически изменчивость столь резко-избирательных и сложных организаций много вероятнее, чем неизменяемость, — хотя бы уже потому, что для каждого значения какой-либо величины, А, имеется гораздо большее число значений “не — А”, появление которых, поэтому, много вероятнее, чем точные повторения значения А. Обобщение наблюдений показывает, что и в действительности (несмотря на всю действенность сохранительных тенденций), изменчивость в живом мире имеет место везде и всегда.

Если, согласно данному определению, понимать *целесообразность* акций живых объектов как их направленность к сохранению и продлению (особи и вида), то, далее, схема Дарвина показывает, что каждое небезразличное изменение особи, затрагивающее ее генотип, т.е. передаваемое потомству, необходимо целесообразно в порядке отбора, независимо ни от происхождения (причины) этого изменения, ни от его собственной целесообразности для данной особи: изменение, нецелесообразное для особи, понижает ее шансы и ведет к уменьшению численности и жизненной силы ее потомства; соответственно — обратное.

Указанная обязательная направляющая тенденция схемы отбора (survival) вытекает непосредственно из определения жизни, не нуждаясь для своего вывода более ни в каких добавках.

---

Прошедшее:	существовавший, ая, ое
Настоящее:	существующий, ая, ое
Будущее:	предстоящий

2. Суждения, относящиеся к вещам, следует подразделять на

- а) предикативные и
- б) атрибутивные.

*Атрибутивные* суждения устанавливают за вещь какой-нибудь признак или свойство: земля — шарообразна, Цезарь был смел, кавказцы долговечны и т.д. *Предикативные* выражают, что с вещью что-либо произошло (происходит, произойдет), т.е. какой либо факт ее изменения: Цезарь был убит; с больным (вещь) случился припадок (предикат)<sup>5</sup>; самолет приземлился; часы пробили пять; но примешь ты (вещь) смерть от коня твоего.

4. Независимо от того, как решится далее вопрос об абсолютной детерминированности фактов, — пример всеобъемлющего ума, приводимой Laplace' ом, неверен принципиально. Предсказание фактов мыслящим существом, т.е. с помощью аппарата мышления, возможно только с помощью получения отображений вещей и фактов, их измерения (сличения с эталонами, оценки) и обработки. Отображения же суть необходимо приближенные воспроизведения существующего, — переменные стремящиеся к самим вещам и фактам, как к своему пределу; поэтому с ними необходимо сопряжено сказанное выше о дивергенции приближений; она справедлива в очень большом разнообразии случаев. Именно поэтому предсказательная экстраполяция так редко возможна, — почти только в областях а) планетной механики и б) действия закона больших чисел.

По поводу вышеприведенного разбора отражений от шаров необходимо добавить, что и для случая отражения луча, и для упругих соударений имеет место полная обратимость процессов, из чего ярче всего видна разница между протеканием фактов и отображением последних. В случае анализа отображения “заднего хода” отражающегося луча получится дивергенция от последующего к предыдущему, т.е. нечто прямо-обратное полученному для “переднего хода”.

1. IX. 49

#### Заметки 1. Подбор нужных терминов:

---

бытность (?)	?
существование	существовать
предстояние	предстоять

---

Смысл разницы обоих видов в следующем:

Что бы ни считать движущимся, а что неподвижным, — неоспоримо следующее относительное движение во времени:

А) Я — мыслящий субъект — перемещаюсь по отношению к фактам, событиям изменениям, — словом, по отношению ко всему датируемому во времени — из прошлого через настоящее к будущему. Обозначим это направление словом *вперед* (+).

<sup>5</sup> Конечно, нужно отличать логическое подлежащее от грамматического.

Б) Все перечисленное в (А), т.е. по своей сути — изменения или события, формально — даты, движется относительно меня из будущего через настоящее к прошедшему. Настоящим обозначается пункт их прохождения мимо меня. Направление обозначаем словом назад (—).

В) Всякая вещь, которую можно абстрагировать от происходящих в ней или с ней изменений, о которой можно сказать, что она имеет свою историю, которая, наконец, может служить подлежащим предикативных суждений, — вследствие этого своего тройного свойства участвует в том же движении, что и субъект в (А), т.е. вперед. В предикативном суждении такая вещь скрещивается нами с объектами, движущимися относительно ее назад.

Мы (субъекты) движемся вперед, а смотрим только назад. Поэтому мы видим всегда только удаляющиеся от нас объекты. Именно это-то и неудобно.

3. Для терминологии: *Вещь* — предмет для суждения, как его определяют в логике, обла- дающий (независимым, “объективным”) существованием.

Факт — существующее (“объективное”) изменение, — действие, событие и т.п. — в любом времени ( прошедшем, настоящем или будущем).

Объект — вещь и факт вместе, т.е. любой элемент (или совокупность их) существующего мира.

3.IX.49

К понятиям одновременности и неодновременности:

1) Неодновременность относится к взаимной последовательности и просто-последовательности, как — в алгебре — модуль величины к этой величине в палочках  $|A|$ , “абсолютная величина”) и к ее значению со знаком.

2) Для одновременности возможны 2 определения : а) одновременно есть то, в пределах чего две вещи, А и В, (“А и не А в первом смысле”) не могут обладать одними и теми же координатами; сокращенно — не могут занимать одно и то же место.

в) Одновременно есть то, в пределах чего не может существовать (взаимно исключается) А и не-А “во втором смысле”, — без ограничений насчет координат.

