СОДЕРЖАНИЕ

От редактора

О создании нового Электронного архива научных публикаций по тематике "Химия, Биология и Физиология" 3

Экспериментальные статьи

Влияние интерлейкинов на сокращения мышцы трахеи и бронхов крысы
В. М. Кирилина, О. Е. Смирнова, Л. Е. Блажевич, А. И. Кривченко 4

Эффект озона на кислородтранспортную функцию и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах *in vitro*
В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая, И. Э. Гуляй 16

Особенности социального поведения мышей после длительного действия психоэмоционального и инфекционного факторов
Д. Ф. Августинович, Н. П. Бондарь 28

Сравнительный анализ активности нейронов префронтальной коры мозга крыс в состоянии продуктивной и непродуктивной работы
Е. В. Филатова, А. А. Орлов, С. В. Афанасьев, Н. И. Горбунов 43

ИЭМ-1925, каналоблокатор глутаматных рецепторов, увеличивает латентный период и сокращает продолжительность эпилептического статуса у крыс в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии
С. И. Ватаев, Н. Я. Лукомская, Л. Г. Магазаник 55

Регуляция тонуса артерий у крыс, длительно получавших высокосолевую диету
Г. И. Лобов, Г. Т. Иванова 70

Параметры физического развития детей с особыми возможностями здоровья с различными типами исходного вегетативного тонуса
О. В. Смирнова, Е. С. Овчаренко, Э. В. Каспаров, В. В. Фефелова 85

Содержание моноаминов в симметричных зонах переднего мозга при длительном изменении тиреоидного статуса
С. Н. Прошин, И. В. Карпова, Р. И. Глушаков, Е. Р. Бычков, П. Д. Шабанов 98

Анализ парадоксальных нейрофизиологических реакций на разных этапах восприятия отрицательных эмоциональных стимулов у больных шизофренией
В. Б. Стрелец, Г. И. Родионов, М. К. Нурбеков, В. Л. Ушаков, А. Ю. Архипов 119

CONTENTS

The Creation of a New Electronic Archive of Scientific Publications "Chemistry, Biology and Physiology" 3

Experimental Articles

Influence of Interleukins on Contraction of Muscle of Trachea and Rat Bronches
V. M. Kirilina, O. E. Smirnova, L. E. Blazhevich, and A. I. Krivchenko 4

Effect of Ozone on Blood Oxygen Transport Function and Pro-Oxidant–Antioxidant Balance in under Conditions of Changing Nitrogen Monoxide Formation *In Vitro* Experiments
V. V. Zinchuk, E. S. Biletskaya, and I. E. Gulyai 16

Specific Features of Social Behavior in Mice after Long-Lasting Exposure to Psychoemotional and Infectious Factors
D. F. Avgustinovich and N. P. Bondar 28

Comparative Analysis of the Prefrontal Cortex Rat Brain Neuron Activity in the Efficient and Ineffective Behavior
E. V. Filatova, A. A. Orlov, S. V. Afanasyev, and N. I. Gorbunov 43

IEM-1925, a Glutamate Receptor Channel Blocker, Increases the Latent Period and Reduces the Duration of Epileptic Status in Rats in the Lithium–Pilocarpine Model of Epilepsy
S. I. Vataev, N. Ya. Lukomskaya, and L. G. Magazanik 55

Regulation of Arterial Tone in Rats Fed a Long-Term High-Salt Diet
G. I. Lobov and G. T. Ivanova 70

Parameters of Physical Development of Children with Special Health Possibilities with Various Types of Initial Vegetative Tonus
O. V. Smirnova, E. S. Ovcharenko, E. V. Kasparov, and V. V. Fefelova 85

The Content of Monoamines in the Symmetric Parts of the Forebrain in the Time Course of Altered Thyroid Status
S. N. Proshin, I. V. Karpova, R. I. Glushakov, E. R. Bychkov, and P. D. Shabanov 98

Analysis of Paradoxical Neurophysiological Reactions at Different Stages of Perception of Negative Emotional Stimuli in Patients with Schizophrenia
V. B. Strelets, G. I. Rodionov, M. K. Nurbekov, V. L. Ushakov, and A. Yu. Arkhipov 119

РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2021, том 107, № 1, с. 3

ОТ РЕДАКТОРА

О СОЗДАНИИ НОВОГО ЭЛЕКТРОННОГО АРХИВА НАУЧНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМАТИКЕ “ХИМИЯ, БИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ”

DOI: 10.31857/S0869813921010027

В целях поддержки продвижения научных журналов в 2020 году Министерство науки и высшего образования РФ объявило конкурсы на создание семи электронных архивов выпусков журналов по математике, медицине, химии, общественным и ряду других наук.

Конкурсы объявлены в рамках федеральной целевой программы (ФЦП) “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России” на 2014–2020 годы.

Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН выиграл конкурс по созданию архива по тематическому направлению “Химия, биология и физиология”. Основой данного архива станет коллекция выпусков ведущих журналов Российской академии наук за период с 2000 по 2008 год: “Доклады академии наук”, “Журнал физической химии”, “Физикохимия поверхности и защита материалов”, “Радиохимия”, “Электрохимия”, “Коллоидный журнал”, “Нефтехимия”, “Журнал прикладной химии”, “Высокомолекулярные соединения Серия А”, “Высокомолекулярные соединения Серия В”, “Высокомолекулярные соединения Серия С”.

Основными целями создания открытого электронного архива в соответствии с заданием Министерства являются: распространение научных знаний и создание научно-популярного, информационного издания, объясняющего общественную ценность научной деятельности; вовлечение российского общества в изучение текущих и прошлых достижений российской науки; раскрытие богатства и многообразия научной жизни России; в популярном, понятном виде создание коллекций докладов на научных конференциях, учебных курсах, лекциях российских и зарубежных ученых на проходящих в России научных мероприятиях; демонстрация научных комментариев к событиям и явлениям в природе и обществе.

Актуальность создания открытого электронного архива связана в растущей востребованностью библиографических баз данных о публикациях в научных журналах, серийных изданиях и книгах, материалов научных мероприятий. Однако существующие тематические ресурсы в конкретных предметных областях обычно содержат чрезвычайно ограниченный объем информации. Отсутствуют оцифрованные данные о большинстве научных публикаций на русском языке ведущих академических изданий, представляющих особую ценность для мировой науки.

В рамках данного проекта будет создан архив из скан-копий российских журналов и материалов научных мероприятий по тематическим направлениям в области химии, биологии и физиологии. Таким образом, на основе коллекции электронных версий ведущих научных журналов будут сформированы профильные ресурсы научного и научно-популярного характера в свободном доступе.

Работа по созданию архива должна быть завершена к концу 2020 года. Каталог архива будет размещен на сайте **PhysChemBio.ru**.

РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2021, том 107, № 1, с. 4–15

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ВЛИЯНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ НА СОКРАЩЕНИЯ МЫШЦЫ ТРАХЕИ И БРОНХОВ КРЫСЫ

© 2021 г. В. М. Кирилина[1], О. Е. Смирнова[1], Л. Е. Блажевич[1, *], А. И. Кривченко[2]

[1]Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия

[2]Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*****E-mail: lyu15041988@yandex.ru*

Поступила в редакцию 14.05.2020 г.
После доработки 12.10.2020 г.
Принята к публикации 14.10.2020 г.

В статье рассмотрена роль интерлейкинов ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-8 и ИЛ-13 в сократительной активности гладкой мускулатуры трахеи и бронхов крысы. Исследования проводились на изолированных препаратах с применением электрической стимуляции постганглионарных нервов (частота – 30 стим./с, длительность – 0.5 мс, амплитуда – 20 В, продолжительность стимуляции – 10 с). Были сформированы две группы животных: контрольная (получала внутрибрюшинную инъекцию физиологического раствора) и экспериментальная с вызванной бронхиальной астмой (получала внутрибрюшинную инъекцию овальбумина с его повторным введением через 14 дней). Далее проводилась оценка сокращения мышцы трахеи и бронхов после повторного введения овальбумина и после перфузии растворами интерлейкинов. В результате исследования выяснено, что ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-13 приводят к выраженному увеличению сократительных ответов гладкой мышцы трахеи и бронхов как в контрольной группе, так и в группе животных с овальбумин-индуцированной бронхиальной астмой. ИЛ-1β приводит к релаксационному эффекту на мышцу трахеи и бронхов в условиях физиологической нормы и патологии, что может быть рассмотрено как компенсаторный механизм, поддерживающий функцию внешнего дыхания.

Ключевые слова: провоспалительные цитокины, экспериментальная модель бронхиальной астмы, гладкая мускулатура трахеи и бронхов

DOI: 10.31857/S0869813921010064

В данной статье рассматривается влияние интерлейкинов ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-8 и ИЛ-13 на сокращение мышцы трахеи и бронхов крысы. Выбор этих интерлейкинов обусловлен их большим значением в патогенезе бронхиальной астмы.

Интерлейкин-1β (ИЛ-1β)

ИЛ-1β – провоспалительный цитокин, характеризующийся сложными иммунными эффектами и высвобождающийся из макрофагов, моноцитов и тучных клеток [1]. В протекании патологического процесса при бронхиальной астме этому провоспалительному цитокину принадлежит определенная роль. ИЛ-1β может быть обнаружен в сыворотке крови в отличие от ИЛ-1α, который секретируется из дендритных клеток только при активации стимула. Считается, что ИЛ-1β является

основным посредником, обеспечивающим связь между воспалительной реакцией, снижением функциональных резервов кардиореспираторной системы и гипоксемией. В настоящее время показано, что повышенный уровень ИЛ-1β в плазме крови нарушает регуляцию дыхания, снижает устойчивость к острой гипоксии, возможность спонтанного возобновления дыхания после гипоксического апноэ [2]. При биопсии трахеи и бронхов пациентов с бронхиальной астмой было обнаружено повышенное содержание ИЛ-1β в ткани. При обследовании образцов респираторного тракта человека после наступления летального исхода в просветах трахеи и бронхов обнаруживается большое количество слизистых образований, в формировании которых может принимать участие ИЛ-1β [3].

Hofstetter и Herlenius в своих исследовниях показали, что внутрибрюшинная инъекция ИЛ-1β новорожденным мышам приводит к снижению дыхательного объема и развитию гипоксии по сравнению с контрольной группой животных. Кроме того, у таких животных наблюдалось снижение частоты дыхания и нарушение способности к компенсаторному механизму нормализации концентрации кислорода в крови [4]. Похожие результаты были получены недавно в работе, проведенной на крысах. Эти исследования доказали негативное влияние ИЛ-1β на регуляцию дыхательной системы, что проявлялось понижением устойчивости к острой гипоксии [2].

Блокада ИЛ-1β может ослабить воспаление дыхательных путей у недоношенных крысят [5], стимулировать легочные С-волокна у крыс и кроликов [6]. Возбуждение С-волокон ИЛ-1β может приводить к увеличению сократительной активности трахеи и бронхов животного. Активности семейству ИЛ-1 (в том числе и ИЛ-1β) противодействует ИЛ-4 путем индукции экспрессии и активности рецептора-ловушки (ИЛ-1R2), а также высвобождения в его растворимой форме [7].

Интерлейкин-4 (ИЛ-4)

Che Xiao-wen и Zhang Ying указывают на существенную роль провоспалительного цитокина ИЛ-4 в патогенезе астмы на ранних стадиях и сообщают о том, что положительный эффект в лечении бронхиальной астмы может быть достигнут путем подавления синтеза этого интерлейкина. Также показано, что ИЛ-4 повышает гиперреактивность дыхательных путей у пациентов с астмой [8]. Liu и Xin в своих исследованиях обнаружили, что уровень ИЛ-4 в крови и в бронхоальвеолярной жидкости у пациентов с астмой достоверно превышает нормальные значения и коррелирует с уровнем IgE [9]. ИЛ-4 стимулирует продукцию IgE, который, связываясь с Fcε-рецепторами тучных клеток, приводит к их активации с выбросом провоспалительных медиаторов (гистамина, лейкотриенов, простагландинов и цитокинов, которые являются известными триггерами обострения астмы), способствующих развитию выраженного сокращения гладкой мускулатуры трахеи и бронхов [10].

Блокаторы рецепторов ИЛ-4 приводят к уменьшению обострения бронхиальной астмы у пациентов и к улучшению функций внешнего дыхания [11]. По мнению Чучалина, ИЛ-4 является терапевтической мишенью для моноклональных антител при лечении бронхиальной астмы. Биологическое ингибирование ИЛ-4 моноклональными антителами приводит к снижению уровня IgE в сыворотке крови и снижению сократительной активности трахео-бронхиальных мышц [12]. У сенсибилизированных крыс воздействие овальбумином вызывало значительное увеличение экспрессии ИЛ-4 [13–15].

Интерлейкин-8 (ИЛ-8)

ИЛ-8 продуцируется фибробластами, тучными клетками, моноцитами и макрофагами [16]. ИЛ-8 также принимает участие в патофизиологических механизмах развития бронхиальной астмы. В бронхоальвеолярной жидкости и мокроте человека с бронхиальной астмой обнаружена повышенная продукция ИЛ-8 железистыми клетками, нейтрофилами, макрофагами, эпителиальными и тучными клетками дыхательных путей [17]. ИЛ-8 стимулирует пролифирацию и миграцию гладкомышечных клеток [18]. Ингаляция ИЛ-8 провоцирует бронхоконстрикцию у морских свинок в условиях *in vivo*. ИЛ-8 участвует в механизмах развития гиперреактивности гладкой мускулатуры трахеи и бронхов и увеличивет уровень внутриклеточного кальция, что приводит к увеличению внутримышечного сокращения [19]. ИЛ-8 значительно повышает бронхиальную гиперреактивность и сократительную активность гладких мышц респираторного тракта у пациентов с муковисцидозом [20]. У новорожденных крыс гипероксическое воздействие индуцировало экспрессию нейтрофильного хемоаттрактанта-1, гомолога ИЛ-8, в альвеолярных макрофагах и эпителиальных клетках [21]. ИЛ-8 играет значительную роль в патогенезе хронических заболеваний легких у недоношенных крысят [5].

Интерлейкин-13 (ИЛ-13)

ИЛ-13 секретируется Т-хелперами 1-го типа, Т-хелперами 2-го типа, естественными киллерами, гладкомышечными клетками, эозинофилами, базофилами, тучными клетками [22]. ИЛ-13 приводит к увеличению продукции IgE, что в дальнейшем является причиной повышенной сократительной активности гладкой мускулатуры трахеи и бронхов, развитию аллергической реакции [23]. ИЛ-13 участвует в гиперсекреции слизи в респираторном тракте, развитии воспалительных секреций и гиперреактивности [24]. ИЛ-13 может играть ключевую роль в патогенезе астмы. ИЛ-13 также индуцирует гиперреактивность трахеи и бронхов мышей и выраженное мышечное сокращение [25]. При блокаде рецепторов ИЛ-13 уменьшалась бронхиальная гиперреактивность у мышей [26], а в модели бронхиальной астмы у этих животных отмечался повышенный уровень этого интерлейкина в бронхоальвеолярной жидкости [27]. Активность ИЛ-13 напоминает активность ИЛ-4. ИЛ-13 может активировать клеточные линии моноцитов и ингибировать выработку воспалительных цитокинов (ИЛ-1α, ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, G-CSF и IFN-α). Существует два вида рецепторов для ИЛ-13: ИЛ-13R1 и ИЛ-13R2. Сочетание генетических полиморфизмов в гене ИЛ-13 и гене ИЛ-4 коррелирует с уровнем антител IgE и развитием астмы у детей. Антагонисты ИЛ-13 могут быть полезны при лечении астмы и аллергии (возможно, наряду с антагонистами ИЛ-4) [28].

Таким образом, ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-8 и ИЛ-13 могут быть рассмотрены как цитокины, играющие значительную роль в патогенезе бронхиальной астмы. Исследования непосредственного влияния этих цитокинов на сокращение гладкой мышцы трахеи и бронхов в условиях нормы и экспериментальной модели патологии могут быть особенно актуальны. Также большое значение в экспериментах на изолированных препаратах имеет электрическая стимуляция постганглионарных нервов, что максимально приближает исследуемую систему к естественным физиологическим условиям. Поэтому целью настоящего исследования явилось изучение влияния ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-8 и ИЛ-13 на сокращение гладкой мышцы, трахеи и бронхов крысы с применением электрической стимуляции постганглионарных нервов в условиях физиологической нормы и экспериментальной модели бронхиальной астмы.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Процедура с животными

Было исследовано 20 крыс линии Вистар обоего пола массой тела 190–270 г. Различий в сократительных реакциях мышц самцов и самок не было, так как самки были взяты для опытов в период диэструса. Животные содержались в виварии, который отвечал всем требованиям, предъявляемым к условиям содержания животных. С целью получения образцов респираторного тракта производилась декапитация. Такой подход обеспечивал быструю эвтаназию животного (рекомендации по эвтаназии экспериментальных животных Европейской комиссия [29]). Далее животное закреплялось на столе для вскрытия. После этого вскрывали грудную клетку и затем производили операцию с извлечением дыхательных путей животного. Паренхиматозную ткань легких удаляли механически деревянным шпателем [30]. Дыхательные пути промывали в растворе Кребса–Хензелайта, а затем готовили препараты трахеи и бронхов. Каждый препарат представлял собой образец трахеи или бронхов длиной 0.4–0.6 и шириной 0.5–0.7 см. Образцы трахеи и бронхов брались из области бифуркаций, поскольку в этих участках присутствуют интрамуральные ганглии. Линия разреза трахеи и бронхов проходила через хрящевые полукольца. Гладкая мышца оставалась нетронутой. Препараты трахеи и бронхов помещали в камеру с раствором Кребса–Хензелейта, где один край препарата фиксировали иглами, а второй устанавливали крючками-держателями, прикрепленными к электромеханическому датчику, регистрирующему величину сократительной реакции (измеряемой в мн).

Оборудование

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

Электрофизиологические эксперименты

Во всех экспериментах применялась стимуляция электрическим полем. Для этого в камеры с препаратами были помещены два серебряных электрода. Во время работы применялась электростимуляция постганглионарных нервных волокон (частота стимулов – 30 Гц, длительность – 0.5 мс, амплитуда – 20 В, длительность стимуляции – 10 с). Электростимуляция моделировала естественную проводимость электрических импульсов через постганглионарное звено рефлекторной цепи. В экспериментах изучалась сократительная реакция гладкой мускулатуры трахеи и бронхов крысы при использовании электростимуляции и фармакологических средств. Сначала проводилась электростимуляция препаратов трахеи и бронхов, а затем регистрировались сократительные реакции мышц. Эти ответы были приняты за базовый уровень (или 100%). После этого добавляли фармакологические вещества и регистрировали сократительные реакции мышц. Таким образом, регистрировались реакции трахеальной и бронхиальной мускулатуры с учетом электростимуляции и фармакологических препаратов. Величина сократительных реакций на применение препарата в значительной степени зависела от исходного тонуса

гладкой мускулатуры, а также от контрольных сократительных реакций вследствие применения электростимуляции на фоне физиологического раствора. Несмотря на то, что все животные были одного возраста и выборка была однородной, вариабельность исходного тонуса и контрольных реакций (измеренных в мн) таких органов, как трахея и бронхи, была достаточно высокой, и этот факт определил учет сокращения в процентах (подсчитанных в процентах от базового уровня активности, взятого за 100%). Методы электростимуляции постганглионарных нервов взяты из методов исследования, предложенных Фединым [31].

Статистический анализ

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

Фармакологическая процедура

Перфузию проводили раствором Кребса–Хензелейта следующего состава: (ммоль/л в виде перфузии, Sigma-Aldrich, Германия) хлорид натрия 118; хлорид калия 4.8; сульфат магния 1.18; дигидрофосфат калия 1.2; хлорид кальция 2.5; бикарбонат натрия 25.0; глюкоза 5.5. В камерах с препаратами поддерживали необходимый уровень кислорода, температуру (37°C) и pH (6.9–7.1). Приток свежего раствора Кребса–Хензелейта обеспечивался регулярно, как и отток использованного [31].

В ходе экспериментов экзогенно в камеры с препаратами вводили растворы следующих веществ: интерлейкин-1β, интерлейкин-8, интерлейкин-4 (вышеперечисленные интерлейкины использовались в концентрации 150 нг/мл) и интерлейкин-13 (в концентрации 100 нг/мл). Использованные интерлейкины приобретены у фирмы Sigma-Aldrich, США. Интерлейкины поступали в камеры с препаратами при помощи перфузии в течение 120 мин, после чего производилась регистрация сократительной активности.

Процедура сенсибилизации животных

Крысы были сенсибилизированы однократным внутрибрюшинным введением 0.23 нмоль овальбумина (Sigma-Aldrich, Германия), смешанного с 120 мкмоль гидроксида алюминия (Sigma-Aldrich, Германия) в качестве адъюванта. Через 14 дней проводилась аппликация овальбумина (1.17 нмоль/мл) в камеру с экспериментальными препаратами. Первичное введение овальбумина способствует развитию сенсибилизации организма животного. Повторная аппликация овальбумина приводила к дегрануляции тучных клеток в экспериментальных препаратах и могла рассматриваться как модель экспериментальной бронхиальной астмы у животных. Несенсибилизированной группе вводили физиологический раствор внутрибрюшинно в качестве контроля [32].

Схема эксперимента

Были сформированы две группы животных: контрольная (получала физиологический раствор) и экспериментальная, с вызванной бронхиальной астмой (получала инъекцию овальбумина с его повторным введением в камеры с препаратами через

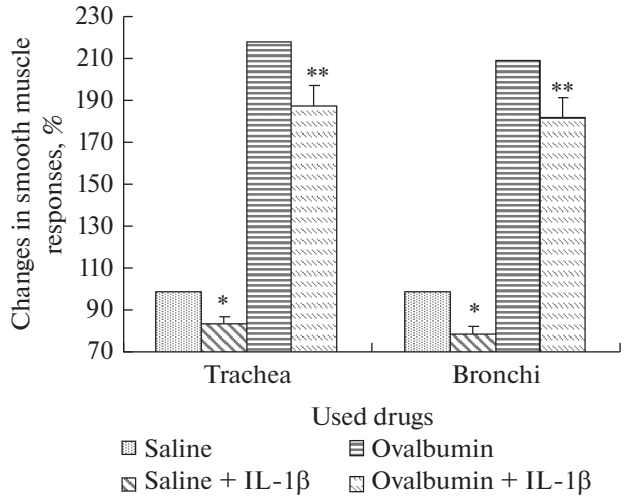

Рис. 1. Сократительные ответы гладкой мышцы трахеи и бронхов в результате влияния ИЛ-1β на фоне физиологического раствора (контрольная группа) и на фоне овальбумина (экспериментальная группа). * – достоверное ($p < 0.05$) отличие от контрольных значений; ** – достоверное ($p < 0.05$) отличие от значений ответов на фоне овальбумина.

ИЛ-1β приводит к снижению сократительных ответов трахеи и бронхов крысы как в контрольной (на фоне физиологического раствора), так и в экспериментальной группе (в модели экспериментальной бронхиальной астмы, развившейся на фоне влияния овальбумина).

Fig. 1. Contractile responses of smooth muscle of the trachea and bronchi as a result of the influence of IL-1β against the background of physiological saline (control group) and against the background of ovalbumin (experimental group). * – significant ($p < 0.05$) difference from control values; ** – significant ($p < 0.05$) difference from the response values on the background of ovalbumin.

IL-1β leads to a decrease in contractile responses of rat trachea and bronchi both in the control group (against the background of physiological saline) and in the experimental group (in the model of experimental bronchial asthma that developed against the background of the influence of ovalbumin).

14 дней). Далее проводилась оценка сокращения мышцы трахеи и бронхов после повторного введения овальбумина и после перфузии растворами интерлейкинов.

Исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями Европейской комиссии по эвтаназии экспериментальных животных [29].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В контрольной группе животных ИЛ-1β вызывал уменьшение сократительных ответов до 84.1 ± 3.8% в препаратах трахеи и до 79.2 ± 4.1% в препаратах бронхов (рис. 1). В экспериментальной модели бронхиальной астмы сократительные ответы достигали 218.3 ± 8.9% в препаратах трахеи и 210.1 ± 7.5% в препаратах бронхов. При поступлении в камеры с препаратами ИЛ-1β сократительные ответы понижались в препаратах трахеи до 188.1 ± 5.2%, в препаратах бронхов – до 182.5 ± 4.9% ($p < 0.05$).

На фоне физиологического раствора ИЛ-4 приводил к повышению сократительных ответов гладкой мышцы трахеи до 122.2 ± 4.1% и мышцы бронхов до 118.4 ± 3.8% (рис. 2). В экспериментальной модели бронхиальной астмы на фоне применения электрической стимуляции постганглионарных нервов ответы трахеи достигали 208.5 ± 5.4%, ответы бронхов – 203.3 ± 4.8%. Введение раствора ИЛ-4 при-

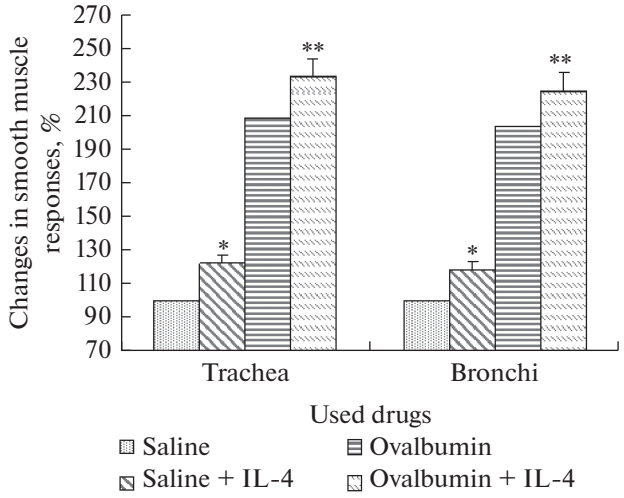

Рис. 2. Сократительные ответы гладкой мышцы трахеи и бронхов в результате влияния ИЛ-4 на фоне физиологического раствора (контрольная группа) и на фоне овальбумина (экспериментальная группа). * – достоверное ($p < 0.05$) отличие от контрольных значений; ** – достоверное ($p < 0.05$) отличие от значений ответов на фоне овальбумина.

ИЛ-4 приводит к увеличению сократительных ответов трахеи и бронхов крысы как в контрольной (на фоне физиологического раствора), так и в экспериментальной группе (в модели экспериментальной бронхиальной астмы, развившейся на фоне влияния овальбумина).

Fig. 2. Contractile responses of smooth muscle of the trachea and bronchi as a result of the effect of IL-4 on the background of physiological saline (control group) and on the background of ovalbumin (experimental group). * – significant ($p < 0.05$) difference from control values; ** – significant ($p < 0.05$) difference from the response values on the background of ovalbumin.

IL-4 leads to an increase in contractile responses of rat trachea and bronchi both in the control group (against the background of physiological saline) and in the experimental group (in the model of experimental bronchial asthma that developed against the background of the influence of ovalbumin).

водило к увеличению сократительных ответов трахеи до 232.6 ± 5.2%, бронхов – до 124.1 ± 4.4% ($p < 0.05$).

На фоне физиологического раствора ИЛ-8 способствовал возрастанию сокращений мышцы трахеи до 160.3 ± 7.8%, бронхов до 150.2 ± 6.9% (рис. 3). Сенсибилизация животных овальбумином с повторным его введением приводила к увеличению сократительных ответов мышцы трахеи до 221.1 ± 5.2%, бронхов – до 214.1 ± 4.1%. Поступление ИЛ-8 в камеру с препаратами способствовало увеличению сокращению трахеи до 245.4 ± 5.3%, бронхов – до 223.1 ± 4.8% ($p < 0.05$).

В препаратах контрольной группы животных ИЛ-13 вызывал увеличение сократительных ответов до 170.2 ± 7.2% в препаратах трахеи и до 160.3 ± 6.8% в препаратах бронхов (рис. 4). В экспериментальной модели бронхиальной астмы сократительные ответы достигали 209.2 ± 9.2% в препаратах трахеи и 190.1 ± 8.4% в препаратах бронхов. При поступлении в камеры с препаратами ИЛ-13 сократительные ответы возрастали в препаратах трахеи до 258.4 ± 5.4%, в препаратах бронхов – до 230.2 ± 4.1% ($p < 0.05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Введение ИЛ-1β приводило к достоверному понижению сократительных ответов мышцы трахеи и бронхов крысы на фоне физиологического раствора у кон-

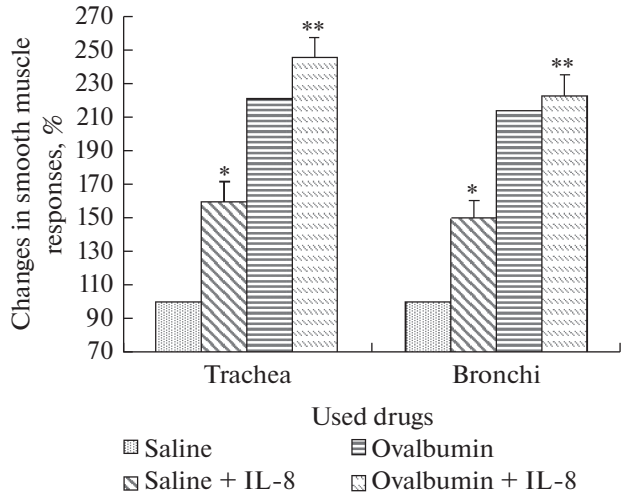

Рис. 3. Сократительные ответы гладкой мышцы трахеи и бронхов в результате влияния ИЛ-8 на фоне физиологического раствора (контрольная группа) и на фоне овальбумина (экспериментальная группа). * – достоверное ($p < 0.05$) отличие от контрольных значений; ** – достоверное ($p < 0.05$) отличие от значений ответов на фоне овальбумина.

ИЛ-8 приводит к увеличению сократительных ответов трахеи и бронхов крысы как в контрольной (на фоне физиологического раствора), так и в экспериментальной группе (в модели экспериментальной бронхиальной астмы, развившейся на фоне влияния овальбумина).

Fig. 3. Contractile responses of smooth muscle of the trachea and bronchi as a result of the influence of IL-8 on the background of physiological saline (control group of animals) and on the background of ovalbumin (experimental group of animals). * – significant ($p < 0.05$) difference from control values; ** – significant ($p < 0.05$) difference from the response values on the background of ovalbumin.

IL-8 leads to an increase in contractile responses of rat trachea and bronchi both in the control group (against the background of physiological saline) and in the experimental group (in the model of experimental bronchial asthma that developed against the background of the influence of ovalbumin).

трольной группы животных. В экспериментальной группе на фоне сенсибилизации овальбумином ИЛ-1β оказывал аналогичный эффект и приводил к достоверному снижению ответов трахеи и бронхов. Однако понижение ответов у крыс с аллергией значительно превышало нормальные значения, полученные на фоне физиологического раствора. Найденные результаты могут свидетельствовать о релаксационном эффекте ИЛ-1β как в условиях нормы, так и в условиях экспериментальной модели бонхиальной астмы. Эти данные могут подтверждать результаты экспериментов, опубликованных Дониной и соавт. В этом исследовании при внутривенном введении раствора ИЛ-1β взрослым крысам было получено значительное увеличение дыхательного объема и минутного объема дыхания, что невозможно без улучшения состояния вентиляционной функции дыхательных путей [33]. Тем не менее, в литературе имеются сведения о провоспалительной роли данного цитокина в патогенезе астмы. У пациентов с бронхиальной астмой увеличена секреция этого интерлейкина, с чем связывают обильную продукцию слизи и местную воспалительную реакцию [24]. Возможно предположить, что повышенная подукция ИЛ-1β наблюдается при развитии бронхиальной астмы, но на гладкую мускулатуру респираторных путей данный интерлейкин оказывает релаксационный эффект. Этот эффект можно рассматривать как компенсаторный механизм, нацеленный на улучшение функции внешнего дыхания.

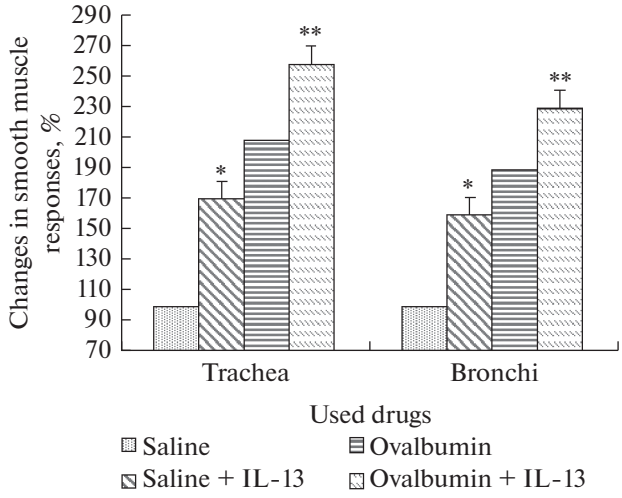

Рис. 4. Сократительные ответы гладкой мышцы трахеи и бронхов в результате влияния ИЛ-13 на фоне физиологического раствора (контрольная группа) и на фоне овальбумина (экспериментальная группа). * – достоверное ($p < 0.05$) отличие от контрольных значений; ** – достоверное ($p < 0.05$) отличие от значений ответов на фоне овальбумина.

ИЛ-13 приводит к увеличению сократительных ответов трахеи и бронхов крысы как в контрольной (на фоне физиологического раствора), так и в экспериментальной группе (в модели экспериментальной бронхиальной астмы, развившейся на фоне влияния овальбумина).

Fig. 4. Contractile responses of smooth muscle of the trachea and bronchi as a result of the influence of IL-13 on the background of physiological saline (control group) and on the background of ovalbumin (experimental group). * – significant ($p < 0.05$) difference from control values; ** – significant ($p < 0.05$) difference from the response values on the background of ovalbumin.

IL-13 leads to an increase in contractile responses of rat trachea and bronchi both in the control group (against the background of physiological saline) and in the experimental group (in the model of experimental bronchial asthma that developed against the background of the influence of ovalbumin).

Перфузия раствором ИЛ-4 приводила к увеличению сократительных ответов гладкой мышцы трахеи и бронхов крыс как в условиях нормы, так и при патологии. Такой эффект может быть обусловлен наличием рецепторов к ИЛ-4 на структурах респираторного тракта – гладкой мышцы, нейронах интрамурального ганглия, С-волокнах, тучных клетках. Учитывая более выраженную сократительную реакцию в ответ на перфузию раствора ИЛ-4 у животных с аллергией, можно предположить увеличение экспрессии рецепторов ИЛ-4 по сравнению с контрольной группой. Эти результаты могут найти подтверждение в исследованиях Gounni и соавт. [34]. Можно предположить активацию этих стуктур ИЛ-4 с проявлением констрикторного эффекта. Полученные результаты свидетельствует о местном влиянии ИЛ-4 на структуры респираторного тракта и подтверждают его значение в качестве терапевтической мишени при лечении бронхиальной астмы.

ИЛ-8 приводил к выраженному сокращению трахеи и бронхов гладкой мускулатуры крысы как на фоне физиологического раствора, так и после повторного введения овальбумина. Полученные результаты можно связать с прямым воздействием ИЛ-8 на гладкую мышцу с последующим запуском Ca^{2+}-опосредованной сократительной реакции [20]. Также нельзя исключать возможность присутствия рецепторов ИЛ-8 на других структурах респираторного тракта, прямое воздействие на которые могло привести к увеличению сокращения.

Эффект ИЛ-13 на гладкую мыщцу трахеи и бронхи крысы был аналогичен эффектам ИЛ-4 и ИЛ-8. Выраженные увеличения сократительных ответов наблюдались как в препаратах трахеи, так и в препаратах бронхов в норме и при патологии. В сравнении с ответами мышцы на ИЛ-8 и ИЛ-4, сократительные ответы на ИЛ-13 были самыми выраженными, что может указывать на ведущее значение этого интерлейкина в патогенезе бронхиальной астмы *in situ*. Эти данные подтверждаются данными Hanan и соавт. в эсперимента на мышах [25].

Таким образом, изученные интерлейкины играют существенную роль в механизмах развития бронхиальной астмы в исследованиях *in situ*. ИЛ-4, ИЛ-8 и ИЛ-13 вызывают увеличение сократительных ответов гладкой мышцы трахеи и бронхов крыс при экспериментальных условиях с применением постганглионарной стимуляции. Исследованные интерлейкины вызывают увеличение сократительной реакции как условиях нормы, так и при моделировании бронхиальной астмы. Наибольший вклад в сокращении мышцы оказывает ИЛ-13 – ответы на этот интерлейкин мышцы трахеи и бронхов в условиях стимуляции постганглионарных нервов были самыми выраженными.

ИЛ-1β, в отличие от ИЛ-4, ИЛ-8 и ИЛ-13, приводил к релаксационному эффекту на гладкую мышцу при условии стимуляции нервов электрическим полем. Несмотря на то, что на уровне целого организма ИЛ-1β вызывает генерализованную воспалительную реакцию, усугубляющую протекание бронхиальной астмы, *in situ* ИЛ-1β оказывает релаксационный эффект на гладкую мышцу, что может быть рассмотрено как компенсаторный механизм, поддерживающий фунцию внешнего дыхания.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Трулев А.С., Кудрявцев И.В., Назаров П.Г.* Факторы острой фазы воспаления как модуляторы взаимодействия тучных клеток и фибробластов. Бюлл. восточно-сибирского научн. центра Сибирск. Отделения Рос.акад. мед. наук. 85: 319–322. 2012. [*Trulev A.S., Kudryavtsev I.V., Nazarov P.G.* Factors of the acute phase of inflammation as modulators of the interaction of mast cells and fibroblasts. Bull. East Siberian Scient. Center Siberian Branch Russ. Acad. Med. Sci. 85: 319–322. 2012. (In Russ)].
2. *Донина Ж.А., Баранова Е.В., Александрова Н.П.* Влияние провоспалительного цитокина интерлейкина 1-β на резистентность организма к острой гипоксии. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 102: 1333–1342. 2016. [*Donina Zh.A., Baranova E.V., Aleksandrova N.P.* The effect of pro-inf lammatory cytokine interleukin 1-β on the body's resistance to acute hypoxia. Russ J. Physiol. 102: 1333–1342. 2016. (In Russ)].
3. *Liu Y.C., Khawaja A.M., Rogers D.F.* Pathophysiology of airway mucus secretion in asthma. In: Asthma, basic mechanisms and clinical management. *Barnes P.J., Rodger I.W., Thomson N.C.* (Eds.) London. Acad. Press. 19: 205–207. 1998.
4. *Hofstetter A.O., Herlenius E.* Interleukin-1β depresses hypoxic gasping and autoresuscitation in neonatal DBA/1lacJ mice. Respir. Physiol. Neurobiol. 146: 135–146. 2005.
5. *Roger T., Out T., Mukaida N., Matsushima K., Jansen H., Lutter R.* The increased activity of AP-1 and NF-kappaB and the stability of interleukin 8 (IL-8) transcripts are involved in superduction of IL-8 mRNA in lung epithelial cells. Biochem. J. 330: 429–435. 1998.
6. *Gu Q., Lee L.Y.,* Pulmonary chemoreflex sensitivity is enhanced by intratracheal instillation of interleukin-1b in anesthetized rats. Respir. Crit. Care Med. J. 169: 26-32. 2004.
7. *Moxley G., Meulenbelt I., Chapman K., van Diujn C.M., Eline Slagboom P., Neale M.C., Smith A.J.P., Carr A.J., Loughlin J.* Interleukin-1 region meta-analysis with osteoarthritis phenotypes. Osteoarthritis Cartil. J. 18: 200–210. 2010.
8. *Che Xiao-wen Y., Zhang H., Wang W.* Effect of ligustrazine injection on levels of interleukin-4 and interferon-γ in patients with bronchial asthma. Chin. J. Integrat. Med. 14: 217–220. 2008.

9. *Liu X.J., Xin Z.L.* A study on using IL-4 and IFN-gamma to regulate IgE synthesis in bronchial asthma patients in vitro. Chin. J. Tubercul. Respir. Dis. 19: 186–189. 1996.
10. *Stone K.D., Prussin C., Metcalfe D.D.* IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. Allergy Clin. Immunol. J. 125: 73–80. 2010.
11. *Wenzel S., Ford L., Pearlman D., Spector S., Sher L., Skobieranda F., Wang L., Kirkesseli S., Rocklin R., Bock B., Hamilton J., Ming J.E., Radin A., Stahl N., Yancopoulos G.D., Graham N., Pirozzi G.* Dupilumab in persistent asthma with elevated eosinophil levels. N. Engl. Med. J. 368: 2455–2466. 2013.
12. *Чучалин А.Г.* Бронхиальная астма: новые перспективы в терапии. Казанск. мед. журн. 92: 676–684. 2011. [*Chuchalin A.G.* Bronchial asthma: new perspectives in therapia. Kazan. Med. J. 92: 676–684. 2011. (In Russ)].
13. *Ahmadi M., Rahbarghazi R., Shahbazfar A., Baghban H., Keyhanmaneshet R.* Bone marrow mesenchymal stem cells modified pathological changes and immunological responses in ovalbumin-induced asthmatic rats possibly by the modulation of miRNA155 and miRNA133. Gen. Physiol. Biophys. J. 37: 263–274. 2018.
14. *Guo H.W., Chen-Xia Y., Guang-Han H., Jun D., Xin H., Yi L., Keller E.T., Jian Z., Jia-Gang D.* Mangiferin attenuates Th1/Th2 cytokine imbalance in an ovalbumin-induced asthmatic mouse model. PLoS J. 9: 78–94. 2014.
15. *Ahmadi M., Shahbazfar A., Rahbarghazi R., Baghban H., Keyhanmaneshet R.* Monitoring IL-13 expression in relation to miRNA-155 and miRNA-133 changes following intra-tracheal administration of mesenchymal stem cells and conditioned media in ovalbumin-sensitized rats. Thai. Vet. Med. J. 48: 347–355. 2018.
16. *Ha H., Debnath B., Neamati N.* Role of the CXCL8-CXCR1/2 axis in cancer and inflammatory diseases. Theranostics. J. 7: 43–88. 2017.
17. *Tabary O., Zahm J.M., Hinnrasky J., Couetil J.P., Cornillet P., Guenounou M., Gaillard D., Puchelle E., Jacquot J.* Selective up-regulation of chemokine IL-8 expression in cystic fibrosis bronchial gland cells in vivo and in vitro. Am. Pathol. J. 153: 921–930. 1998.
18. *Yue T.L., McKenna P.J., Gu J.L., Feuerstein G.Z.* Interleukin-8 is chemotactic for vascular smooth muscle cells. Eur. Pharmacol. J. 240: 81-84. 1993.
19. *Fujimura M., Myou S., Nomura M., Mizuguchi M., Matsuda T., Harada A., Mukaida N., Matsushima K., Nonomura A.* Interleukin-8 inhalation directly provokes bronchoconstriction in guinea pigs. Allergy J. 54: 386–391.1999.
20. *Govindaraju V., Michoud M.C., Ferraro P., Arkinson J., Safka K., Valderrama-Carvajal H., Valderrama-Carvajal J., Martin G.* The effects of interleukin-8 on airway smooth muscle contraction in cystic fibrosis. Respirat. Res. J. 9: 76–86. 2008.
21. *Coalson J.J., Winter V.T., Siler-Khodr T., Yoder B.A.* Neonatal chronic lung disease in extremely immature baboons. Am. Resp. Crit. Care Med. J. 160: 1333–1346. 1999.
22. *Nakajima H.L., Takatsu K.* Role of cytokines in allergic airway inflammation. Int. Arch. Allergy Immunol. J. 142: 265–273. 2007.
23. *Brusselle G.G., Maes T., Bracke K.R.* Bedside to bench: eosinophilic airway inflammation in nonallergic asthma. Nat. Med. J. 19: 977–979. 2013.
24. *Amin K., Janson C., Boman G., Venge P.* The extracellular deposition of mast cell products is increased in hypertrophic airways smooth muscles in allergic asthma but not in nonallergic asthma. Allergy J. 60: 1241–1247. 2005.
25. *Farghaly H.S.M., Blagbrough I.S., Medina-Tato D.A., Watson M.L.* Department of Pharmacy and Pharmacology. United Kingdom J. 17: 87–98. 2008.
26. *Eum S.Y., Maghni K., Tolloczko B., Eidelman D.H., Martin J.G.* IL-13 may mediate allergen-induced hyperresponsiveness independently of IL-5 or eotaxin by effects on airway smooth muscle. Am. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol. J. 288: 576–584. 2005.
27. *Duan W., Aguinaldo A.M., Leung B.P., Vlahos C.J., Wong W.S.* An anti-inflammatory role for a phosphoinositide 3-kinase inhibitor LY294002 in a mouse asthma model. Int. Immunopharmacol. J. 5: 495–502. 2005.
28. *Smyth D.J., Plagnol V., Walker N.M., Cooper J.D., Downes K., Yang J.H.M., Howson J.M.M., Stevens H., McManus R., Wijmenga C., Heap G.A., Dubois P.C., Clayton D.G., Hunt K.A., van Heel D.A., Todd J.A.* Shared and distinct genetic variants in type 1 diabetes and celiac disease. N. Engl. Med. J. 359: 27–67. 2008.
29. *Close B., Banister K., Baumans V., Warwick C.* Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. DGXT of the European Commission. Lab. Animals J. 31: 1–32. 1997.
30. *Hatziefthimiou A., Karetsi E., Pratzoudis E., Gourgoulianis K., Molyydas P.* Resting tension on airway smooth muscle: the involvement of epithelium. Respir. Physiol. Neurobiol. J. 145: 201–208. 2005.
31. *Федин А.Н., Алиева Е.В., Ноздрачев А.Д.* Реакции гладкой мышцы трахеи на гистамин. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 83: 102–108. 1997. [*Fedin A.N., Alieva E.V., Nozdrachev A.D.* Reactions of the smooth muscle of the trachea to histamine. Russ. J. Physiol. 83: 102–108. 1997. (In Russ)].

32. *Masakazu Y., Osamu S., Kenji N., Tetsuji M., Koji S.* Propofol Attenuates Ovalbumin-Induced Smooth Muscle Contraction of the Sensitized Rat Trachea: Inhibition of Serotonergic and Cholinergic Signaling. Anesthesia & Analgesia J. 3: 594–600. 2006.
33. *Донина Ж.А., Е.В. Баранова, Александрова Н.П.* Ингибирование гиперпродукции оксида азота в условиях прогрессивно нарастающей гипоксии на фоне действия ИЛ-1β снижает выживаемость крыс после острой гипоксии. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 105: 1514–1525. 2019. [*Donina Zh.A., Baranova E.V., Aleksandrova N.P.* Inhibition of hyperproduction of nitric oxide under conditions of progressively increasing hypoxia against the background of the action of IL-1β reduces the survival of rats after acute hypoxia. Russ. J. Physiol. 105: 1514–1525. 2019. (In Russ)].
34. *Gounni A.S., Wellemans V., Yang J., Bellesort F., Kassiri K., Gangloff S., Guenounou M., Halayko A.J., Lamkhioued Q.H., Lamkhioued B.* Human Airway Smooth Muscle Cells Express the High Affinity Receptor for IgE (FcεRI): A Critical Role of FcεRI in Human Airway Smooth Muscle Cell Function. Immunol. J. 175: 2613–2621. 2005.

Influence of Interleukins on Contraction of Muscle of Trachea and Rat Bronches

V. M. Kirilina[a], O. E. Smirnova[a], L. E. Blazhevich[a], *, and A. I. Krivchenko[b]

[a] *Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia*

[b] *Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

**e-mail: lyu15041988@yandex.ru*

The article considers the role of IL-1β, IL-4, IL-8 and IL-13 in contractile activity of smooth muscles of trachea and bronchi. Studies were conducted on isolated preparations with using of electrical stimulation of the postganglionic nerves (frequency – 30 stimules/s, duration – 0.5 ms, amplitude – 20 V, duration of stimulation – 10 s.). Two groups of animals were formed: a control group (received an intraperitoneal injection of saline solution) and an experimental group with bronchial asthma (received an intraperitoneal injection of ovalbumin with its repeated administration after 14 days). Further, the tracheal and bronchi muscle contraction was evaluated after repeated ovalbumin administration and after perfusion with interleukin solutions. The study found that IL-4, IL-8 and IL-13 lead to a large increase in contractile responses of the smooth muscle of the trachea and bronchi both in the control group of animals and in the group of animals with ovalbumin-induced bronchial asthma. IL-1β leads to a relaxation effect on the tracheal and bronchi muscle in conditions of physiological norm and pathology, which can be considered as a compensatory mechanism that supports the function of external respiration.

Keywords: proinflammatory cytokines, experimental model of bronchial asthma, smooth muscles of the trachea and bronchi

ЦИТИРОВАТЬ:

Кирилина В.М., Смирнова О.Е., Блажевич Л.Е., Кривченко А.И. Влияние интерлейкинов на сокращения мышцы трахеи и бронхов крысы. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 107(1): 4–15. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010064

TO CITE THIS ARTICLE:

Kirilina V. M., Smirnova O. E., Blazhevich L. E., Krivchenko A. I. Influence of interleukins on contraction of muscle of trachea and rat bronches. Russian Journal of Physiology. 107(1): 4–15. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010064

РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2021, том 107, № 1, с. 16–27

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ЭФФЕКТ ОЗОНА НА КИСЛОРОДТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ И ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС КРОВИ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА NO-ГЕНЕРИРУЮЩУЮ СИСТЕМУ В ОПЫТАХ *IN VITRO*

© 2021 г. В. В. Зинчук[1, *], Е. С. Билецкая[1], И. Э. Гуляй[1]

[1]Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь
**E-mail: zinchuk@grsmu.by*

Поступила в редакцию 23.06.2020 г.
После доработки 17.09.2020 г.
Принята к публикации 19.10.2020 г.

Озон обладает широким спектром физиологических эффектов, в частности, улучшает реологические свойства крови, оказывает влияние на кислородзависимые процессы. Цель данного исследования – изучить эффект озона на кислородтранспортную функцию и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах *in vitro*. Для исследования использовалась концентрация озона 6 мг/л и препараты, влияющие на синтез монооксида азота в эритроцитах (нитроглицерин, L-аргинин и L-NAME). Применение нитроглицерина приводило к усилению эффекта озона на кислородтранспортную функцию (проявляющегося ростом PO_2, SO_2, $P_{50\ реал.}$) и росту концентрации газотрансмиттеров NO и H_2S. При добавлении L-аргинина, L-NAME и их комбинации к образцам крови изменения исследуемых параметров не отмечались. В условиях модификации образования монооксида азота в наших опытах показатели перекисного окисления липидов (малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты) и антиоксидантной защиты (каталаза, ретинол, α-токоферол) существенно не изменились.

Ключевые слова: озон, кровь, кислород, газотрансмиттер, монооксид азота, L-аргинин, нитроглицерин

DOI: 10.31857/S0869813921010106

В клинической практике широко применяются методы терапии, основанные на использовании озона. Данный газ обладает широким спектром действия, в частности, иммунокоррегирующим, антигипоксическим и антиоксидантным [1]. Озон увеличивает содержание кислорода в артериальной и венозной крови, улучшает ее реологические свойства и кислородзависимые процессы [2]. Ранее нами было показано, что инкубация крови с озонированным физиологическим раствором в диапазоне концентраций от 2 до 10 мг/л обусловливает изменение кислородтранспортной функции крови (КТФ), проявляющееся в увеличении PO_2, SO_2 и уменьшении сродства гемоглобина к кислороду (СГК), выраженность которых усиливается с увеличением концентрации озона и сопровождается ростом концентрации нитрат/нитритов и сероводорода в плазме крови [3].

Монооксид азота (NO) через изменение различных механизмов формирования функционального статуса эритроцитов обеспечивает адаптацию организма к гипоксии [4]. Инкубация суспензии эритроцитов с нитроглицерином (5 нг/мл) в Na-фос-

фатном буфере в течение 24 ч приводит к повышению сродства гемоглобина к кислороду, что указывает на возможность влияния нитроглицерина на данный параметр [5]. Также показано, что при инкубировании крови с S-нитрозоцистеином отмечается снижение $P_{50\ станд.}$ с 33.2 до 30.3 мм рт. ст. [6]. Однако участие NO в реализации эффектов озона на кислородсвязывающие свойства и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови недостаточно изучено.

Исходя из вышеизложенного, цель настоящей работы – изучить эффект озона на КТФ и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах *in vitro*.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты *in vitro* выполнялись на образцах крови, забранных от белых крыс-самцов массой 250–300 г ($n = 15$), предварительно содержавшихся в стандартных условиях вивария. В условиях адекватного наркоза (50 мг/кг тиопентала натрия, интраперитонеально) проводили забор смешанной венозной крови из правого предсердия в объеме 8 мл в предварительно подготовленный шприц с гепарином, из расчета 50 ЕД на 1 мл крови. Исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями комитета по биомедицинской этике и деонтологии учреждения образования Гродненский государственный медицинский университет.

Образцы крови были разделены на 6 экспериментальных групп: контрольная (1-я) и опытные (2-я–6-я). В опытные группы к 3 мл крови добавляли 1 мл озонированного изотонического раствора хлорида натрия (в 1-ю – без озонирования) и 0.1 мл растворов, содержащих препараты, влияющие на синтез монооксида азота (во 2-ю группу – изотонический раствор хлорида натрия): 3-ю – нитроглицерин в конечной концентрации 0.05 ммоль/л (SchwarzPharma AG), 4-ю – L-аргинин 3 ммоль/л (Sigma-Aldrich), 5-ю – N(ω)-nitro-L-arginine methyl ester 1.25 ммоль/л (L-NAME, Sigma-Aldrich), 6-ю – комбинацию L-NAME и L-аргинин, после чего пробы перемешивали. Время инкубации составило 60 мин. Изотонический раствор хлорида натрия барботировался озоно-кислородной смесью, создававшейся озонотерапевтической установкой УОТА-60-01-Медозон (Россия), в которой осуществлялся контроль концентрации озона.

После добавления озона на газоанализаторе Stat Profile pHOx plus L в крови при 37°C определяли показатели КТФ: парциальное давление кислорода (PO_2), степень оксигенации (SO_2) и кислотно-основного состояния: парциальное давление углекислого газа (PCO_2), стандартный бикарбонат (*SBC*), реальный/стандартный недостаток (избыток) буферных оснований (*ABE*/*SBE*), гидрокарбонат (HCO_3^-), концентрация водородных ионов (pH), общая углекислота плазмы крови (TCO_2). Сродство гемоглобина к кислороду (СГК) оценивали спектрофотометрическим методом по показателю $P_{50\ реал.}$ (PO_2 крови при 50%-ном насыщении ее кислородом). По формулам Severinghaus [7] рассчитывали значение $P_{50\ станд.}$ и положение кривой диссоциации оксигемоглобина. Затем кровь центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об./мин, отбирали плазму, а эритроциты трижды отмывали изотоническим раствором хлорида натрия.

Содержание малонового диальдегида в эритроцитах определяли по взаимодействию с 2'-тиобарбитуровой кислотой, которая при высокой температуре в кислой среде реагирует с малоновым диальдегидом с образованием окрашенного триметилового комплекса с максимумом поглощения при длине волны 535 нм на спектрофотометре PV1251C СОЛАР (Беларусь) [8]. Уровень диеновых конъюгатов определяли по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического

светового потока в области спектра 232–234 нм, характерного для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов на спектрофлуориметре СМ 2203 СОЛАР (Беларусь) [9]. Для определения активности каталазы в гемолизатах использовали метод Королюк, основанный на спектрофотометрической регистрации количества окрашенного продукта реакции H_2O_2 с молибденовокислым аммонием [10]. Концентрацию α-токоферола и ретинола регистрировали по методу Taylor на спектрофлуориметре СМ 2203 СОЛАР (Беларусь) [11]. Продукцию эндогенного NO оценивали по суммарному содержанию нитрат/нитритов (NO_3^-/NO_2^-) в плазме крови спектрофотометрическим методом с реактивом Грисса при длине волны 540 нм [12]. Уровень эндогенного сероводорода (H_2S) в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом, основанном на реакции между сульфид-анионом и раствором N,N-диметил-парафенилендиамина солянокислого в присутствии хлорного железа при длине волны 670 нм [13]. Концентрацию газотрансмиттеров рассчитывали по калибровочным графикам, и результаты выражали в мкмоль/л.

Все показатели проверяли на соответствие признака закону нормального распределения с использованием критерия Шапиро–Уилка. С учетом этого были использованы методы непараметрической статистики с применением программы Statistica 10.0. Сравнение трех и более независимых групп проводили с помощью рангового дисперсионного анализа Крускала–Уоллиса. Достоверность полученных данных с учетом размеров малой выборки, множественных сравнений оценивалась с использованием U-критерия Манна–Уитни. Результаты представлены как медиана (Me), 25-й и 75-й квартили. Величина *p* рассчитана с учетом поправки Бонферрони–Холма. Уровень статистической значимости принимали при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В табл. 1 представлены данные о характере изменения КТФ крови под воздействием озона в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах *in vitro*. Инкубация крови с озонированным изотоническим раствором хлорида натрия обусловливает изменение ее КТФ, проявляющееся в росте таких показателей, как PO_2 – на 21.5% ($p < 0.05$); SO_2 – на 6.9% ($p < 0.05$) в сравнении с контролем.

Показатель СГК $P_{50\ реал.}$ под воздействием озона возрастает на 15.4% ($p < 0.05$), что свидетельствует о сдвиге кривой диссоциации оксигемоглобина вправо (рис. 1). Схожая динамика изменений была и по показателю $P_{50\ станд}$. Также в этой группе наблюдался сдвиг реакции крови в щелочную сторону, что подтверждается ростом значения pH по сравнению с контролем.

В остальных группах (3–6) исследования были проведены в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах *in vitro*. Выявлено, что введение нитроглицерина приводит к усилению эффекта озона на КТФ крови. При этом отмечалось увеличение PO_2 на 24.5% ($p < 0.05$), SO_2 на 14.2% ($p < 0.05$), показателя $P_{50\ реал.}$ на 13.9% ($p < 0.05$) и соответственно фиксировалась большая степень сдвига кривой диссоциации оксигемоглобина вправо (рис. 1) по сравнению с группой, получавшей только озон. При добавлении L-аргинина, L-NAME и их комбинации изменения данных параметров, а также кислотно-основного состояния крови (PCO_2, SBC, ABE/SBE, HCO_3^-, pH, TCO_2) не наблюдалось.

В табл. 2 представлены данные о характере изменения показателей процессов перекисного окисления липидов и состояния системы антиоксидантной защиты. Инкубация крови с озонированным изотоническим раствором хлорида натрия приводила к увеличению содержания диеновых коньюгатов, малонового диальдегида и активности каталазы в эритроцитарной массе. В условиях воздействия на NO-генерирующую систему в наших опытах показатели перекисного окисления

Таблица 1. Эффект озона на кислородтранспортную функцию крови в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах *in vitro*
Table 1. The effect of ozone on the oxygen transport function of blood under conditions of changes in the formation of nitrogen monoxide *in vitro* experiments

Показатель Parameter	Контроль Control	Озон Ozone	Озон + Нитроглицерин Ozone + Nitroglycerin	Озон + L-аргинин Ozone + L-arginine	Озон + L-NAME Ozone + L-NAME	Озон + L-NAME + L-аргинин Ozone + L-NAME + L-arginine
n	10	10	10	10	10	10
SO_2, %	31.6 [26.3; 32.2]	33.8 [32.4; 34.7] *	38.6 [33.9; 41.8]*#	31.6 [31; 33.8]	30.5 [27.9; 30.9]#	32.6 [31.1; 33.4]
PO_2, мм рт. ст. mmHg	19.5 [17.8; 19.6]	23.7 [22.3; 24.6]*	29.5 [26.8; 30.1]*#	21.7 [20.7; 21.9]*#	21.9 [21.8; 22.4]*	21.4 [20.9; 21.8]*#
pH, ед units	7.412 [7.410; 7.413]	7.432 [7.428; 7.437]*	7.441 [7.439; 7.467] *	7.436 [7.406; 7.478] *	7.411 [7.401; 7.431]	7.446 [7.432; 7.469] *
PCO_2, мм рт. ст. mm Hg	34.3 [32.8; 35.7]	28.3 [27.9;30.1]*	29.5 [24; 30.8]*	26.2 [22.3; 32.3]	31.2 [30.5; 32.5]*	28.3 [26; 2.32]*
HCO_3^-, ммоль/л mmol/L	21.8 [21; 22.5]	19.9 [19.1; 20.3]*	19.6 [17.6; 20.2]*	20.5 [19.2; 20.6]	19.9 [19.5; 20.5]*	20.2 [19.5; 21.1]
TCO_2, ммоль/л mmol/L	22.9 [22; 23.6]	20.8 [20; 21.7]*	20.7 [18.4; 21.1]*	21.3 [20.1; 21.6]	20.8 [20.6; 21.5]*	21 [20.; 22.1]
ABE, ммоль/л mmol/L	–3.3 [–3.9; –2.5]	–4.7 [–5.4; –4.1]*	–5.7 [–6.5; –4.1]*	–4.05 [–4.6; –2.1]	–4.9 [–5.6; –4.3]	–3.7 [–4.4; –2.8]
SBE, ммоль/л mmol/L	–1.9 [–2.5; –1.3]	–3.2 [–3.9; –2.7]*	–3.8 [–4.6; –2.7]*	–2.7 [–3.13; –0.6]	–3.4 [–4.1; –2.9]	–2.1 [–2.9; –1.4]
SBC, ммоль/л mmol/L	21.9 [21.3; 22.3]	20.9 [20.4; 21.4]	20.5 [19.8; 21.3]	21.4 [20.9; 23.1]	20.8 [20.3; 21.2]	21.9 [21.2; 22.4]
$P_{50\ реал.}$, мм рт. ст. mm Hg	26.7 [26.5; 26.9]	30.8 [29.3;32.8]*	35.1 [34.3; 36.2]*#	28.3 [27.4; 29.2]*#	29.5 [26.5; 30.3]	28.7 [28.2; 29.1]*#
$P_{50\ станд.}$, мм рт. ст. mm Hg)	26.6 [26.4; 26.7]	31.8 [29.7; 33.8]*	36.5 [35.5; 36.9]*#	30.3 [28.6; 32.7]*	29.9 [26.5; 30.9]	29.4 [28.5; 30.7]*

Данные представлены как медиана [25-ый квартиль – 75-ый квартиль]. * – $p < 0.05$ изменения в сравнении с контрольной группой; # – $p < 0.05$ с озоном.
Results are presented as median [25th quartile – 75th quartile]. * – $p < 0.05$ changes compared to the control; # $p < 0.05$ – with ozone.

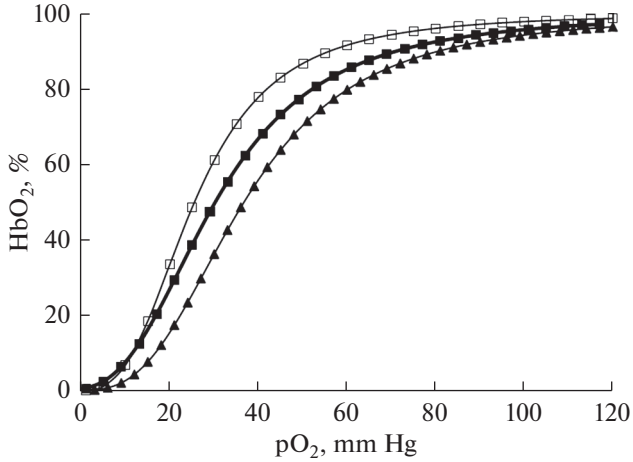

Рис. 1. Эффект озона на положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH и PCO_2. Обозначения: □ – контроль; ■ – озон; ▲ – озон + нитроглицерин.
Fig. 1. The effect of ozone on the position of the oxyhemoglobin dissociation curve at real pH and PCO_2 values. Designation: □ – control; ■ – ozone; ▲ – ozone + nitroglycerin.

липидов (малоновый диальдегидМДА, ДК) существенно не изменялись. При добавлении нитроглицерина и L-аргинина в присутствии озона происходило повышение концентрации ретинола и α-токоферола, а в остальных группах подобная тенденция не наблюдалась.

Суммарное содержание NO_3^-/NO_2^- в плазме крови (рис. 2) под действием озона возрастала (на 39.2%, $p < 0.05$). При добавлении нитроглицерина в этих условиях концентрация NO_3^-/NO_2^- существенно увеличивалась (на 183.5%, $p < 0.05$ по сравнению с группой, в которую вводили только озон). Уровень газотрансмиттера H_2S (рис. 2) под действием озона возрастал (на 44.8%, $p < 0.05$). При добавлении нитроглицерина или L-аргинина этот показатель также повышался (на 35.3% и на 41.6%, $p < 0.05$ по сравнению с группой, в которую вводили только озон). Добавление L-NAME или его комбинации с L-аргинином в условиях действия озона не приводило к увеличению содержания данных газотрансмиттеров по сравнению с группой, в которую вводили только озон.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работах некоторых исследователей при введении озонированного изотонического раствора на различных моделях наблюдалось увеличение показателей КТФ [14, 27]. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что при инкубации крови с озоном происходит увеличение PO_2 и SO_2. Также в проведенном нами исследовании установлено уменьшение СГК. Согласно полученным результатам, в данном эффекте озона имеет значение рост концентрации 2,3-дифосфоглицерата в эритроцитах [15] и увеличение образования монооксида азота, исходя из роста его концентрации.

В этом аспекте важно отметить, что нитроглицерин, согласно нашим результатам, усиливает эффект озона на СГК, а также на PO_2 и SO_2, что предполагает участие NO-зависимых механизмов внутриэритроцитарной системы в формировании

Таблица 2. Эффект озона на концентрацию газотрансмиттеров и показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах *in vitro*
Table 2. Effect of ozone on the concentration of gas transmitters and indicators of the prooxidant-antioxidant balance of the blood under conditions of changes in the formation of nitrogen monoxide *in vitro* experiments

Показатель Parameter	Контроль Control	Озон Ozone	Озон + Нитроглицерин Ozone + Nitroglycerin	Озон + L-аргинин Ozone + L-arginine	Озон + L-NAME Ozone + L-NAM	Озон + L- NAME + + L-аргинин Ozone + L- NAME + L-arginine
n	10	10	10	10	10	10
МДА, мкмоль/л MDA, μmol /L	4.79 [4.25;5.77]	15.71 [14.80; 15.78]*	12.63 10.48; 15.87]*	14.31 [13.43; 15.57]*	14.70 [13.63, 15.27]*	15.46 [14.14; 16.92]*
ДК, ЕД/мл DK, U/ml	18.08 [17.34; 18.56]	22.25 [19.37; 23.47]*	20.545 [20.31; 21.45]*	22.43 [21.83; 24.31]*	22.38 [18.73; 24.17]*	22.10 [19.68; 22.81]*
Каталаза, ммоль H_2O_2/мин/г Hb Catalase, mmol H_2O_2/min/g Hb	10.53 [10.25; 10,88]	14.89 [14.18; 16.57] *	16.04 [15.93; 16.77]*	14.34 [13.72; 15.92]*	12.65 [11.81;13.51]*#	12.33 [11.02; 12.85]#
Ретинол, мкмоль/л Retinol, μmol /L	0.85 [0.81; 0.87]	0.93 [0.87; 0.96]	1.14 [1.08; 1.7]*	1.04 [0.96; 1.14]*	0.88 [0.85; 1.02]	0.95 [0.78; 1.04]
α-токоферол, мкмоль/л α-tocopherol, μmol /L	8.26 [8.02; 8.44]	13.57 [11.18; 14.76]	19.10 [17.36; 20.96]*	16.62 [15.00; 19.49]*	11.75 [10.48; 13.06]	12.01 [9.62; 13.56]

МДА – малоновый диальдегид, ДК – диеновые коньюгаты. Данные представлены, как медиана [25-ый квартиль – 75-ый квартиль]. *– $p < 0.05$ достоверные изменения в сравнении с контрольной группой; # – $p < 0.05$ с озоном.
MDA – malonic dialdehyde, DK – diene conjugates. Results are presented as median [25th quartile – 75th quartile]. *– $p < 0.05$ достоверные изменения в сравнении с контрольной группой; # – $p < 0.05$ с озоном. *– $p < 0.05$ changes in comparison with the control; # – $p < 0.05$ with ozone.

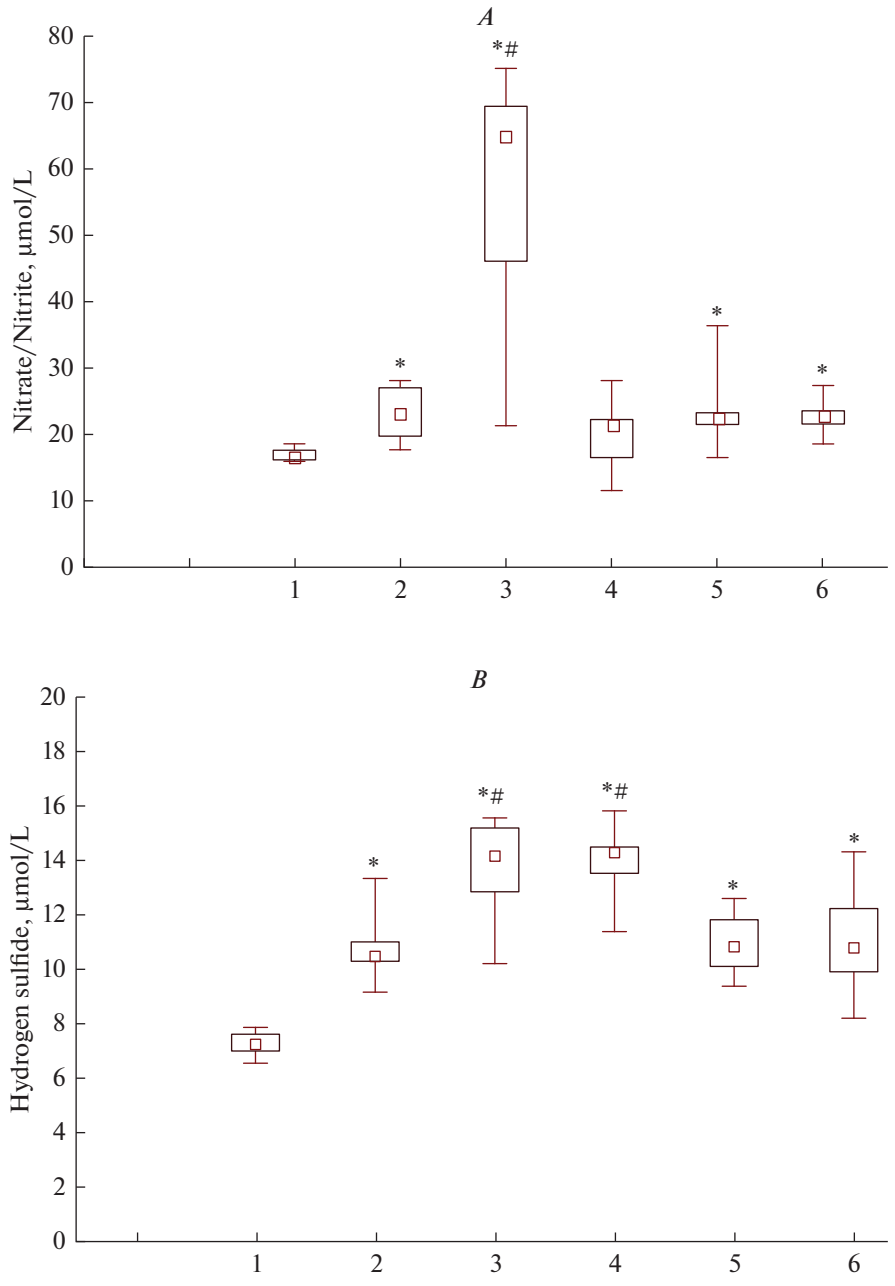

Рис. 2. Концентрация нитрат/нитритов (*A*) и сероводорода (*B*) в плазме крови в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах *in vitro*. 1 – контроль, 2 – озон, 3 – озон + нитроглицерин, 4 – озон + L-аргинин, 5 – озон + L-NAME, 6 – озон + L-NAME + L-аргинин. * – $p < 0.05$ изменения в сравнении с контрольной группой; # – $p < 0.05$ с группой, содержащей только озон.

Fig. 2. The concentration of nitrate/nitrite (*A*) and hydrogen sulfide (*B*) in blood plasma in the formation of nitrogen monoxide *in vitro* experiments. 1 – control, 2 – ozone, 3 – ozone + nitroglycerin, 4 – ozone + L-arginine, 5 – ozone + L-NAME, 6 – ozone + L- NAME + L-arginine. * – $p < 0.05$ changes in comparison with the control group; # - $p < 0.05$ with a group containing only ozone.

кислородсвязывающих свойств крови. Озон может оказывать влияние на синтез монооксида азота различными путями, в частности, за счет усиления экспрессии белков теплового шока [16]. Ранее нами было показано, что изменение генерации NO может модифицировать кислородсвязывающие свойства крови, в частности, добавление L-аргинина или нитроглицерина при действии магнитного поля приводит к уменьшению СГК, которое отсутствует при введении ингибитора фермента NO-синтазы (L-NAME) [17]. Результаты нашего исследования демонстрируют, что нитроглицерин как непосредственный донор монооксида азота усиливает эффект озона на КТФ крови. Добавление L-аргинина (исходного субстрата синтеза NO) не оказывает аналогичного влияния. Данный факт, вероятно, обусловлен тем, что механизмы синтеза NO не успевают реализоваться за время проводимого эксперимента (60 мин). Монооксид азота, наряду с pH и 2,3-дифосфоглицератом, может быть модулятором кислородсвязывающих свойств гемоглобина и изменять СГК через NO-зависимые внутриэритроцитарные механизмы [18, 19].

Выявленный нами эффект озона на СГК реализуется как непосредственно через воздействие на экспрессию NO-синтазы в эритроцитах, так и через модификацию функциональных свойств гемоглобина. Следует отметить, что при действии озона отмечается рост концентрации газотрансмиттера H_2S, который усиливается при добавлении нитроглицерина. NO, CO и H_2S участвуют в защите организма от окислительного стресса, вызванного активными формами кислорода, азота [19], и выполняют роль аллостерического эффектора функциональных свойств гемоглобина, который изменяет его сродство к кислороду, влияя на транспорт O_2 [21]. Рост газотрансмиттеров (NO и H_2S), отмечаемый в наших опытах, вносит вклад в изменение КТФ крови. Повышение уровня сероводорода при добавлении нитроглицерина и L-аргинина в условиях действия озона (донора кислорода) связано с тем, что образующиеся вследствие реакции NO с кислородом оксиды (NO_2 и N_2O_3) [22], могут взаимодействовать с гемоглобином и основаниями Шиффа с образованием нитрованных аминокислот, в частности, метионина [23], из которого посредством реакции транссульфурирования в эритроцитах образуется L-цистеин [24], предшественник синтеза H_2S. Вследствие этого увеличивается синтез сероводорода. Озон уменьшает СГК, реализуя свое действие через участие NO и H_2S (повышение концентрации нитрат/нитритов и сероводорода). Изменения функциональной активности форменных элементов под действием озона обусловлены перестройкой внутриклеточной организации. Известно, что эритроциты имеют структуры, обеспечивающие синтез газотрансмиттеров (NO и H_2S) непосредственно в данных клетках [25]. Действие озона изменяет конформацию макромолекул, липопротеидных комплексов мембран эритроцитов, модифицируя их функциональные свойства, в частности, через NO-ергические механизмы и через сероводород/цистеин/цистиновый путь. Сероводород, уровень которого повышается в наших опытах, может связываться с метгемоглобином, образуя сульфгемоглобин [26], который совместно с NO-производными гемоглобина может изменять положение кривой диссоциации оксигемоглобина. Газотрансмиттеры вносят вклад в модификацию СГК, что достигается через разные механизмы: образование дериватов гемоглобина (нитрозогемоглобин, нитрозилгемоглобин, метгемоглобин, сульфгемоглобин), модуляторов внутриэритроцитарной системы формирования КТФ крови. Участие NO-зависимых механизмов внутриэритроцитарной системы в изменении кислородсвязывающих свойств крови при действии озона подтверждается результатами наших исследований, в которых показано уменьшение СГК при введении нитроглицерина и отсутствие сдвига кривой диссоциации оксигемоглобина при введении ингибитора фермента NO-синтазы (L-NAME) в этих условиях.

Низкие концентрации озона не вызывают интенсификации процесса липопероксидации, а при высоких дозах интенсивность образования диеновых коньюгатов, малонового диальдегида и оснований Шиффа существенно возрастает [27]. Под влиянием озона происходит активация свободнорадикального окисления, а затем по принципу положительной обратной связи активизируются механизмы антиоксидантной защиты [28, 29]. Высокие дозы озона в экспериментах на крысах вызывают повреждение легких, однако после введения L-аргинина отмечается ингибирование активности миелопероксидазы базофильных гранул нейтрофилов, а при добавлении L-NAME данный эффект отсутствует [30]. Внутрибрюшинное введение озона (концентрация 1 мг/кг) в условиях ишемического повреждения тонкой кишки приводит к росту активности супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, а также общей антиоксидантной активности [31]. Доноры монооксида азота в опытах *in vitro* активируют систему антиоксидантной защиты [32]. В наших опытах наблюдалось повышение концентрации ретинола и α-токоферола при добавлении нитроглицерина и L-аргинина в присутствии озона, возможно, за счет их высвобождения из эритроцитарной мембраны вследствие ее окислительного повреждения (в частности, под действием пероксинитрита) [33, 34]. Эффект L-NAME и его комбинации с L-аргинином на параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса не отмечается.

Таким образом, результаты проведенных нами исследований свидетельствуют о том, что инкубация крови с озоном и нитроглицерином приводит к усилению эффекта данного газа на КТФ крови (рост PO_2, SO_2), что сопровождается уменьшением СГК. При использовании ингибитора фермента NO-синтазы L-NAME, L-аргинина и их комбинации подобный эффект не отмечается. Увеличение уровня нитрат/нитритов и сероводорода при действии озона в условиях введения нитроглицерина отражает участие данных газотрансмиттеров в модификации КТФ крови. В условиях воздействия на NO-генерирующую систему в эритроцитах в наших опытах показатели перекисного окисления липидов (малоновый диальдегид, диеновые коньюгаты) существенно не изменяются. При добавлении нитроглицерина и L-аргинина в присутствии озона наблюдается повышение концентрации ретинола и α-токоферола.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Финансирование осуществляется в рамках задания государственной программы научных исследований “Изучить молекулярно-генетические NO-зависимые механизмы формирования кислородного гомеостаза и его нарушений” № 20190511, дата регистрации 11.04.2019.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Лебедь С.Л., Бояринов Г.А., Фраерман А.П.* Применение озонированного физиологического раствора в послеоперационном периоде у больных с новообразованиями головного мозга. Биорадикалы и антиоксиданты. 5(1): 30–39. 2018. [*Lebed’ S.L., Boyarinov G.A., Fraerman A.P.* The use of ozonized saline in the postoperative period in patients with neoplasms of the brain. Bioradicals and antioxidants. 5(1): 30–39. 2018. (In Russ)].
2. *Чекман И.С., Сыровая А.О., Макаров В.А., Макаров В.В., Шаповал Е.В.* Озон и озонотерапия: Монография. Харьков. Цифрова друкарня № 1. 2013. [*Chekman I.S., Syrovaya A.O., Makarov V.A., Makarov V.V., Shapoval E.V.* Ozone and ozone therapy: Monograph. Kharkiv. Digital typography No. 1. 2013. (In Russ)].
3. *Зинчук В.В., Билецкая Е.С.* Кислородзависимые механизмы физиологического действия озона (обзор). Журн. мед.-биол. исследований. 7(2): 216–227. 2019. [*Zinchuk V.V., Biletskaya E.S.* Oxygen-dependent mechanisms of the physiological action of ozone (Review). J. Med. Biol. Res. 7(2): 216–227. (In Russ)].
4. *Zhao Y., Wang X., Noviana M., Hou M.* Nitric oxide in red blood cell adaptation to hypoxia. Acta Biochim. Biophys. Sin. 50(7): 621–634. 2018.
5. *Калаева Е.А., Артюхов В.Г., Путинцева О.В.* Влияние нитроглицерина на спектральные и кислородсвязывающие характеристики внутриэритроцитарного гемоглобина. Экс-

пер. и клин. фармакол. 79(9): 12–17. 2016. [*Kalaeva E.A., Artyukhov V.G., Putintseva O.V.* The influence of nitroglycerin on spectral and oxygen-binding characteristics of human intracellular hemoglobin. Eksp. Klin. Farmakol. 79(9): 12–17. 2016. (In Russ)].

6. *Stepuro T.L., Zinchuk V.V.* Nitric oxide effect on the hemoglobin-oxygen affinity. J. Physiol. Pharmacol. 57(1): 29–38. 2006.
7. *Saveringhaus J.W.* Blood gas calculator. J. Appl. Physiol. 21(5): 1108–1116. 1966.
8. *Камышников В.С.* Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. Минск. 2002. [*Kamyshnikov V.S.* Handbook of clinical and biochemical laboratory diagnostics. Minsk. 2002. (In Russ)].
9. *Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И.* Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови. Лаб. дело. (3): 33–36. 1983. [*Gavrilov V.B., Mishkorudnaya M.I.* Spectrophotometric determination of the content of lipid hydroperoxides in blood plasma. Lab. Delo. (3): 33–36. 1983. (In Russ)].
10. *Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарева В.Е.* Метод определения активности каталазы. Лаб. дело. (1): 16–19. 1988. [*Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokareva V.E.* Method for determination of catalase activity. Lab. Delo. (1): 16–19. 1988. (In Russ)].
11. *Taylor S.L., Lamden M.P., Tappel A.L.* Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis. Lipids. 11(7): 530–538. 1976.
12. *Bryan N.S., Grisham M.B.* Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. Free Radic. Biol. Med. 43(5): 645–657. 2007.
13. *Norris E.J., Culberson C.R., Narasimhan S., Clemens M.G.* The liver as central regulator of hydrogen sulfide. Shock. 36(3): 242– 250. 2011.
14. *Kuroda K., Yamashita M., Murahata Y., Azuma K., Osaki T., Tsuka T., Ito N., Imagawa T., Okamoto Y.* Use of ozonated water as a new therapeutic approach to solve current concerns around antitumor treatment. Exp. Ther. Med. 16(3): 1597–1602. 2018.
15. *Clavo B., Santana-Rodrнguez N., Llontop P., Gutiйrrez D., Suбrez G., Lypez L., Rovira G., Martнnez-Sбnchez G., Gonzбlez E., Jorge I.J., Perera C., Blanco J., Rodrнguez-Esparragyn F.* Ozone Therapy as Adjuvant for Cancer Treatment: Is Further Research Warranted? Evid base Compl. Alternative Med. 2018: 1–11. 2018. https://doi.org/10.1155/2018/7931849
16. *Seyam O., Smith N.L., Reid I., Gandhi J., Jiang W., Khan S.A.* Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders. Med. Gas. Res. 8(3): 103–110. 2018.
17. *Зинчук В.В., Лепеев В.О., Гуляй И.Э.* Участие газотрансмиттеров в модификации кислородтранспортной функции крови при действии магнитного поля. Рос. физиол. журн. им И.М. Сеченова. 102(10): 1176–1184. 2016. [*Zinchuk V.V., Lepeev V.O., Gulyai I.E.* The participation of gas transmitters in the modification of the oxygen transport function of blood under the action of a magnetic field. Russ. J. Physiol. 102 (10): 1176–1184. 2016. (In Russ)].
18. *Zinchuk V., Zhadko D.* Association of endothelial nitric oxide synthase gene G894T polymorphism with blood oxygen transport. Nitric Oxide. 84: 45–49. 2019.
19. *Lo Faro M., Fox B., Whatmore J., Winyard P., Whiteman M.* Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation. Nitric Oxide. 41: 38–47. 2014.
20. *Shefa U., Yeo S.G., Kim M.S., Song I.O., Jung J., Jeong N.Y., Huh Y.* Role of Gasotransmitters in Oxidative Stresses, Neuroinflammation, and Neuronal Repair. Biomed. Res. Internat. 2017: 1–15. 2017. https://doi.org/10.1155/2017/1689341
21. *Сукманский О.И, Реутов В.П.* Газотрансмиттеры: физиологическая роль и участие в патогенезе заболеваний. Успехи физиол. наук. 47(3): 30–58. 2016. [*Sukmansky O.I., Reutov V.P.* Gas transmitters: physiological role and participation in the pathogenesis of diseases. Usp. Fiziol. Nauk. 47 (3): 30–58. 2016. (In Russ)].
22. *Hughes M.N.* Chemistry of nitric oxide and related species. Methods in Enzymology. 436: 3–19. 2007.
23. *Herold S., Rehmann F.-J.K.* Kinetics of the reactions of nitrogen monoxide and nitrite with ferryl hemoglobin. Free Radic. Biol. Med. 34: 531–545. 2003.
24. *Reisz J.A., Nemkov T., Dzieciatkowska M.* Methylation of protein aspartates and deamidated asparagines as a function of blood bank storage and oxidative stress in human red blood cells. Transfusion. 58(12): 2978–2991. 2018. https://doi.org/10.1111/trf.14936
25. *Kolluru G.K, Prasai P.K., Kaskas A.M., Letchuman V., Pattillo C.B.* Oxygen tension, H2S, and NO bioavailability: is there an interaction? J. Appl. Physiol. 120(2): 263–270. 2016. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00365.2015
26. *Van Leeuwen S.R., Baranoski G.V., Kimmel B.W.* Three-wavelength method for the optical differentiation of methemoglobin and sulfhemoglobin in oxygenated blood. Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. 2017: 4570–4573. 2017. https://doi.org/10.1109/EMBC.2017.8037873

27. *Перетягин С.П., Конторщикова К.Н., Мартусевич А.А.* Оценка эффекта различных доз озона на процессы липопероксидации и кислородообеспечение крови *in vitro.* Мед. альманах. 21(2): 101–104. 2012. [*Peretyagin S.P., Kontorshchikova K.N., Martusevich A.A.* Evaluation of the effect of various doses of ozone on the processes of lipid peroxidation and oxygen supply of blood *in vitro.* Med. alman. 21 (2): 101–104. 2012. (In Russ)].
28. *Мурзалиев А.Д., Жолдошбеков Е.Ж., Авасов Б.А.* Опыт использования озонотерапии в урологии. Вестник Смоленской гос. мед. акад. 17(1): 94–98. 2018. [*Murzaliev A.D., Zholdoshbekov E.Zh., Avasov B.A.* Experience in the use of ozone therapy in urology. Bull. Smolensk State Med. Acad. 17 (1): 94–98. 2018. (In Russ)].
29. *Катюхин Л.Н.* Влияние курсового лечения инъекциями озонированного физиологического раствора на реологические свойства эритроцитов у больных с комплексной патологией. Физиология человека. 100(6): 100–105. 2016. [*Katyukhin L.N.* Effect of course treatment with injections of ozonized physiological saline on the rheological properties of red blood cells in patients with complex pathology. Human physiology. 100(6): 100–105. 2016. (In Russ)].
30. *Zhang S., Li J., Li Y., Liu Y., Guo H., Xu X.* Nitric Oxide Synthase Activity Correlates with OGG1 in Ozone-Induced Lung Injury Animal Models. Front. Physiol. 8: 249. 2017. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00249
31. *Onal O., Yetisir F., Sarer E., Zeybek D., Onal O., Yurekli B., Celik T., Sirma A., Kılıc M.* Prophylactic Ozone Administration Reduces Intestinal Mucosa Injury Induced by Intestinal Ischemia-Reperfusion in the Rat. Mediat. Inflamm. 2015: 1–8. 2015. https://doi.org/10.1155/2015/792016
32. *Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Ванин А.Ф.* Сравнительный анализ действия свободного и депонированного NO на состояние про- и антиоксидантных систем крови. Биофизика. 60(2): 348–354. 2015. [*Martusevich A.K., Solovyova A.G., Peretyagin S.P., Vanin A.F.* Comparative analysis of the effect of free and deposited NO on the state of pro- and antioxidant blood systems. Biophysics. 60 (2): 348–354. 2015. (In Russ)].
33. *Белых И.А., Воловельская Е.Л., Зинченко В.Д.* Влияние малых доз озона на гипертонический лизис эритроцитов. Проблемы криобиологии. 17(3): 237–242. 2007. [*Belykh I.A., Volovelskaya E.L., Zinchenko V.D.* Influence of small doses of ozone on hypertensive lysis of erythrocytes. Cryobiol. problems. 17 (3): 237–242. 2007. (In Russ)].
34. *Ahmad R., Hussain A., Ahsan H.* Peroxynitrite: cellular pathology and implications in autoimmunity. J. Immunoassay Immunochem. 40 (2): 123–138. 2019. https://doi.org/10.1080/15321819.2019.1583109

Effect of Ozone on Blood Oxygen Transport Function and Pro-Oxidant–Antioxidant Balance in under Conditions of Changing Nitrogen Monoxide Formation *In Vitro* Experiments

V. V. Zinchuk[a], *, E. S. Biletskaya[a], and I. E. Gulyai[a]

[a]*Grodna State Medical University, Grodna, Belarus*

**e-mail: zinchuk@grsmu.by*

Ozone has a wide range of physiological effects, in particular, it improves the rheological properties of blood and affects oxygen-dependent processes. The purpose of this study is to investigate the effect of ozone on blood oxygen transport function and prooxidant-antioxidant balance in under conditions of changing nitrogen monoxide formation *in vitro* experiments. The study used an ozone concentration of 6 mg/l and drugs that change affecting the synthesis of nitrogen monoxide in erythrocytes (nitroglycerin, L-arginine and L-NAME). Revealed that the introduction of the nitroglycerin leads to increased effect of ozone on the oxygen-transport function (manifested by increase in pO_2, SO_2, $p50_{real}$) and increase concentration of gaseous transmitters NO, H_2S. When adding L-arginine, L-NAME, and a combination of these drugs to experimental blood samples under the influence of ozone, changes in the studied parameters were not detected. The impact on the NO-dependent mechanisms of the intra-erythrocyte system did not significantly affect the processes of lipid peroxidation (malondialdehyde, diene conjugates) and antioxidant protection (catalase, retinol, α-tocopherol).