3) А и В, “А и не-А в 1-м смысле” — это просто два различных субъекта. Для второго смысла — эпиграф:

“А и Бе сидели на трубе; А упало, Бе пропало”, и т.д. А именно “Не-А” во 2-м смысле есть такое изменение А, его признаков и свойств (включая даже и признак существования; “А упало, etc.”), которое не препятствует А оставаться все-же самим собою. Для этого А должно принадлежать к одной из тех категорий (“вещь” или субъект в ранее указанном смысле В), которые требуют обладания единством или индивидуальностью. Первое есть наличие стержневых свойств, делающих вещь А именно самой собою (при всех изменениях), и обуславливающих ее идентичность. Индивидуальность есть то, что обособляет вещь А от всего, что не-А в 1-м смысле. Всем этим определениям пока еще не хватает ясности.

Уточнение сказанного должно явиться основой для понимания течения времени.

6.IX.49

Заметки: 1) (см. выше): отглагольные существительные должны бы иметь 3 формы: а) процесс в настоящем, б) процесс в завершеном (прошедшем) и в) результат, например,

понимание — процесс в настоящем  
понятие — (сравн. “взятие”) — процесс в прошедшем

понятие — результирующий предмет  
решение — (мною задачи)  
разрешение — (мною задачи)  
решение — (данной задачи) и т.п.

2) Определения терминов:

а) Казаться: казаться — на материале впечатлений (восприятий), предполагать — на материале суждений выражают одинаково вывод из того или другого материала с признанием его ограниченной достоверности (субъективная оценка вероятности  $0.5 < r < 1$ , поскольку кажущееся или предполагаемое представляются нам вероятнее, чем их отрицание).

б) понимать: синонимично с “постигать смысл”, где “постигать” вообще означает “получать в состав содержания психики”.

в) смысл: имеет 2 значения, явно подлежащих объединению, что пока мне не удастся:

β<sub>1</sub>) мысль, условно или символически связанная с данным впечатлением, мыслью или

группой тех либо других: смысл слова, речи, шахматной атаки, мимики и т.п.

β<sub>2</sub>) внутренняя связь между мыслями (смысл задачи и т.п.) или между действиями живого существа, обладающими планомерностью, целеустремленностью и т.п.

14.IX.49

1) И вот уже трещат морозы,  
И серебрятся средь полей  
(Читатель ждет уж рифмы “розы”:  
На вот, возьми ее скорей!)  
(Евгений Онегин)

2) Елена закрыла лицо. — Вы хотели заставить меня сказать, что я вас люблю, прошептала она: — вот... я сказала...

(“Накануне”, гл. XVIII)

14.X.49

“Сейчас” : Дистанция туманности Андромеды от нас (900000 св. лет) такова, что если бы земля с самого начала своего существования, 2 млрд. лет тому назад, двигалась со своей орбитальной скоростью (30 км/сек) не вокруг солнца, а по прямой линии к Андромеде, то к настоящему моменту успела бы совершить только 2/9 всего пути; ей оставалось бы нестись точно так же еще семь миллиардов лет. Если, в модели, изобразить солнечную систему всю, по Плутон включительно, кружочком диаметром в 1 см<sup>6</sup>, то Альфа Центавра будет находиться на расстоянии ≈50 метров, звезды нашей окрестности — на расстояниях порядка 100 м друг от друга, поперечник

<sup>6</sup> Масштаб 10<sup>-15</sup>

Млечного пути ≈900 км, а туманность Андромеды — на расстоянии 9000 км. (≈ Москва — Хабаровск). Отдаленнейшие из обнаруженных галактик — за два или три миллиона км от солнца — шарика диаметром в 1 1/2 микрона.

И можно утверждать с достоверностью, что где бы в области Андромеды ни находился какой либо мыслящий интеллект, способный воспринимать окружающий мир, и как бы он ни был устроен, — он безусловно может знать, что было час, год или век тому назад от настоящей, текущей сейчас минуты, и безусловно не может знать, что будет через час. Этого маленького часа еще нет, ни для нас, ни для обитателя Андромеды; хотя через 60' он станет реальным и там и здесь. 20.X.49.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бернштейн Н.А.* Биомеханика для инструкторов. Новая Москва, 1926. 184 с.
- Бернштейн Н.А.* О ловкости и ее развитии. М.: Физкультура и спорт. 1991. 280 с.
- Донской Д.Д.* Архив ЦНИИФК (фонд № 9, опись № 1, всего 640 ед. хран., документы, относящиеся к деятельности Н.А. Бернштейна (1949) — ед. хран № 260–292.
- Талис В.Л.* Николай Александрович Бернштейн — великий ученый с трагической судьбой. Идеи Бернштейна в наши дни. (Сборник статей под ред. Г.П. Костока, Б.М. Величковского, А.В. Чернавского). М: “КДУ”, “Университетская книга”, 2019. 22–34.
- Latash M.L.* (Ed.) Bernstein’s Construction of Movements. Routledge, Abingdon, 2020 359 p.
- Whyman R.* N.A. Bernstein. Biomechanics for Instructors (translated by *Rose Whyman*). Springer, 2020, 155 p.

## “RAZOR BLADE OF TIME” IN AN UNPUBLISHED MANUSCRIPT BY N. A. BERNSTEIN

V. L. Talis<sup>a, #</sup> and M. L. Latash<sup>b</sup>

<sup>a</sup> The Institute for Information Transmission Problems RAS (Kharkevich Institute), Moscow, Russia

<sup>b</sup> The Pennsylvania State University, USA

#e-mail: talis@iitp.ru

New, earlier unknown manuscript by Nikolai Aleksandrovich Bernstein written in the August-September of 1949 is presented. Here Bernstein discusses the concept of time as a coordinate in the four-dimensional space and its essential difference from space coordinates, analyses the specificity of time expression in Russian language, offers a definition of life and also analyses the subjectivity of sensation in humans.

*Keywords:* N.A. Bernstein, history of science, reflection, reaction, linguistics