Keywords: ozone, blood, oxygen, gaseous transmitter, nitrogen monoxide, L-arginine, nitroglycerin

ЦИТИРОВАТЬ:

Зинчук В.В., Билецкая Е.С., Гуляй И.Э. Эффект озона на кислородтранспортную функцию и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах *in vitro*. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 107(1): 16–27. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010106

TO CITE THIS ARTICLE:

Zinchuka V.V., Biletskayaa E.S., Gulyai I.E. Effect of ozone on blood oxygen transport function and pro-oxidant–antioxidant balance in under conditions of changing nitrogen monoxide formation in vitro experiments. Russian Journal of Physiology. 107(1): 16–27. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010106

РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2021, том 107, № 1, с. 28–42

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ОСОБЕННОСТИ СОЦИАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ МЫШЕЙ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО И ИНФЕКЦИОННОГО ФАКТОРОВ

© 2021 г. Д. Ф. Августинович[1, 2, *], Н. П. Бондарь[1, 3]

[1]Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
[2]Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск, Россия
[3]Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия
**E-mail: avgust@bionet.nsc.ru*

Поступила в редакцию 25.08.2020 г.
После доработки 02.10.2020 г.
Принята к публикации 19.10.2020 г.

В работе исследовали поведение самцов мышей инбредной линии C57BL/6 после длительного влияния двух факторов – социального стресса и инфицирования описторхами, сочетание которых часто наблюдается у людей. Сравнивали мышей четырех групп: 1) испытавших длительный опыт поражений в межсамцовых конфронтациях (30 дней) (СС); 2) инфицированных гельминтами *O. felineus* (6 мес.) (OF); 3) подвергнутых воздействию обоих факторов (СС + OF); 4) не испытывающих воздействия факторов интактных особей (КОН). Поведение всех животных оценивали в тесте открытое поле с помещенным в него кубиком – пустым в первые 3 мин теста и содержащим незнакомого самца инбредной линии BALB/c во вторые 3 мин. Социальный стресс оказывал более выраженное влияние на оцениваемые параметры поведения в этом тесте, чем инфицирование мышей. Мыши СС активнее всех исследовали кубик с незнакомым самцом внутри: залезали на него гораздо чаще и имели более длительное среднее время нахождения возле кубика. Кроме того, в первые 3 мин теста у них были увеличены исследовательская активность (число пристеночных стоек), число и длительность грумингов. Инфицированные мыши OF не отличались по поведению от КОН как в первые, так и во вторые 3 мин теста. У мышей с сочетанным действием факторов (СС + OF) несоциальные формы поведения также не отличались от контрольных показателей, а реакция на незнакомого самца в кубике была слабее, чем у мышей СС. Сделан вывод о том, что длительный опыт поражений в межсамцовых конфронтациях оказывает более выраженное влияние на социальное и несоциальное поведение мышей по сравнению с хроническим инфицированием животных гельминтами *O. felineus*, причем сочетание двух факторов воздействия способствует снижению социального интереса у мышей.

Ключевые слова: мыши C57BL/6, социальный стресс, трематода *O. felineus*, поведение, открытое поле

DOI: 10.31857/S0869813921010039

Поведение лабораторных животных используют в качестве маркеров функционального состояния мозга. Ранее нами было показано, что длительный психоэмоциональный стресс у мышей линии C57BL/6 вызывает развитие тревожно-депрессивного поведения [1]. Другими исследователями показано, что стресс повторных социальных поражений обуславливает нейровоспаление, которое и способствует

пролонгированному патологическому поведению у животных [2, 3]. При этом увеличивается число циркулирующих в крови моноцитов за счет усиления в костном мозге процессов гемопоэза [2, 4] и повышается уровень кортикостерона, а также синтез провоспалительных цитокинов – интерлейкина-6 (ИЛ-6), ИЛ-1β и фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α) [5]. Считается, что психологический стресс, активируя симпатическую и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую системы, обуславливает иммунологические и поведенческие ответы [3]. При этом методом магнитно-резонансной томографии у стрессированных животных установлена перманентная активация областей мозга, участвующих в регуляции тревожно-депрессивного состояния [6].

Однако функции мозга могут находиться под корректирующим влиянием других органов и систем в организме, на которые непосредственно направлено действие внешних факторов. В этой связи в последние годы растет интерес к исследованиям в рамках парадигмы “liver–brain interactions”, поскольку показано, что патологические нарушения в печени животных вызывают нейровоспаление в мозге [5, 7], проявляющееся на поведенческом уровне в виде так называемого болезненного поведения (sickness behavior), подразумевающего быструю утомляемость, повышенное беспокойство, потерю аппетита, нарушения сна и снижение социального интереса [8]. Более 40% людей больных циррозом печени страдают минимальной печеночной энцефалопатией (МПЭ) [9], которая выражается в виде психомоторной заторможенности, дефицита внимания, когнитивных нарушений и визуально-пространственной дискоординации [10]. Со временем МПЭ переходит в клиническую форму с более серьезными неврологическими нарушениями, приводящими к коме и смерти [7, 11]. Поэтому, моделируя патогенные “удары” по печени (“liver strike”), мы можем получать поведенческие изменения, обусловленные функциональными сдвигами в мозге.

Примером такого “удара” можно рассматривать описторхоз, который у млекопитающих возникает при заражении гельминтами семейства Opisthorchiidae – *Opisthorchis viverrini* (*O. viverrini*) или *Opisthorchis felineus* (*O. felineus*). По данным продовольственной и сельскохозяйственной ООН и Всемирной организации здравоохранения печеночные сосальщики, куда входят представители этого семейства, занимают 8-е место по степени патогенности в общемировом списке из 24 паразитов пищевого происхождения, оказывающих существенные негативные социально-экономические последствия [12]. В Российской Федерации и особенно Западной Сибири широко представлен вид *O. felineus* [13]. При употреблении в пищу зараженной рыбы семейства карповых Cyprinidae у рыбоядных животных и человека развивается описторхоз, провоцирующий тяжелые осложнения в печени и поджелудочной железе (гнойный холангит, холецистит, хронический гепатит, стриктуры желчевыводящих путей, абсцесс печени, обтурационную желтуху, панкреатит) вплоть до холангиокарциномы [14–18]. Системное воспаление, возникающее при описторхозе, сопровождается повышением в крови про-воспалительных цитокинов [19], среди которых ИЛ-6, ИЛ-1β и ФНО-α вместе с моноцитами крови способны проникать в мозг и вызывать нейровоспаление [5, 8, 20]. Таким образом, описторхоз в настоящее время рассматривается как системное заболевание, провоцирующее нарушения в органах и системах, отдаленных от непосредственной локализации паразитов в печени [21, 22].

Можно ожидать, что сочетание двух факторов, длительного социального стресса и хронического инфицирования гельминтами, что часто происходит в жизни людей, будет повышать потенциал патологического влияния на мозг и проявляться в нарушении поведения. В этой связи очевидна актуальность моделирования описторхоза у животных. Ранее нами было показано, что у мышей инбредной линии C57BL/6 уже через 2 нед. после одновременного действия инфицирования опи-

сторхами и социального стресса изменяется поведение в приподнятом крестообразном лабиринте, свидетельствующее о развитии тревожности [23]. При этом динамика массы тела и относительная масса печени были в пределах нормы, но увеличивалась относительная масса селезенки – основного органа периферической иммунной системы, что может свидетельствовать о развитии воспаления в организме хозяина паразита. Поэтому целью настоящего исследование был анализ поведения мышей инбредной линии C57BL/6 после более длительного инфицирования гельминтами (6 мес.) в сочетании с 30-дневным социальным стрессом, который, как известно, способствует нейровоспалению, приводящему к поведенческим нарушениям [24]. В тесте открытое поле оценивали коммуникативность мышей по реакции на незнакомого самца, изолированного в перфорированный кубик, помещенный в поле, а также несоциальные формы поведения.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе были использованы самцы мышей инбредной линии C57BL/6 и аутбредной CD-1, массой тела 25–30 г, в возрасте 2.5–3 мес., содержащиеся в стандартных условиях конвенционального вивария: нормированный световой режим 12 : 12 (свет/темнота), t = 24°C, при достаточном количестве гранулированного корма и воды. Все процедуры осуществляли в соответствии с принципами Хельсинской декларации, а также согласно решению биоэтической комиссии Института цитологии и генетики СО РАН (протокол № 26 от 13 марта 2015 г.).

Мыши C57BL/6 были разделены на 4 группы: KOH – контрольные, которым однократно перорально вводили физиологический раствор и далее продолжали содержать сформированными иерархически группами в стандартных клетках размером 36 × 23 × 12 см до начала поведенческого тестирования; OF – инфицированные метацеркариями гельминтов *O. felineus* (длительность заражения 6 мес.) и содержащиеся группами до поведенческого тестирования; CC – содержащиеся 5 мес. группами, как и контрольные животные, а далее рассаженные с самцами CD-1 через прозрачную перфорированную перегородку посередине экспериментальной клетки 28 × 14 × 10 см для проведения межсамцовых конфронтаций в течение 30 дней; CC + OF – мыши, испытавшие оба воздействия. Мыши из групп KOH и OF за 5 дней до поведенческого тестирования были рассажены индивидуально в экспериментальные клетки с целью нивелирования эффекта иерархических взаимодействий в группах [25]. Далее у мышей всех четырех групп производили видеозапись поведения животных в тесте открытое поле с кубиком.

Метацеркарии гельминтов *O. felineus* были выделены из естественно инфицированных язей, выловленных в реке Обь в окрестностях г. Новосибирска. Рыбный фарш подвергали ферментативной обработке (11.0 мл концентрированной HCl, 7 г пепсина на 1.0 л H_2O) в течение ночи при 37°C, фильтровали и промывали несколько раз осадок физиологическим раствором. После выделения метацеркарии идентифицировали под световым микроскопом, отсчитывали для каждого животного 50 личинок, которые перорально вводили с помощью специальных зондов (Braintree Scientific, Inc., США).

Для инициации хронического социального стресса в работе была использована модель сенсорного контакта [26] с некоторыми модификациями. В каждой клетке 28 × 14 × 10 см в одной половине находился самец инбредной линии C57BL/6, в другой – самец аутбредной линии CD-1, используемый в качестве агрессивного партнера. Ежедневно во второй половине дня (15.00–17.00 ч) на 3 мин убирали перегородку между самцами, что провоцировало межсамцовые конфронтации. При этом следили, чтобы не было выраженных интенсивных атак со стороны агрессора, в противном случае самцов разделяли перегородкой. В конце каждой конфрон-

тации мышей C57BL/6 пересаживали в соседнюю клетку за перегородку к другому агрессивному самцу CD-1. Самцы CD-1 в течение всего эксперимента оставались на своей территории. Поведение самцов C57BL/6 регистрировали в открытом поле через сутки после последней 30-й конфронтации.

Поведение животных записывали на видео с помощью веб-камеры Logitech HD 1080P. За 5 мин до поведенческого тестирования животных приносили в комнату, где было установлено поле размером 40 × 40 см из белого пластика, расчерченное на квадраты (4 х 4 см). Высота стенок была 40 см. Из того же материала был изготовлен маленький кубик, одна грань которого отсутствовала, а остальные 5 граней содержали отверстия диаметром 7 мм, в количестве 14 на каждой грани. Открытой гранью кубик был прижат к середине одной из сторон тестового поля. Каждое животное помещали всегда на фиксированное расстояние от кубика (20 см). В первые 3 мин тестирования мыши исследовали поле с кубиком. Далее под кубик на 3 мин сажали незнакомого самца линии BALB/c и вновь записывали поведение тестируемой мыши. После каждой мыши поле протирали разведенным в 3 раза этанолом (96%) и насухо вытирали бумажными салфетками, а кубики мыли водопроводной водой и высушивали. Верхний свет в комнате был выключен, над полем была установлена пластиковая полупрозрачная панель, над которой были помещены лампы дневного света. Освещенность на уровне поля с мышью была 320 лк. Выбор мышей линии BALB/c в качестве партнера был продиктован тем, что они используются для анализа социабельности в рамках парадигмы “social approach test” другими исследователями в качестве незнакомого социального стимула для самцов C57BL/6 [27–30]. Дальнейший анализ поведения осуществляли с помощью программного обеспечения Observer (Noldus Information Technology). При этом регистрировали число и длительность подходов и/или обращений к кубику, среднее время за один подход/обращение к кубику, число пересеченных мышью квадратов, число и длительность пристеночных стоек, число и длительность грумингов. Все параметры поведения мышей в первые 3 мин теста (без незнакомого самца в кубике) мы рассматривали как несоциальные.

Поведение мышей 4-х экспериментальных групп оценивали с помощью двухфакторного дисперсионного анализа с учетом фактора повторных измерений (Repeated measures ANOVA) в программе Statistica 6. В качестве факторов использовали “социальный стресс” (стресс, не стресс), “инфекция” (инфекция, не инфекция) и “повторные измерения” (показатели в первый и второй 3-минутный период тестирования). Последующее *post hoc* сравнение осуществляли с помощью критерия Tukey HSD. Статистически значимыми считались показатели при значениях $p < 0.05$ и на уровне тенденции при $0.05 < p < 0.1$. Данные представлены как среднее ± *SEM*. Число животных в группах было: КОН – 15, OF – 22, СС – 19, СС + OF – 23.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При анализе поведения мышей в группах КОН и СС были выявлены особи, которые залезали на кубик в первые и вторые 3 мин тестирования (табл. 1). В группе КОН таких мышей было 15.8% (первые 3 мин) и 21.1% (вторые 3 мин), а в группе СС – 45% (первые 3 мин) и 35% (вторые 3 мин). При этом взбиравшиеся на кубик животные вели себя по-разному: некоторые делали несколько попыток вскарабкаться на кубик, но в большинстве случаев мыши залезали один раз. Были особи, которые находились на кубике не более 20 с, но некоторые животные предпочитали сидеть на кубике и обнюхивать отверстия, особенно в случае, когда в кубике находился незнакомый самец. Обращает на себя внимание, что в группе СС таких животных в общей сложности было 13, что гораздо больше, чем в группе КОН.

Таблица 1. Поведенческая реакция мышей C57BL/6 на самца BALB/c, находящегося в кубике, расположенном в открытом поле
Table 1. Behavioral reaction of C57BL/6 mice to a BALB/c male into a box placed in the open field

	Первые 3 мин (пустой кубик)/ First 3 min (empty box)		Вторые 3 мин (самец BALB/c в кубике)/ Second 3 min (BALB/c male into box)	
	число влезаний/ number of climbs	суммарная длительность, с/ total duration, s	число влезаний/ number of climbs	суммарная длительность, с/ total duration,s
		Мыши КОН/CON mice		
1	Одно/one	57	Два/two	67
2	Два/two	76	Три/three	63
3	–	–	Одно/one	122
4	Одно/one	75	Одно/one	43
		Мыши CC/SS mice		
1	Одно/one	63	–	–
2	Одно/one	31	Одно/one	53
3	–	–	Одно/one	60
4	Одно/one	18	Два/two	95
5	–	–	Одно/ one	43
6	–	–	Одно/one	50
7	Одно/one	14	–	–
8	Одно/one	14	–	–
9	Одно/one	140	Одно/one	84
10	Одно/one	62	–	–
11	Одно/one	20	–	–
12	Одно/one	55	–	–
13	–	–	Одно/one	45

В группах OF и CC + OF залезающих на кубик животных не было, что говорит об ингибирующем влиянии инфицирования животных на их социабельность.

Дальнейшее сравнение животных 4-х экспериментальных групп выявило влияние факторов воздействия и их взаимодействие на поведение мышей возле кубика (табл. 2). Фактор "социальный стресс" определял число подходов/обращений к кубику: этот показатель был заметно повышен в первые 3 мин теста у мышей, испытывающих данное воздействие, особенно у мышей CC. Установлено статистически значимое влияние факторов "инфекция" и "социальный стресс" на длительность нахождения возле кубика и среднее время за один подход/обращение к кубику. В обоих случаях было статистически значимое взаимодействие факторов. Эти показатели увеличились у мышей всех 4-групп во вторые 3 мин теста, когда под кубиком находился незнакомый самец (рис. 1, табл. 2), (фактор "повторные измерения", $p < 0.001$ во всех группах). Обращает на себя внимание то, что максимальное значение среднего времени нахождения возле кубика за один подход как в первые, так и во вторые 3 мин теста были у мышей из группы CC. Поскольку мыши с сочетанным действием факторов не отличались от мышей групп КОН и OF, а также учитывая статистически значимое взаимодействие факторов, можно говорить о том, что инфекционный фактор оказывает противоположное социальному стрессу действие.

Двигательная активность мышей определялась по числу пересеченных квадратов поля. Статистически значимого влияния факторов "инфекция" и "социальный стресс", а также их взаимодействия на этот показатель не установлено (табл. 2).

Таблица 2. Влияние факторов воздействия и повторного тестирования на параметры поведения у мышей сравниваемых групп и взаимодействия факторов
Table 2. Influence of exposure factors and retesting on behavior parameters in mice of the compared groups and interaction of factors

	Число подходов к кубику, Approaches to the box n	Длительность возле кубика, с Duration near the box, s	Среднее время возле кубика, с Average time near the box, s
Фактор “инфекция” (o) Factor “infection” (o)	$F(1,74) = 1.79$ $p = 0.185$	**$F(1,74) = 10.56$ $p = 0.002$**	**$F(1,74) = 6.88$ $p = 0.011$**
Фактор “социальный стресс” (s) Factor “social stress” (s)	$F(1,74) = 3.02$ $p = 0.087$	**$F(1,74) = 16.43$ $p < 0.001$**	**$F(1,74) = 30.78$ $p < 0.001$**
Взаимодействие “o × s” Interaction “o × s”	$F(1,74) = 0.00$ $p = 0.986$	**$F(1,74) = 4.84$ $p = 0.031$**	**$F(1,74) = 8.80$ $p = 0.004$**
Фактор “повторные измерения” (t) Factor “repeated measures” (t)	$F(1,74) = 1.54$ $p = 0.219$	**$F(1,74) = 113.07$ $p < 0.001$**	**$F(1,74) = 95.97$ $p < 0.001$**
Взаимодействие “t × o” Interaction “t × o”	$F(1,74) = 2.48$ $p = 0.120$	$F(1,74) = 0.08$ $p = 0.780$	$F(1,74) = 0.35$ $p = 0.554$
Взаимодействие “t × s” Interaction “t × s”	**$F(1,74) = 38.54$ $p < 0.001$**	$F(1,74) = 0.63$ $p = 0.430$	$F(1,74) = 2.83$ $p = 0.097$
	Число пересеченных квадратов Crossed squares, n	Число грумингов Groomings, n	Длительность грумингов, с Groomings, s
Фактор “инфекция” (o) Factor “infection” (o)	$F(1,74) = 0.64$ $p = 0.428$	$F(1,74) = 0.77$ $p = 0.384$	$F(1,74) = 0.03$ $p = 0.852$
Фактор “социальный стресс” (s) Factor “social stress” (s)	$F(1,74) = 0.60$ $p = 0.440$	**$F(1,74) = 32.3$ $p < 0.001$**	**$F(1,74) = 11.39$ $p = 0.001$**
Взаимодействие “o × s” Interaction “o × s”	$F(1,74) = 0.20$ $p = 0.655$	$F(1,74) = 2.10$ $p = 0.151$	$F(1,74) = 2.31$ $p = 0.133$
Фактор “повторные измерения” Factor “repeated measures”	**$F(1,74) = 94.64$ $p < 0.001$**	$F(1,74) = 1.79$ $p = 0.189$	$F(1,74) = 0.00$ $p = 0.996$
Взаимодействие “t × o” Interaction “t × o”	$F(1,74) = 2.84$ $p = 0.096$	$F(1,74) = 0.78$ $p = 0.380$	$F(1,74) = 0.04$ $p = 0.842$
Взаимодействие “t × s” Interaction “t × s”	**$F(1,74) = 46.82$ $p < 0.001$**	$F(1,74) = 0.43$ $p = 0.516$	**$F(1,74) = 5.10$ $p = 0.027$**
	Число стоек, Rearings, n	Длительность стоек, с Rearings, s	
Фактор “инфекция” (o) Factor “infection” (o)	$F(1,74) = 0.03$ $p = 0.862$	$F(1,74) = 1.22$ $p = 0.274$	
Фактор “социальный стресс” (s) Factor “social stress” (s)	**$F(1,74) = 4.57$ $p = 0.036$**	$F(1,74) = 0.49$ $p = 0.487$	
Взаимодействие “o × s” Interaction “o × s”	**$F(1,74) = 4.08$ $p = 0.047$**	$F(1,74) = 0.80$ $p = 0.374$	
Фактор “повторные измерения” Factor “repeated measures”	**$F(1,74) = 8.49$ $p = 0.005$**	$F(1,74) = 0.91$ $p = 0.344$	
Взаимодействие “t × o” Interaction “t × o”	**$F(1,74) = 3.98$ $p = 0.050$**	$F(1,74) = 2.86$ $p = 0.095$	
Взаимодействие “t × s” Interaction “t × s”	**$F(1,74) = 37.18$ $p < 0.001$**	**$F(1,74) = 39.71$ $p < 0.001$**	

Жирным шрифтом выделены статистически значимые показатели.
Statistically significant indices are bold.

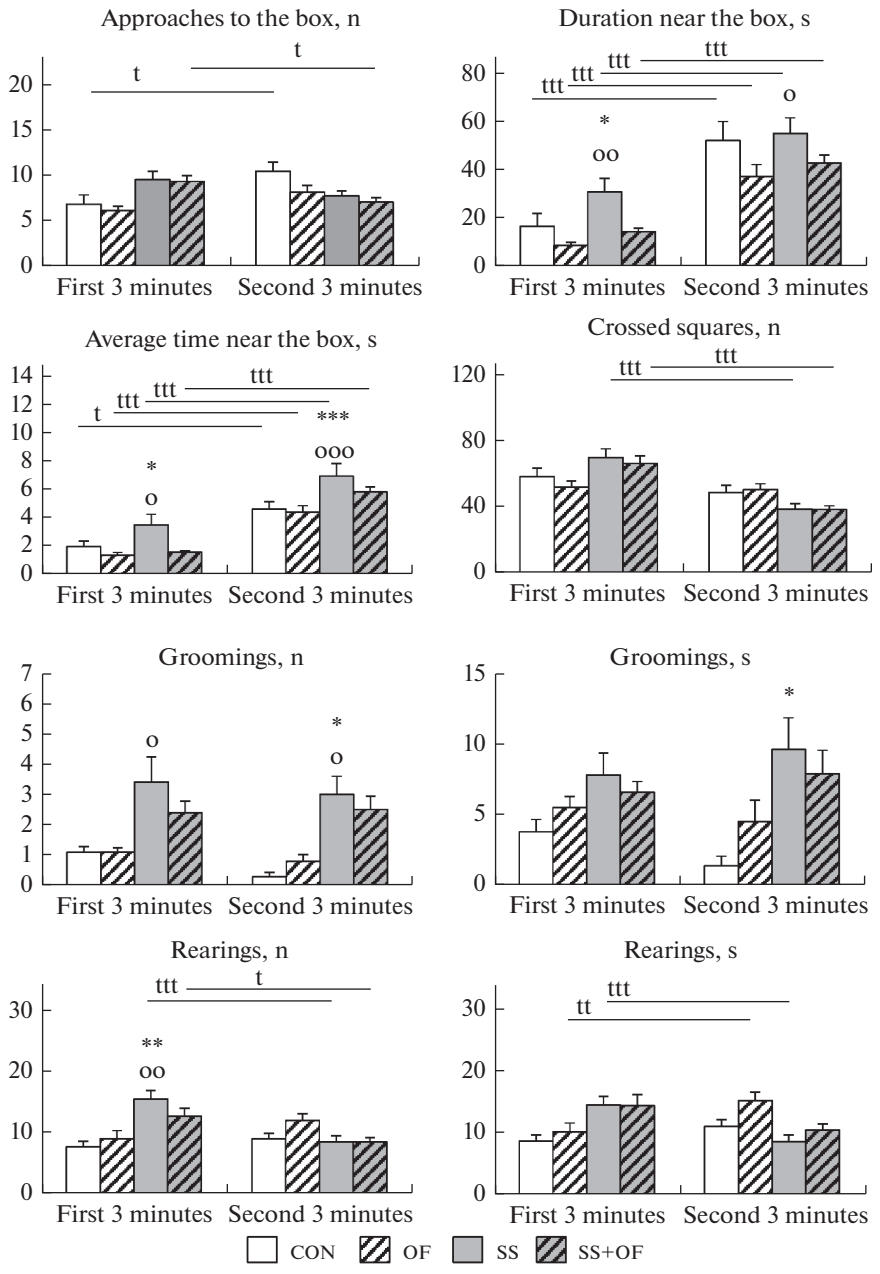

Рис. 1. Параметры поведения мышей экспериментальных групп в тесте “открытое поле с кубиком”. $^{t}p < 0.05$; $^{tt}p < 0.01$; $^{ttt}p < 0.001$ – по сравнению с аналогичными показателями в первые 3 мин; $^{*}p < 0.05$; $^{**}p < 0.01$; $^{***}p < 0.001$ – по сравнению с КОН в соответствующий период; $^{o}p < 0.05$; $^{oo}p < 0.01$; $^{ooo}p < 0.001$ – по сравнению с OF; *n* – число, s – секунды.

Fig. 1. Behaviors of mice in test “Open field with box”. $^{t}p < 0.05$; $^{tt}p < 0.01$; $^{ttt}p < 0.001$ – in comparison with similar parameters in the first 3 min; $^{*}p < 0.05$; $^{**}p < 0.01$; $^{***}p < 0.001$ – in comparison with CON in the corresponding time period; $^{o}p < 0.05$; $^{oo}p < 0.01$; $^{ooo}p < 0.001$ – in comparison with OF; *n* – number, s – seconds.

В первые 3 мин у мышей СС этот показатель был несколько увеличен по сравнению с мышами OF (рис. 1). Во вторые 3 мин теста число пересеченных квадратов снижалось у мышей с социальным стрессом (СС и СС + OF) по сравнению с первыми 3 мин, поэтому мыши всех сравниваемых групп не различались между собой по двигательной активности (рис. 1). Установлено статистически значимое влияние фактора "повторные измерения", а также взаимодействие факторов "социальный стресс" и "повторные измерения" (табл. 2). Маловероятно, что это снижение обусловлено ингибированием двигательной активности у мышей СС и СС + OF, скорее всего, оно связано с тем, что мыши с социальным стрессом предпочитали находиться возле кубика с незнакомым самцом, а не бегать по тестовой арене, это еще раз подчеркивает повышение их социального интереса.

Фактор "социальный стресс" определял число и длительность грумингов у мышей (табл. 2). В первые 3 мин теста у мышей СС число грумингов было увеличено статистически значимо по сравнению с OF, и, на уровне тенденции, по сравнению с КОН (рис. 1). По длительности грумингов мыши сравниваемых групп не различались в первые 3 мин теста. Во вторые 3 мин теста у мышей СС число грумингов было по-прежнему выше, чем у мышей КОН, и еще более увеличивалось по сравнению с мышами OF. Кроме того, у мышей СС увеличивалась длительность грумингов по сравнению с контрольными значениями. У мышей с сочетанным действием двух факторов (СС + OF) при повторном тестировании число и длительность грумингов были несколько выше, чем у мышей КОН, но не отличались от показателей у мышей СС.

Исследовательская активность определялась по числу и длительности пристеночных стоек. Установлено статистически значимое влияние фактора "социальный стресс" и взаимодействие двух используемых факторов воздействия на число стоек, а также влияние фактора "повторные измерения" (табл. 2). У контрольных животных эти показатели были одинаковы в оба периода тестирования. У мышей OF длительность стоек увеличилась во вторые 3 мин теста. У мышей с социальным стрессом (СС и СС + OF) число и длительность стоек снижались во вторые 3 мин теста, что вероятно объясняется сменой мотивации у этих животных, вызванной присутствием незнакомого самца в кубике. Межгрупповые сравнения показали, что мыши после социального стресса (СС) чаще вставали на задние лапы, чем контрольные и инфицированные особи в первые 3 мин теста (рис. 1). Во вторые 3 мин этот показатель у мышей СС и СС + OF снижался до контрольных значений. По длительности стоек животные сравниваемых групп не различались как в первые, так и во вторые 3 мин теста.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Тест открытое поле, предложенный первоначально в 1934 г. Hall [31] для оценки эмоциональности у крыс, в настоящее время претерпел множество модификаций и широко используется для исследования различных показателей у грызунов, при этом процедура тестирования может быть разной – однократное или повторное тестирование, длительность теста варьирует от 2 мин до нескольких часов. Считается, что при первой экспозиции животных в условиях открытого пространства проявляются поведенческие ответы, опосредованные тревожностью, в то время как при повторных исследованиях – привыкание животных [32]. При втором тестировании животным предъявляют новые стимулы, в качестве которых могут быть использованы другие животные, что позволяет оценивать социабельность/коммуникативность первых [33]. При этом исследуют реакцию тестируемых мышей на незнакомого самца, помещенного под перфорированный цилиндр или проволочный колпак. Таким образом, испытуемые животные взаимодействуют с интрудером без

физического контакта, а социальный интерес оценивается по предпочтению нахождения рядом с незнакомой мышью.

Многочисленными исследованиями показано, что стресс социальных поражений снижает социабельность мышей. Ранее в наших работах также было установлено уменьшение коммуникативности в тесте Перегородка у мышей, испытавших в течение 20–30 дней социальные поражения в межсамцовых конфронтациях [1, 34]. Существуют единичные данные, свидетельствующие о повышении социабельности у мышей после разной продолжительности стресса социальных поражений [35]. Они получены у нокаутных PACAP$^{-/-}$ мышей с делецией локуса гена *PrP/PACAP*, кодирующего нейропептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза [36]. В тесте социальных взаимодействий мыши PACAP$^{-/-}$ проявляли явное предпочтение в отношении доминирующего самца спустя 14 дней после стресса социальных поражений. Исследователи полагают, что устойчивость мышей к негативному действию стресса социальных поражений связана с повышенным уровнем кортикостерона в течение двух недель стресса [35].

В наших экспериментах также был установлен возросший интерес к незнакомому самцу у мышей CC, испытавших 30 дней социального стресса, при оценке реакции на незнакомого самца, помещенного в перфорированный кубик. Эта группа мышей заметно отличалась от мышей KOH и OF. Следует подчеркнуть их активное исходное поведение в незнакомых условиях теста (первые 3 мин), когда они охотнее контрольных мышей исследовали пустой кубик и чаще залезали на него. Залезание на кубик полностью отсутствовало у мышей OF и CC + OF. Некоторые мыши CC находились на кубике больше минуты. Кроме того, мыши CC проявляли не только интерес к кубику, но и чаще других мышей вставали на задние лапы возле стенок тестовой арены, что отражает их повышенную исследовательскую активность. Создавалось впечатление, что мыши, испытавшие стресс социальных поражений, находятся в состоянии эмоционального возбуждения (arousal).

Во вторые 3 мин теста, когда под кубик помещали незнакомого самца, мыши CC, в отличие от мышей OF и CC + OF, по-прежнему не боялись залезать на кубик и охотно обнюхивали его, находясь сверху. И таких животных была почти половина, в то время, как у мышей KOH – четверть. В то же время инфицированные мыши обеих групп не залезали ни на пустой кубик, ни на кубик с незнакомым самцом. Можно сделать вывод о том, что инфекционный фактор снижает активность мышей и их стремление к социальным контактам. Аналогичное снижение социального интереса у мышей и крыс отмечают и другие исследователи при влиянии инфекционных факторов, например, после введения эндотоксина – липополисахарида, что проявляется в виде снижения обнюхивания или закапывания бокса, содержащего незнакомого самца [37, 38]. В настоящее время пока сложно ответить на вопрос, с чем связана повышенная активность и сохранение социабельности у мышей CC даже после длительного стресса социальных поражений в предварительных межсамцовых конфронтациях. Механизмы, лежащие в основе такого поведения, нуждаются в дальнейших исследованиях. Но учитывая данные Lehmann с соавт. [35], можно предположить, что скорее всего, происходят нарушения в регуляции активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы.

Помимо социального, мыши сравниваемых групп различались и по несоциальному поведению. При этом фактор “социальный стресс” оказывал выраженное влияние на мышей, а фактор “инфекция” препятствовал этим изменениям. Это наглядно видно из табл. 3. В первые 3 мин теста инфицированные мыши (OF и CC + OF) не отличались от контрольных сородичей по всем исследуемым показателям. В отличие от них у мышей CC была выявлена разница от KOH по 5-ти из 8-ми оцениваемых показателей. Присутствие незнакомого самца в кубике по-прежнему не сказывалось на поведении мышей OF и несколько повышало груминг у мышей CC + OF. Мы-

Таблица 3. Отличия поведения мышей OF, CC и CC + OF от KOH в тесте открытого поля с кубиком
Table 3. Differences in the behavior of OF, SS and SS + OF mice from CON ones in the open field test with a box

Поведенческие параметры Behavioral parameters	Первые 3 мин First 3 min			Вторые 3 мин Second 3 min		
	OF OF	CC SS	CC + OF SS + OF	OF OF	CC SS	CC + OF SS + OF
Число подходов к кубику Approaches to the box, *n*		(↑)				
Длительность возле кубика, с Duration near the box, s		↑				
Среднее время возле кубика, с Average time near the box, s		↑			↑↑↑	
Число пересеченных квадратов Crossed squares, *n*						
Число грумингов Groomings, *n*		(↑)			↑	(↑)
Длительность грумингов, с Groomings, s					↑	(↑)
Число стоек Rearings, *n*		↑↑				
Длительность стоек, с Rearings, s						

Стрелка вверх указывает на повышение показателя относительно данного параметра у мышей KOH; изменения градуированы от значений на уровне тенденции (стрелка в скобках) до максимальных (три стрелки); *n* – число, *c* – секунды.
Up-arrows indicate an increase in comparison to the same parameter in CON mice; changes are graduated from values at the trend level (arrow in brackets) to maximum (three arrows); *n* – number, *s* – seconds.

ши CC во вторые 3 мин теста отличались по поведению от мышей KOH по меньшему числу параметров (3 из 8-ми), но эти изменения были более выраженные, чем в первые 3 мин теста. При этом существенное повышение среднего времени за один подход к кубику с незнакомым самцом свидетельствует о их повышенной социабельности по сравнению с остальными мышами.

Сниженное число стоек у мышей CC во вторые 3 мин теста объясняется сменой мотивации: они перестают исследовать тестовую арену, больше интересуются незнакомым самцом в кубике. Кроме того, обращает на себя внимание усиление груминга у мышей после длительного социального стресса, особенно у мышей CC во вторые 3 мин теста. Этот показатель расценивается исследователями как смещенная активность, которая усиливается при помещении животных в незнакомые условия острого стресса [39]. В наших условиях эксперимента усиливающееся проявление этого паттерна поведения было у мышей CC, что также может быть отражением их повышенной стресс-реакции на незнакомый социальный стимул. Причем, по-видимому, инфекционный фактор может несколько снизить это эмоциональное возбуждение, учитывая более низкие показатели груминга у мышей CC + OF.

Ранее мы показали уменьшение коммуникативности, оцениваемой в тесте перегородка у мышей C57BL/6 в возрасте 3–4 мес. после длительных межсамцовых конфронтаций [1]. Одновременно с этим у них развивался поведенческий дефицит в других тестах, в том числе, в приподнятом крестообразном лабиринте и тесте принудительного плавания, а также был повышен базовый уровень кортикостерона в крови [34, 40]. Все это позволило говорить о формировании у мышей тревож-

но-депрессивного состояния. В настоящем эксперименте были исследованы более взрослые мыши (8–9 мес.). Возможно, наблюдаемый возбуждающий эффект стресса социальных поражений у этих мышей объясняется иными механизмами регуляции в ЦНС по сравнению с более молодыми особями. Эти различия могут быть связаны с разным участием гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, контролирующей уровни глюкокортикоидов в крови. Во всяком случае, показано, что социальные поражения у ювенильных мышей (35-дневного возраста) способствуют повышению уровня кортикостерона в крови, сохраняющееся в течение 4-х недель после прекращения стресса, но это не наблюдалось у более взрослых мышей (70-дневный возраст) [41]. Кроме того, существенное влияние может оказывать микроглия мозга. Так, показано, что с возрастом происходит активация микроглии в гиппокампе животных, детектируемая по увеличению экспрессии маркеров микроглии (Iba-1, CD11b и MHCII) [42]. И эта возрастная активация микроглии сопровождается увеличением базального уровня кортикостерона и активацией глюкокортикоидных рецепторов в этой структуре мозга [43]. Причем, хронический стресс оказывал аналогичное действие: в 9-ти из 15-ти стресс-чувствительных областях мозга, в том числе, и в гиппокампе, хронический рестрикционный стресс обуславливал переход микроглии из покоящегося состояние в активированное [44]. Поэтому наблюдаемое нами неадекватное поведение у мышей СС, указывающее на их стремление к социальным контактам, несмотря на имеющийся 30-дневный опыт поражений в межсамцовых конфронтациях, может быть следствием этих нарушений в мозге. Дальнейшее исследование с привлечением молекулярных и иммуногистохимических методов позволит установить причину повышенной возбудимости у мышей после хронического социального стресса.

Возможно и другое объяснение повышенной возбудимости у мышей СС. Не исключено, что длительные межсамцовые конфронтации у мышей инбредной линии C57BL/6 способствуют развитию состояния, аналогичного биполярному аффективному расстройству у людей, когда периоды депрессии сменяются маниакальными эпизодами. В более раннем возрасте (3–4 мес.) социальный стресс способствовал проявлению тревожно-депрессивных форм поведения [1, 40], а в более зрелом возрасте (9–10 мес.) этот же стресс вызывает маниакально-подобное возбуждение. Аналогичные результаты были получены у мышей C57BL/6J при использовании комбинированного хронического стресса (чередование социальной изоляции, нарушения циркадных ритмов, изменения повседневных привычек) [45]. После трех недель стресса у мышей развивалась гиперактивность, психомоторное возбуждение и другие поведенческие изменения, аналогичные симптомам, наблюдаемым у пациентов при маниакальной стадии биполярного расстройств.

Представляется важным тот факт, что у животных с сочетанным действием двух факторов (СС + OF) изменения паттернов поведении в открытом поле менее выражены, чем у мышей СС. Следует учесть, что инфицирование было в течение 6 мес., и оно предшествовало социальному стрессу. Паразитам выгодно как можно дольше находиться в печени хозяина, за счет которого они существуют. Поэтому любые функциональные сдвиги в его организме, вызванные дополнительными внешними неблагоприятными факторами, будут “корректироваться” паразитами, в том числе, нейроиммуноэндокринные нарушения, вызванные социальным стрессом и определяющие поведение животных. Не исключено, что если бы социальный стресс предшествовал инфицированию гельминтами, были получены другие результаты. Так, у разных авторов, использующих разные патогены (бактерии, вирусы) и разное сочетание инфекционных факторов с социальными, показано, что не всегда идет обострение негативного действия одного фактора другим. Например, у мышей C57BL/6 стресс повторных социальных поражений, происходивший за 14 ч до введения липополисахарида – основного компонента клеточной

стенки *Escherichia coli*, усилил избегание социальных контактов, но не влиял на тревожное поведение, оцениваемое в открытом поле, хотя каждый фактор по-отдельности вызывал анксиогенный эффект [46]. Авторы высказали предположение, что тестирование в открытом поле могло быть недостаточно чувствительным, чтобы обнаружить эффекты взаимодействия между стрессом и липополисахаридом. В другой работе кроме животных, у которых социальный стресс предшествовал вирусной инфекции, были мыши, у которых инфицирование вирусами производили в первый день социального стресса [47]. Такой протокол эксперимента по-разному сказывался на поведении мышей в открытом поле: социальный стресс, предшествующий инфицированию, оказывал более негативные последствия на активность мышей в этом тесте, чем одномоментное сочетание двух воздействий.

Суммируя полученные нами данные, можно сказать, что поведение мышей, испытывающих длительное действие разных по природе факторов, в большей степени определяется социальным стрессом, чем *O. felineus*-инфицированием. Несмотря на то, что животные испытали 30-дневный стресс социальных поражений в межсамцовых конфронтациях, у них повышался интерес к незнакомым самцам и были увеличены некоторые параметры исследовательской и смещенной активности в открытом поле. Они чаще, чем контрольные мыши залезали на расположенный на тестовой арене перфорированный кубик с незнакомым интактным самцом и имели самое высокое среднее время нахождения возле него. Кроме того, при тестировании в первые 3 мин теста у них были увеличены число пристеночных стоек, а также число и длительность грумингов. Несмотря на то, что у мышей остальных групп (КОН, OF, CC + OF) также возрастал социальный интерес во вторые 3 мин теста, они не различались по среднему времени нахождения возле кубика с самцом, и этот показатель у всех был ниже, чем у мышей СС. По-видимому, предварительное инфицирование мышей может несколько снижать социальный интерес у мышей. Кроме того, гельминтизация не сказалась на несоциальных формах поведения у мышей OF и CC + OF, что видно при анализе поведения мышей в первые 3 мин теста.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 20-04-00139), бюджетной программой ФИЦ ИЦиГ СО РАН (№ 0324-2019-0041-С-01) и проектом государственного задания ИХТТМ СО РАН (№ 0301-2019-0005).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Августинович Д.Ф., Алексеенко О.В., Бакштановская И.В., Корякина Л.А., Липина Т.В., Тендитник М.В., Бондарь Н.П., Коваленко И.Л., Кудрявцева Н.Н.* Динамические изменения серотонергической и дофаминергической активности мозга в процессе развития тревожной депрессии: экспериментальное исследование. Успехи физиол. наук. 35(4): 19–40. 2004. [*Avgustinovich D.F., Alekseenko O.V., Bakshtanovskaia I.V., Koriakina L.A., Lipina T.V., Tenditnik M.V., Bondar' N.P., Kovalenko I.L., Kudriavtseva N.N.* Dynamic changes of brain serotonergic and dopaminergic activities during development of anxious depression: experimental study. Usp. Physiol. Nauk. 35(4): 19–40. 2004. (In Russ)].
2. *Weber M.D., Godbout J.P., Sheridan J.F.* Repeated social defeat, neuroinflammation, and behavior: monocytes carry the signal. Neuropsychopharmacology. 42(1): 46–61. 2017.
3. *Niraula A., Wang Y., Godbout J.P., Sheridan J.F.* Corticosterone production during repeated social defeat causes monocyte mobilization from the bone marrow, glucocorticoid resistance, and neurovascular adhesion molecule expression. J. Neurosci. 38(9): 2328–2340. 2018.
4. *Reader B.F., Jarrett B.L., McKim D.B., Wohleb E.S., Godbout J.P., Sheridan J.F.* Peripheral and central effects of repeated social defeat stress: monocyte trafficking, microglial activation, and anxiety. Neuroscience. 289: 429–442. 2015.
5. *D'Mello C., Swain M.G.* Liver-brain inflammation axis. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 301(5): G749–G761. 2011.
6. *Laine M.A., Sokolowska E., Dudek M., Callan S.A., Hyytiä P., Hovatta I.* Brain activation induced by chronic psychosocial stress in mice. Sci. Rep. 7(1): 15061: 1–11. 2017.

7. *Montoliu C., Llansola M., Felipo V.* Neuroinflammation and neurological alterations in chronic liver diseases. Neuroimmunol. Neuroinflammat. 2(3): 138–144. 2015.
8. *D'Mello C., Swain M.G.* Liver-brain interactions in inflammatory liver diseases: implications for fatigue and mood disorders. Brain Behav. Immun. 35: 9–20. 2014.
9. *Hernandez-Rabaza V., Agusti A., Cabrera-Pastor A., Fustero S., Delgado O., Taoro-Gonzalez L., Montoliu C., Llansola M., Felipo V.* Sildenafil reduces neuroinflammation and restores spatial learning in rats with hepatic encephalopathy: underlying mechanisms. J. Neuroinflammat. 12(195): 1–12. 2015.
10. *Felipo V., Ordoño J.F., Urios A., El Mlili N., Giménez-Garzó C., Aguado C., González-Lopez O., Giner-Duran R., Serra M.A., Wassel A., Rodrigo J.M., Salazar J., Montoliu C.* Patients with minimal hepatic encephalopathy show impaired mismatch negativity correlating with reduced performance in attention tests. Hepatology. 55(2): 530–539. 2012.
11. *Felipo V.* Hepatic encephalopathy: effects of liver failure on brain function. Nat. Rev. Neurosci. 14: 851–858. 2013.
12. *Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization*. 2014. Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites. Microbiological Risk Assessment Series (MRA) 23. http://www.fao.org/publications/card/en/c/ee07c6ae-b86c-4d5f-915c-94c93ded7d9e/
13. *Yurlova N.I., Yadrenkina E.N., Rastyazhenko N.M., Serbina E.A., Glupov V.V.* Opisthorchiasis in Western Siberia: Epidemiology and distribution in human, fish, snail, and animal populations. Parasitol. Int. 66(4): 355–364. 2017.
14. *Броншейн А.М., Лучшев В.И.* Трематодозы печени: описторхоз, клонорхоз. Рос мед. журн. 6(3): 140–148. 1998. [*Bronstein A.M., Luchshev V.I.* Liver trematoda: opisthorchiasis, clonorchiasis. Ross. Med. J. 6(3): 140–148. 1998. (In Russ)].
15. *Бражникова Н.А., Толкаева М.В.* Особенности клиники, диагностики и лечения описторхозных абсцессов печени. Анналы хирург. гепатол. 5(1): 37–42. 2000. [*Brazhnikova N.A., Tolkaeva M.V.* Peculiarities of clinic, diagnostics and treatment of the opisthorchiasis liver abscesses. Ann. Surg. Hepatol. 5(1): 37–42. 2000. (In Russ)].
16. *Бражникова Н.А., Толкаева М.В.* Рак печени, желчных путей и поджелудочной железы при хроническом описторхозе. Бюлл. сибирск. мед. 2: 71–76. 2002. [*Brazhnikova N.A., Tolkaeva M.V.* Cancer of the liver, biliary tract and pancreas in chronic opisthorchiasis. Bull. Sibirsk. Med. 2: 71–76. 2002. (In Russ)].
17. *Бакштановская И.В., Степанова Т.Ф.* Анализ комплекса биохимических показателей функций печени при хроническом описторхозе. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни. 4: 18–21. 2005. [*Bakshtanovskaia I.V., Stepanova T.F.* An analysis of complex of biochemical parameters of liver functions in chronic opisthorchiasis. Med. Parazitol. (Mosk.) 4: 18–21. 2005. (In Russ)].
18. *Sripa B., Kaewkes S., Sithithaworn P., Mairiang E., Laha T., Smout M., Pairojkul C., Bhudhisawasdi V., Tesana S., Thinkamrop B., Bethony J.M., Loukas A., Brindley P.J.* Liver fluke induces cholangiocarcinoma. PLoS Med. 4(7): e201: 1148–1155. 2007.
19. *Sripa B., Mairiang E., Thinkhamrop B., Laha T., Kaewkes S., Sithithaworn P., Tessana S., Loukas A., Brindley P.J., Bethony J.M.* Advanced periductal fibrosis from infection with the carcinogenic human liver fluke *Opisthorchis viverrini* correlates with elevated levels of interleukin-6. Hepatology. 50: 1273–1281. 2009.
20. *Milewski K., Oria M.* What we know: the inflammatory basis of hepatic encephalopathy. Metab. Brain Dis. 31(6): 1239–1247. 2016.
21. *Степанова Т.Ф., Бакштановская И.В., Скичко С.И.* Показатели тиреоидного статуса у больных острым и суперинвазионным описторхозом. Фундамент исследования. 6: 103–104. 2004. [*Stepanova T.F., Bakshtanovskaia I.V., Skichko S.I.* Parameters of thyroid status in patients with acute and superinvasion opisthorchiasis. Fundament. Issledovania. 6: 103–104. 2004. (In Russ)].
22. *Ахмедов В.А., Критевич М.А.* Хронический описторхоз как полиорганная патология. Вестник НГУ. Серия: Биология, клин. мед. 7(1): 118–121. 2009. [*Akhmedov V.A., Kritevich M.A.* Chronic opisthorchiasis is a multiple-organ pathology. Vestnik NGU. Seriya: Biologiya, Clin. Med. 7(1): 118–121. 2009. (In Russ)].
23. *Avgustinovich D.F., Marenina M.K., Zhanaeva S.Y., Tenditnik M.V., Katokhin A.V., Pavlov K.S., Sivkov A.Y., Vishnivetskaya G.B., Lvova M.N., Tolstikova T.G., Mordvinov V.A.* Combined effects of social stress and liver fluke infection in a mouse model. Brain Behav. Immun. 53: 262–272. 2016.
24. *Wohleb E.S., McKim D.B., Sheridan J.F., Godbout J.P.* Monocyte trafficking to the brain with stress and inflammation: a novel axis of immune-to-brain communication that influences mood and behavior, Front. Neurosci. 8: Article 447: 1–17. 2015. https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00447
25. *Августинович Д.Ф., Коваленко И.Л., Бондарь Н.П.* Выбор "контроля" в экспериментальных исследованиях социальных взаимодействий у мышей. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 91(12): 1454–1468. 2005. [*Avgustinovich D.F., Kovalenko I.L., Bondar' N.P.* Choice

of "control" in experimental researches of animal social interactions in mice. Russ. J. Physiol. 91(12): 1454–1468. 2005. (In Russ)].

26. *Kudryavtseva N.N.* The sensory contact model for the study of aggressive and submissive behaviors in male mice. Aggress. Behav. 17(5): 285–291. 1991.
27. *Hartmann J., Wagner K.V., Dedic N., Marinescu D., Scharf S.H., Wang X.D., Deussing J.M., Hausch F., Rein T., Schmidt U., Holsboer F., Müller M.B., Schmidt M.V.* Fkbp52 heterozygosity alters behavioral, endocrine and neurogenetic parameters under basal and chronic stress conditions in mice. Psychoneuroendocrinology. 37(12): 2009–2021. 2012.
28. *Benson A.D., Burket J.A., Deutsch S.I.* Balb/c mice treated with D-cycloserine arouse increased social interest in conspecifics. Brain Res. Bull. 99: 95–99. 2013.
29. *Masana M., Su Y.A., Liebl C., Wang X.D., Jansen L., Westerholz S., Wagner K.V., Labermaier C., Scharf S.H., Santarelli S., Hartmann J., Schmidt M.V., Rein T., Müller M.B.* The stress-inducible actin-interacting protein DRR1 shapes social behavior. Psychoneuroendocrinology. 48: 98–110. 2014.
30. *Arakawa H.* Analysis of social process in two inbred strains of male mice: A predominance of contact-based investigation in BALB/c mice. Neuroscience. 369: 124–138. 2018.
31. *Hall C.S.* Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. J. Compar. Psychol. 18(3): 385–403. 1934.
32. *Choleris E., Thomas A.W., Kavaliers M., Prato F.S.* A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. Neurosci. Biobehav. Rev. 25: 235–260. 2001.
33. *Iñiguez S.D., Aubry A., Riggs L.M., Alipio J.B., Zanca R.M., Flores-Ramirez F.J., Hernandez M.A., Nieto S.J., Musheyev D., Serrano P.A.* Social defeat stress induces depression-like behavior and alters spine morphology in the hippocampus of adolescent male C57BL/6 mice. Neurobiol. Stress. 5: 54–64. 2016.
34. *Bondar N., Bryzgalov L., Ershov N., Gusev F., Reshetnikov V., Avgustinovich D., Tenditnik M., Rogaev E., Merkulova T.* Molecular Adaptations to Social Defeat Stress and Induced Depression in Mice. Mol. Neurobiol. 55(4): 3394–3407. 2018.
35. *Lehmann M.L., Mustafa T., Eiden A.M., Herkenham M., Eiden L.E.* PACAP-deficient mice show attenuated corticosterone secretion and fail to develop depressive behavior during chronic social defeat stress. Psychoneuroendocrinology. 38(5): 702–715. 2013.
36. *Hamelink C., Tjurmina O., Damadzic R., Young W.S., Weihe E., Lee H.W., Eiden L.E.* Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is a sympathoadrenal neurotransmitterinvolved in catecholamine regulation and glucohomeostasis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 99(1): 461–466. 2002.
37. *Fishkin R.J., Winslow J.T.* Endotoxin-induced reduction of social investigation by mice: interaction with amphetamine and anti-inflammatory drugs. Psychopharmacology (Berl). 132(4): 335–341. 1997.
38. *Arakawa H., Cruz S., Deak T.* From models to mechanisms: odorant communication as a key determinant of social behavior in rodents during illness-associated states. Neurosci. Biobehav. Rev. 35(9): 1916–1928. 2011.
39. *Kalueff A.V., Tuohimaa P.* Grooming analysis algorithm for neurobehavioural stress research. Brain Res. Brain Res Protoc. 13(3): 151–158. 2004.
40. *Kudryavtseva N.N., Avgustinovich D.F.* Behavioral and physiological markers of experimental depression induced by social conflicts (DISC). Aggress. Behav. 24: 271–286. 1998.
41. *Mouri A., Ukai M., Uchida M., Hasegawa S., Taniguchi M., Ito T., Hida H., Yoshimi A., Yamada K., Kunimoto S., Ozaki N., Nabeshima T., Noda Y.* Juvenile social defeat stress exposure persistently impairs social behaviors and neurogenesis. Neuropharmacology. 133: 23–37. 2018.
42. *Frank M.G., Barrientos R.M., Watkins L.R., Maier S.F.* Aging sensitizes rapidly isolated hippocampal microglia to LPS *ex vivo*. J. Neuroimmunol. 226(1–2): 181–184. 2010.
43. *Barrientos R.M., Thompson V.M., Kitt V.V., Amat J., Hale M.W., Frank M.G., Crysdale N.Y., Stamper C.E., Hennessey P.A., Watkins L.R., Spencer R.L., Lowry C.A., Maier S.F.* Greater glucocorticoid receptor activation in hippocampus of aged rats sensitizes microglia. Neurobiol. Aging. 36(3): 1483–1495. 2015.
44. *Tynan R.J., Naicker S., Hinwood M., Nalivaiko E., Buller K.M., Pow D.V., Day T.A., Walker F.R.* Chronic stress alters the density and morphology of microglia in a subset of stress-responsive brain regions. Brain Behav. Immun. 24(7): 1058–1068. 2010.
45. *Boulle F., Massart R., Stragier E., Païzanis E., Zaidan L., Marday S., Gabriel C., Mocaer E., Mongeau R., Lanfumey L.* Hippocampal and behavioral dysfunctions in a mouse model of environmental stress: normalization by agomelatine. Transl. Psychiatry. 4(11): e485. 2014.
46. *Wohleb E.S., Fenn A.M., Pacenta A.M., Powell N.D., Sheridan J.F., Godbout J.P.* 2012. Peripheral innate immune challenge exaggerated microglia activation, increased the number of inflammatory CNS macrophages, and prolonged social withdrawal in socially defeated mice. Psychoneuroendocrinology. 37(9): 1491–1505. 2012.
47. *Johnson R.R., Prentice T.W., Bridegam P., Young C.R., Steelman A.J., Welsh T.H., Welsh C.J., Meagher M.W.* Social stress alters the severity and onset of the chronic phase of Theiler's virus infection. J. Neuroimmunol. 175(1–2): 39–51. 2006.

Specific Features of Social Behavior in Mice after Long-Lasting Exposure to Psychoemotional and Infectious Factors

D. F. Avgustinovich[a, b, *] and N. P. Bondar[a, c]

[a] *Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

[b] *Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

[c] *Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

**E-mail: avgust@bionet.nsc.ru*

The behavior of male mice of the inbred C57BL/6 strain was investigated after prolonged exposure to two factors – social stress and helminth infection, the combination of which is often observed in humans. Four experimental groups of mice were compared: 1) with a long-lasting experience of social defeats in intermale confrontations (30 days) (SS); 2) infected with *O. felineus* helminths (6 months) (OF); 3) exposed to both factors (SS + OF); 4) intact mice without influence of any factors (CON). The behavior of all animals was assessed in the open field test with a box placed in it, which was empty for the first 3 min of the test and kept an unfamiliar male of the inbred BALB/c strain for the second 3 min. Social stress had a more pronounced effect on the assessed behavioral parameters of mice in this test than infection. Mice SS were the most active in exploring of the box with an unfamiliar male inside than other animals: they climbed on it much more often and had a longer average time spent near the box. In addition, they had increased exploratory (number of wall rearings) and grooming (the number and duration) activities. Behavior of infected OF mice did not differ from CON one in both the first and the second 3 min of the test. In mice with a combined effect of factors (SS + OF), non-social forms of behavior also did not differ from the control indices, and the reaction to an unfamiliar male in the box was weaker than in mice SS. It was concluded that long-lasting experience of social defeats in intermale confrontations has a more pronounced effect on the social and non-social behavior in mice, compared with chronic infection of animals with *O. felineus* helminths. Moreover, the combination of two influencing factors promotes to the decreasing of social interest in mice.

Keywords: C57BL/6 mice, social stress, trematode *O. felineus*, behavior, open field

ЦИТИРОВАТЬ:

Августинович Д.Ф., Бондарь Н.П. Особенности социального Поведения мышей после длительного действия психоэмоционального и инфекционного факторов. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 107(1): 28–42. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010039

TO CITE THIS ARTICLE:

Avgustinovich D.F., Bondar N.P. Specific features of social behavior in mice after long-lasting exposure to psychoemotional and infectious factors. Russian Journal of Physiology. 107(1): 28–42. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010039

РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2021, том 107, № 1, с. 43–54

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ МОЗГА КРЫС В СОСТОЯНИИ ПРОДУКТИВНОЙ И НЕПРОДУКТИВНОЙ РАБОТЫ

© 2021 г. Е. В. Филатова[1], *, А. А. Орлов[1], С. В. Афанасьев[1], Н. И. Горбунов[1]

[1]Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*****E-mail: filena17@gmail.com*

Поступила в редакцию 06.08.2020 г.
После доработки 28.09.2020 г.
Принята к публикации 25.10.2020 г.

Задачей работы было исследование нейронной активности клеток префронтальной коры при разном нервно-психическим состоянии животного. Проводилась внеклеточная регистрация импульсной активности нейронов префронтальной коры мозга крыс при выполнении поведенческой задачи выбора в соответствии с условными сигналами в двухкольцевом лабиринте. В каждый опытный день в последовательности выполняемых реализаций выделяли периоды продуктивной и непродуктивной работы, различающиеся преобладанием правильного или неправильного выбора. Сравнительный анализ нейронной активности в шести различных вариантах выполнения программы (правильные побежки налево и направо в продуктивном и непродуктивном состоянии и ошибочные побежки), обнаружил существенное отличие профиля коллективной нейронной активности, сопутствующего подкрепляемым побежкам на одну сторону в непродуктивном состоянии. Это связывается с активацией сформированного в начале обучения профиля активности, сопутствующего подкрепляемым побежкам именно на эту сторону. Предполагается динамический механизм смены стратегий принятия решения в зависимости от состояния животного, проявляющийся в вытормаживании старых моделей при обучении в продуктивном состоянии и ослабление такого механизма контроля в непродуктивном.

Ключевые слова: префронтальная кора, поведение, крысы, нейронная активность, принятие решение, поведение с подкреплением

DOI: 10.31857/S0869813921010040

Реализация когнитивных функций находится в тесной связи с нервно-психическим состоянием животного. Широко исследуется роль префронтальной коры в когнитивных процессах, включая принятие решения, детекцию ошибок, контроль исполнения и память [1]. Префронтальная кора играет существенную роль в цепях фильтрации внимания и сенсорного выбора [2]. Эксперименты с временной инактивацией различных регионов префронтальной коры обнаруживают ее роль в торможении уже инициированного ответа, опосредуемую дофаминергическими и норадренергическими системами [3]. Исследования механизмов участия префронтальной коры в реализации инструментального поведения показало различную специфику в формировании ассоциаций действие–результат и результат–действие. Разрушение прелимбической префронтальной коры приводит к трудностям с из-

влечением и сохранением информации о результатах действий, необходимой для планирования последующей активности [4]. Эксперименты с повреждением медиальной орбитофронтальной коры показывают ее роль в облегчении целенаправленного тормозного ответа в обстоятельствах, которые требуют принятия новых стратегий реагирования [5].

Известна роль медиальной префронтальной коры (mPFC) в реализации рискованного поведения. Показано, что при повреждении mPFC у людей возникают дефекты в принятии решений, которые выражаются в нарушениях, связанных с планированием и игнорированием долгосрочных перспектив и последствием своих действий [6]. В экспериментах на животных показано, что модуляция активности дофаминовой системы или инактивация mPFC приводят к нарушениям в принятии решений о рисках и вознаграждениях [7]. В исследованиях на людях с использованием антагониста D2-рецепторов показано динамическое отслеживание в префронтальной коре значимости выбираемого ответа [8]. Для исследования механизмов принятия решения в разных состояниях на животных используют распространенную парадигму RDT(Risky Decision making Task), когда крысы выбирают между небольшим, “безопасным” вознаграждением и большим, но “рискованным”, которое сопровождается различной вероятностью умеренного наказания [9]. Показано, что инактивация mPFC увеличивает выбор большой рискованной награды (ascending RDT), когда вероятность наказания растет в течение сессии, но при этом уменьшается, когда вероятность наказания снижается в течение сеанса (descending RDT) [10].

Однако эксперименты, использующие методы повреждения или временной инактивации мозговых структур, имеют свои ограничения. Целью данной работы было исследование функционирования префронтальной коры в условиях естественной модуляции поведения. Различная степень успешности выполнения задачи влияет на нервно-психическое состояние животного и приводит к смене стратегий выбора, а одновременная регистрация импульсной активности позволяет проводить сравнительный анализ активности одних и тех же нейронов в условиях одной сессии, но в разном состоянии животного.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные. Исследование нейронной активности проводили на половозрелых самцах крыс линии Вистар ($n = 3$) после имплантации микроэлектродной системы. Все манипуляции осуществлялись в соответствии с протоколом обращения с лабораторными животными, утвержденным биоэтическим комитетом Института эволюционной физиологии и биохимии РАН и основанном на директиве Европейского Сообщества по гуманному обращению с экспериментальными животными (European Communities Council Directive #86/609 for the Care of Laboratory Animals).

Поведенческая модель. Тестирование поведения осуществлялось в двухкольцевом лабиринте [11]. Лабиринт состоит из двух замкнутых на стартовую камеру рукавов с отсеками, разделенными дверками, открывающимися только вперед (рис. 1). Данная поведенческая модель позволяет животному автономно перемещаться, осуществляя в каждой реализации выбор траектории перемещения. Выбор направления происходит в сигнальном отсеке, где расположены светодиоды. Толкание дверки, ведущей в один из рукавов в соответствии с горящим условным сигналом, сопровождается щелчком кормушки. Побежка по любому выбранному рукаву приводит в общий пищевой отсек, где животное, в зависимости от правильности выбора, получает или не получает подкрепление. Выход из пищевого отсека имеется только в стартовую камеру, откуда начитается следующая реализация.

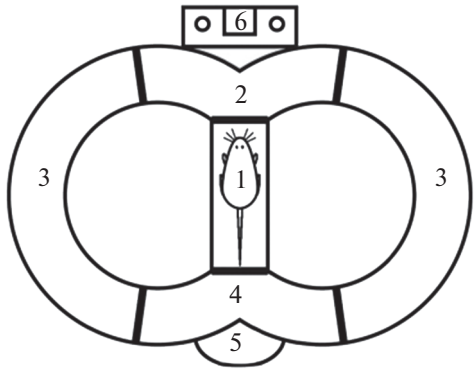

Рис. 1. Схема поведенческого двухкольцевого лабиринта. Отсеки: 1 – стартовый отсек, 2 – сигнальный отсек, 3 – правый и левый рукава лабиринта, 4 – пищевой отсек, 5 – кормушка, 6 – условные сигналы.
Fig. 1. Scheme of the two-ring maze. Compartments: 1 – start compartment, 2 – signal compartment, 3 – right and left arms, 4 – food compartment, 5 – feeder, 6 – signals.

Обучение. Обучение животных поведению в лабиринте осуществлялось поэтапно. На первом этапе животных обучали получать подкрепление в пищевом отсеке. В качестве подкрепления использовались пшеничные шарики. Появление каждого шарика сопровождалось щелчком кормушки. Далее животных обучали толкать дверку выхода из пищевого отсека в стартовый, потом, после предупреждающего сигнала и снятия стопора, животное обучалось проходить в правый рукав и далее в пищевой отсек, получая там подкрепление. Левая часть лабиринта была загорожена заслонкой, так что при выходе из стартового отсека на этом этапе животному была доступна только правая дверка. После успешного обучения прохождению всего цикла по правому рукаву проводилась операция по имплантации микроэлектродной системы. Такое предварительное обучение, проводимое до имплантации системы, было необходимо для того, чтобы отобрать животных для дальнейшего эксперимента. Отдельные особи были склонны часто разворачиваться в отсеках лабиринта или проявлять страх и агрессию по отношению к экспериментатору. Регистрация активности клеток требует многочисленных манипуляций с животным, поэтому в период предварительного обучения производился отбор животных. Дальнейшее обучение с допуском к левому рукаву лабиринта и обучением работе на условные сигналы осуществлялось уже одновременно с регистрацией нейронной активности. Сигналы представляли собой светодиоды, расположенные в сигнальном отсеке. Включение лампочки производилось после открытия крысой дверки в сигнальный отсек. Выбор стороны побежки, совпадающий с горящей лампой, сопровождался щелчком кормушки и появлением подкрепления в кормушке. Щелчок раздавался в момент закрытия за крысой дверки в выбранный рукав лабиринта: правый (R) или левый (L). Такая побежка считалась правильной. В дальнейшем мы обозначаем их знаком плюс (+). При несовпадении стороны сигнала и выбранного рукава лабиринта щелчка не раздавалось и в кормушке не появлялось подкрепления. Такая побежка считалась ошибочной. В дальнейшем мы обозначаем их знаком минус (–).

Имплантация системы и регистрация нейронной активности. Микроэлектродная система из 14 электродов представляет из себя два блока, каждый по 7 платиново-иридиевых заточенных микроэлектродов в кварцевой изоляции (d = 50 мкм, оголенный кончик жилы d = 5–7 мкм, сопротивление около 1 МОм), где каждый электрод имеет самостоятельный микродрайвер, позволяющий передвигать его не-

зависимо от остальных. Каждый блок из 7 микроэлектродов представляет собой конус, в котором направляющие каналы расположены под углом к вертикальной оси системы. Направляющие расположены по окружности [12]. Полный оборот микродрайвера погружает микроэлектрод на 250 мкм, небольшой угол поворота позволяет подводить кончик каждого электрода близко к мембране нейрона. Имплантация системы проводилась во время хирургической операции под наркозом (золетил 60 мг/кг, внутримышечно), это суммарная доза, которую вводили дробно по потребности по ходу операции. Крепление к черепу системы осуществлялось стоматологической пластмассой. Также пластмассой крепились два индифферентных серебряных электрода, расположенных в отверстиях черепа в симметричных точках теменной кости двух полушарий. Внеклеточная регистрация нейронной активности производилась одновременно в двух симметричных зонах префронтальной коры мозга крысы: координаты по атласу (AP:–1, L:1.2–1.5), угол оси погружения – 15° относительно сагиттальной плоскости [13]. Диаметр кончика направляющей, располагающейся непосредственно над поверхностью коры – 0.5 мм, расстояние между отдельными электродами зависит от разницы в глубине погружения, но в большинстве случаев не превышает 200 мкм. Непосредственно на черепе также располагался предусилитель, выполненный на 8 двухканальных микросхемах (коэффициент усиления 10), соединенный кабелем с усилителем (коэффициент усиления 100, полоса пропускания от 300 до 10000 Гц), сигналы от которого поступали на аналого-цифровой преобразователь компьютера. Синхронизация регистрируемой импульсной активности и временных интервалов выполняемого поведения осуществлялась через контроллер Nasional Instruments, управление установкой автоматизировано с использованием среды LabView.

Через неделю после операции и полного заживления приступали к поведенческим экспериментам и регистрации активности нейронов. Регистрация осуществлялась через 40–60 мин после поиска клеток, при устойчивой активности каждой клетки. В каждый опытный день крысы выполняли 50–80 реализаций с предъявлением условных сигналов. Сигналы предъявлялись в псевдослучайной последовательности, так, чтобы альтернаций и персевераций было сравнимое количество и их появление было равновероятным. Таким образом, регистрировались правильные (подкрепляемые) и ошибочные (неподкрепляемые) побежки налево и направо. В данной работе для анализа взяты две последовательных опытных серии для каждой крысы, в которых правильных реализаций было около 50%. У первой крысы это были 12-я и 13-я серии от начала эксперимента, у второй – 13-я и 14-я, у третьей 12-я и 13-я.

Анализ нейронной активности. Из последовательности выполняемых реализаций выделялись периоды, когда крыса совершала больше ошибочных или больше правильных выборов, и относили эти периоды к продуктивному или непродуктивному состоянию. Реализации отбирались по критерию количества ошибок и правильных выполнений в скользящем окне из последовательности в 6 реализаций. Если правильная реализация попадала в окно, где из 6 последовательных реализаций было не больше 1 ошибки, то есть, когда ошибок в текущем интервале было не более 16%, то она относилась к продуктивному состоянию, остальные – к непродуктивному. Здесь приведен пример последовательности выполняемых испытаний, где индекс обозначает последовательный номер испытания: R_1+, L_2+, L_3+, R_4-, L_5+, L_6+, R_7+, R_8-, R_9-, $R_{10}+$, $L_{11}+$, $L_{12}-$, $R_{13}+$, $L_{14}-$, $R_{15}+$. В приведенном примере 1-е, 2-е, 3-е, 5-е, 6-е и 7-е правильные испытания относятся к продуктивному периоду, а 10-е, 11-е ,13-е и 15-е – к непродуктивному. Разделяя таким образом успешные правые и левые реализации, производилось сравнение успешных выполнений непродуктивных периодов (R_1+) и (L1+), мы их маркируем цифрой 1, с успешными выполнениями продуктивных периодов (R2+) и (L2+), мы их марки-

Таблица 1. Число реализаций программы для каждого варианта поведения
Table 1. The number of the trials for each variant of the behavior

Поведение Behavior	Крыса № 1 Rat № 1	Крыса № 2 Rat № 2	Крыса № 3 Rat № 3
R2+	40	13	28
R1+	8	10	18
L2+	39	11	21
L1+	6	14	10
R–	25	41	23
L–	18	11	31
Всего All	136	100	131

руем цифрой 2, а также с ошибочными выполнениями (R–) и (L–). Ошибочные выполнения не разделяли на попавшие в продуктивный и непродуктивный интервал, предполагая, что ошибка сама по себе является свидетельством непродуктивности. В табл. 1 представлено число попавших в анализ реализаций каждого поведенческого варианта для каждой крысы.

Все электроды после начала регистрации оставались неподвижными, и для верификации нейронов использовался сравнительный анализ формы спайков, зарегистрированных в начале и в конце эксперимента. Таким образом, активность каждого из нейронов, вошедших в анализ, была зарегистрирована во всех вариантах выполнения поведенческой программы. Анализ формы спайков, их фильтрация от электрических наводок, накопление и синхронизация с поведенческими метками производились в специально написанной на заказ программе shevelev.pro. Регистрируемые временные метки прохождения отсеков лабиринта позволяют выделить 6 периодов поведенческой программы: (1) фоновая активность, регистрируемая в стартовом отсеке, от входа в отсек до появления звукового предупреждающего сигнала, (2) стартовая активность – от предупреждающего сигнала до открытия дверок в сигнальный отсек, (3) от открытия дверок в сигнальный отсек до открытия дверок в выбранный рукав лабиринта, (4) время прохождения дверки входа в рукав лабиринта – от ее открытия до закрытия, (5) время прохождения рукава – от закрытия дверки входа до открытия дверки выхода из рукава, (6) период пребывания в пищевом отсеке. Оценивалась средняя частота импульсации на каждом этапе выполнения поведенческой программы. Таким образом, анализ активности каждого нейрона включал в себя 36 измерений: усредненную частоту, зарегистрированную на 6 последовательных этапах в 6 поведенческих вариантах – подкрепляемые побежки направо и налево в непродуктивный период (R1+), (L1+), подкрепляемые побежки направо и налево в продуктивный период (R2+), (L2+) и ошибочный выбор (R–) и (L–). Полученные данные обрабатывались стандартными методами дискриминантного анализа (Statistica 6.0), который позволяет оценить степень сходства/различия групп (в данном случае группой являлся один из 6 поведенческих вариантов) путем вычисления расстояний Махаланобиса между их центроидами. Матрица для анализа состояла из 36 строк, в каждой из которых была представлена средняя частота импульсной активности на 6 поведенческих этапах в 6 вариантах выполнения поведенческой программы. Поведенческие варианты в используемом дискриминантном анализе мы рассматриваем как отдельные группы, каждый нейрон – как отдельную переменную. Достоверность межгрупповых различий определялась F-статистикой и ее значимостью. Степень сходства оценивалась по расстоянию Махаланобиса между центроидами сравниваемых облаков соответствующих активности групп нейронов в определенной поведенче-

ской ситуации. Для визуализации сходства и отличий профилей нейронной активности, сопутствующих разным поведенческим ситуациям, использовали кластерный анализ (древовидная кластеризация по методу ближайшего соседа) полученных квадратов расстояний Махаланобиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ времени прохождения различных отсеков лабиринта в разных поведенческих ситуациях показал высокую вариативность у трех крыс. Так, время принятия решения (этап 3) у крысы № 1 колеблется в интервале от 800 до 3000 мс, при этом минимальное время наблюдается при верном выборе левой стороны в продуктивный период (L2+), а максимальное – при выборе той же левой стороны в непродуктивный (L1+). У крысы № 2 – от 1300 до 20000 мс, при этом минимальное время наблюдается при выборе правой стороны в непродуктивном состоянии (R1+), а максимальное – при ошибочном выборе правой стороны (R–). У крысы № 3 – от 1300 до 18000 мс, при этом минимальное время наблюдается при верном выборе левой стороны в непродуктивный период (L1+), а максимальное – при ошибочном выборе правой стороны (R–). Менее вариативно время побежки по рукаву (этап 5), так, для крыс № 2 и № 3 это время колеблется в пределах 1300–4500 мс без существенных отличий между вариантами поведения. У крысы № 1, наоборот, время побежки по рукаву существенно короче – от 350 до 1300мс при правильных выполнениях (R1+, R2+ и L2+) и значительно длиннее при ошибочных (R– и L–) и правильном левом выборе в непродуктивном состоянии (L1+).

Анализ нейронной активности проводился для каждой крысы отдельно и включал в себя записи активности 58 клеток префронтальной коры ($n = 20$, $n = 19$, $n = 19$). На рис. 2 представлены паттерны изменения частоты импульсной активности по этапам программы при разных вариантах ее выполнения. У разных животных эти паттерны отличны. Так, у первой крысы частота импульсной активности выше практически на всех этапах программы при ошибочном выборе правой стороны (R–) и правильном выборе левой в непродуктивном состоянии (L1+) по сравнению с другими вариантами выполнения программы. У крысы 2 наблюдается существенное превышение частоты импульсной активности при ошибочном выборе как левого, так и правого рукава (R–, L–), в отличие от крысы 3, где минимальная частота выявлялась при ошибочной побежке направо (R–), а максимальная – при ошибочной побежке налево (L–).

На рис. 3 представлен результат кластерного анализа квадратов расстояний Махалонобиса, отражающий степень сходства профилей коллективной активности нейронов, проявляемой в разных вариантах выполнения поведенческой программы.

Древовидные диаграммы демонстрируют кластеры, объединяющие отдельные группы. На диаграммах видно выделение в отдельный кластер активности, соответствующей успешным побежкам направо в непродуктивном состоянии (R1+). В табл. 2 представлен результат F-статистики и вероятность попарного сравнения, которая позволяет оценить значимость отличий активности в разных вариантах поведения. Во всех случаях активность, сопутствующая (R1+) статистически значимо отличается от всех прочих ($p < 0.05$). При этом разницы между правыми и левыми успешными реализациями в продуктивном состоянии во всех случаях (R2+ и L2+) нет.

Анализ коэффициентов дискриминантных функций позволяет оценить вклад отдельных нейронов в дискриминацию. Для каждой группы были отобраны клетки с максимальными коэффициентами, имеющие статистически значимые ($p < 0.05$) значения критерия Фишера. Из 58 нейронов таких оказалось 12. Анализ не обнару-

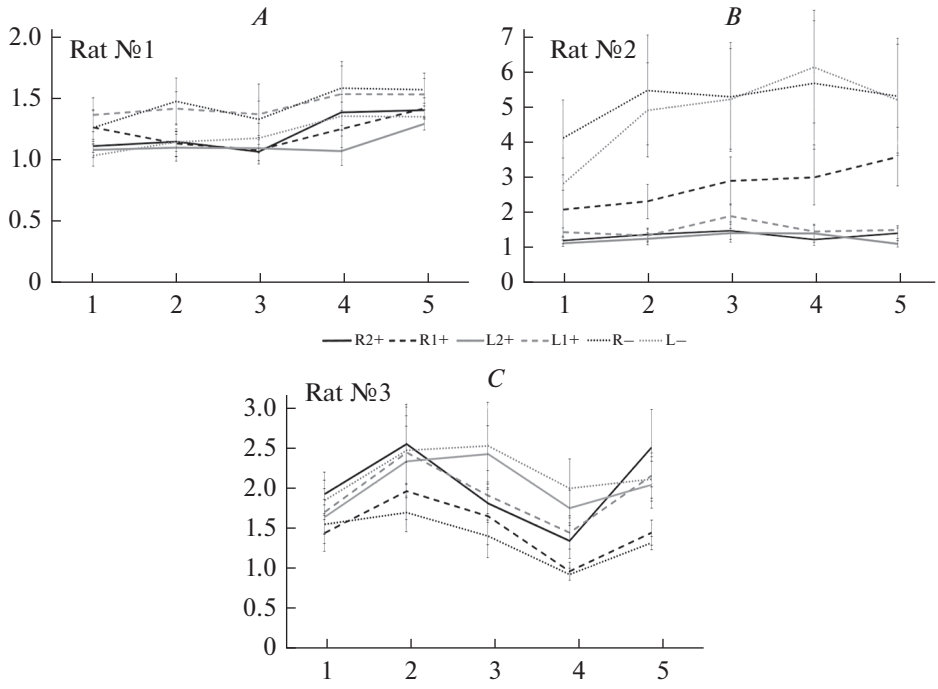

Рис. 2. Средняя частота импульсной активности по отношению к фоновой на разных этапах поведенческой программы при разных вариантах ее выполнения (R1+, R2+, L1+, L2+, R–, L–). Все правые побежки – черные, все левые – серые, сплошная линия – продуктивное состояние, длинный штрих – непродуктивное, точки – ошибочные выполнения. По оси абсцисс этапы программы: 1 – старт, 2 – принятие решения, 3 – прохождение выбранной двери в рукав, 4 – прохождение рукава, 5 – подкрепление. По оси ординат – частота импульсной активности имп/с ± ошибка среднего. *A*, *B* и *C* – разные животные.

Fig. 2. The average frequency of the impulse activity (to the background) at the different stages of the behavioral program for different behavioral states (R1+, R2+, L1+, L2+, R–, L–). All (R) trials are black, all (L) trials are gray, a solid line is a efficient state, a long stroke is ineffective state, dots are error trials. On the abscissa axis the stages of the program: 1 – start, 2 – decision making, 3 – passage across the choosed door, 4 – passage across the arm, 5 – reinforcement. The ordinate is the frequency of impulse activity, imp/s ± *SEM*. *A*, *B* and *C* are different animals

жил никаких специфических признаков для этой выборки. Средняя фоновая частота этих клеток варьирует в диапазоне от 0.2 до 18 имп/с, а также эти нейроны представлены в обоих полушариях. Изменение средней частоты по этапам программы этих нейронов для каждой группы в отдельности повторяет паттерн такого изменения, наблюдаемого для всей группы, представленного на рис. 2. Это может свидетельствовать о неспецифическом характере вовлекаемых в формирование профиля ответа клеток и соответствует данным актограмм, показывающих индивидуальный характер поведенческой модели.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Обнаруженная разница для разных животных в соотношении длительностей прохождения отсеков лабиринта при разных вариантах выполнения программы, а также разное распределение средней частоты импульсной активности, свидетельствует о специфически персональном характере сформированного поведенческого паттерна и отражает индивидуальные особенности исследованных животных. Многомерная статистика дискриминантного анализа учитывает разницу в актив-

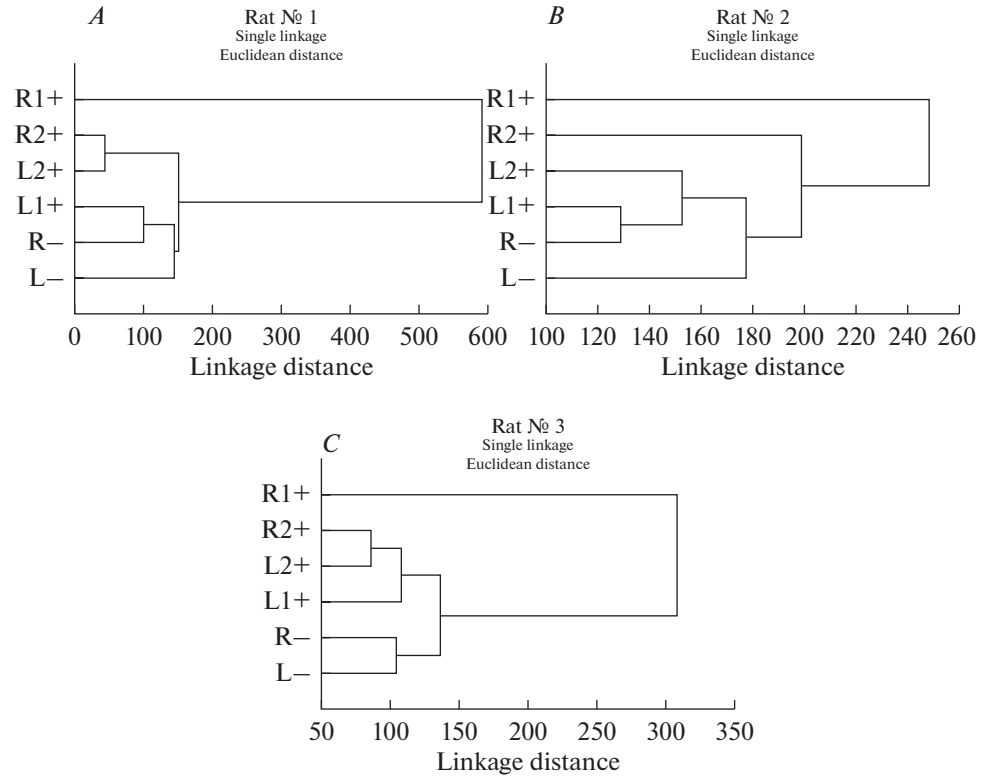

Рис. 3. Кластерный анализ профилей импульсной активности, сопутствующих разным поведенческим состояниям: успешные побежки в непродуктивном состоянии (R1+) и (L1+), успешные побежки в продуктивном состоянии (R2+) и (L2+) и ошибочные реализации (R–) и (L–). *A*, *B* и *C* – разные животные.
Fig. 3. Cluster analysis of the impulse activity associated with different behavioral states: successful motions in a ineffective state (R1+) and (L1+), successful motions in a efficient state (R2+) and (L2+) and error trials (R–) and (L–). *A*, *B* and *C* are different animals.

ности каждого нейрона при выполнении разных вариантов поведенческой программы. Результатом является метрика сходства или различия коллективной активности нейронов, сопутствующей разному поведению. Дискриминантный анализ коллективной активности нейронов, несмотря на индивидуальный профиль изменения средней частоты импульсации по этапам программы, обнаружил сходный признак у разных животных. Сравнение импульсной активности нейронов префронтальной коры в продуктивные и непродуктивные периоды работы выявило у всех исследованных животных общую закономерность – отличие профиля активности (R1+) от всех прочих вариантов выполнения поведенческой программы. Обучение всех животных проводилось с правой стороны. До имплантации микроэлектродной системы крыс обучали выполнению побежек по правому кольцу лабиринта с подкреплением каждой побежки. Дальнейшее обучение включало перенос навыка на другую сторону, и после успешного освоения левого кольца производилось обучение работе на условные сигналы. Таким образом, индивидуальный опыт животных включает побежки направо в двух разных режимах подкрепления. В первом случае, при формировании оперантной части, подкреплялись все побежки, а во втором, при предъявлении условных сигналов, подкреплялись только соответствующие сигналам. При обучении задаче билатерального выбора с выполне-

Таблица 2. Оценка достоверности (*p*-level) групповых различий по данным дискриминантного анализа. A, B и C – разные животные
Table 2. *p*-level of group differences (distances between groups) based on Discriminant function analysis. A, B and C are different animals

p-level **A**							p-level **B**							p-level **C**						
	R1+	R2+	L1+	L2+	R–	L–		R1+	R2+	L1+	L2+	R–	L–		R1+	R2+	L1+	L2+	R–	L–
R1+		0.000	0.003	0.000	0.005	0.001	R1+		0.001	0.004	0.006	0.022	0.013	R1+		0.005	0.014	0.002	0.017	0.002
R2+	0.000		0.034	0.957	0.092	0.250	R2+	0.001		0.015	0.476	0.001	0.002	R2+	0.005		0.152	0.313	0.465	0.759
L1+	0.003	0.034		0.028	0.596	0.477	L1+	0.004	0.015		0.162	0.267	0.193	L1+	0.014	0.152		0.056	0.287	0.096
L2+	0.000	0.957	0.028		0.119	0.406	L2+	0.006	0.476	0.162		0.022	0.015	L2+	0.002	0.313	0.056		0.014	0.294
R–	0.005	0.092	0.596	0.119		0.736	R–	0.022	0.001	0.267	0.022		0.110	R–	0.017	0.465	0.287	0.014		0.082
L–	0.001	0.250	0.477	0.406	0.736		L–	0.013	0.002	0.193	0.015	0.110		L–	0.002	0.759	0.096	0.294	0.082	

нием последовательности действий невозможно избежать этого, так как обучение моторной части задачи всегда заставляет экспериментатора выбрать первой для обучения одну из сторон. Такое обучение занимает не более двух экспериментальных серий, состоящих из не более 30–40 реализаций. Имплантация системы и обучение побежкам на другую сторону проводилось сразу после первичного обучения, но, по-видимому, этого достаточно для формирования навыка. Таким образом, при первичном обучении подкрепляемых побежек направо формируется устойчивый профиль, который, по-видимому, мы и наблюдаем при последующем анализе. Такие подкрепляемые побежки направо можно рассматривать как классическое оперантное обуславливание. В основе такого поведения лежит устойчивая связь между выполняемым действием и побежкой, формируемая на основе мотивации голода. В терминах Конорского это можно рассматривать как подготовительную деятельность или драйв-рефлекс, в отличие от исполнительной [14]. Развивая концепцию двух разных мотивационных систем, Dickinson и Balleine разделяют Павловскую мотивацию, приводящую к стимул-реакция ответам и мотивацию, приводящую к выбору определенного действия, направленного на достижение определенной цели. Эта концепция полагает, что целенаправленные действия включают в себя некий когнитивный процесс, в котором целенаправленные действия вызываются взаимодействием убеждения, что реакция приводит к результату, с желанием этого конкретного результата [15]. В теории reinforcement learning предполагается, что эти два разных механизма имеют разную нейрофизиологическую природу. Классические представления о дофамине как предикторе ошибок, лежащем в основе ассоциации между ситуациями, действиями и наградами за счет модуляции силы синаптических связей между нейронами, хорошо описывают связи стимул–реакции [16, 17]. Считается, что дофаминовые нейроны отвечают за процессы подкрепления в обучении с вознаграждением без использования моделей (the model-free reward learning). Напротив, обучение с вознаграждением на основе модели (the model-free reward learning) задействует участие различных областей префронтальной коры, отвечающих за знание специфических для задачи правил [18]. С этим связан обнаруживаемый гибкий ответ префронтальной коры в условиях модуляции задач [19].

В нашей поведенческой модели можно предположить включение model-based reward learning в продуктивные периоды, а model-free reward learning в непродуктивные. Появление первичного R1+ профиля проявляется именно в непродуктивные периоды работы, когда животное совершает больше ошибочных, чем правильных реализаций. Видимо, в этот период происходит смена стратегии выбора и животное выбирает не собственное действие, а пытается предсказать сторону появления подкрепления, то есть, выбирает стратегию, при которой надеется получить небольшое подкрепление, не ориентируясь на сигналы, а довольствуется тем, которое получает при случайном выборе. По-видимому, в непродуктивные периоды работы животное осуществляет выбор случайным образом, и при успешном выборе правого рукава происходит активация профиля первичного обучения. Можно предположить, что такая активация будет тормозить обучение работе на сигналы, так как подкрепляется именно непродуктивная работа.

Важным тут является то, что положительное подкрепление подкрепляет именно выбранную стратегию принятия решения, но поскольку в большинстве случаев мы не знаем на основании чего совершен выбор, то для успешности обучения надо минимизировать такие подкрепления.

В экспериментах исследования выбора рискованного и нерискованного поведения показано, что инактивация префронтальной коры увеличивает выбор, связанный с повышенным риском [10]. Это может быть связано с тем, что животное переходит в режим вероятностного анализа получения подкрепления, игнорируя другие факторы, что согласуется с нарушениями в оценке результата выполняемых

действий [4]. В нашей модели условия эксперимента так же, как и вероятность получения подкрепления, остаются неизменными, однако животное в зависимости от выбранной стратегии сталкивается с разной частотой подкрепления и соответственно с модуляцией эмоциональной сферы.

Во всех трех случаях профили активности, соответствующие правильному выбору направо и налево (R2+ и L2+) и ошибочным побежкам (L– и R–), между собой перекрываются, не показывая существенной разницы. Проведенный анализ включает в себя все этапы поведенческой программы, как латерализованные так и нет, в анализ при этом включались все этапы поведенческой программы. Отсутствие дифференцировки между правыми и левыми реализациями не свидетельствует о ее истинном отсутствии, а говорит лишь о том, что разница между состояниями (продуктивным и непродуктивным) является более существенной для результатов дискриминантного анализа.

Очевидно, что при обучении мы имеем дело не только с формированием новых профилей, но и с отказом от непродуктивных старых. Обнаруженный в префронтальной коре устойчивый профиль нейронной активности, по-видимому, связанный с предшествующим опытом первичного обучения подкрепляемых побежек направо, свидетельствует о роли префронтальной коры в обучении, проявляющейся в конфликте старых моделей поведения с необходимостью формирования новых. Можно предположить динамический механизм смены стратегий принятия решения в зависимости от состояния животного, проявляемый в вытормаживании старых моделей при обучении в продуктивном состоянии и ослабление такого механизма контроля в непродуктивном.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания (АААА-А18-118012290373-7).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Euston D.R., Gruber A.J., McNaughton B.L.* The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. Neuron. 76(6): 1057–1070. 2012. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.002
2. *Nakajima M., Schmitt L.I., Halassa M.M.* Prefrontal Cortex Regulates Sensory Filtering through a Basal Ganglia-to-Thalamus Pathway. Neuron. 103(3): 445–458. 2019. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.05.026
3. *Bari A., Mar A.C., Theobald D.E., Elands S.A., Oganya K.C., Eagle D.M., Robbins T.W.* Prefrontal and monoaminergic contributions to stop-signal task performance in rats. J. Neurosci. 31(25): 9254–9263. 2011. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1543-11.2011
4. *Corbit L.H., Balleine B.W.* The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. Behav. Brain Res. 146: 145–157. 2003. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.023
5. *Gourley S.L., Lee A.S., Howell J.L., Pittenger C.*, Taylor J.R. Dissociable regulation of instrumental action within mouse prefrontal cortex. Eur. J. Neurosci. 32(10): 1726–1734. 2010. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07438.x
6. *Bechara A., Damasio A.R., Damasio H., Anderson S.W.* Insensitivity to future consequences following damage to human prefrontal cortex. Cognition. 50: 7–15. 1994. https://doi.org/10.1016/0010-0277(94)90018-3
7. *St Onge J.R., Abhari H., Floresco S.B.* Dissociable contributions by prefrontal D1 and D2 receptors to risk-based decision making. J. Neurosci. 31: 8625–8633. 2011. https://doi.org/0.1523/JNEUROSCI.1020-11.2011
8. *Jocham G., Klein T.A., Ullsperger M.* Dopamine-mediated reinforcement learning signals in the striatum and ventromedial prefrontal cortex underlie value-based choices. J. Neurosci. 31(5): 1606–1613. 2011. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3904-10.2011
9. *Yates J.R.* Examining the neurochemical underpinnings of animal models of risky choice: Methodological and analytic considerations. Exp. Clin. Psychopharmacol. 27(2): 178–201. 2019. https://doi.org/10.1037/pha0000239
10. *Orsini C.A., Heshmati S.C., Garman T.S., Wall S.C., Bizon J.L., Setlow B.* Contributions of medial prefrontal cortex to decision making involving risk of punishment. Neuropharmacology.

139: 205–216. 2018.
https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.07.018
11. *Filatova E.V., Orlov A.A., Afanas'ev S.V.* A two-ring maze for studies of the behavior of laboratory animals. Neurosci. Behav. Physiol. 45(7): 765–770. 2015.
12. *Orlov A.A., Filatova E.V.* A miniature system of independent micromanipulators for recording neuron activity in freely moving animals. Neurosci. Behav. Physiol. 42(1): 97–99. 2012.
13. *Paxinos G., Watson Ch.* The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, 6th Edition Hard Cover Edition. Acad. Press. 2006.
14. *Konorski J.* Conditioned Reflexes and Neuron Organization. Cambridge. England. Cambridge Univer. Press. 1948.
15. *Dickinson A., Balleine B.* Motivational Control of Instrumental Action. Current Directions Psychol. Sci. 4(5): 162–167. 1995.
16. *Schultz W., Dayan P., Montague P.R.* A neural substrate of prediction and reward. Science. 275: 1593–1599. 1997.
17. *Schultz W.* Getting formal with dopamine and reward. Neuron. 36: 241–263. 2002.
18. *Daw N.D., Niv Y., Dayan P.* Uncertainty-based competition between prefrontal and dorsolateral striatal systems for behavioral control. Nat. Neurosci. 8(12): 1704–1711. 2005.
19. *Kaefer K., Nardin M., Blahna K., Csicsvari J.* Replay of Behavioral Sequences in the Medial Prefrontal Cortex during Rule Switching. Neuron. 106(1): 154–165. 2020.

Comparative Analysis of the Prefrontal Cortex Rat Brain Neuron Activity in the Efficient and Ineffective Behavior

E. V. Filatova[a], *, A. A. Orlov[a], S. V. Afanasyev[a], and N. I. Gorbunov[a]

[a] *Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

**e-mail: filena17@gmail.com*

The goal of the work was to study the prefrontal cortex neural activity in the different neuropsychological conditions of the animal. Extracellular neuron activity of the prefrontal cortex rat brain was recorded in rats performing the behavioral task of choice in the two-ring maze. On each experimental day, in the sequence of trials, periods of efficient and ineffective work were distinguished, differing in the prevalence of correct or incorrect choice. A comparative analysis of the neuron activity in six different variants of behavior revealed a significant difference in one pattern of neural activity accompanying reinforced trials to the one side in the ineffective condition. It is assumed that this is due to the activation of a previously formed pattern of behavior such leads to a probabilistic choice strategy. A dynamic mechanism of changing some decision-making strategies depending on the neuropsychological conditions of the animal is assumed, manifested in the inhibition of old models during training in a efficient state and a weakening of such a control mechanism in an ineffective state.

Keywords: prefrontal cortex, efficient behavior, rat, unit activity, reinforcement learning, decision-making

ЦИТИРОВАТЬ:

Филатова Е.В., Орлов А.А., Афанасьев С.В., Горбунов Н.И. Сравнительный анализ активности нейронов префронтальной коры мозга крыс в состоянии продуктивной и непродуктивной работы. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 107(1): 43–54. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010040

TO CITE THIS ARTICLE:

Filatova E.V., Orlov A.A., Afanasyev S.V., Gorbunov N.I. Comparative analysis of the prefrontal cortex rat brain neuron activity in the efficient and ineffective behavior. Russian Journal of Physiology. 107(1): 43–54. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010040

РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2021, том 107, № 1, с. 55–69

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ИЭМ-1925, КАНАЛОБЛОКАТОР ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ, УВЕЛИЧИВАЕТ ЛАТЕНТНЫЙ ПЕРИОД И СОКРАЩАЕТ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО СТАТУСА У КРЫС В ЛИТИЙ-ПИЛОКАРПИНОВОЙ МОДЕЛИ ЭПИЛЕПСИИ

© 2021 г. С. И. Ватаев[1, *], Н. Я. Лукомская[1], Л. Г. Магазаник[1, 2]

[1]Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

[2]Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*****E-mail: son-vat@yandex.ru*

Поступила в редакцию 02.06.2020 г.
После доработки 16.10.2020 г.
Принята к публикации 19.10.2020 г.

В хронических опытах на крысах Вистар и крысах Крушинского–Молодкиной с наследственной предрасположенностью к аудиогенным судорогам изучали влияние на электрическую активность мозга при развитии вызванного пилокарпином эпилептического статуса (ЭС) антагониста глутаматных рецепторов ИЭМ-1925, воздействующего как на NMDA-, так и Ca^{2+}-проницаемые AMPA/каинатные рецепторы. Регистрировали электрограммы хвостатого ядра, гиппокампа, соматосенсорной, зрительной и слуховой коры. Выявили, что последовательность смены фаз ЭС, определяемых по паттернам электрограмм, не меняется под действием данного блокатора. Вместе с тем ИЭМ-1925 ослаблял у крыс поведенческие моторные судорожные проявления при ЭС, снижая интенсивность судорог с 8 до 4 баллов по шкале Pinel, Rovner [1978]. Кроме того, у крыс Крушинского–Молодкиной латентный период до появления эпилептиформной активности на ЭЭГ после введения пилокарпина увеличивался на фоне действия ИЭМ-1925 в дозе 10 мг/кг на 40% (в среднем с 12.8 ± 1.1 до 18.0 ± 2.1 мин), а у крыс Вистар – почти в 2 раза (с 22.5 ± 0.2 до 43.5 ± 3.7 мин). Средняя продолжительность ЭС при действии ИЭМ-1925 в дозе 10 мг/кг у крыс Крушинского–Молодкиной и Вистар была в 4.5–5 раз меньше, чем без применения блокатора. Полученные данные свидетельствуют о том, что сочетанная блокада NMDA- и Ca^{2+}-проницаемых AMPA/каинатных рецепторов глутамата хотя и не способна предотвратить развитие ЭС, вызванного пилокарпином, однако увеличивает латентный период начала статуса и существенно сокращает длительность как отдельных фаз, так и общую продолжительность ЭС.

Ключевые слова: крысы Вистар и Крушинского–Молодкиной, литий-пилокарпиновая модель эпилепсии, эпилептический статус, ЭЭГ, NMDA-рецептор, кальций-проницаемый AMPA-рецептор, ИЭМ-1925

DOI: 10.31857/S086981392101009X

Глутамат является основным возбуждающим медиатором в ЦНС [1–3]. Его действие реализуется посредством ионотропных рецепторов трех семейств, названных по их основному агонисту: NMDA (N-метил-D-аспартат), AMPA (альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовая кислота) и каинатные рецепторы [1, 4]. При развитии ряда патологических процессов в мозге, в частности, судорожных

синдромов, глутамат играет роль нейротоксического агента [1, 2]. Способность блокаторов ионотропных глутаматных рецепторов предупреждать или купировать на различных экспериментальных моделях эпилептиформные проявления используется для исследования этиологии и патогенеза судорожных состояний, а также служит основанием для поиска среди веществ этого класса новых противосудорожных лекарственных средств [1, 5–8]. В результате исследований было установлено, что у грызунов неконкурентные селективные блокаторы NMDA-рецепторов проявляют высокое защитное действие против аудиогенных [5, 8–11] и пентилентетразоловых судорог [5, 12, 13]. Антагонисты AMPA и AMPA/каинатных рецепторов также подавляют пентилентетразоловые судороги [14–16], но в отношении аудиогенных припадков получены противоречивые результаты: наблюдали как явно выраженный противосудорожный эффект [15–18], так и полное отсутствие влияний на генерализованные аудиогенные клонико-тонические судорожные реакции [11, 19]. Блокаторы NMDA-рецепторов уменьшают количество и продолжительность спонтанных эпилептиформных разрядов у крыс линии WAG/Rij с генетической предрасположенностью к эпилепсии с абсансами [5, 20]. В исследованиях с использованием литий-пилокарпиновой модели эпилепсии у грызунов было выявлено, что блокатор NMDA-рецепторов дизоцилпин (МК-801) практически не устраняет пароксизмальную активность, но снижает интенсивность поведенческих судорожных реакций и уменьшает продолжительность эпилептического статуса (ЭС) [21–24]. Аналогичные данные были получены нами при изучении действия избирательных антагонистов NMDA-рецепторов мемантина и ИЭМ-1921 на электрическую активность мозга при развитии ЭС в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии у различающихся по уровню судорожной готовности крыс Вистар и Крушинского–Молодкиной [25]. Сведения о влиянии антагонистов AMPA-рецепторов на судорожные состояния, вызванные в разных экспериментальных моделях, противоречивы [26, 27]. В последнее время появились обнадеживающие свидетельства способности неконкурентного антагониста AMPA-рецепторов перампанела ослаблять ЭС не только в экспериментальных моделях, в том числе и в пилокарпиновой [28, 29], но и в клинических исследованиях [30].

Целью настоящей работы было исследование влияния синтезированного в Институте экспериментальной медицины РАМН и подробно исследованного в Институте эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН препарата ИЭМ-1925 [12, 31–34], неконкурентного блокатора активированных глутаматом открытых ионных как NMDA-, так и Ca^{2+}-проницаемых AMPA/каинатных рецепторов на проявления судорожной симптоматики и электрическую активность мозга при развитии вызванного пилокарпином ЭС от его начала до завершения.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования выполняли на крысах (самцы, масса 240–350 г) Вистар, полученных из питомника “Рапполово”, и Крушинского–Молодкиной из аутбредной популяции, содержащейся в виварии Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН. Предварительно животных проверяли на способность реагировать судорожными реакциями на звуковой стимул (синусоидальный тон частотой 8 кГц, интенсивность 90 дБ). Из популяции крыс Крушинского–Молодкиной отбирали наиболее возбудимых животных, реагировавших на звук полными генерализованными клонико-тоническими судорожными припадками, а из крыс Вистар – животных, нечувствительных к действию данного стимула.

Отобранным крысам под золетиловым (Zoletil 100; Vibrac, Франция) наркозом (70 мг/кг, в/м) вживляли по стереотаксическим координатам [35] электроды для хронической регистрации электрической активности хвостатого ядра, гиппокам-

па, соматосенсорной, слуховой и зрительной областей коры мозга. Координаты и методика имплантации электродов подробно описаны в нашей предыдущей работе [36]. Все оперативные вмешательства и последующие эксперименты выполняли в соответствии с Протоколом обращения с лабораторными животными Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, согласующегося с директивой Европарламента 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г.

После операции каждую из крыс размещали в индивидуальной камере, снабженной электродинамическим датчиком для регистрации актограммы. Камеру помещали в объемный бокс, который обеспечивал электро-, свето- и звукоизоляцию от внешних источников. Животных содержали в условиях 12-часового цикла свет/темнота (свет с 09.00 до 21.00) при свободном доступе к пище и воде и адаптировали в течение 5–7 сут к условиям эксперимента, подключая ежедневно посредством легкого отводящего кабеля к компьютерному электроэнцефалографу.

По окончании периода адаптации крысам вводили в/м хлорид лития (127 мг/кг, Sigma-Aldrich). Спустя сутки животных подключали к электроэнцефалографу и помещали в камеру, давая крысам успокоиться. С помощью веб-камеры вели наблюдение и видеозапись поведения животных и одновременно осуществляли монополярную регистрацию в полосе 1–30 Гц электрограмм указанных структур мозга и актограммы с вводом данных при частоте дискретизации процессов 185 Гц. Через 1 ч крысам вводили в/м в дозах 5 или 10 мг/кг ИЭМ-1925 (ИЭМ РАМН) – блокатор глутамата смешанного типа, воздействующий как на NMDA-, так и Ca^{2+}-проницаемые AMPA/каинатные рецепторы, а также метилскополамин (1 мг/кг, Sigma), ингибирующий периферические мускариновые рецепторы. Еще через 1 ч животным вводили в/м раствор пилокарпина (Sigma): крысам Крушинского–Молодкиной в дозе 20 мг/кг, а крысам Вистар – 30 мг/кг. Непрерывная полиграфическая запись поведения, ЭЭГ и актограммы в ходе возникновения и развития ЭС позволяла проследить в течение 6–12 ч последовательную динамику проявлений поведенческой моторной судорожной активности и трансформации паттернов электрограмм структур мозга, а также выявить электрографические феномены, сопутствующие тем или иным видам судорог. Тип и интенсивность судорожных проявлений определяли, как описано ранее [25, 36], в баллах, используя классификацию Pinel и Rovner [37].

Эксперименты были выполнены на 29 животных. В исследованиях по влиянию ИЭМ-1925 в дозе 5 мг/кг на вызванные пилокарпином эпилептиформные реакции было использовано 4 крысы Вистар и 4 Крушинского–Молодкиной, а по влиянию ИЭМ-1925 в дозе 10 мг/кг – 10 крыс Вистар и 11 Крушинского–Молодкиной.

Для оценки достоверности различий при статистической обработке экспериментальных данных использовали *t*-критерий Стьюдента. Данные представлены в виде средних значений ± стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая картина вызванного пилокарпином ЭС и последовательных трансформаций паттернов электрограмм в структурах мозга животных в процессе его развития от начала до завершения была подробно прослежена в нашем предыдущем исследовании [36]. Наблюдалась последовательная смена паттернов ЭЭГ, на основе которых можно было выделить шесть фаз ЭС: нормальная базовая ЭЭГ-активность (фаза 0), спорадические пароксизмальные проявления (фаза 1), ритмические пароксизмальные (иктальные) разряды переменной амплитуды и частоты следования (фаза 2), непрерывная ритмическая высокочастотная и высокоамплитудная пароксизмальная активность (фаза 3), высокочастотная пароксизмальная активность с периодическими высоковольтными эпилептиформными разрядами (фаза 4),

Таблица 1. Латентные периоды (ЛП) начала фаз эпилептического статуса (ЭС) у крыс в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии при действии только пилокарпина (контроль) и на фоне влияния антагонистов глутамата

Table 1. Latent periods (LP) of phases of status epilepticus (SE) in rats in the lithium–pilocarpine model of epilepsy in controls and on the background of glutamate antagonists

Эксперимент Experiment	Линия крыс Rat strain	Средние значения ЛП фаз ЭС, мин Mean LP for SE phases, min				
		фаза 1 phase 1	фаза 2 phase 2	фаза 3 phase 3	фаза 4 phase 4	фаза 5 phase 5
Пилокарпин [36] Pilocarpine [36]	**B W** ($n = 7$)	22.5 ± 0.7	32 ± 3	46 ± 3	84 ± 9	198 ± 17
	KM ($n = 7$)	12.8 ± 1.1	21 ± 2	35 ± 3	64 ± 9	184 ± 16
Мемантин + пилокарпин [25] Memantine + pilocarpine [25]	**B W** ($n = 7$)	14.3 ± 1.1*	24 ± 3	41 ± 4	74 ± 10	221 ± 17
	KM ($n = 5$)	12.4 ± 1.6	21 ± 3	33 ± 4	61 ± 9	170 ± 13
ИЭМ-1921 + пилокарпин [25] IEM-1921 + pilocarpine [25]	**B W** ($n = 8$)	10.8 ± 1.1*	25 ± 4	40 ± 6	83 ± 10	158 ± 16
	KM ($n = 5$)	13.4 ± 1.4	24 ± 3	40 ± 4	77 ± 10	172 ± 18
ИЭМ-1925 (5 мг/кг) + пилокарпин IEM-1925 (5 mg/kg) + pilocarpine	**B W** ($n = 4$)	20.5 ± 0.3	31 ± 5	45 ± 5	88 ± 15	207 ± 8
	KM ($n = 4$)	11.5 ± 1.0	22 ± 3	35 ± 6	58 ± 9	167 ± 6
ИЭМ-1925 (10 мг/кг) + пилокарпин IEM-1925 (10 mg/kg) + pilocarpine	**B W** ($n = 10$)	43.5 ± 3.7*	51 ± 4*	67 ± 6*	91 ± 8	172 ± 15
	KM ($n = 11$)	18.0 ± 2.1*	31 ± 3*	50 ± 5*	80 ± 7*	145 ± 13

* – достоверность отличий средних значений, полученных при изучении развития ЭС в отсутствие влияний антагонистов глутамата и на фоне их действия у крыс Вистар (**B**) и Крушинского–Молодкиной (**KM**), $p < 0.05$.

Представленные в таблице данные по действию только пилокарпина, а также по его действию на фоне влияния мемантина или ИЭМ-1921 получены в наших предыдущих исследованиях [36] и [25].

* – significant differences in mean values obtained in studies of the development of SE in the absence of the effects of glutamate antagonists and after administration of drugs to Wistar (**W**) and Krushinsky–Molodkina (**KM**) rats, $p < 0.05$.

The data presented in the table on the action of pilocarpine alone, as well as on its action against the background of the effect of memantine or IEM-1921, were obtained in our previous studies [36] and [25].

периодические высоковольтные эпилептиформные разряды на фоне низкоамплитудной базовой электрической активности мозга (фаза 5). Введение 5 или 10 мг/кг ИЭМ-1925 за 2 ч до пилокарпина не изменяло общей картины ЭС. Однако под влиянием ИЭМ-1925 существенно изменялись латентные периоды возникновения и продолжительность отдельных фаз, а также сокращалась общая длительность статуса (табл. 1 и 2).

Был проведен количественный анализ динамики изменений паттернов ЭЭГ и проявлений судорожной симптоматики в ходе формирования и развития вызванного пилокарпином эпилептического статуса у крыс, которым предварительно вводили ИЭМ-1925. Непосредственно после введения пилокарпина все крысы пребывали на протяжении от 10 до 50 мин в состоянии возбуждения без явно выра-

Таблица 2. Длительности отдельных фаз и общая продолжительность ЭС у крыс в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии при действии только пилокарпина (контроль) и на фоне влияния антагонистов глутамата
Table 2. Durations of individual phases and total duration of SE in rats in the lithium–pilocarpine model of epilepsy in controls and after administration of glutamate antagonists

Эксперимент Experiment	Линия крыс Rat strain	Средняя длительность фаз ЭС, мин Mean duration of SE phases, min						Средняя длительность ЭС, ч Mean duration of SE, h
		фаза 1 phase 1	фаза 2 phase 2	фаза 3 phase 3	фаза 4 phase 4	фаза 5 phase 5	фаза 1 phase 1	
Пилокарпин [36] Pilocarpine [36]	**B** **W** ($n = 7$)	23 ± 1	10 ± 3	14 ± 2	38 ± 9	114 ± 11	986 ± 80	19.4 ± 1.3
	KM ($n = 7$)	13 ± 2	9 ± 2	14 ± 2	28 ± 8	120 ± 15	989 ± 98	19.5 ± 1.6
Мемантин + пилокарпин [25] Memantine + pilocarpine [25]	**B** **W** ($n = 7$)	14 ± 2	10 ± 4	17 ± 4	33 ± 10	147 ± 23	424 ± 72*	10.5 ± 1.2*
	KM ($n = 5$)	12 ± 2	8 ± 3	12 ± 4	28 ± 9	109 ± 15	342 ± 40*	8.0 ± 0.7*
ИЭМ-1921 + пилокарпин [25] IEM-1921 + pilocarpine [25]	**B** **W** ($n = 8$)	11 ± 2	14 ± 4	15 ± 4	44 ± 10	75 ± 16*	128 ± 26*	4.6 ± 0.4*
	KM ($n = 5$)	13 ± 2	11 ± 2	15 ± 3	37 ± 10	96 ± 18	144 ± 26*	5.0 ± 0.4*
ИЭМ-1925 (5 мг/кг) + пилокарпин IEM-1925 (5 mg/kg) + pilocarpine	**B** **W** ($n = 4$)	20 ± 1	12 ± 3	14 ± 2	44 ± 4	120 ± 22	657 ± 30*	14.3 ± 0.5*
	KM ($n = 4$)	12 ± 1	8 ± 2	13 ± 4	24 ± 7	97 ± 13	181 ± 27*	5.4 ± 0.8*
ИЭМ-1925 (10 мг/кг) + пилокарпин IEM-1925 (10 mg/kg) + pilocarpine	**B** **W** ($n = 10$)	43 ± 4*	8 ± 2	15 ± 4	24 ± 5	81 ± 14*	96 ± 21*	3.8 ± 0.5*
	KM ($n = 11$)	18 ± 2*	13 ± 3	19 ± 4	30 ± 6	64 ± 8*	132 ± 29*	4.3 ± 0.6*

* – достоверность отличий средних значений, полученных при изучении развития ЭС в отсутствие влияний антагонистов глутамата и на фоне их действия у крыс Вистар (**B**) и Крушинского–Молодкиной (**KM**), $p < 0.05$.
Представленные в таблице данные по действию только пилокарпина, а также по его действию на фоне влияния мемантина или ИЭМ-1921 получены в наших предыдущих исследованиях [36] и [25].
* – significant differences in mean values obtained in studies of the development of SE in the absence of the effects of glutamate antagonists and after administration of drugs to Wistar (**W**) and Krushinsky–Molodkina (**KM**) rats, $p < 0.05$.
The data presented in the table on the action of pilocarpine alone, as well as on its action against the background of the effect of memantine or IEM-1921, were obtained in our previous studies [36] and [25].

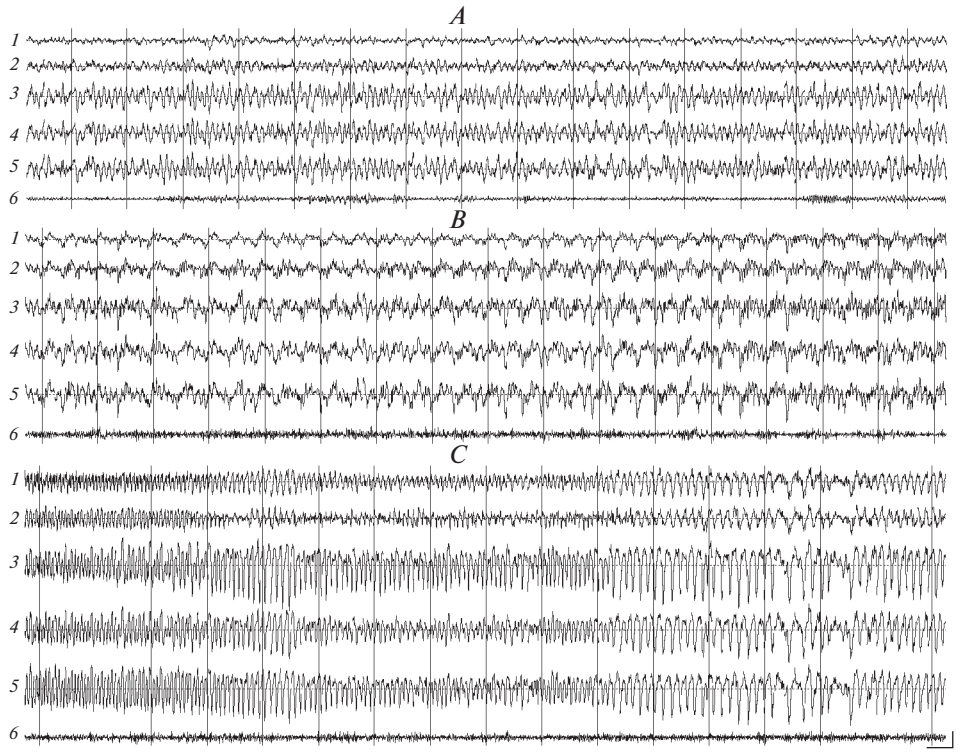

Рис. 1. Паттерны электрограмм хвостатого ядра (*1*) соматосенсорной (*2*), зрительной (*3*) и слуховой (*4*) коры, гиппокампа (*5*), и актограммы (*6*) у крысы линии Крушинского–Молодкиной в фазах 0 (*A*), 1 (*B*) и 2 (*C*) вызванного пилокарпином на фоне действия ИЭМ-1925 эпилептического статуса. Калибровка: 100 мкВ; 2 с.

Fig. 1. Electrogram patterns of the caudate nucleus (*1*), the somatosensory (*2*), visual (*3*) and auditory areas of the cortex (*4*), the hippocampus (*5*) and the actogram (*6*) in Krushinsky–Molodkina rat in phases 0 (*A*), 1 (*B*), and 2 (*C*) of pilocarpine-induced status epilepticus on the background of exposure to IEM-1925. Calibration: 100 мV, 2 s.

женных пароксизмальных проявлений на ЭЭГ (фаза 0). Паттерны электрограмм исследованных структур мозга животных в это время характеризовались доминированием в спектрах ЭЭГ колебаний тета-диапазона (рис. 1*A*) и соответствовали паттернам ЭЭГ активного бодрствования крыс в нормальных условиях при отсутствии влияний фармакологических агентов. В указанный период у крыс наблюдались лишь минимальные моторные судорожные проявления интенсивностью 1–2 балла по шкале Pinel и Rovner [37] в форме жевательных автоматизмов, подергиваний вибрисс и ушей, раскачивания головы в вертикальной плоскости. Эти двигательные акты еще не находили отражения в виде изменений ЭЭГ.

Спорадические эпилептиформные проявления на ЭЭГ в виде низкоамплитудных (около 100 мкВ) одиночных или сгруппированных острых волн и пик-волновых разрядов (рис. 1*B*), свидетельствующие о начале фазы 1 статуса, возникали у крыс Крушинского–Молодкиной на фоне влияния ИЭМ-1925 в дозе 5 мг/кг в среднем через 11.5 ± 1.0 мин, а при действии этого антагониста в дозе 10 мг/кг – через 18.0 ± 2.1 мин, что было примерно на 40% больше, чем временной интервал (12.8 ± 1.1 мин) до начала фазы 1 после введения пилокарпина без применения ИЭМ-1925 (табл. 1). У крыс Вистар на фоне влияния ИЭМ-1925 латентный период воз-

никновения фазы 1 составлял при действии антагониста в дозе 5 мг/кг 20.5 ± 0.3 мин, а при действии в дозе 10 мг/кг – 43.5 ± 3.7 мин, т.е. был почти в 2 раза больше, чем временной интервал до появления эпилептиформной активности на ЭЭГ (22.5 ± 0.7 мин) в опытах, когда пилокарпин вводили в отсутствие данного блокатора (табл. 1).

Применение ИЭМ-1925 не влияло значимо на продолжительность фазы 1 у крыс обеих линий (табл. 2), а также на минимальные поведенческие судорожные проявления, которые ограничивались жевательными автоматизмами, клоническими сокращениями мышц морды и раскачиваниями головы в вертикальной плоскости. Интенсивность такого рода судорожных проявлений не превышала двух баллов.

Начало фазы 2 статуса характеризовалось появлением на ЭЭГ эпилептиформной активности типа множественных пиков и ритмических пароксизмальных комплексов, состоявших из чрезвычайно вариабельных по форме, амплитуде (от 100 до 500 мкВ) и частоте следования (от 1.5 до 15 Гц) острых пиков, острых волн и пик-волновых разрядов (рис. 1*C*). Иногда эпилептиформная активность прерывалась краткими эпизодами межприступного торможения. На поведенческом уровне у крыс в начале фазы 2 отмечалось усиление и учащение миоклонических подергиваний вибрисс и ушей, раскачиваний головы в вертикальной плоскости (интенсивность судорожных проявлений – 2 балла). Далее, на фоне появления на ЭЭГ высокоамплитудных пик-волновых разрядов, у животных возникала моторная активация в форме роющих движений, кратких эпизодов груминга, круговых пробежек. При этом отмечались клонические судороги в виде вздрагиваний всего тела и подергивания конечностей (интенсивность судорожных проявлений – 3 балла). Применение ИЭМ-1925 не влияло на продолжительность фазы 2 (табл. 2) и интенсивность судорожных проявлений по сравнению с опытами, в которых пилокарпин вводили в отсутствие блокатора.

При переходе в фазу 3 пароксизмальные комплексы на ЭЭГ сменялись непрерывной ритмической эпилептиформной активностью в виде высокоамплитудных (до 400 мкВ) спайкообразных пик-волновых разрядов, следующих с частотой от 1.5 до 6–10 Гц (рис. 2*A*). В начале фазы 3 у некоторых крыс на фоне появления высокоамплитудной эпилептиформной активности наблюдались краткие пробежки по камере, чередовавшиеся с продолжительными периодами покоя, когда животные застывали в одной позе, сидя с высоко поднятой мордой. Однако в большинстве случаев крысы как бы затаивались и лежали, припав ко дну камеры с вытянутой вперед мордой. Иногда у них возникали тонические спазмы мышц туловища с последующим переходом животных в вертикальные стойки, сопровождавшиеся быстрыми клоническими подергиваниями передних конечностей (поза “кенгуру”; интенсивность судорог – 4 балла). Стойки в позе “кенгуру” наблюдались у всех крыс, но количество этих стоек у разных животных варьировало от 1 до 10. Также варьировала от 20 с до 8 мин их продолжительность. Судорожных проявлений интенсивностью выше 4 баллов у крыс обеих линий в течение фазы 3 не отмечено. Длительности фазы 3 у крыс обеих линий как в условиях действия ИЭМ-1925, так и в отсутствие его влияний достоверно не различались (табл. 2).

При переходе в фазу 4 наблюдалось появление на фоне высокочастотной пик-волновой пароксизмальной активности высокоамплитудных (до 500 мкВ) эпилептиформных разрядов (рис. 2*B*). В течение этой фазы уровень двигательной активности животных был очень низким. Как правило, крысы сидели или лежали на боку. При этом высокоамплитудные эпилептиформные разряды на ЭЭГ сопровождались интенсивными рывками тела и головы животного (интенсивность судорожных проявлений до трех баллов). В ходе развития фазы 4 отмечалось постепенное исчезновение на ЭЭГ высокочастотных острых волн и происходило формирование типичного для фазы 5 паттерна ритмических высокоамплитудных пик-волновых

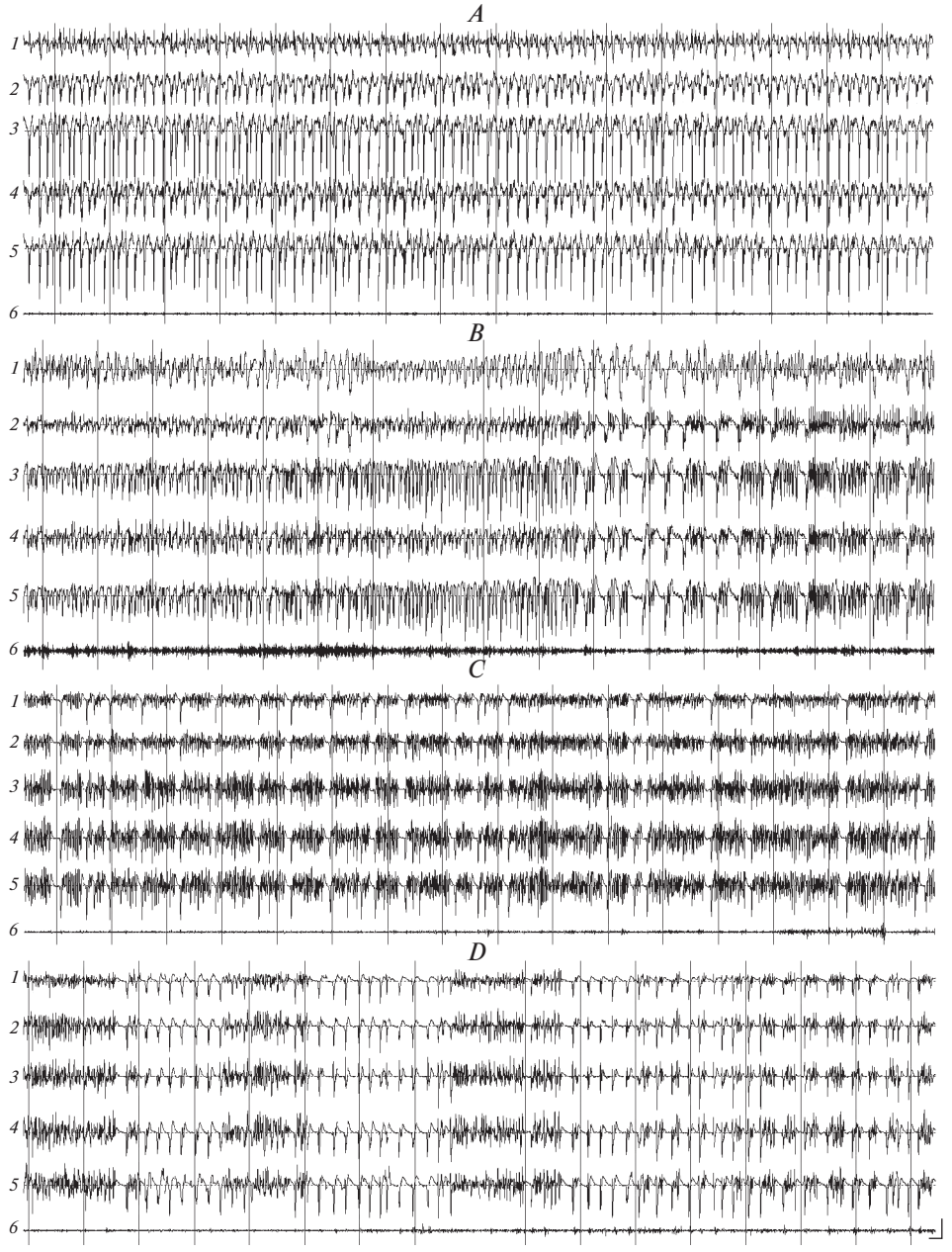

Рис. 2. Паттерны электрограмм хвостатого ядра (*1*) соматосенсорной (*2*), зрительной (*3*) и слуховой (*4*) коры, гиппокампа (*5*), и актограммы (*6*) у крысы Вистар в начале фазы 3 вызванного пилокарпином на фоне действия ИЭМ-1925 эпилептического статуса (*A*) в конце фазы 3 на этапе перехода в фазу 4 (*B*), в середине фазы 4 (*C*) и в конце фазы на этапе перехода в фазу 5 (*D*). Калибровка: 100 мкВ; 1 с.

Fig. 2. Electrogram patterns of the caudate nucleus (*1*), the somatosensory (*2*), visual (*3*) and auditory areas of the cortex (*4*), the hippocampus (*5*) and the actogram (*6*) in Wistar rat at the beginning of the development of phase 3 of pilocarpine-induced status epilepticus on the background of exposure to IEM-1925 (*A*), at the end of phase 3 at the stage of transition to phase 4 (*B*), in the middle (*C*) and at the end of phase 4 at the stage of transition to phase 5 (*D*). Calibration: 100 мV, 1 s.

эпилептиформных разрядов на ЭЭГ (рис. 2*C*, 2*D*). Продолжительность фазы 4 на фоне влияния ИЭМ-1925 в дозе 5 мг/кг достоверно не отличалась от таковой в условиях, когда статус вызывался только пилокарпином. При действии же ИЭМ-1925 в дозе 10 мг/кг длительность фазы 4 сокращалась у крыс Вистар примерно на 40%, а у крыс Крушинского–Молодкиной – почти на 90% по сравнению с длительностью этой фазы при развитии статуса в отсутствие влияний блокатора (табл. 2).

Фаза 5 характеризовалась ритмическими высокоамплитудными пик-волновыми эпилептиформными разрядами на ЭЭГ на фоне очень низкой амплитуды основной базовой электрической активности мозга (рис. 3*A*). В течение этой фазы крысы сидели или лежали на боку. При этом эпилептиформные разряды на ЭЭГ сопровождались интенсивными рывками тела и головы животного (интенсивность судорожных проявлений до 3-х баллов). У некоторых крыс периодически возникали судорожные приступы в виде интенсивных конвульсий (рис. 3*B*). Как правило, эти приступы начинались с учащения пик-волновых разрядов на ЭЭГ. Слабые по силе судороги интенсивностью 3 балла проявлялись в виде тонического напряжения тела и конечностей крыс при явно выраженной ригидности хвоста. При более интенсивных судорогах силой 4 балла наблюдался тонический спазм мышц туловища и переход животных в вертикальную стойку, сопровождавшуюся клонусом передних конечностей (поза “кенгуру”). Стойки завершались на фоне последующего снижения частоты пик-волновых разрядов на ЭЭГ, но еще некоторое время у крыс отмечались клонические судорожные вздрагивания всего тела, четко проявлявшиеся на актограмме. Судорожных проявлений интенсивностью выше 4 баллов у крыс обеих линий не отмечено. На завершающем этапе фазы 5 наблюдалось снижение амплитуды и частоты пик-волновых эпилептиформных разрядов на ЭЭГ и постепенное восстановление амплитуды базовой электрической активности мозга крыс. Завершалась фаза 5 переходом от ритмической высокоамплитудной эпилептиформной активности к одиночным низкоамплитудным пик-волновым разрядам на ЭЭГ (рис. 3*C*) или резким, одномоментным полным исчезновением эпилептиформных ЭЭГ-проявлений (рис. 3*D*). На этом этапе поведение животных возвращалось к норме: они вставали, начинали перемещаться по камере, осуществлять груминг, прием пищи и воды. Паттерны электрограмм структур мозга крыс приходили в соответствие с паттернами нормального активного или спокойного бодрствования.

На фоне предварительного введения ИЭМ-1925 в дозе 5 мг/кг длительность фазы 5 (657 ± 30 мин) была у крыс Вистар на 50% меньше по сравнению с продолжительностью этой фазы (986 ± 80 мин) в условиях отсутствия влияний указанного антагониста, а у крыс Крушинского–Молодкиной она была в пять раз меньше (табл. 2). Длительность всего ЭС при действии ИЭМ-1925 в дозе 5 мг/кг сокращалась с 19 до 14.3 ± 0.5 и 5.4 ± 0.8 ч у крыс Вистар и Крушинского–Молодкиной соответственно. Еще более существенное воздействие оказывало введение ИЭМ-1925 в дозе 10 мг/кг. Средняя продолжительность фазы 5 уменьшалась у крыс Вистар более чем в 10 раз (до 96 ± 21 мин), а у Крушинского–Молодкиной - более чем в 7 раз (до 132 ± 29 мин), а общая продолжительность ЭС сокращалась в 5 (до 3.8 ± 0.5 ч) и 4.5 раза (до 4.3 ± 0.6 ч) соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ИЭМ-1925 – антагонист NMDA- и Ca^{2+}-проницаемых AMPA/каинатных рецепторов – не изменяет последовательность смены фаз ЭС, определяемых по паттернам электрограмм. Вместе с тем совместная блокада NMDA- и AMPA/каинатных рецепторов оказывает влияние на динамику возникновения, продолжительность отдельных фаз и общую дли-

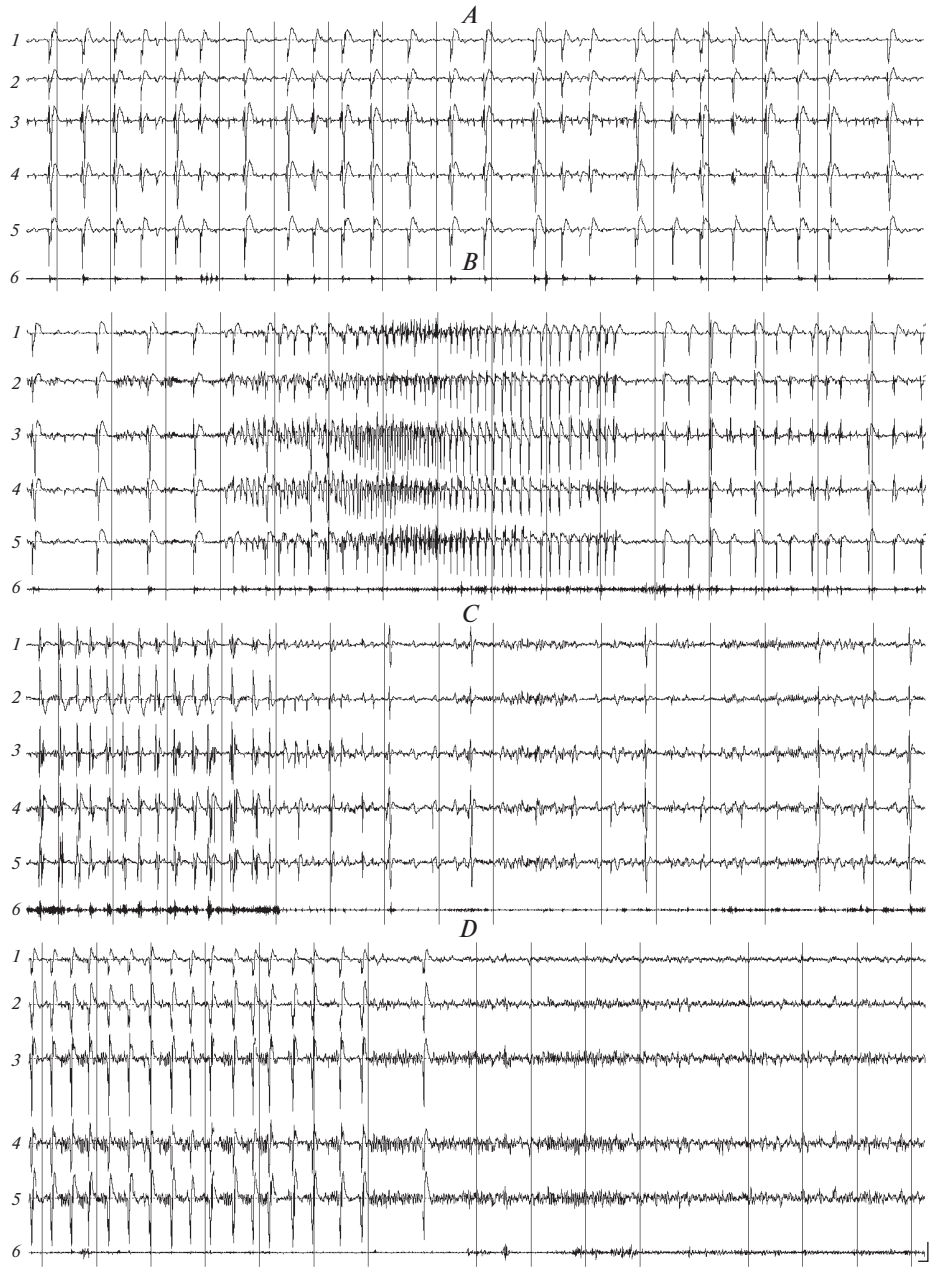

Рис. 3. Паттерны электрограмм хвостатого ядра (*1*) соматосенсорной (*2*), зрительной (*3*) и слуховой (*4*) коры, гиппокампа (*5*), и актограммы (*6*) у крыс Крушинского–Молодкиной (*A*–*C*) и Вистар (*D*) в начале фазы 5 вызванного пилокарпином на фоне действия ИЭМ-1925 эпилептического статуса (*A*), в течение фазы 5 при возникновении у животного клонико-тонических судорог с переходом в вертикальную стойку в позе "кенгуру" (*B*) и в конце (*C*–*D*) фазы 5 при разных формах ее завершения. Калибровка: 100 мкВ; 1 с.
Fig. 3. Electrogram patterns of the caudate nucleus (1) of the somatosensory (2), visual (3) and auditory (4) cortex, hippocampus (5), and actogram (6) in rats of Krushinsky–Molodkina (*A*–*C*) and Wistar (*D*) at the beginning of phase 5 of pilocarpine-induced status epilepticus on the background of exposure to IEM-1925 (*A*), during phase 5 on occurrence of clonic-tonic convulsions with transfer to the "kangaroo" posture (*B*) and at the end (*C*–*D*) of phase 5 with different forms of its completion. Calibration: 100 мV, 1 s.

тельность статуса. Так, на фоне действия ИЭМ-1925 в дозе 10 мг/кг латентные периоды первых пароксизмальных проявлений на ЭЭГ после инъекций пилокарпина увеличивались у крыс Крушинского–Молодкиной в среднем на 40%, а у крыс Вистар – почти в 2 раза по сравнению с латентным периодом начала ЭС у крыс, которым вводили только пилокарпин. Одним из возможных объяснений этих результатов может быть следующее. В литий-пилокарпиновой модели эпилепсии первичным звеном формирования очагов патологической пароксизмальной активности и возникновения эпилептиформных проявлений является холинергическая система мозга, активизация деятельности которой происходит под влиянием агониста М-холинорецепторов пилокарпина [7, 38, 39]. В качестве вторичного звена формирования ЭС выступает усиление активности возбуждающих глутаматергических нейронов стволового отдела мозга. Не исключено, что увеличение латентного периода до появления эпилептиформной активности на ЭЭГ после введения пилокарпина на фоне влияния ИЭМ-1925 является следствием блокады этим антагонистом именно AMPA-рецепторов, поскольку в проведенных нами ранее исследованиях с применением избирательных блокаторов только NMDA-рецепторов [25] было, наоборот, выявлено сокращение почти в 2 раза латентного периода начала ЭС у крыс Вистар при отсутствии эффекта у крыс Крушинского–Молодкиной (табл. 2). Тот факт, что у крыс Вистар период задержки начала ЭС на фоне влияния ИЭМ-1925 был существенно больше, чем у крыс Крушинского–Молодкиной, дает, на наш взгляд, основание предполагать более высокую долю вовлеченности AMPA/каинатных рецепторов в патологически измененную глутаматергическую синаптическую передачу в головном мозге крыс Вистар по сравнению с крысами Крушинского–Молодкиной.

Пролонгированное активирующее действие пилокарпина, поддерживающего высокий уровень глутаматергических возбуждающих влияний, создает условия для преодоления блокирующего эффекта ИЭМ-1925 и формирования в мозге после возникновения на ЭЭГ первых пароксизмальных проявлений генерализованной высокоамплитудной патологической эпилептиформной активности. В отсутствие влияния ИЭМ-1925 такого рода генерализация электрической активности мозга приводила к повышению двигательной активности животных и возникновению судорожных проявлений разной степени интенсивности – от одиночных клонических судорог до продолжительных генерализованных клонико-тонических конвульсивных припадков силой 8 баллов [36]. На фоне действия ИЭМ-1925, причем как в дозе 5, так и 10 мг/кг, у крыс наблюдалось снижение двигательной активности, затаивание и судорожные проявления интенсивностью не более 4-х баллов. Эти данные указывают на то, что ИЭМ-1925 может существенно ослаблять ЭС.

Предварительное введение крысам ИЭМ-1925 существенно уменьшало общую продолжительность ЭС. Наиболее выраженный эффект оказывало применение ИЭМ-1925 в дозе 10 мг/кг, приводившее к сокращению длительности ЭС в 5 раз у крыс Вистар и в 4.5 раза у крыс Крушинского–Молодкиной. Аналогичные данные (сокращение длительности ЭС от 2 до 4 раз) были получены нами ранее [25] при изучении влияния избирательных блокаторов NMDA-рецепторов мемантина и ИЭМ-1921 на развитие ЭС (табл. 2). Вполне вероятно, что сочетанная блокада NMDA- и AMPA/каинатных рецепторов глутамата может быть более эффективной для сокращения продолжительности ЭС у крыс в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии.

Таким образом, ИЭМ-1925 – антагонист глутаматных рецепторов смешанного типа, воздействующий как на NMDA-, так и Ca^{2+}-проницаемые AMPA/каинатные рецепторы, не предотвращает развитие вызванного пилокарпином генерализованного ЭС и формирующуюся в процессе его развития эпилептиформную ЭЭГ-активность, но способен существенно уменьшить продолжительность ЭС. Это позволя-

ет предполагать, что подобная сочетанная неконкурентная блокада глутаматных рецепторов NMDA- и AMPA-типов может быть использована при создании дополнительной линии противоэпилептических средств наряду с перампанелом, в особенности, когда проявляется фармакорезистентность к классическим средствам 1-ой (фенобарбитал, кармазепам, вальпроат) и 2-ой линий (диазепам, клоназепам).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания (тема "Нейрофизиологические механизмы регуляции функций и их эволюция", рег. ЦИТиС № АААА-А18-118012290372-0).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Meldrum B.S.* Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. J. Nutr. 130 (4S Suppl): 1007S–10015S. 2000.
2. *Platt S.R.* The role of glutamate in central nervous system health and disease – a review. Vet. J. 173 (2): 278–286. 2007.
3. *Zhou Y., Danbolt N.C.* Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. J. Neural. Transm. (Vienna). 121(8): 799–817. 2014.
4. *Traynelis S.F., Wollmuth L.P., McBain C.J., Menniti F.S., Vance K.M., Ogden K.K., Hansen K.B., Yuan H., Myers S.J., Dingledine R.* Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. Pharmacol. Rev. 62(3): 405–496. 2010.
5. *Parsons C.G., Danysz W., Quack G.* Memantine is a clinically well tolerated N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist – a review of preclinical data. Neuropharmacology. 38(6): 735–767. 1999.
6. *Rogawski M.A., Donevan S.D.* AMPA receptors in epilepsy and as targets for antiepileptic drugs. Adv. Neurol. 79: 947–963. 1999.
7. *Leite J.P., Garcia-Cairasco N., Cavalheiro E.A.* New insights from the use of pilocarpine and kainate models. Epilepsy Res. 50(1–2): 93–103. 2002.
8. *Faingold C.L.* Emergent properties of CNS neuronal networks as targets for pharmacology: application to anticonvulsant drug action. Prog. Neurobiol. 72(1): 55–85. 2004.
9. *Faingold C.L., Randall M.E., Naritoku D.K., Boersma Anderson C.A.* Noncompetitive and competitive NMDA antagonists exert anticonvulsant effects by actions on different sites within the neuronal network for audiogenic seizures. Exp. Neurol. 119 (2): 198–204. 1993.
10. *Ватаев С.И., Жабко Е.П., Лукомская Н.Я., Оганесян Г.А., Магазаник Л.Г.* Влияние мемантина на судорожные реакции и организацию сна у крыс линии Крушинского–Молодкиной с наследственной предрасположенностью к аудиогенным судорогам. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 95(8): 802–812. 2009. [*Vataev S.I., Zhabko E.P., Lukomskaya N.Y., Oganesyan G.A., Magazanik L.G.* The effects of memantine on convulsive reactions and sleep–waking cicle in Krushinskii–Molodkina strain rats with an inherited predisposition to audiogenic convulsions. Russ. J. Physiol. 95(8): 802–812. 2009. (In Russ). *Vataev S.I., Zhabko E.P., Lukomskaya N.Ya., Oganesyan G.A., Magazanik L.G.* Effects of memantine on convulsive reactions and the organization of sleep in Krushinskii–Molodkina rats with an inherited predisposition to audiogenic convulsions. Neurosci. Behav. Physiol. 40(8): 913–919. 2010. (In Engl)].
11. *Лукомская Н.Я., Ватаев С.И., Жабко Е.П., Магазаник Л.Г.* Влияние блокаторов каналов ионотропных глутаматных рецепторов на аудиогенные судорожные реакции крыс линии Крушинского–Молодкиной. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 98(4): 449–460. 2012. [*Lukomskaya N.Y., Vataev S.I., Zhabko E.P., Magazanik L.G.* Effects of ionotropic glutamate receptor channel blockers on the development of audiogenic seizures in Krushinskii–Molodkina rats. Russ. J. Physiol. 98(4): 449–460. 2012. (In Russ). *Lukomskaya N.Ya., Vataev S.I., Zhabko E.P., Magazanik L.G.* Effects of ionotropic glutamate channel blockers on audiogenic seizure reactions in Krushinskii–Molodkina rats. Neurosci. Behav. Physiol. 44(1): 79–86. 2014. (In Engl)].
12. *Лукомская Н.Я., Рукояткина Н.И., Горбунова Л.В., Гмиро Е.В., Магазаник Л.Г.* Исследование роли NMDA и AMPA глутаматных рецепторов в механизме коразоловых судорог у мышей. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 89(3): 292–301. 2003. [*Lukomskaya N.Y., Rukojatkina N.I., Gorbunova L.V., Gmiro V.E., Magazanik L.G.* Study of NMDA and AMPA glutamate receptor involvement in the genesis of clonic and tonic convulsions induced by pentylenetetrazole in mice. Russ. J. Physiol. 89(3): 292–301. 2003. (In Russ)].
13. *Ким К.Х., Зайцев А.В., Лаврентьева В.В., Жабко Е.П., Ватаев С.И., Лукомская Н.Я., Магазаник Л.Г.* Влияние блокаторов ионотропных глутаматных рецепторов на вызванные

пентилентетразолом судороги у крыс линии Крушинского–Молодкиной. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 98(12): 1520–1529. 2012. [*Kim K.Kh., Zaitsev A.V. Lavrentieva V.V., Zhabko E.P., Vataev S.I., Lukomskaya N.Y., Magazanik L.G.* The effect of ionotropic glutamate receptor antagonist on pentylenetetrazole-indused seizures in Krushinskii–Molodkina rats. Russ. J. Physiol. 98(12): 1520–1529. 2012. (In Russ). *Kim K.Kh., Zaitsev A.V., Lavrent'eva V.V., Zhabko E.P., Vataev S.I., Lukomskaya N.Ya., Magazanik L.G.* Effects of ionotropic glutamate receptor blockers on pentylenetetrazole-induced seizures in Krushinskii–Molodkina rats. Neurosci. Behav. Physiol. 44(8): 945–950. 2014. (In Engl)].

14. *Yamaguchi S., Donevan S.D., Rogawski M.A.* Anticonvulsant activity of AMPA/kainate antagonists: comparison of GYKI 52466 and NBOX in maximal electroshock and chemoconvulsant seizure models. Epilepsy Res. 15(3): 179–184. 1993.
15. *De Sarro G., Ferreri G., Gareri P., Russo E., De Sarro A., Gitto R., Chimirri A.* Comparative anticonvulsant activity of some 2,3-benzodiazepine derivatives in rodents. Pharmacol. Biochem. Behav. 74(3): 595–602. 2003.
16. *Rogawski M.A.* AMPA receptors as a molecular target in epilepsy therapy. Acta Neurol. Scand. Suppl. 197: 9–18. 2013.
17. *Yasuda S., Ishida N., Higashiyama A., Morinobu S., Kato N.* Characterization of audiogenic-like seizures in naive rats evoked by activation of AMPA and NMDA receptors in the inferior colliculus. Exp. Neurol. 164(2): 396–406. 2000.
18. *Ferreri G., Chimirri A., Russo E., Gitto R., Gareri P., De Sarro A., De Sarro G.* Comparative anticonvulsant activity of N-acetyl-1-aryl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline derivatives in rodents. Pharmacol. Biochem. Behav. 77(1): 85–94. 2004.
19. *Higashiyama A., Ishida N., Nishimura T., Yasuda S., Kuroda Y., McEwen B.S., Kato N.* NMDA receptors in the inferior colliculus are critically involved in audiogenic seizures in the adult rats with neonatal hypothyroidism. Exp. Neurol. 153(1): 94–101. 1998.
20. *Filakovszky J., Kantor S., Halasz P., Bagdy G.* 8-OH-DPAT and MK-801 affect epileptic activity independently of vigilance. Neurochem. Int. 38(7): 551–556. 2001.
21. *Ormandy G.C., Jope R.S., Snead O.C. 3rd.* Anticonvulsant actions of MK-801 on the lithium–pilocarpine model of status epilepticus in rats. Exp. Neurol. 106(2): 172–180. 1989.
22. *Walton N.Y., Treiman D.M.* Motor and electroencephalographic response of refractory experimental status epilepticus in rats to treatment with MK-801, diazepam, or MK-801 plus diazepam. Brain Res. 553(1): 97–104. 1991.
23. *Starr M.S., Starr B.S.* The new competitive NMDA receptor antagonist CGP 40116 inhibits pilocarpine-induced limbic motor seizures and unconditioned motor behaviour in the mouse. Pharmacol. Biochem. Behav. 47(1): 127–131. 1994.
24. *Lee M.G., Chou J.Y., Lee K.H., Choi B.J., Kim S.K., Kim C.Y.* MK-801 augments pilocarpine-induced electrographic seizure but protects against brain damage in rats. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. 21(2): 331–344. 1997.
25. *Ватаев С.И., Зайцев А.В., Лукомская Н.Я., Магазаник Л.Г.* Каналоблокаторы NMDA-рецепторов мемантин и ИЭМ-1921 сокращают продолжительность эпилептического статуса у крыс Вистар и Крушинского–Молодкиной в литий–пилокарпиновой модели. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 105(1): 62–75. 2019. [*Vataev S.I., Zaitsev A.V., Lukomskaya N.Y., Magazanik L.G.* Memantine and IEM–1921, uncompetitive antagonists of NMDA receptors, reduce the duration of status epilepticus in Wistar and Krushinsky–Molodkina rats in a lithium–pilocarpine model. Russ. J. Physiol. 105(1): 62–75. 2019. (In Russ). *Vataev S.I., Zaitsev A.V., Lukomskaya N.Ya., Magazanik L.G.* The NMDA receptor channel blockers memantine and IEM–1921 decrease the duration of status epilepticus in Wistar and Krushinskii–Molodkina rats in a lithium–pilocarpine model. Neurosci. Behav. Physiol. 50(3): 374–383. 2020. (In Engl)].
26. *Jakus R., Graf M., Ando R.D., Balogh B., Gacsalyi I., Levay G., Kantor S., Bagdy G.,* Effect of two non-competitive AMPA receptor antagonists GYKI 52466 and GYKI 53405 on vigilance, behavior and spikewave discharges in a genetic rat model of absence epilepsy. Brain Res. 22(2): 236–244. 2004.
27. *Citraro R., Russo E., Gratteri S., Di Paola E.D., Ibbadu G.F., Curinga C., Gitto R., Chimirri A., Donato G., De Sarro G.* Effects of non-competitive AMPA receptor antagonists injected into some brain areas of WAG/Rij rats, an animal model of generalized absence epilepsy. Neuropharmacology. 51(6): 1058–1067. 2006.
28. *Hanada T., Ido K., Kosasa T.* Effect of perampanel, a novel AMPA antagonist, on benzodiazepine-resistant status epilepticus in a lithium–pilocarpine rat model. Pharmacol. Res. Perspect. 2(5): e00063. 2014.
29. *Leo A., Giovannini G., Russo E., Meletti S.* The role of AMPA receptors and their antagonists in status epilepticus. Epilepsia. 59(6): 1098–1108. 2018.
30. *Potschka H., Trinka E.* Perampanel: Does it have broad-spectrum potential? Epilepsia. 60(1): 22–36. 2019.

31. *Лукомская Н.Я., Рукояткина Н.И., Горбунова Л.В., Гмиро Е.В., Большаков К.В., Магазаник Л.Г.* Сопоставление противосудорожной активности органических моно- и дикатионов с их способностью ингибировать NMDA и AMPA глутаматные рецепторы. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 88(9): 1161–1171. 2002. [*Lukomskaya N.Y., Rukojatkina N.I., Gorbunova L.V., Gmiro V.E., Bolshakov K.V., Magazanik L.G.* Comparison of anticonvulsant activity of organic mono- and dications, and their potency to inhibit NMDA and AMPA glutamate receptors. Russ. J. Physiol. 88(9): 1161–1171. 2002. (In Russ)].
32. *Bolshakov K.V., Tikhonov D.B., Gmiro V.E., Magazanik L.G.* Different arrangement of hydrophobic and nucleophilic components of channel binding sites in N-methyl-D-aspartate and AMPA receptors of rat brain is revealed by channel blockade. Neurosci. Lett. 291(2): 101–104. 2000.
33. *Bolshakov K.V., Kim K.Kh., Potapjeva N.N., Gmiro V.E., Tikhonov D.B., Usherwood P.N., Mellor I.R., Magazanik L.G.* Design of antagonists for NMDA and AMPA receptors. Neuropharmacology. 49(2): 144–155. 2005.
34. *Zaitsev A.V., Kim K.K., Fedorova I.M., Dorofeeva N.A., Magazanik L.G., Tikhonov D.B.* Specific mechanism of use-dependent channel block of calcium-permeable AMPA receptors provides activity-dependent inhibition of glutamatergic neurotransmission. J. Physiol. 589(7): 1587–601. 2011.
35. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic coordinates. Compact 3 rd. ed. CD–ROM. San Diego. Acad. Press. 1997.
36. *Ватаев С.И., Зайцев А.В., Ким К.Х., Лукомская Н.Я., Магазаник Л.Г.* Изменения электрической активности мозга при формировании эпилептического статуса на литий-пилокарпиновой модели у крыс, различающихся по уровню судорожной готовности. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 102(6): 633–646. 2016. [*Vataev S.I., Zaitsev A.V., Kim K.K., Lukomskaya N.Y., Magazanik L.G.* Changes in brain electrical activity patterns in rats with different susceptibility to seizures in lithium–pilocarpine model of status epilepticus. Russ. J. Physiol. 102(6): 633–646. 2016. (In Russ). *Vataev S.I., Zaitsev A.V., Kim K.K., Lukomskaya N.Ya., Magazanik L.G.* Changes in brain electrical activity on formation of status epilepticus in a lithium-pilocarpine model in rats with different levels of convulsive readiness. Neurosci. Behav. Physiol. 47(9): 1019–1028. 2017. (In Engl)].
37. *Pinel J.P., Rovner L.I.* Experimental epileptogenesis: kindling-induced epilepsy in rats. Exp. Neurol. 58(2): 190–202. 1978.
38. *Costa M.S., Rocha J.B.T., Perosa S.R., Cavalheiro E.A., Naffah-Mazzacoratti M.G.* Pilocarpine induced status epilepticus increases glutamate release in rat hippocampal synaptosomes. Neurosci. Lett. 356(1): 41–44. 2004.
39. *Scorza F.A, Arida R.M., Naffah-Mazzacoratti M.G., Scerni D.A., Calderazzo L., Cavalheiro E.A.* The pilocarpine model of epilepsy: what have we learned? Ann. Acad. Bras. Cienc. 81(3): 345–365. 2009.

IEM-1925, a Glutamate Receptor Channel Blocker, Increases the Latent Period and Reduces the Duration of Epileptic Status in Rats in the Lithium–Pilocarpine Model of Epilepsy

S. I. Vataev[a], *, N. Ya. Lukomskaya[a], and L. G. Magazanik[a, b]

[a] *Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

[b] *Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

**e-mail: son-vat@yandex.ru*

We studied the effect of a glutamate receptor channel blocker IEM-1925, which acts on both NMDA and Ca^{2+}-permeable AMPA/kainate receptors on the brain's electrical activity during status epilepticus (SE) induced by pilocarpine in Wistar rats and Krushinsky–Molodkina rats that are susceptible to audiogenic seizures. Electrograms of the caudate nucleus, hippocampus, somatosensory, visual, and auditory cortex were recorded. The pretreatment with IEM-1925 does not change the sequence of SE phases determined by the EEG patterns. At the same time, IEM-1925 weakened the rats convulsions and reduced the seizure intensity from 8 to 4 points on the Pinel and Rovner scale [1978]. Besides, the latency of brain epileptiform activity after administration of pilocarpine increased by 40% in Krushinsky–Molodkina rats (control: 12.8 ± 1.1 vs. pretreated with 10 mg/kg IEM-1925: 18.0 ± 2.1 min), and almost 2 times in Wistar rats (22.5 ± 0.2 vs. 43.5 ± 3.7 min). IEM-1925 decreases the average duration of SE by 4.5–5 times. The

data obtained indicate that the combined blockade of NMDA and Ca^{2+}-permeable AMPA/ kainate receptors does not prevent the typical development of pilocarpine-induced SE; however, it significantly reduces SE duration.

Keywords: Wistar and Krushinsky–Molodkina rats, the lithium–pilocarpine model of epilepsy, status epilepticus, EEG, NMDA receptor, calcium-permeable AMPA receptor, IEM-1925

ЦИТИРОВАТЬ:

Ватаев С.И., Лукомская Н.Я., Магазаника Л.Г. ИЭМ-1925, каналоблокатор глутаматных рецепторов, увеличивает латентный период и сокращает продолжительность эпилептического статуса у крыс в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 107 (1): 55–69. 2021.

DOI: 10.31857/S086981392101009X

TO CITE THIS ARTICLE:

Vataev S.I., Lukomskaya N.Ya., Magazanik L.G. IEM-1925, a Glutamate Receptor Channel Blocker, Increases the Latent Period and Reduces the Duration of Epileptic Status in Rats in the Lithium–Pilocarpine Model of Epilepsy. Russian Journal of Physiology. 107 (1): 55–69. 2021.

DOI: 10.31857/S086981392101009X

РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2021, том 107, № 1, с. 70–84

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

РЕГУЛЯЦИЯ ТОНУСА АРТЕРИЙ У КРЫС, ДЛИТЕЛЬНО ПОЛУЧАВШИХ ВЫСОКОСОЛЕВУЮ ДИЕТУ

© 2021 г. Г. И. Лобов[1], Г. Т. Иванова[1, *]

[1]Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия
**E-mail: ivanovagt@infran.ru*

Поступила в редакцию 20.10.2020 г.
После доработки 10.11.2020 г.
Принята к публикации 15.11.2020 г.

Диета с высоким содержанием соли приводит к ослаблению дилатации сосудов в ответ на действие различных вазоконстрикторов, однако вовлеченные сосудистые механизмы недостаточно изучены. Группу самцов крыс Вистар в возрасте 3 мес. переводили на 3 мес. на диету с содержанием 8% NaCl (HS), вторая группа получала рацион со стандартным содержанием соли, составлявшем 0.34% (NS). По окончании эксперимента проводили эвтаназию крыс и извлекали брюшную аорту и верхнюю брыжеечную артерию (ВБА). Сегменты сосудов помещали в миограф и измеряли ацетилхолин (АХ)-индуцируемую релаксацию предварительно сокращенных фенилэфрином сегментов сосудов. Диета с высоким содержанием соли приводила к ослаблению релаксации ВБА в бескальциевом растворе. В ответ на АХ и нитропруссид натрия наблюдалась выраженная релаксация сосудистых сегментов, при этом АХ-индуцируемая релаксация сосудов HS-крыс имела меньшую амплитуду. Блокаторы K^+-каналов (тетраэтиламмоний, TRAM-34 и апамин) приводили к ослаблению АХ-индуцируемой релаксации ВБА, но не аорты. В ВБА HS-крыс уменьшение релаксации при действии блокаторов K^+-каналов было более выраженным. Ингибирование продукции эндогенного сероводорода также приводило к ослаблению релаксации сегментов ВБА на АХ. В ВБА HS-крыс ослабление АХ-индуцируемой релаксации на фоне пропаргилглицина было большим по сравнению с NS-крысами. Полученные данные показывают, что длительная высокосолевая диета приводит к уменьшению агонист-индуцируемой релаксации сегментов аорты и ВБА. Ослабление релаксации сегментов аорты и ВБА происходит вследствие снижения продукции эндотелием оксида азота. В ВБА HS-крыс уменьшение NO-опосредованной релаксации частично компенсируется возрастанием роли EDHF в АХ-индуцируемой релаксации. Результаты также показывают, что одним из EDHF в ВБА крыс является сероводород, роль которого в релаксации ВБА возрастает у HS-крыс.

Ключевые слова: высокосолевая диета, аорта, верхняя брыжеечная артерия, эндотелий, оксид азота, сероводород

DOI: 10.31857/S0869813921010076

Эпидемиологические данные свидетельствуют о наличии связи между употреблением большого количества соли и развитием артериальной гипертензии у людей [1]. Чрезмерное потребление натрия (по определению Всемирной организацией здравоохранения это более 5 г натрия в день) довольно часто приводит к увеличению артериального давления (АД) и формированию стойкой артертальной гипертензии. Зависимость АД от количества хлористого натрия в пищевом рационе была

показана и у некоторых животных, например, Dahl-сольчувствительных крыс, однако для крыс линии Вистар такая зависимость не характерна [2, 3].

Артериальная гипертензия, спровоцированная высокосолевой диетой, является мощным предрасполагающим фактором для развития инсульта, ишемической болезни сердца и сердечной недостаточности [4, 5]. Вместе с тем, в исследованиях *in vivo* и *in vitro* было показано, что чрезмерное потребление соли может вызывать анатомическое ремоделирование и функциональные нарушения в мелких и крупных артериях, а также воспалительные изменения в эндотелии микрососудов даже у нормотензивных субъектов, существенно повышая риск развития различных сердечно-сосудистых заболеваний и инсульта [5, 6]. Установлено, что у здоровых молодых людей кратковременная (7 дней) высокосолевая диета независимо от величины АД, изменений состава тела или задержки жидкости ухудшает реактивность микрососудов, влияя на эндотелийзависимую вазодилатацию [7]. Также следует учитывать влияние солевой нагрузки на физические характеристики сосудов, в частности, их жесткость [8, 9], которая определяется соотношением баланса коллагена и эластина в сосудистой стенке. Показано, что высокосолевая нагрузка приводит к увеличению синтеза коллагена и снижению содержания эластина, тем самым провоцируя развитие фиброза, увеличивающего жесткость сосудов, что, в свою очередь, может усиливать эндотелиальную дисфункцию [10, 11].

Эндотелий сосудов является важным компонентом сосудистой стенки для поддержания ее гомеостаза, включая регуляцию тонуса сосудов. Эндотелиальные клетки при физической (напряжение сдвига) и химической стимуляции (нейротрансмиттеры, гормоны, цитокины) выделяют несколько факторов, часть которых обладает вазоконстрикторным эффектом, а другая часть способствует дилатации сосудов [12]. В многочисленных исследованиях установлено, что синтезируемые эндотелием вазодилататоры представляют собой оксид азота (NO), сосудорасширяющие простагландины (PG), в частности, простациклин (PGI_2), и гиперполяризующий фактор, продуцируемый эндотелием (EDHF) [13].

Полагают, что в основе многочисленных патофизиологических состояний, включая сердечно-сосудистые, почечные и метаболические заболевания, лежит дисбаланс между количеством вазоконстрикторов и вазодилататоров, продуцируемых эндотелием, при этом чаще встречается дефицит вазодилататоров [14]. В ряде работ показано, что важнейшим проявлением эндотелиальной дисфункции в мелких и крупных артериях у крыс и мышей, получавших высокосолевую диету, является снижение уровня (биодоступности) NO [15]. Также в некоторых работах были получены доказательства того, что высокое содержание соли в рационе сопровождается нарушением эндотелий-зависимой дилатации артерий, опосредованной метаболитами арахидоновой кислоты [16]. Что касается роли эндотелиальной гиперполяризации в регуляции сосудистого тонуса у животных, содержавшихся на высокосолевой диете, то необходимо отметить, что этот механизм изучен слабо и полученные данные неоднозначны [17]. Félétou и Vanhoutte полагают, что EDHF-опосредованные ответы могут выступать в роли вазодилататорного резерва при гипертонии и некоторых других видах патологии и компенсировать (хотя бы временно или частично) эндотелиальную дисфункцию при нарушении синтеза (биодоступности) NO [18].

И, наконец, необходимо отметить, что к настоящему времени практически нет работ по изучению роли сероводорода (H_2S) в регуляции сосудистого тонуса у животных, находящихся на высокосолевой диете. Между тем, в исследованиях последних лет показано, что H_2S оказывает множество полезных эффектов на стенку кровеносных сосудов, включая подавление окислительного стресса, ингибирование воспаления и усиление вазодилатации [19].

Общая цель настоящего исследования состояла в том, чтобы оценить влияние долгосрочной высокосолевой диеты (8% NaCl, 3 мес.) на эндотелий-зависимую

дилатацию изолированных сосудов (аорты и верхней брыжеечной артерии) крыс Вистар. Конкретные цели исследования состояли в том, чтобы определить влияние высокосолевой диеты на отдельные механизмы ацетилхолин-индуцируемой эндотелий-зависимой вазодилатации (опосредованные NO, PGI_2 и эндотелиальной гиперполяризацией), а также реализуемые с участием H_2S.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на взрослых самцах крыс стока Вистар (Центр коллективного пользования "Биоколлекция" Института физиологии им. И.П. Павлова РАН). Возраст животных в начале эксперимента – 3 мес., масса 230–260 г. Крысы содержались в стандартных условиях вивария, получая питьевую воду и корм *ad libitum*. В исследовании использовалось 20 крыс, которые случайным образом были распределены на 2 группы, рацион животных различался по количеству NaCl. Первая группа получала в течение 12 нед. высоконатриевый рацион, содержащий 8% NaCl в комбикорме (high salt, HS). Вторая группа (normal salt, NS) получала стандартный рацион (0.34% NaCl). Высокосолевой рацион создавали на основе стандартного комбикорма путем орошения гранул насыщенным раствором поваренной соли с дальнейшим его высушиванием. По содержанию белков, жиров, углеводов, а также питательной ценности рацион двух групп не отличался. Исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации и было одобрено этической комиссией Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Эвтаназию животных осуществляли обескровливанием под наркозом (золетил 8 мг/кг). После вскрытия брюшной полости вырезали сегменты брюшной аорты и верхней брыжеечной артерии (ВБА) длиной 7–8 мм. Затем, после тщательного удаления жира и окружающей соединительной ткани, из аорты и ВБА вырезали кольцевые сегменты длиной 2 мм (19 сегментов из аорты HS-крыс, 22 – из аорты NS-крыс, 21 – из ВБА HS-крыс, 24 – из ВБА NS-крыс). Подготовленные сосудистые сегменты до исследования хранили в холодильнике в сатурированном газовой смесью (95% O_2 и 5% CO_2) физиологическом растворе на льду.

В начале эксперимента сосудистые сегменты размещали в камере миографа, через которую непрерывно протекал физиологический солевой раствор (состав в мМ: NaCl – 120.4; KCl – 5.9; $CaCl_2$ – 2.5; $MgCl_2$ – 1.2; NaH_2PO_4 – 1.2; $NaHCO_3$ – 15.5; глюкоза – 11.5), сатурированный газовой смесью (95% O_2 и 5% CO_2). Температуру раствора поддерживали на уровне 37.0 ± 0.1°C, pH раствора – 7.4 ± 0.02. Сегмент сосуда размещали между двумя титановыми проволочками и с помощью микроманипулятора растягивали до развития пассивного напряжения 20 мН, позволяя им достичь напряжения покоя в течение 30 мин. Такое растяжение было оптимальным для развития воспроизводимого максимального сокращения в растворе, содержащем 100 мМ KCl (эквимолярное количество NaCl заменяли на KCl) [20]. Сокращение, вызванное гиперкалиевым раствором, использовали в качестве эталона для оценки сократительной способности сегментов аорты и ВБА. Силу сокращений сосудистых сегментов измеряли с помощью датчика силы FORT-10 (WPI, США), работающего в изометрическом режиме. Информация от датчика поступала в блок Labmaster (усилитель + аналого-цифровой преобразователь, Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, РФ) и затем в компьютер. Первичная обработка данных осуществлялась программой Labmaster и Microsoft Excel.

После определения эталонной сократительной реакции сосудистых сегментов в растворе, содержащем 100 мМ KCl, сосуды на протяжении 30 мин омывали физиологическим раствором. Наличие неповрежденного эндотелия в сосудистых препаратах подтверждали, наблюдая реакцию релаксации сосудистых сегментов, предварительно сокращенных фенилэфрином, на ацетилхолин [21]. У части препаратов

эндотелий удаляли механически. С целью оценки влияния высокосолевой диеты на тонус покоя и ремоделирование стенки аорты и ВБА, силу сокращений сосудистых сегментов измеряли после 20-минутной перфузии бескальциевым солевым раствором, содержащем 2 мМ EGTA.

В дальнейшем схема проведения эксперимента была такова: после измерения напряжения сегментов аорты и ВБА в гиперкалиевом и бескальциевом растворах сосудистые сегменты промывали на протяжении 30 мин физиологическим раствором. Затем в омывающий раствор вводили фенилэфрин, phenylephrine hydrochloride (PHE, 10^{-5} M) и после выхода сократительной реакции на плато для определения эндотелий-зависимой релаксации в раствор добавляли ацетилхолин, acetylcholine chloride, (ACh) в различных концентрациях и оценивали величину релаксации. Для идентификации продуцируемых эндотелием вазодилататоров использовали различные ингибиторы и блокаторы: ингибитор эндотелиальной NO-синтазы – L-N^5-(1-Iminoethyl) ornithine, dihydrochloride (L-NIO, 10^{-5} M); ингибитор циоклооксигеназы – диклофенак, diclofenac sodium salt (DF, 5×10^{-6} M); неспецифический блокатор K^+-каналов – тетраэтиламмония хлорид, tetraethylammonium chloride (TEA, 10^{-3} M); блокатор Ca^{2+}-активируемых K^+-каналов промежуточной проводимости – TRAM-34 (10^{-5} M); блокатор Ca^{2+}-активируемых K^+-каналов малой проводимости – апамин (Apa, 10^{-6} M); ингибитор цистатионин-γ-лиазы – пропаргилглицин, DL-propargylglycine (PPG, 10^{-4} M). Для связывания остаточного Ca^{2+} в бескальциевом растворе добавляли ЭГТА (Ethylene glycol-bis(2-aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid, 2×10^{-3} M).

Все химические вещества были приобретены у Sigma-Aldrich (США). Ингибиторы и блокаторы добавляли в физиологический раствор за 20 мин до применения PHE. Реактивы непосредственно перед экспериментами растворяли в дистиллированной воде в концентрации 10 мМ, затем необходимое количество добавляли в физиологический раствор. Диклофенак и TRAM-34 предварительно растворяли в метаноле (20 мг/мл), и необходимое количество добавляли в физиологический раствор непосредственно перед экспериментом.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью Microsoft Excel и Stat-Soft STATISTICA 6.1.478. Нормальность распределения полученных данных определялась посредством расчетов W-критерия Шапиро–Уилка. Полученные данные представлены в виде средних значений с их стандартной ошибкой ($M \pm SE$). Для установления достоверности различий использовали t-критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В конце экспериментального периода масса крыс, получавших высокосолевую диету составила 370 ± 32 г ($n = 10$), масса крыс, получавших обычный рацион – 393 ± 21 г ($n = 10$). Систолическое артериальное давление, измеренное в хвостовой артерии манжеточным методом, было: у HS-крыс – 130 ± 10 мм рт. ст., у NS-животных – 129 ± 11 мм рт. ст. Как видно из представленных данных, 3-месячная диета с высоким содержанием соли не оказывала влияния на массу тела и систолическое артериальное давление.

Гиперкалиевый раствор (100 мМ K^+) приводил к мощному тоническому сокращению сосудистых сегментов. Сила сокращений сосудистых сегментов от HS-крыс в гиперкалиевом растворе не отличались от силы сокращений соответствующих сосудов NS-животных. Применение бескальциевого раствора показало, что сегменты ВБА HS-крыс сохраняют большее остаточное напряжение по сравнению с ВБА NS-крыс. Сила сокращений сегментов аорты HS-крыс в бескальциевом растворе

Таблица 1. Сила сокращений сосудистых сегментов крыс, содержавшихся на высокосолевой и стандартной диете в физиологическом, гиперкалиевом (100 мМ) и бескальциевом растворах
Table 1. Contraction force of vascular segments of rats kept on a high-salt and standard diet in physiological, hyperpotassium (100 mM) and calcium-free solutions

Группа Group	Сосуд Vessel	Напряжение покоя, мН Rest tension	Максимальное напряжение (K^+ 100 мМ), мН Maximum tension	Напряжение в бескальциевом растворе, мН Tension in a calcium-free solutions
NS	Аорта Aorta	12.7 ± 0.9	25.9 ± 1.4	9.3 ± 0.7
	ВБА SMA	10.5 ± 0.7	28.9 ± 1.6	6.8 ± 0.5
HS	Аорта Aorta	13.5 ± 1.1	28.04 ± 1.6	10.4 ± 0.9
	ВБА SMA	11.4 ± 0.8	30.4 ± 1.7	8.6 ± 0.8*

Результаты представлены в виде средних значений с их стандартной ошибкой ($M \pm SE$).
* различия между сосудами HS- и NS-крыс достоверны: $p < 0.05$.
The results are presented as average values with a standard error. Differences between vessels HS and NS rats are significant: $p < 0.05$.

также была больше по сравнению с NS-крысами, но эта разница оказалась недостоверной (табл. 1). Эти данные свидетельствуют о нарушении механизмов релаксации в сосудах HS-крыс.

После оценки сократительных ответов сосудистых сегментов мы перешли к исследованию их способности к агонист-индуцируемой релаксации. На первом этапе изучали эндотелий-независимые реакции сегментов аорты и ВБА NS- и HS-крыс. После установления стабильного сокращения под действием PHE в раствор добавляли нитропруссид натрия (NP, 10^{-5} M) [20]. Под действием NP развивалась выраженная релаксация сосудистых сегментов. Релаксация аорты и ВБА NS-крыс на NP была несколько большей по сравнению с соответствующими сосудистыми сегментами HS-крыс, однако анализ показал, что различия были статистически недостоверными (не показано).

На следующем этапе исследовали эндотелий-зависимую релаксацию сосудистых сегментов. В омывающий раствор вводили АХ в нарастающих концентрациях (10^{-9}–10^{-5} M). АХ вызывал дозозависимое расслабление предконтрактированных сосудов обеих групп крыс. Усредненные данные этой серии опытов представлены на рис. 1. В этих экспериментах релаксация сегментов аорты и ВБА HS-крыс на АХ в концентрациях $\geq 10^{-7}$ M были слабее по сравнению с релаксацией сосудистых сегментов NS-крыс. Денудированные сосуды не реагировали на введение в раствор АХ в концентрациях 10^{-9}–10^{-6} M, при этом АХ в концентрации 10^{-5} M вызывал сокращение небольшой амплитуды (не показано). Необходимо отметить, что релаксация сегментов аорты и ВБА HS-крыс на АХ в максимальной концентрации была достоверно меньше по сравнению с релаксацией этих сосудов на NP.

В дальнейшем исследовали механизмы эндотелий-зависимой дилатации сегментов аорты и ВБА HS- и NS-крыс. С этой целью после предварительного сокращения сосудистых сегментов фенилэфрином в раствор вводили АХ и оценивали величину дилатации. Затем после 30-минутного омывания сосудистых сегментов физиологическим раствором вводили ингибитор эндотелиальной NO-синтазы (L-NIO) и диклофенак по отдельности или вместе. Через 20 мин вызывали сокращение сосудистых сегментов фенилэфрином и на этом фоне добавляли АХ. На фоне действия ингибиторов релаксация сосудистых сегментов была значительно меньше по сравнению с эффектом АХ в физиологическом растворе. Данные этих

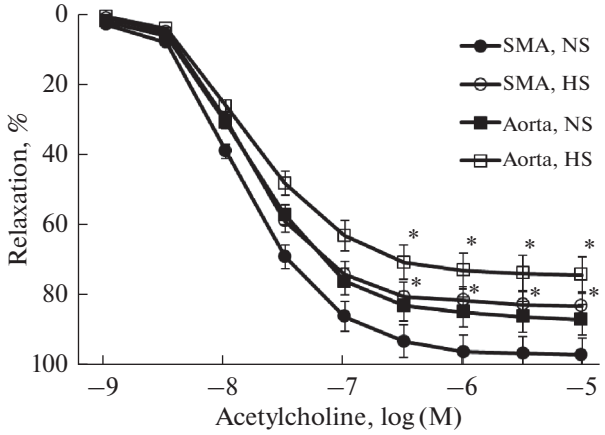

Рис. 1. АХ-индуцируемая релаксация предварительно сокращенных PHE (10^{-5} М) сегментов аорты и верхней брыжеечной артерии (SMA) HS- и NS-крыс. Результаты представлены в % от величины PHE-стимулируемого сокращения в виде среднего значения ± SE. Различия между соответствующими сосудами HS- и NS-крыс достоверны: * – $p < 0.05$.

Fig. 1. ACh-induced relaxation of pre-contracted PHE (10^{-5} M) segments of the aorta and superior mesenteric artery (SMA) of HS and NS rats. Results are presented as % of PHE-stimulated contraction as mean ± SE. The differences between the corresponding vessels of HS- and NS-rats are significant: * – $p < 0.05$.

опытов показывают, что основным вазодилататором в исследуемых сосудах NS-крыс является NO (в сегментах аорты NO обеспечивал до 86% АХ-индуцируемой вазорелаксации). Высокосолевая диета ослабляла способность эндотелия к производству NO, в сегментах аорты HS-крыс на долю NO приходилось менее 60% от величины АХ-индуцируемой релаксации. В сегментах ВБА NS-крыс доля не NO-опосредованной релаксации составляла 29%, а в ВБА HS-крыс она возрастала до 47%. Результаты данной серии опытов представлены на рис. 2.

Учитывая важную роль эндотелиальной гиперполяризации в дилатации различных артерий у разных животных и роль Ca^{2+}-активируемых K^+-каналов в этом процессе [21], в следующей серии опытов мы использовали различные блокаторы K^+-каналов: тетраэтиламмоний как неспецифический блокатор различных K^+-каналов, TRAM-34 – блокатор Ca^{2+}-активируемых K^+-каналов промежуточной проводимости и апамин – блокатор Ca^{2+}-активируемых K^+-каналов малой проводимости. Блокаторы вводили в физиологический раствор за 20 мин до предконтрактирования и последующей АХ-индуцируемой вазорелаксации. При исследовании сегментов аорты HS- и NS-крыс было установлено, что все применяемые нами блокаторы K^+-каналов вызывают небольшое уменьшение релаксации сегментов аорты на АХ. В сегментах ВБА NS-крыс, в отличие от аорты, тетраэтиламмоний, TRAM-34 и апамин приводили к выраженному уменьшению релаксации на АХ. Максимальное уменьшение АХ-индуцируемой релаксации сегментов ВБА наблюдалось при применении комбинации блокаторов: TRAM-34 + апамин. В сегментах ВБА HS-крыс снижение АХ-индуцируемой релаксации при применении блокаторов K^+-каналов было более выраженным по сравнению с реакциями ВБА NS-крыс (рис. 3).

В последние годы при исследовании механизмов дилатации артерий различных сосудистых регионов значительное внимание уделяется сероводороду (H_2S), который принято считать третьим газотрансмиттером [22]. В заключительной серии

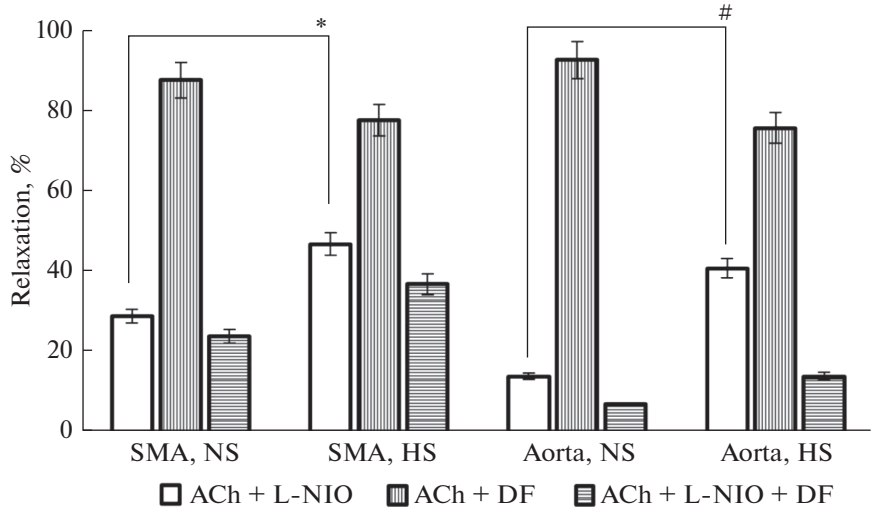

Рис. 2. Релаксация предварительно сокращенных фенилэфрином сегментов аорты и ВБА крыс, получавших высокосолевую диету (HS) и контрольной группы (NS), на АХ на фоне действия ингибитора эндотелиальной NO-синтазы (L-NIO) и диклофенака (DF). Результаты представлены в % от величины АХ-индуцируемой релаксации в виде среднего значения ± SE. Различия между соответствующими сосудами HS- и NS-крыс достоверны: $^{\#} - p < 0.01$, $^{*} - p < 0.05$.

Fig. 2. Relaxation of the segments of the aorta and SMA, previously contracted by phenylephrine, in rats fed a high-salt diet (HS) and control group (NS) on ACh in the presence of an endothelial NO-synthase inhibitor (L-NIO) and diclofenac (DF). Results are presented in % of ACh-induced relaxation as mean ± SE. The differences between the corresponding vessels of HS and NS rats are significant: $\# - p < 0.01$, $* - p < 0.05$.

опытов мы исследовали роль эндогенного H_2S в АХ-индуцируемой релаксации сегментов аорты и ВБА HS- и NS-крыс. С этой целью первоначально оценивали величину релаксации сосудистых сегментов на АХ в физиологическом растворе, затем в растворе, содержащем ингибиторы эндотелиальной NO-синтазы и циклооксигеназы. Поскольку доминирующим ферментом, синтезирующим H_2S в сердечно-сосудистой системе, является цистатионин-γ-лиаза (CSE) [23, 24], в последующем в этот раствор добавляли ингибитор CSE – пропаргилглицин. Введение PPG в раствор, содержащий L-NIO и диклофенак, приводило к достоверному снижению АХ-индуцируемой релаксации. В сегментах ВБА действие PPG сопровождалось более выраженным уменьшением вазорелаксации по сравнению с аортой, в ВБА HS-крыс ингибирующий эффект PPG был достоверно больше по сравнению с ВБА NS-крыс (рис. 4). Эти данные позволяют предположить, что вазорелаксация, вызванная АХ в сегментах аорты и ВБА, опосредуется не только NO и PGI_2, а в ее развитии принимает участие также H_2S.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последние 20 лет получено множество данных, доказывающих, что потребление пищи с высоким содержанием соли тесно связано с повышенным риском развития сердечно-сосудистых заболеваний независимо от эффекта на артериальное давление [25]. В это же время стало ясным, что у людей высокосолевая диета приводит к функциональному дефициту эндотелия сосудов, который проявляется в ослаблении реакций сосудов на различные вазомоторные раздражители [26].

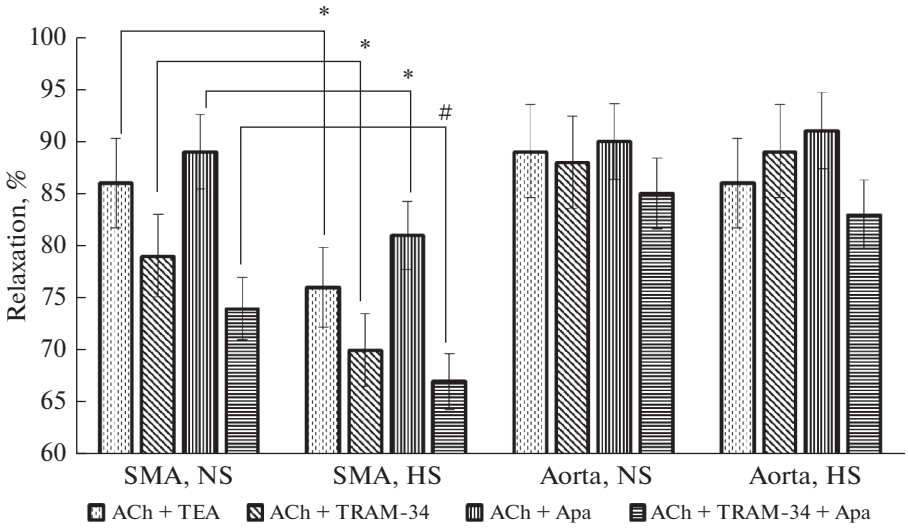

Рис. 3. Релаксация предварительно сокращенных фенилэфрином сегментов аорты и ВБА крыс, получавших высокосолевую диету (HS) и контрольной группы (NS), на ацетилхолин (ACh) на фоне действия блокаторов K^+-каналов: тетраэтиламмония (TEA), TRAM-34 и апамина (Apa). Результаты представлены в % от величины ACh-индуцируемой релаксации в виде среднего значения ± *SE*. Различия между величинами релаксации ВБА HS- и NS-крыс достоверны: $^{\#} - p < 0.01$, $^{*} - p < 0.05$.

Fig. 3. Relaxation of the segments of the aorta and SMA, previously contracted by phenylephrine, of rats fed a high-salt diet (HS) and control group (NS) on ACh against the background of the action of K^+-channel blockers: tetraethylammonium (TEA), TRAM-34 and apamine (Apa). Results are presented in % of ACh-induced relaxation as mean ± *SE*. The differences between the values of the relaxation of HS- and NS-rats are significant: # – $p < 0.01$, * – $p < 0.05$.

В экспериментах на животных также было установлено, что высокосолевая диета оказывает негативное влияние на сосуды, при этом, как правило, нарушается процесс вазодилатации [27]. В этих работах при исследовании функционального состояния артерий животных, получавших рацион с избыточным количеством соли, были получены значительно отличающиеся результаты [28–30]. Мы полагаем, что это связано как с разницей объектов исследований (тип артерии, ее локализация и размер, вид животного), так и с многообразием примененных методических приемов и протоколов. Значительно варьировала также продолжительность высокосолевой диеты.

В отличие от других работ на крысах, в которых продолжительность высокосолевой диеты составляла от 3 дней до 4 нед. [28, 31], в нашем исследовании крысы содержались на высокосолевом рационе на протяжении 12 нед., что, по нашему мнению, должно было привести к выраженным изменениям в регуляции сосудистого тонуса. Поскольку в большинстве подобных работ при исследовании артерий как *in vivo*, так и *in vitro* было выявлено нарушение механизмов эндотелий-зависимой вазодилатации, в нашей работе также основное внимание было уделено этой проблеме.

По завершении 12-недельной диеты с 8%-ным содержанием NaCl была определена масса животных и измерено систолическое артериальное давление. Сравнение данных HS- и NS-крыс показало, что высокосолевая диета не оказывала значимого влияния на массу тела животных и систолическое артериальное давление.

При исследовании максимальной силы сокращений сегментов аорты и ВБА HS- и NS-крыс были выявлены минимальные различия, что косвенным образом могло указывать на отсутствие или слабое ремоделирование сосудистой стенки у HS-крыс.

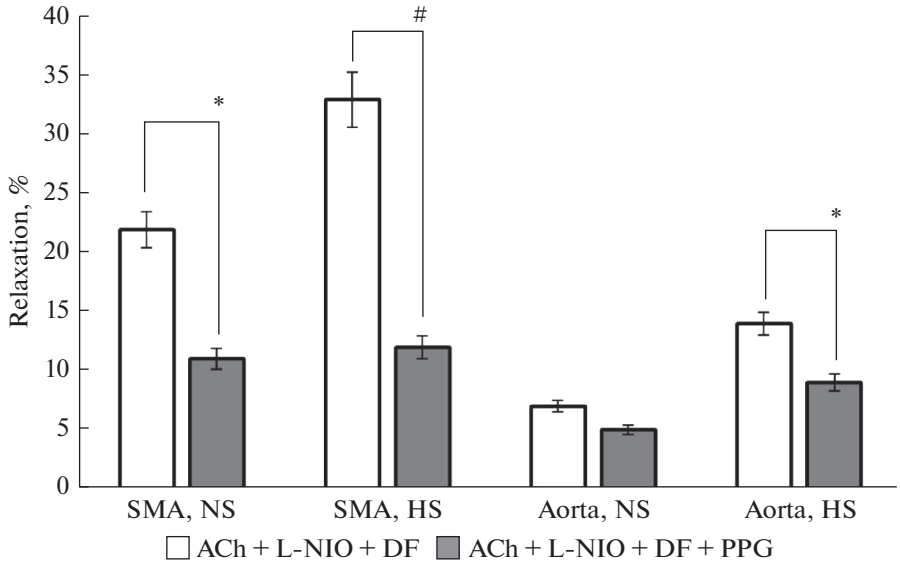

Рис. 4. Релаксация предварительно сокращенных фенилэфрином сегментов аорты и ВБА крыс, получавших высокосолевую диету (HS) и контрольной группы (NS), на ACh на фоне действия ингибитора эндотелиальной NO-синтазы (L-NIO), ингибитора циоклооксигеназы диклофенака (DF) и ингибитора цистатионин-γ-лиазы – пропаргилглицина (PPG). Результаты представлены в % от величины ACh-индуцируемой релаксации в виде среднего значения ± SE. Различия между соответствующими сосудами HS- и NS-крыс достоверны: $^{\#} - p < 0.01$, $^{*} - p < 0.05$.

Fig. 4. Relaxation of the segments of the aorta and SMA, previously contracted with phenylephrine, of rats fed a high-salt diet (HS) and control group (NS) on ACh against the background of the action of an endothelial NO synthase inhibitor (L-NIO), a cyoclooxygenase inhibitor diclofenac (DF) and a cystathionine inhibitor γ-lyase – propargylglycine (PPG). Results are presented in % of ACh-induced relaxation as mean ± *SE*. The differences between the corresponding vessels of HS- and NS-rats are significant: # – $p < 0.01$, * – $p < 0.05$.

Однако действие бескальциевого раствора продемонстрировало снижение способности стенки сосудов HS-крыс к расслаблению. Максимальные различия между реакциями сосудов HS- и NS-крыс в бескальциевом растворе наблюдались при исследовании сегментов ВБА. Дилататорный эффект АХ на сегменты ВБА HS-крыс также был меньше по сравнению с ВБА NS-крыс. Ранее ремоделирование и снижение реактивности при действии агонистов было выявлено в мелких артериях и артериолах крыс при 4-недельном содержании их на высокосолевой диете [29]. В нашем исследовании сниженный ответ сегментов ВБА при действии бескальциевого раствора может указывать на ремоделирование крупных артерий мышечного типа у крыс, длительное время содержавшихся на высокосолевой диете.

Общепризнано, что важнейшим продуцируемым эндотелием вазодилататором является NO [32]. В нашей работе первоначально было проведено исследование с применением экзогенного NO, т.е. оценивалась эндотелий-независимая релаксация сегментов аорты и ВБА. Добавление в омывающий раствор нитропруссида (источник экзогенного NO) показало отсутствие достоверных различий между аналогичными сосудами HS- и NS-крыс. Эти результаты достаточно важны, поскольку свидетельствуют о том, что длительная высокосолевая диета не приводит к нарушению в сосудистых гладкомышечных клетках внутриклеточных сигнальных механизмов, активируемых NO, то есть сохраняется нормальная реактивность гладкомышечных клеток на воздействие NO.

На начальном этапе исследования эндотелий-зависимой релаксации сегментов аорты и ВБА были построены кривые доза–эффект при применении АХ в концентрациях 10^{-9}–10^{-5} М. Было показано, что при применении АХ в концентрациях $\geq 10^{-7}$ М релаксация сегментов аорты NS крыс составляла более 75%, а ВБА NS-крыс – более 85% от величины PHE-стимулируемого сокращения в этих сосудах. Различия в реакциях сосудистых сегментов HS- и NS-крыс при действии АХ в концентрациях $\geq 10^{-7}$ М были достоверными. Анализ данных, полученных при действии нитропруссида и АХ на сосудистые сегменты HS- и NS-крыс, показал, что длительная высокосолевая диета приводит к нарушению продукции эндотелием вазодилататоров в артериях различного типа: как в коллекторных (аорта), так и в артериях распределения (ВБА).

Известно, что в сосудистой стенке в физиологических условиях NO продуцируется эндотелиальными клетками посредством активации эндотелиальной NO-синтазы (eNOS). Патогенные факторы (а длительное воздействие высокосолевой диеты можно считать таковым) приводят к экспрессии генов, кодирующих синтез индуцибельной NO-синтазы (iNOS) в различных клетках, в том числе, и в гладкомышечных клетках сосудистой стенки [33]. Задачей нашей работы было исследование эндотелий-зависимой регуляции тонуса сосудов, поэтому в нашей работе в качестве ингибитора мы использовали L-NIO, который является селективным ингибитором eNOS. Добавление в физиологический раствор L-NIO приводило к значительному уменьшению релаксации сосудистых сегментов на АХ. Максимальное уменьшение релаксации наблюдалось в сегментах аорты NS-крыс, это свидетельствует о том, что в данном сосуде в физиологических условиях основным эндотелиальным вазодилататором является NO. Сегменты аорты HS-крыс на фоне действия L-NIO демонстрировали меньшее снижение амплитуды АХ-индуцируемой релаксации. Сравнение этих данных указывает на то, что повреждающее действие высокосолевой диеты на эндотелий аорты заключается, в частности, в нарушении функции eNOS.

В сегментах ВБА NS-крыс L-NIO оказывал значительно меньший ингибиторный эффект по сравнению с аортой, что свидетельствует о меньшей роли NO в качестве эндотелиального вазодилататора в этих сосудах. Значительная амплитуда АХ-индуцируемой релаксации на фоне действия L-NIO указывает также на то, что в физиологических условиях эндотелий ВБА наряду с NO продуцирует и другие вазодилататоры. В сегментах ВБА HS-крыс амплитуда релаксации на АХ на фоне действия L-NIO уменьшалась, что подтверждает повреждающее действие высокосолевой диеты на eNOS в этих сосудах.

Поскольку в некоторых сосудах важную роль в вазодилатации выполняют продуцируемые эндотелием простагландины [34], мы провели исследование влияния ингибитора циклооксигеназы – диклофенака на АХ-индуцируемую релаксацию сегментов аорты и ВБА. Диклофенак практически не оказывал влияния на релаксацию аорты и ВБА NS-крыс, что указывает на незначительную роль простаноидов в релаксации этих сосудов в физиологических условиях. Высокосолевая диета изменяла способность эндотелия к синтезу вазодилатирующих простаноидов. У HS-крыс на фоне действия диклофенака наблюдалось достоверное снижение АХ-индуцируемой релаксации сегментов аорты и ВБА, при этом эффект диклофенака был более выражен в ВБА. Эти данные показывают, что длительная высокосолевая диета приводит к активации циклооксигеназы в сосудистой стенке. Поскольку диклофенак ингибирует циклооксигеназу-1 и циклооксигеназу-2, логично предположить, что высокосолевая диета способствует экспрессии генов, ответственных за синтез циклооксигеназы-2 и появлению этого фермента в сосудистой стенке [35], это спо-

собствует образованию значимого количества простаноидов, которые принимают участие в процессах вазодилатации.

Поскольку на фоне совместного применения ингибиторов NO-синтазы и циклооксигеназы не наблюдалось полного ингибирования АХ-индуцируемой релаксации сегментов ВБА NS- и HS-крыс, дальнейшее исследование было посвящено изучению возможной роли фактора эндотелиальной гиперполяризации (EDHF) в процессе вазорелаксации. Химическая природа EDHF до настоящего времени не определена. Полагают, что несколько веществ могут выполнять функцию EDHF: эпоксиэйкозатриеновая кислота, пероксид водорода, K^+, сероводород [36]. Несмотря на то, что химическая природа EDHF неизвестна, механизм его действия в большей или меньшей степени понятен: эндотелиальная гиперполяризация развивается преимущественно за счет открывания Ca^{2+}-чувствительных K^+-каналов, что приводит к выходу из клеток K^+ и развитию гиперполяризации с последующим расслаблением гладкомышечных клеток [37]. В нашем исследовании мы применяли три блокатора K^+-каналов: тетраэтиламмоний – неспецифический блокатор K^+-каналов различного типа, TRAM-34 – селективный блокатор Ca^{2+}-чувствительных K^+-каналов промежуточной проводимости и апамин – селективный блокатор Ca^{2+}-чувствительных K^+-каналов малой проводимости. Применение каждого из указанных блокаторов не приводило к значимым изменениям амплитуды АХ-индуцируемой релаксации сегментов аорты NS- и HS-крыс, что позволяет сделать заключение об отсутствии или крайне слабой эффективности EDHF-опосредованного механизма релаксации в этих сосудах.

В ВБА NS-крыс все три блокатора приводили к уменьшению амплитуды АХ-индуцируемой релаксации. Максимальный эффект оказывала комбинация блокаторов TRAM-34 + апамин. Наиболее интересными оказались данные, полученные при исследовании сегментов сосудов HS-крыс. В ВБА HS-крыс ингибирующий эффект каждого из применяемых нами блокаторов K^+-каналов был выражен значительно сильнее по сравнению с сосудами NS-крыс. Достоверное уменьшение релаксации сегментов ВБА HS-крыс, вызываемой АХ, наблюдалось при применении каждого из блокаторов, максимальный ингибирующий эффект также выявлялся при применении комбинации блокаторов TRAM-34 + апамин. Данные, полученные в этой серии экспериментов, позволяют сделать вывод о наличии в эндотелии ВБА крыс Ca^{2+}-чувствительных K^+-каналов промежуточной и малой проводимости. Другими словами, в этих сосудах достаточно эффективно функционирует EDHF-опосредованный механизм вазодилатации. Традиционно считается, что EDHF-опосредованный механизм вазодилатации эффективно работает лишь в мелких артериях и артериолах [38], более того, имеются данные, что его эффективность в этих сосудах даже более значима, чем NO-опосредованный механизм [39]. В нескольких работах также было показано участие Ca^{2+}-чувствительных K^+-каналов промежуточной и малой проводимости в агонист-индуцируемой вазорелаксации ВБА крыс [40, 41]. В нашем исследовании получены данные, не только доказывающие наличие Ca^{2+}-чувствительных K^+-каналов промежуточной и малой проводимости в ВБА крыс, но и существенное возрастание их роли в процессах релаксации ВБА у крыс, содержавшихся на высокосолевой диете.

В последнее десятилетие при исследовании механизмов вазодилатации большое внимание уделяется третьему газотрансмиттеру – H_2S [42]. Мы провели серию экспериментов с целью определения возможной роли H_2S в АХ-индуцируемой релаксации аорты и ВБА крыс. Известно, что в стенке различных артерий обнаружены разные H_2S-продуцирующие ферменты, в т.ч. цистатионин-γ-лиаза (CSE), цистотионин-β-синтаза и 3-меркаптопируватсульфуртрансфераза. В связи с тем, что

CSE присутствует в стенке большинства изученных сосудов [23, 24], в наших опытах в качестве ингибитора синтеза H_2S мы использовали пропаргилглицин (PPG), добавляя его в раствор, уже содержащий ингибиторы NO-синтазы и циклооксигеназы. Добавление PPG приводило к ослаблению релаксации ВБА NS-крыс. В сегментах ВБА HS-крыс уменьшение амплитуды релаксации было значительно большим по сравнению с ВБА NS-крыс. На релаксацию сегментов аорты NS- и HS-крыс PPG оказывал слабое влияние. Сопоставляя полученные данные с результатами применения блокаторов Ca^{2+}-чувствительных K^+-каналов (амплитуда ослабления релаксации, ее увеличение у HS-крыс), мы полагаем, что в ВБА крыс Вистар в качестве EDHF (или одного из EDHF) выступает H_2S.

Результаты этого исследования демонстрируют, что длительная высокосолевая диета приводит у крыс к ограничению способности ВБА расслабляться, а также к изменениям реакций артерий на вазодилататоры. Высокосолевая диета вызывает ослабление АХ-индуцированной NO-опосредованной релаксации аорты и ВБА крыс, в наибольшей степени это выражено в аорте (рис. 2). В ВБА диета с высоким содержанием соли, ограничивая продукцию эндотелием NO, приводит к возрастанию эффективности EDHF-опосредованного механизма релаксации. По-видимому, подобные изменения эндотелий-зависимой вазодилатации в ВБА крыс являются типичными в артериях мышечного типа при разных видах сосудистой патологии. Хорошо известно, что при патологических состояниях, приводящих к нарушению функции сосудов и сопровождающихся дефицитом NO, компенсаторно возрастает роль EDHF-опосредованного механизма вазодилатации [18, 43]. Результаты данного исследования также показывают, что в ВБА крыс функцию EDHF выполняет H_2S, производство которого возрастает при длительном содержании животных на высокосолевой диете.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-015-00047 и частично – Государственной программы Российской Федерации 47_110_ДРиОК, тема № 0134-2019-003 (65.2).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Elijovich F., Weinberger M.H., Anderson C.A., Appel L.J., Bursztyn M., Cook N.R., Dart R.A., Newton-Cheh C.H., Sacks F.M., Laffer C.L.* Salt sensitivity of blood pressure: A scientific statement from the American Heart Association. American Heart Association Professional and Public Education Committee of the Council on Hypertension; Council on Functional Genomics and Translational Biology; and Stroke Council. Hypertension. 68(3): e7–e46. 2016. https://doi.org/10.1161/HYP.0000000000000047
2. *Swenson S.J., Speth R.C., Porter J.P.* Effect of a perinatal high-salt diet on blood pressure control mechanisms in young Sprague-Dawley rats. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Compar. Physiol. 286(4): R764-70. 2004. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00492.2003
3. *Bagrov A.Y., Agalakova N.I., Kashkin V.A., Fedorova O.V.* Endogenous cardiotonic steroids and differential patterns of sodium pump inhibition in NaCl-loaded salt-sensitive and normotensive rats. Am. J. Hypertens. 22: 559–563. 2009.
4. *Rust P., Ekmekcioglu C.* Impact of Salt Intake on the Pathogenesis and Treatment of Hypertension. Adv. Exp. Med. Biol. 956: 61–84. 2017. https://doi.org/10.1007/5584_2016_147

5. *Marketou M.E., Maragkoudakis S., Anastasiou I., Nakou H., Plataki M., Vardas P.E., Parthenakis F.I.* Salt-induced effects on microvascular function: A critical factor in hypertension mediated organ damage. J. Clin. Hypertens. 21: 749–757. 2019. https://doi.org/10.1111/jch.13535
6. *Strazzullo P., D'Elia L., Kandala N.B., Cappuccio F.P.* Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. Br. Med. J. 24. 339: b4567. 2009. https://doi.org/10.1136/bmj.b4567
7. *Barić L., Drenjančević I., Matić A., Stupin M., Kolar L., Mihaljević Z., Lenasi H., Šerić V., Stupin A.* Seven-Day Salt Loading Impairs Microvascular Endothelium-Dependent Vasodilation without Changes in Blood Pressure, Body Composition and Fluid Status in Healthy Young Humans. Kidney Blood Press Res. 44(4): 835–847. 2019. https://doi.org/10.1159/000501747
8. *Gates P.E., Tanaka H., Hiatt W.R., Seals D.R.* Dietary sodium restriction rapidly improves large elastic artery compliance in older adults with systolic hypertension. Hypertension.44: 35–41 2004.
9. *Bagrov A.Y., Lakatta E.G.* The dietary sodium-blood pressure plot "stiffens". Hypertension. 44: 22–24. 2004.
10. *Zieman S.J., Melenovsky V., Kass D.A.* Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vasc. Biol. 25: 932–943. 2005.
11. *Johnson C.P., Baugh R., Wilson C.F., Burns J.* Age related changes in the tunica media of the vertebral artery: implications for the assessment of vessels injured by trauma. J. Clin. Pathol. 54: 139–145. 2001.
12. *Vanhoutte P.M., Shimokawa H., Feletou M., Tang E.H.* Endothelial dysfunction and vascular disease—a 30th anniversary update. Acta Physiol. 219: 22–96. 2017.
13. *Zhao Y., Vanhoutte P.M., Leung S.W.* Vascular nitric oxide: beyond eNOS. J. Pharmacol. Sci. 129: 83–94. 2015.
14. *Ravarotto V., Simioni F., Pagnin E., Davis P.A., Calo L.A.* Oxidative stress–chronic kidney disease–cardiovascular disease: a vicious circle. Life Sci. 210: 125–131. 2018. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.08.067
15. *Nurkiewicz T.R., Boegehold M.A.* High salt intake reduces endothelium-dependent dilation of mouse arterioles via superoxide anion generated from nitric oxide synthase. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Compar. Physiol. 292(4): R1550-R1556. 2007. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00703.2006
16. *Zhu J., Huang T., Lombard J.H.* Effect of high-salt diet on vascular relaxation and oxidative stress in mesenteric resistance arteries. J. Vasc. Res. 44(5): 382-390. 2007. https://doi.org/10.1159/000102955
17. *Lenda D.M., Sauls B.A., Boegehold M.A.* Reactive oxygen species may contribute to reduced endothelium-dependent dilation in rats fed high salt. Am. J. Physiol. 279: H7–H14. 2000.
18. *Feletou M., Vanhoutte P.M.* EDHF: an update. Clin. Sci. (Lond). 117: 139–155. 2009. https://doi.org/10.1042/CS20090096
19. *Kanagy N.L., Szabo C., Papapetropoulos A.* Vascular biology of hydrogen sulfide. Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 312(5): C537-C549. 2017. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00329.2016
20. *Nyborg N.C., Baandrup U., Mikkelsen E.O., Mulvany M.J.* Active, passive and myogenic characteristics of isolated rat intramural coronary resistance arteries. Pflugers Ugers Arch. 410: 664–670. 1987.
21. *Garland C.J., Dora K.A.* EDH: endothelium-dependent hyperpolarization and microvascular signaling. Acta Physiol. (Oxf). 219(1): 152–161. 2017. https://doi.org/10.1111/apha.12649
22. *Wagner F., Asfar P., Calzia E., Radermacher P., Szabó C.* Bench-to-bedside review: Hydrogen sulfide—the third gaseous transmitter: applications for critical care. Crit. Care. 13(3): 213. 2009. https://doi.org/10.1186/cc7700
23. *Polhemus D.J., Lefer D.J.* Emergence of hydrogen sulfide as an endogenous gaseous signaling molecule in cardiovascular disease. Circ. Res. 114: 730–737. 2014.
24. *Kolluru G.K., Bir S.C., Yuan S., Shen X., Pardue S., Wang R., Kevil C.G.* Cystathionine γ-lyase regulates arteriogenesis through NO-dependent monocyte recruitment. Cardiovasc. Res. 107(4): 590–600. 2015. https://doi.org/10.1093/cvr/cvv198
25. *Tuomilehto J., Jousilahti P., Rastenyte D., Moltchanov V., Tanskanen A., Pietinen P., Nissinen A.* Urinary sodium excretion and cardiovascular mortality in Finland: a prospective study. Lancet. 357: 848–851. 2001.
26. *Takase H., Sugiura T., Kimura G., Ohte N., Dohi Y.* Dietary Sodium Consumption Predicts Future Blood Pressure and Incident Hypertension in the Japanese Normotensive General Popu-

lation. J. Am. Heart Assoc. 29. 4(8): e001959. 2015.
https://doi.org/10.1161/JAHA.115.001959

27. *Boegehold M.A.* The effect of high salt intake on endothelial function: reduced vascular nitric oxide in the absence of hypertension. J. Vasc. Res. 50: 458–467. 2013.
https://doi.org/10.1159/000355270
28. *Cavka A., Jukic I., Ali M., Goslawski M., Bian J.T., Wang E., Drenjancevic I., Phillips S.A.* Short-term high salt intake reduces brachial artery and microvascular function in the absence of changes in blood pressure. J. Hypertens. 34: 676–684. 2016.
https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000852
29. *Cordaillat M., Fort A., Virsolvy A., Elghozi J.L., Richard S., Jover B.* Nitric oxide pathway counteracts enhanced contraction to membrane depolarization in aortic rings of rats on high-sodium diet. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Compar. Physiol. 292(4): R1557–R1562. 2007.
https://doi.org/10.1152/ajpregu.00624.2006
30. *Allen L.A., Schmidt J.R., Thompson C.T., Carlson B.E., Beard D.A., Lombard J.H.* High salt diet impairs cerebral blood flow regulation via salt-induced angiotensin II suppression. Microcirculation. 26(3): e12518. 2019.
https://doi.org/10.1111/micc.12518
31. *Liu Y., Rusch N.J., Lombard J.H.* Loss of endothelium and receptor-mediated dilation in pial arterioles of rats fed a short-term high salt diet. Hypertension. 33(2): 686–688. 1999.
https://doi.org/10.1161/01.hyp.33.2.686
32. *Vanhoutte P.M., Shimokawa H., Feletou M., Tang E.H.* Endothelial dysfunction and vascular disease – a 30th anniversary update. Acta Physiol. (Oxf). 219(1): 22–96. 2017.
https://doi.org/10.1111/apha.12646
33. *Persichini T., Cantoni O., Suzuki H., Colasanti M.* Cross-talk between constitutive and inducible NO synthase: an update. Antioxid. Redox Signal. 8(5–6): 949–954. 2006.
https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.949
34. *Cavka A., Cosic A., Jukic I., Jelakovic B., Lombard J.H., Phillips S.A., Seric V., Mihaljevic I., Drenjancevic I.* The role of cyclo-oxygenase-1 in high-salt diet-induced microvascular dysfunction in humans. J. Physiol. 593(24): 5313–5324. 2015.
https://doi.org/10.1113/JP271631
35. *Kido M., Ando K., Onozato M.L., Tojo A., Yoshikawa M., Ogita. T, Fujita T.* Protective effect of dietary potassium against vascular injury in salt-sensitive hypertension. Hypertension. 51(2): 225–31. 2008.
https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.098251
36. *Félétou M., Vanhoutte P.M.* EDHF: an update. Clin. Sci. (Lond). 117(4): 139–155. 2009.
https://doi.org/10.1042/CS20090096
37. *Félétou M.* Endothelium-Dependent Hyperpolarization and Endothelial Dysfunction. J. Cardiovasc. Pharmacol. 67(5): 73–87. 2016.
https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000346
38. *Garland C.J., Dora K.A.* EDH: endothelium-dependent hyperpolarization and microvascular signalling. Acta Physiol. (Oxf). 219(1): 152–161. 2017.
https://doi.org/10.1111/apha.12649
39. *Coleman H.A., Tare M., Parkington H.C.* Nonlinear effects of potassium channel blockers on endothelium-dependent hyperpolarization Acta Physiol. (Oxf). 219(1): 324–334. 2017.
https://doi.org/10.1111/apha.12805
40. *Ando M., Matsumoto T., Kobayashi S., Iguchi M., Taguchi K., Kobayashi T.* Differential participation of calcium-activated potassium channel in endothelium-dependent hyperpolarization-type relaxation in superior mesenteric arteries of spontaneously hypertensive rats. Can. J. Physiol. Pharmacol. 96(8): 839–844. 2018.
https://doi.org/10.1139/cjpp-2017-0557
41. *Stankevicius E., Lopez-Valverde V., Rivera L., Hughes A.D., Mulvany M.J., Simonsen U.F.* Combination of Ca2+ -activated K+ channel blockers inhibits acetylcholine-evoked nitric oxide release in rat superior mesenteric artery. Br. J. Pharmacol. 149(5): 560–572. 2006.
https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706886
42. *Cirino G., Vellecco V., Bucci M.* Nitric oxide and hydrogen sulfide: the gasotransmitter paradigm of the vascular system. Br. J. Pharmacol. 174(22): 4021–4031. 2017.
https://doi.org/10.1111/bph.13815
43. *Bellien J., Thuillez C., Joannides R.* Contribution of endothelium-derived hyperpolarizing factors to the regulation of vascular tone in humans. Fundam. Clin. Pharmacol. 22(4): 363–377. 2008.
https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2008.00610.x

Regulation of Arterial Tone in Rats Fed a Long-Term High-Salt Diet

G. I. Lobov[a] and G. T. Ivanova[a], *

[a] *Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg, Russia*
**E-mail: ivanovagt@infran.ru*

A high salt diet leads to a decrease in vascular dilatation to agonists, but the vascular mechanisms involved in this process are not extensively studied. A group of male Wistar rats at the age of 3 months was transferred to a diet containing 8% NaCl (HS) for 3 months, while the second group received a diet with a standard salt content (0.34%) (NS). At the end of the experiment, the rats were euthanized and the abdominal aorta and superior mesenteric artery (SMA) were extracted. The vascular segments were placed in a myograph and the acetylcholine (ACh)-induced relaxation of the vascular segments previously contracted with phenylephrine was measured. A high salt diet led to a weakening of the relaxation of SMA in a calcium-free solution. In response to ACh and sodium nitroprusside, a pronounced relaxation of the vascular segments was observed, while the ACh-induced vascular relaxation of HS rats had a lower amplitude. K^+-channel blockers (TEA, TRAM-34, and apamine) weakened ACh-induced relaxation of the SMA, but not the aorta. In the SMA of HS rats the decrease in relaxation under the action of K^+-channel blockers was more significant. Inhibition of production of endogenous H2S also led to a weakening of the relaxation of the SMA segments on ACh. In SMA of HS rats, the degree of weakening of ACh-induced relaxation against the background of propargylglycine was greater than in NS rats. The data obtained in the study shows that a long-term high salt diet leads to a decrease in agonist-induced relaxation of the aorta segments and SMA. The relaxation weakening of the aorta segments and SMA occurs due to a decrease in the production of NO by the endothelium. In the SMA of HS rats, the decrease in NO-mediated relaxation is partially compensated by an increased role of EDHF in ACh-induced relaxation. The results of the study also show that one of the EDHFs in rat SMA is H_2S, the role of which in SMA relaxation increases in HS rats.

Keywords: high salt diet, aorta, superior mesenteric artery, endothelium, nitric oxide, hydrogen sulfide

ЦИТИРОВАТЬ:

Лобов Г.И., Иванова Г.Т. Регуляция тонуса артерий у крыс, длительно получавших высокосолевую диету. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 107(1): 70–84. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010076

TO CITE THIS ARTICLE:

Lobov G. I., Ivanova G. T. Regulation of arterial tone in rats fed a long-term high-salt diet. 107(1): 70–84. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010076

РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2021, том 107, № 1, с. 85–97

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ПАРАМЕТРЫ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ДЕТЕЙ С ОСОБЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ ЗДОРОВЬЯ С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ИСХОДНОГО ВЕГЕТАТИВНОГО ТОНУСА

© 2021 г. О. В. Смирнова[1, *], Е. С. Овчаренко[1], Э. В. Каспаров[1], В. В. Фефелова[1]

[1]Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера СО РАН, Красноярск, Россия

*****E-mail: ovsmirnova71@mail.ru*

Поступила в редакцию 29.06.2020 г.
После доработки 23.10.2020 г.
Принята к публикации 10.11.2020 г.

В настоящее время ухудшение состояния здоровья детского населения является приоритетной проблемой здравоохранения. Под особыми (ограниченными) возможностями здоровья понимают недостаточность физического и/или психического развития, которые в том числе негативно сказываются на адаптационно-приспособительные возможности организма детей. Изучение физического развития вкупе с показателями вегетативной регуляции позволяет оценить общебиологическое развитие организма и адаптационные механизмы. Целью исследования было проанализировать состояние физического развития у детей с особыми возможностями здоровья, связанными с нарушениями интеллектуального развития, в зависимости от исходного типа вегетативной регуляции. Обследовано 168 детей младшего школьного возраста. Из них 54 ребенка с особыми возможностями здоровья, связанными с интеллектуальными нарушениями (F70, F71), а также 114 интеллектуально здоровых детей. Было установлено, что у детей с особыми возможностями здоровья доминируют симпатикотонический (33%) и гиперсимпатикотонический (24%) типы исходного вегетативного тонуса. При этом количество детей с эйтоническим типом исходного вегетативного тонуса в группе с детей с особыми возможностями здоровья в 2 раза ниже (26%) по сравнению с контрольной группой (47%). При анализе физического развития в зависимости от исходного вегетативного тонуса у детей с особыми возможностями здоровья минимальные значения антропометрических параметров установлены при ваготонии. По мере нарастания симпатических модуляций зафиксировано увеличение всех антропометрических показателей. Также в группе детей с особыми возможностями здоровья выявлено отставание антропометрических параметров при ваготонии и преобладание при симпатикотоническом типе исходного вегетативного тонуса по сравнению с контрольной группой. Выявленные особенности могут учитываться при подборе индивидуальной коррекционной программы для детей с особыми возможностями здоровья, связанными с отклонениями интеллектуального развития.

Ключевые слова: вегетативная регуляция, младшие школьники, особые возможности здоровья, умственная отсталость, антропометрические параметры, исходный вегетативный тонус

DOI: 10.31857/S0869813921010088

В настоящее время ухудшение состояния здоровья детского населения является приоритетной проблемой здравоохранения. В нашей стране насчитывается более двух миллионов детей с особыми возможностями здоровья (ОВЗ) [1], при этом сохраняется тенденция к увеличению их численности. Под особыми (ограниченными) возможностями здоровья понимают недостаточность физического и/или психического развития [2, 3], которые в том числе негативно сказываются на адаптационно-приспособительных возможностях организма детей.

Адаптация – одно из базовых физиологических свойств организма, направленное на регуляцию гомеостаза и приспособление к новым условиям среды [4]. Характер адаптационных реакций во многом зависит от функциональной деятельности вегетативной нервной системы [5]. При этом соотношение активности симпатического и парасимпатического звеньев вегетативной нервной системы определяет исходный вегетативный тонус (ИВТ) [6]. Именно исходный вегетативный тонус позволяет оценить состояние организма ребенка [7]. Отмечено, что ИВТ определяет адаптационные возможности на всех уровнях организации – от клеточного [8] до организменного [7, 9].

Физическое развитие является интегральным показателем здоровья [10, 11]. Отклонения в параметрах физического развития, как правило, сопутствуют хроническим патологиям, генетическим и хромосомным заболеваниям [12, 13]. Изучение физического развития вкупе с показателями вегетативной регуляции позволяет оценить общебиологическое развитие организма и адаптационные механизмы. При исследовании взаимосвязи морфофункциональных характеристик зачастую анализируются особенности вегетативной регуляции в зависимости от состояния физического развития [7, 14]. Однако, учитывая преимущественную регуляторную роль вегетативной нервной системы, представляет значительный интерес исследование показателей физического развития в зависимости от особенностей вегетативной регуляции.

Взаимосвязь морфологических характеристик организма и исходного уровня вегетативной регуляции у детей с ОВЗ остается не изученной.

Цель исследования – проанализировать состояние физического развития у детей с ОВЗ, связанными с нарушениями интеллектуального развития, в зависимости от исходного типа вегетативной регуляции.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Было обследовано 168 детей младшего школьного возраста, сопоставимых по полу и возрасту. Из них 54 ребенка (42 мальчика и 12 девочек, средний возраст 9.1 ± 1.2 г.) с ОВЗ, связанными с нарушением интеллектуального развития (F70, F71) и обучающихся по адаптированной коррекционной программе. Критериями включения в данную группу являлись: диагноз “умственная отсталость”, младший школьный возраст (7–11 лет), получение информированного согласия на участие в исследовании от официальных представителей ребенка. К критериям невключения были отнесены: получение специфической иммуно- и химиопрофилактики за 2 мес. до начала обследования, наличие острых или обострение хронических заболеваний на момент обследования, проживание в данной местности менее трех лет, наличие в анамнезе сочетанных патологий различных внутренних органов и систем, отказ родителя (официального представителя) ребенка от участия в исследовании. В контрольную группу вошли 114 интеллектуально и соматически здоровых детей (68 мальчиков и 46 девочек) того же возраста (средний возраст 9 ± 1.2 г.), обучающихся по общеобразовательной программе. Критериями включения в контрольную группу являлись I–II группа здоровья, младший школьный возраст (7–11 лет), получение информированного согласия на участие в исследовании от официаль-

ных представителей ребенка. К критериям невключения в контрольную группу были отнесены: получение специфической иммуно- и химиопрофилактики за 2 мес. до начала обследования, наличие острых или обострение хронических заболеваний на момент обследования, проживание в данной местности менее трех лет, отказ родителя (официального представителя) ребенка от участия в исследовании.

Сравнение гендерных особенностей параметров физического развития и показателей вегетативной регуляции не выявило значимых различий между мальчиками и девочками в исследуемых группах, что позволило объединить их в одну группу. Полученные результаты не противоречат современным исследованиям [15, 16].

Исследования проводились в медицинских кабинетах школ г. Красноярска при комфортной температуре в утренние часы. Перед исследованием были получены информированные согласия от родителей или опекунов детей. Обследование проводилось в соответствии с этическими и правовыми стандартами, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 2000 г.; последний пересмотр Сеул, октябрь, 2008 г.), и было одобрено комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинских проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН.

Физическое развитие анализировалось по антропометрическим параметрам с использованием стандартного набора инструментов. В ходе исследования определялась длина тела (ДТ, см), масса тела (МТ, кг), окружность грудной клетки (ОГК, см) и головы (ОГ, см), поперечный диаметр грудной клетки (ПДГК, см). Показатели ОГК, ОГ, ПДГК для здоровых и детей с ОВЗ в виде рисунков представлены ниже.

Деятельность вегетативной нервной системы оценивалась по данным вариабельности сердечного ритма с помощью аппаратно-программного комплекса ORTO Valeo в соответствии со стандартами Европейского кардиологического общества и Северо-Американского общества кардиостимуляции и электрофизиологии, а также в соответствии с российскими методическими рекомендациями [17, 18]. Исходный вегетативный тонус определялся на основании индекса напряжения в состоянии покоя (ИН, усл. ед.), рассчитанного по формуле: $ИН = \frac{Амо}{2(Мо \times \Delta X)}$, где Амо – амплитуда моды (с), Мо – мода (с), ΔX – вариационный размах (с). Испытуемый относился к группе ваготонии (ВТ) при ИН < 30 усл. ед., к группе эйтонии (ЭТ) при ИН от 31 до 90 усл. ед., к симпатикотонии (СТ) при ВУ от 91 до 160 усл. ед. и гиперсимпатикотонии (ГСТ), если ИН > 161 усл. ед. [17]

Статистический анализ проводился с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США) Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка с последующей оценкой равенства дисперсий по критерию Левена. В том случае, когда распределение в экспериментальных группах было нормальным и соблюдалось межгрупповое равенство дисперсий, дальнейшую обработку проводили с помощью метода параметрической статистики – критерия Ньюмена–Кейлса. При распределении, отличном от нормального и несоблюдении межгруппового равенства дисперсий использовали методы непараметрической статистики – Н-критерий Краскела–Уоллиса. Результаты представлены в виде медианы (Me) и перцентилей (25 и 75). Для качественных признаков сравнение групп осуществлялось с использованием частотного метода (χ-квадрат). Различия оценивались как статистически значимые при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При анализе соотношения типов ИВТ было установлено, что у детей с ОВЗ доминируют симпатикотонический (33%) и гиперсимпатикотонический (24%) типы исходного тонуса (рис. 1). При этом количество детей с эйтоническим типом ИВТ

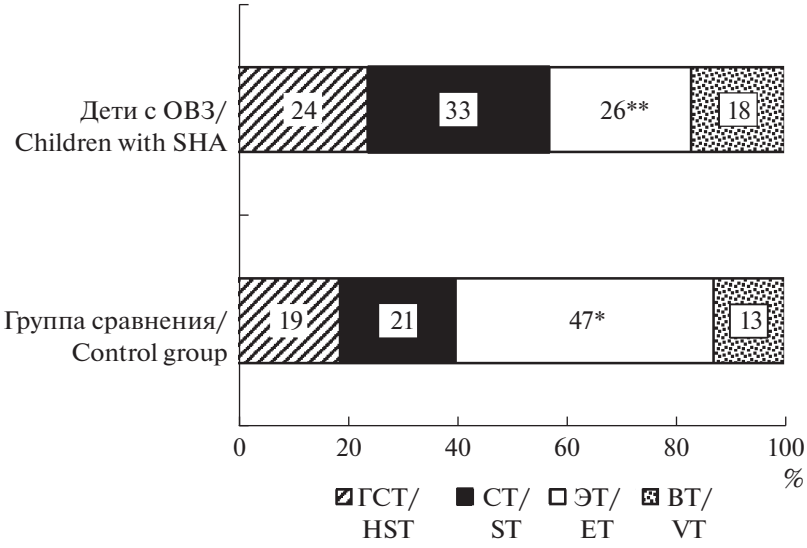

Рис. 1. Соотношение (%) типов исходного вегетативного тонуса у детей с особыми возможностями здоровья ($n = 54$) относительно группы сравнения ($n = 114$).
ВТ – ваготония, ЭТ – эйтония, СТ – симпатикотония, ГСТ –гиперсимпатикотония.
* статистическая значимость различий эйтонии по сравнению с другими вариантами ИВТ в контрольной группе ($p < 0.05$); ** статистическая значимость различий эйтонии у детей с ОВЗ относительно контрольной группы ($p < 0.05$).
Fig. 1. The ratio (%) of the types of initial autonomic tone in children with special health abilities ($n = 54$) relative to the control group ($n = 114$).
VT – vagotonia, ET – eutonia, ST – sympathicotonia, HST – hypersympathicotonia.
* statistical significance of differences in eutonia compared with other variants of IAT in the control group ($p < 0.05$);
** – statistical significance of differences in eutonia in children with disabilities relative to the control group ($p < 0.05$).

в группе с ОВЗ было в 2 раза ниже (26%) по сравнению с контрольной группой (47%, $p < 0.05$). В контрольной группе преобладающее большинство детей имели эйтонический тип ИВТ ($p < 0.05$) (рис. 1).

Учитывая выявленные особенности распределения детей с ОВЗ по ИВТ, значительный интерес представляет анализ антропометрических параметров в зависимости от ИВТ.

При исследовании показателя длины тела были зафиксированы значительные отличия у детей с ОВЗ при разных типах ИВТ (рис. 2). Минимальная длина тела установлена в группе детей с ваготоническим типом. По мере усиления активности симпатического тонуса длина тела увеличивается, достигая максимального значения при симпатикотоническом типе ИВТ. При гиперсимпатикотоническом типе ИВТ показатель длины тела хотя и снижается относительно симпатикотонического ИВТ, но все же остается статистически значимо выше (134.5 см) длины тела при ваготоническом типе ИВТ (рис. 2).

При сравнении с контрольной группой было выявлено, что дети с ОВЗ имеют статистически значимые более низкие показатели длины тела при ваготонии и эйтонии (рис. 2). При симпатикотонии зафиксировано некоторое увеличение длины тела у детей с ОВЗ по сравнению с контрольной группой (хотя и на уровне тенденции) (рис. 2).

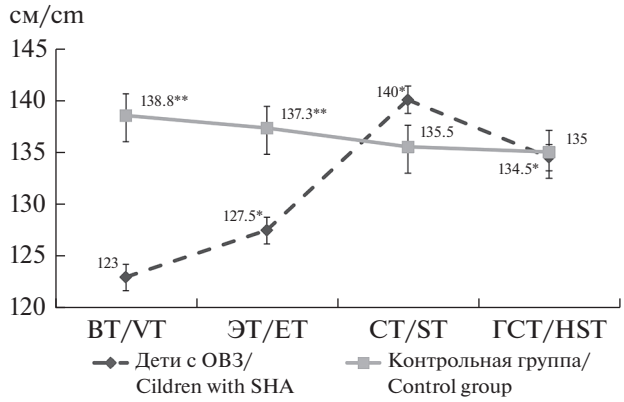

Рис. 2. Показатели длины тела в зависимости от исходного вегетативного тонуса в группе детей с особыми возможностями здоровья. ВТ – ваготония, ЭТ – эйтония, СТ – симпатикотония, ГСТ – гиперсимпатикотония.

* – статистическая значимость относительно ваготонии в группе детей с ОВЗ ($p < 0.05$); ** – статистическая значимость между группой детей с ОВЗ и контрольной группой ($p < 0.05$). Данные представлены в виде Me, P25–P75. $n = 54$.

Fig. 2. Indicators of body length depending on the initial autonomic tone in the group of children with special health abilities. VT – vagotonia, ET – eutonia, ST – sympathicotonia, HST – hypersympathicotonia.

* – statistical significance relative to vagotonia in a group of children with SHA ($p < 0.05$); ** – statistical significance between the group of children with SHA and the control group ($p < 0.05$). Data are presented as Me, P25–P75. $n = 54$.

При анализе показателя массы тела самое низкое значение данного параметра регистрируется при ваготоническом ИВТ (рис. 3). От ваготонии к симпатикотонии наблюдается увеличение массы тела. При гиперсимпатикотонии фиксируется некоторое снижение массы тела относительно симпатикотонии, хотя данный показатель остается статистически значимо выше по сравнению с группой ваготонии ($p < 0.05$) (рис. 3).

При сравнении с контрольной группой у детей с ОВЗ зафиксировано статистически значимый ($p < 0.05$) более низкий показатель массы тела при ваготонии (рис. 2), тогда как при симпатикотонии масса тела в группе детей с ОВЗ значительно выше по сравнению с контрольной группой ($p < 0.05$) (рис. 3).

Самые низкие показатели окружности грудной клетки, окружности головы и поперечного диаметра грудной клетки у детей с ОВЗ также установлены при ваготоническом типе ИВТ (рис. 4). Максимальные значения фиксируются у детей с симпатикотоническим типом исходного вегетативного тонуса (рис. 4).

В группе детей с ОВЗ зафиксированы статистически значимые более низкие показатели окружности головы при ваготонии и эйтонии по сравнению с контрольной группой (рис. 4 и 5). Также у детей с ОВЗ преобладают показатели окружности головы и поперечного диаметра грудной клетки при симпатикотонии по сравнению с контрольной группой (рис. 4 и 5). В контрольной группе не выявлено статистически значимых различий по показателям длины тела, массы тела, окружности грудной клетки и головы, поперечного диаметра грудной клетки в зависимости от исходного вегетативного тонуса.

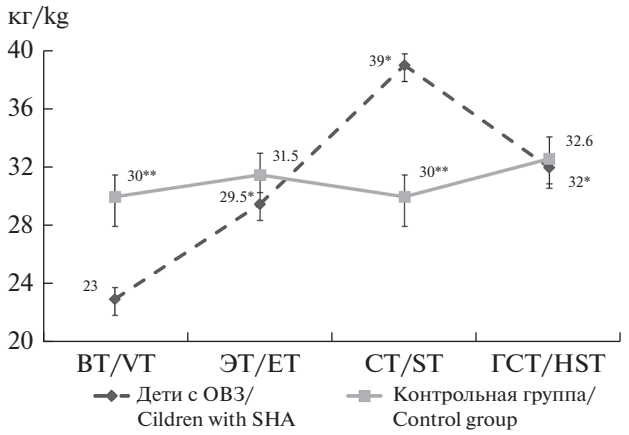

Рис. 3. Показатели массы тела в зависимости от исходного вегетативного тонуса в группе детей с особыми возможностями здоровья. ВТ – ваготония, ЭТ – эйтония, СТ – симпатикотония, ГСТ –гиперсимпатикотония.

*– статистическая значимость относительно ваготонии в группе детей с ОВЗ ($p < 0.05$); ** – статистическая значимость между группой детей с ОВЗ и контрольной группой ($p < 0.05$). Данные представлены в виде Me, P25–P75. $n = 54$.

Fig. 3. Body weight indicators depending on the initial autonomic tone in the group of children with special health abilities VT – vagotonia, ET – eutonia, ST – sympathicotonia, HST – hypersympathicotonia.

* – statistical significance relative to vagotonia in a group of children with SHA ($p < 0.05$); ** – statistical significance between the group of children with SHA and the control group ($p < 0.05$). Data are presented as Me, P25–P75. $n = 54$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенное исследование выявило, что значительный процент детей с ОВЗ имеют преимущественно симпатическую направленность ИВТ (симпатикотонический тип ИВТ = 33% и гиперсимпатикотонический тип ИВТ = 24%). И лишь у 26% детей с ОВЗ фиксируется сбалансированное состояние вегетативной нервной системы (эйтонический тип ИВТ).

В литературе представлены данные, что повышенный тонус симпатической системы и симпатическая настройка гипоталамических структур вызывают выраженное отрицательное влияние на обучение и персональную устойчивость к эмоциональному стрессу [19]. Параметры вариабельности сердечного ритма оцениваются как биологический маркер различных психоэмоциональных расстройств [20, 21]. Корковые области переднего мозга, лимбические и стволовые структуры участвуют в регуляции частоты сердечных сокращений [22–25].

Вегетативная нервная система, как и все системы организма, претерпевает значительные перестройки в процессе онтогенеза. Отмечено, что у детей первого года жизни фиксируется высокая активность симпатической нервной системы на фоне значительной централизации и напряжения механизмов регуляции [26, 27]. Становление регуляторных механизмов связано со снижением активности подкорковых структур и общей централизации вегетативной регуляции, что проявляется в снижении активности симпатического звена вегетативной нервной системы и постепенное нарастание парасимпатической модуляции на сердечный ритм [28]. К младшему школьному возрасту происходит относительная гармонизация регуляторных систем за счет усиления парасимпатических модуляций [29], со стабилизацией вегетативной регуляции к 15–16 годам [30]. Полученные нами данные от-

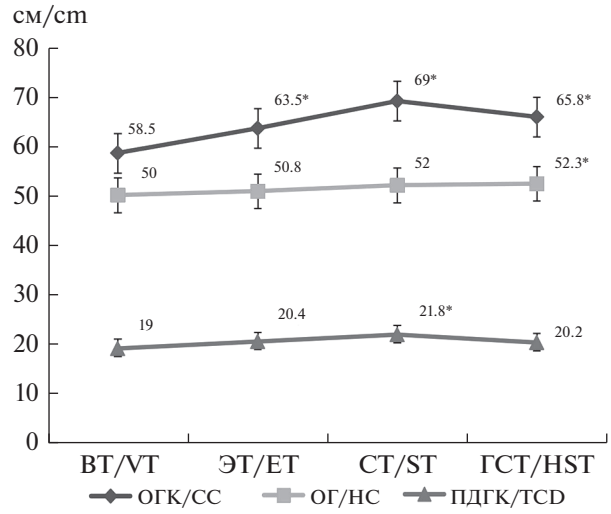

Рис. 4. Показатели окружности грудной клетки, окружности головы и поперечного диаметра грудной клетки в зависимости от исходного вегетативного тонуса в группе детей с особыми возможностями здоровья.

ВТ – ваготония, ЭТ – эйтония, СТ – симпатикотония, ГСТ –гиперсимпатикотония, ОГК – окружность грудной клетки, ОГ – окружность головы, ПДГК – поперечный диаметр грудной клетки.

* – статистическая значимость относительно ваготонии ($p < 0.05$). Данные представлены в виде Me, P25–P75. $n = 54$.

Fig. 4. Indicators of the circumference of the chest, head circumference and transverse diameter of the chest, depending on the initial autonomic tone in the group of children with special health abilities.

VT – vagotonia, ET – eutonia, ST – sympathicotonia, HST – hypersympathicotonia, CC – chest circumference, HC – head circumference, TCD – transverse chest diameter.

* statistical significance relative to vagotonia ($p < 0.05$). Data are presented as Me, P25–P75. $n = 54$.

носительно значительного процента эйтонического типа ИВТ у здоровых детей младшего школьного возраста (46%) соответствует данным литературы [26, 31]. В то же время при различных патологических состояниях центральной нервной системы фиксируется значительная активность симпатического звена вегетативной нервной системы [32, 33]. Выявленное в нашем исследовании превалирование симпатической модуляции у детей младшего школьного возраста с ОВЗ может быть связано с незавершенностью созревания вегетативных механизмов регуляции.

Установлено, что вегетативная нервная система тесно связана с показателями физического развития. При этом отмечено, что функциональные возможности и адаптационные резервы организма значительно варьируют в зависимости от состояния физического развития [34, 35]. У детей с ОВЗ наблюдается четко выраженная динамика антропометрических показателей в зависимости от исходного вегетативного тонуса. Так, минимальные значения длины и массы тела, окружностей груди и головы, а также поперечного диаметра грудной клетки фиксируются в группе детей с ваготоническим типом ИВТ ($p < 0.05$). Подобные закономерности в отношении длины тела у юношей-уроженцев Севера выявлены в работе Аверьяновой с соавт. [7].

Максимальные значения антропометрических параметров у детей с ОВЗ установлены в группе симпатикотоников ($p < 0.05$ относительно ваготонического типа ИВТ). Стоит отметить, что у детей с ОВЗ при гиперсимпатикотоническом типе

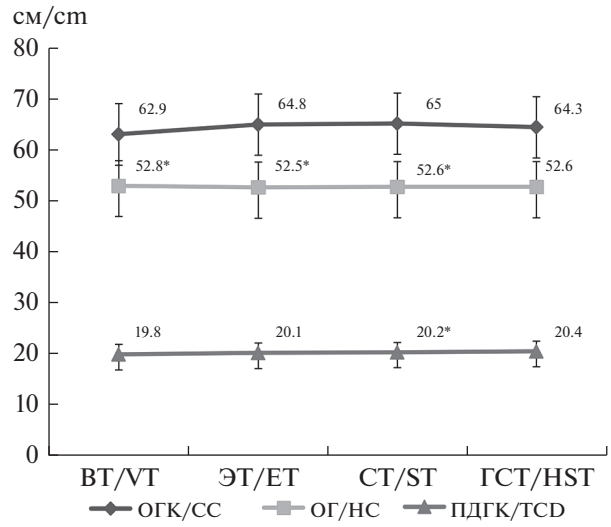

Рис. 5. Показатели окружности грудной клетки, головы и поперечного диаметра грудной клетки в зависимости от исходного вегетативного тонуса в контрольной группе.
ВТ – ваготония, ЭТ – эйтония, СТ – симпатикотония, ГСТ –гиперсимпатикотония, ОГК – окружность грудной клетки, ОГ – окружность головы, ПДГК – поперечный диаметр грудной клетки.
* – статистическая значимость относительно группы детей с ОВЗ ($p < 0.05$). Данные представлены в виде Me, P25–P75. $n = 114$.
Fig. 5. Indicators of the circumference of the chest, head circumference and transverse diameter of the chest, depending on the initial autonomic tone in the control group.
VT – vagotonia, ET – eutonia, ST – sympathicotonia, GST – hypersympathicotonia, OGK – chest circumference, OG – head circumference, PDHC – transverse chest diameter.
* statistical significance relative to the group of children with special health abilities ($p < 0.05$). Data are presented as Me, P25–P75. $n = 114$.

ИВТ фиксируется некоторое снижение антропометрических показателей относительно симпатикотонического типа ИВТ. Однако показатели в данной группе детей остаются выше, чем при ваготоническом и эйтоническом типе ИВТ. Можно предположить, что гиперреакция симпатического звена вегетативной нервной системы и, как следствие, значительное напряжение регуляторных систем у детей с ОВЗ при гиперсимпатикотоническом ИВТ оказывают подавляющее действие на формирование антропометрических характеристик.

Кроме того, у детей с ОВЗ фиксируются резкие отличия показателей физического развития по сравнению с контрольной группой. При этом в группе с ОВЗ при ваготоническом и эйтоническом типах ИВТ показатели длины тела, массы тела и окружности головы значительно снижены относительно контрольной группы, тогда как при симпатикотоническом типе ИВТ показатели массы тела, окружности грудной клетки и поперечного диаметра грудной клетки статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой.

Многочисленные исследования выявили значительную активность симпатического звена вегетативной нервной системы при ожирении и избыточной массе тела [36–38]. Причинно-следственные связи в настоящее время активно изучаются, одной из возможных причин называется регуляторная деятельность жировой ткани [39, 40]. В нашем исследовании мы изучали антропометрические параметры в зависимости от вегетативной регуляции. При этом были получены анало-

гичные результаты – статистически значимые более высокие антропометрические показатели при высокой активности симпатической регуляции. По-видимому, взаимодействия вегетативной нервной системы и показателей физического развития намного многообразнее, чем это представляется сейчас, и требуют дальнейшего изучения.

Отмечено, что сбалансированность активности вегетативных звеньев (наблюдаемое при эйтоническом типе ИВТ) отражает оптимальный уровень адаптационных реакций [41]. Превалирование парасимпатического или симпатического звена вегетативной нервной системы указывает на снижение адаптационно-приспособительных возможностей [42]. Учитывая, что параметры физического развития также отражают адаптационные реакции, выявленные нами средние значения антропометрических параметров у детей с ОВЗ при эйтоническом типе ИВТ вполне закономерны. В то же время при ваготоническом ИВТ выявлены резко сниженные, а при симпатическом типе ИВТ – значительно повышенные антропометрические параметры как внутри группы детей с ОВЗ, так и по сравнению с контролем. Выявленные особенности физического развития свидетельствуют о том, что эйтонический тип ИВТ является оптимальным с точки зрения формирования адаптационных механизмов.

Таким образом, нами установлен значительный процент детей с доминирующей активностью симпатического отдела вегетативной нервной системы в группе детей с ОВЗ, это свидетельствует о выраженном напряжении вегетативной регуляции и сниженных адаптационно-приспособительных возможностях. Также проведенное исследование свидетельствует о четко выраженной взаимосвязи вегетативной регуляции и антропометрических характеристик, на основании которой может быть подобрана индивидуальная коррекционная программа для детей с ОВЗ, связанными с отклонениями интеллектуального развития. Комбинированное воздействие коррекционной программы физического развития и соответствующего графика учебных занятий позволит улучшить согласованность работы вегетативной нервной системы и добиться оптимального уровня адаптационно-приспособительных возможностей у детей с ОВЗ.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена за счет средств, выделяемых для выполнения государственного задания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Логунова К.С.* Социальная абилитация детей с особыми возможностями здоровья в современных образовательных условиях. Вестник Курганск. гос. универ. 4(51): 105–107. 2018. [*Logunova K.S.* Social rehabilitation of children with special health needs in modern educational conditions. Vestnik Kurgansk. Gos. Univer. 4(51): 105–107. 2018. (In Russ)].
2. *Архипова Е.Ф.* Организация работы с детьми, имеющими особые образовательные потребности. Соврем. дошкольн. образов. 6 (58): 26–30. 2015. [*Arhipova E.F.* The organization of work with children with special educational needs. Sovremen. Doshkol'n. Obrazov. 6 (58): 26–30. 2015. (In Russ)].
3. *Сорокина К.А.* Гимнастика – как средство всестороннего физического развития детей с ограниченными возможностями здоровья. Вопр. педагогики. 3(1): 207–213. 2020 [*Sorokina K.A.* Gymnastics – as a means of comprehensive physical development of children with disabilities. Vopr. Pedagogiki. 3(1): 207–213. 2020. (In Russ)].
4. *Баевский Р.М., Берсенев Е.Ю., Орлов О.И., Ушаков И.*Б., *Черникова А.*Г. Проблема оценки адаптационных возможностей человека в авиакосмической физиологии. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 98(1): 95–107. 2012. [R.*M. Baevsky, E.Yu. Bersenev, O.I. Orlov, I.B. Ushakov, A.G. Chernikova*. The problem of estimation of the organism adaptable opportunities under stressful influences. Russ. J. Physiol. 98(1): 95–107. 2012. (In Russ)].

5. *Bharath R., Moodithaya S.S., Bhat S.U., Mirajkar A.M., Shetty S.B.* Comparison of physiological and biochemical autonomic indices in children with and without autism spectrum disorders. Medicina. (Kaunas). 55(7): 346–359. 2019.
6. *Криволапчук И.А., Герасимова А.А., Чернова М.Б., Мышьяков В.В.* Исходный вегетативный тонус у детей в начальный период адаптации к образовательной среде. Новые исследования. 2(51): 12–21. 2017. [*Krivolapchuk I.A., Gerasimova A.A., Chernova M.B., Myshyakov V.V.* The initial vegetative tone in children in the initial period of adaptation to the educational environment. Novye Issledovanija. 2(51): 12–21. 2017. (In Russ)].
7. *Аверьянова И.В., Максимова А.Л.* Особенности морфофункциональных профилей и межсистемных взаимосвязей у юношей-уроженцев Севера с различным типом вегетативной регуляции. Экология человека. 9: 21–29. 2016. [*Averyanova I.V., Maksimov A.L.* Peculiarities of morphofunctional profiles and intersystem relations observed in young male north-born residents with different types of vegetative regulation. Human Ecology. 9: 21–29. 2016. (In Russ)].
8. *Зайцева О.И., Терещенко В.П., Прахин Е.И., Эверт Л.С., Макарова Е.И., Бороздун С.В., Канский В.С.* Особенности структурно-функционального состояния мембран эритроцитов у школьников с различным исходным вегетативным тонусом. Сибирск. мед. журн. (Иркутск). 1: 80–82. 2006. [*Zaitseva O.I., Tereshchenko V.P., Prachin E.I., Evert L.S., Makarova M.V., Nyagashkina E.I., Borozdun S.V., Kanskiy V.S.* The features of the structural and functional condition of the membranes of the erythrocytes in the children with different initial vegetative tonus. Sibirsk. Med. Zhurn. (Irkutsk). 1: 80–82. 2006. (In Russ)].
9. *Taralov Z.Z., Terziyski K.V., Kostianev S.S.* Heart rate variability as a method for assessment of the autonomicnervous system and the adaptations to different physiological and pathological conditions. Folia Medica. 57(3): 173–180. 2015.
10. *Баранов А.А., Альбицкий В.Ю.* Состояние здоровья детей России, приоритеты его сохранения и укрепления. Казанск. мед. журн. 4: 698–705. 2018. [*Baranov A.A., Albitskiy V.Yu.* State of health of children in Russia, priorities of its preservation and improving. Kazan. Med. J. 4: 698–705. 2018. (In Russ)].
11. *Regecova V., Hamade J., Janechova H., Sevcíkova L.* Comparison of Slovak reference values for anthropometric parameters in children and adolescents with international growth standards: implications for the assessment of overweight and obesity. Croat Med. J. 6: 313–326. 2018.
12. *Овчаренко Е.С., Фефелова В.В.* Физическое развитие детей с нарушением двигательной активности. Бюл. Северн. гос. мед. универ. 1(32): 63–64. 2014. [*Ovcharenko E.S., Fefelova V.V.* Physical development of children with impaired motor activity. Bull. Severn. Gos. Med. Univer. 1(32): 63–64. 2014. (In Russ)].
13. *Порецкова Г.Ю., Гаврюшин М.Ю., Печкуров Д.В., Сазонова О.В.* Физическое развитие детей, имеющих хроническую патологию. Мед. альманах. 3(54): 45–47. 2018. [*Poretskova G.Yu., Gavryushin M.Yu., Pechkurov D.V., Sazonova O.V.* Physical development of children with chronic pathology. Med. Al'manah. 3(54): 45–47. 2018. (In Russ)].
14. *Redon P., Grassi G., Redon J., Alvarez-Pitti J., Lurbe E.* Identifying poor cardiorespiratory fitness in overweight and obese children and adolescents by using heart rate variability analysis under resting conditions. Blood Press. 1: 13–20. 2020.
15. *Макарова Л.В., Лукьянец Г.Н., Орлов К.В.* Особенности физического развития детей 10–11 лет. Новые исследования. 1(38): 31–39. 2014. [*Makarova L.V., Lukyanets G.N., Orlov K.V.* Features of the physical development of children 10–11 years old. Novye Issledovanija. 1(38): 31–39. 2014. (In Russ)].
16. *Литовченко О.Г., Саитова Э.Н.* Показатели вариабельности сердечного ритма у первоклассников города Сургута. Человек. Спорт. Медицина. 19(2): 14–19. 2019. [*Litovchenko O.G., Saitova E.N.* Indicators of heart rate variability in children from Surgut. Human. Sport. Medicine. 19(2): 14–19. 2019. (In Russ)].
17. *Баевский Р.М., Иванов Г.Г., Чирейкин Л.В., Гаврилушкин А.П., Довгалевский П.Я., Кукушкин Ю.А., Миронова Т.Ф., Прилуцкий Д.А., Семенов А.В., Федоров В.Ф., Флейшман А.Н., Медведев М.М.* Анализ вариабельности сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем (методические рекомендации). Вестник аритмологии. 24: 65–83. 2001. [*Baevskiy R.M., Ivanov GG, Chireykin L.V., Gavrilushkin A.P., Dovgalevskiy P.Ya., Kukushkin YuA, Mironova T.F., Prilutskiy DA, Semenov A.V., Fedorov V.F., Fleyshman A.N., Medvedev M.M.* Analiz variabel'nosti serdechnogo ritma pri ispol'zovanii razlichnykh elektrokardiograficheskikh sistem (metodicheskie rekomendatsii). Vestnik Ritmologii. 24: 65–83. 2001. (In Russ)].
18. Task force of the European society of cardiology and the North American society of pacing and electrophysiology. Heart rate variability. Standards of measurements, physiological interpretation, and clinical use. Circulation. 93: 1043–1065. 1996.
19. *Quas J.A., Yim I.S., Oberlander T.F., Nordstokke D., Essex M.J., Armstrong J.M., Bush N., Obradović J., Boyce W.T.* The symphonic structure of childhood stress reactivity: patterns of sympathetic, parasympathetic, and adrenocortical responses to psychological challenge. Dev. Psychopathol. 26(4): 963–982. 2014.

20. *Balzarotti S., Biassoni F., Colombo B., Ciceri M.R.* Cardiac vagal control as a marker of emotion regulation in healthy adults: a review. Biol. Psychol. 130: 54–66. 2017.
21. *Zhu J.P., Ji L.Z., Liu C.Y.* Heart rate variability monitoring for emotion and disorders of emotion. Physiol. Measurement. 40 (6): 064004. 2019.
22. *Байгужин П.А., Шибкова Д.З., Кудряшов А.А., Байгужина О.В.* Реактивность вегетативной нервной системы перципиентов в условиях воздействия невербальной информацией. Человек. Спорт. Медицина. 19 (S1): 83–93. 2019. [*Baiguzhin P.A., Shibkova D.Z., Kudryashov A.A., Baiguzhina O.V.* Reactivity of the vegetative nervous system influenced by nonverbal information. Human. Sport. Medicine. 19(S1): 83–93. 2019. (In Russ)].
23. *De la Cruz F., Schumann A., Kohler S., Reichenbach J.R., Wagner G., Bar K.J.* The relationship between heart rate and functional connectivity of brain regions involved in autonomic control. Neuroimage. 196: 318–328. 2019.
24. *Catrambone V., Greco A., Scilingo E.P., Valenza G.* Functional linear and nonlinear brain–heart interplay during emotional video elicitation: a maximum information coefficient study. Entropy. 21 (9): 892. 2019.
25. *Steiger B.K., Kegel L.C., Spirig E., Jokeit H.* Dynamics and diversity of heart rate responses to a disaster motion picture. Internat. J. Ppsychophysiol. 143: 64–79. 2019.
26. *Кушнир С.М., Стручкова И.В., Макарова И.И., Антонова Л.К.* Состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у здоровых детей в различные периоды детства. Научн. ведомости Белгородск. гос. универ. Серия: Естествен. науки. 3(122): 161–165. 2012. [*Kushnir S.M., Struchkova I.V., Makarova I.I., Antonova L.K.* The state of the autonomic regulation of heart rate in healthy children during various periods of childhood. Nauchn. vedomosti Belgorodsk. Gos. Univer. Serija: Estestven. Nauki. 3(122): 161–165. 2012. (In Russ)].
27. *Patural H., Pichot V., Flori S., Giraud A., Franco P., Pladys P., Beuchée A., Roche F., Barthelemy J.-C.* Autonomic maturation from birth to 2 years: normative values. Heliyon. 5(3): e01300. 2019.
28. *Eyre E.L., Duncan M.J., Birch S.L., Fisher J.P.* The influence of age and weight status on cardiac autonomic control in healthy children: a review. Auton Neurosci. 186: 8–21. 2014.
29. *Шарапов А.Н., Безобразова В.Н., Догадкина С.Д., Кмить Г.В., Рублева Л.В.* Функциональная характеристика кардио-васкулярной системы у младших школьников с различными типами вариабельности сердечного ритма. Новые исследования. 1(42): 38–49. 2015. [*Sharapov A.N., Bezobrazova V.N., Dogadkina S.D., Kmit G.V., Rubleva L.V.* Functional characteristics of the cardio-vascular system in primary school children with various types of heart rate variability. Novye Issledovanija. 1(42): 38–49. 2015. (In Russ)].
30. *Галеев А.Р., Игишева Л.Н., Казин Э.М.* Вариабельность сердечного ритма у здоровых детей в возрасте 6–16 лет. Физиология человека. 4: 54–58. 2002. [*Galeev A.R., Igisheva L.N. Kazin E.M.* Heart rate variability in healthy children aged 6–16 years. Human Physiology. 4: 54–58. 2002. (In Russ)].
31. *Эштрекова С.Г., Сабанчиева Л.А.* Автономный гомеостаз у детей младшего школьного возраста. Бюл. Восточно-Сибирск. научн. центра Сибирского. отделения Рос. акад. мед. наук. 3(55): 53–57. 2007. [*Eshtrekova S.G., Sabanchieva L.A.* Autonomous homeostasis in children of early school age. Bull. Vostochno-Sibirsk. Nauchn. Centra Sibirsk. Otdelenija Ross. Akad. Med. Nauk. 3(55): 53–57. 2007. (In Russ)].
32. *Карлов В.А., Гнездицкий В.В., Деряга И.Н., Глейзер М.А.* Эпилепсия и функциональная организация вегетативной нервной системы. Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 8: 4–9. 2013. [*Karlov V.A., Gnezditskiy V.V., Deryaga I.N., Gleizer M.A.* Epilepsy and the functional organization of the autonomic nervous system. Korsakov J. Neurol. Psychiatry. 8: 4–9. 2013. (In Russ)].
33. *Sekaninova N., Mestanik M., Mestanikova A., Hamrakova A., Tonhajzerova I.* Novel approach to evaluate central autonomic regulation in attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD). Physiol. Res. 68(4): 531–545. 2019.
34. *Грицинская В.Л., Галактионова М.Ю., Беляев С.В., Казакова О.В.* Индивидуально-типологический подход к оценке состояния здоровья дошкольников. Санитарный врач. 4: 13–14. 2011. [*Gritsinskaya V.L., Galaktionova M.Yu., Belyaev S.V., Kazakova O.V.* Individual-typological approach to assessing the health status of preschool children. Sanitarnyj Vrach. 4: 13–14. 2011. (In Russ)].
35. *Мищенко Н.В., Свинар Е.В., Макаров А.В.* Особенности физической адаптации первокурсниц вуза к условиям урбанизированной среды. Человек. Спорт. Медицина. 20 (1): 13–20. 2020. [*Mishchenko N.V., Svinar E.V., Makarov A.V.* Features of physical adaptation of first-year university students to an urbanized environment. Human. Sport. Medicine. 20 (1): 13–20. 2020. (In Russ)].
36. *Булычева Е.В., Сетко И.А.* Типология адаптивного ответа у учащихся с избыточной массой тела. Оренбургск. мед. вестник. 7 (1): 68–72. 2019. [*Bulycheva E.V., Setko I.A.* Typology of adaptive response in students with excessive body mass. Orenburgsk. Med. Vestnik. 7 (1): 68–72. 2019. (In Russ)].

37. *Jarrin D.S., Mcgrath J.J., Poirier P.* Autonomic dysfunction: a possible pathophysiological pathway underlying the association between sleep and obesity in children at-risk for obesity. J. Youth. Adolesc. 44(2): 285–297.
38. *Qi Z., Ding S.* Obesity-associated sympathetic overactivity in children and adolescents: the role of catecholamine resistance in lipid metabolism. J. Pediatr. Endocrinol. Metab. 29(2): 113–125. 2016
39. *Пашенцева А.В.* Роль симпатоадреналовой системы и адипокинов в развитии артериальной гипертензии при сахарном диабете 2 типа и ожирении. Ожирение и метаболизм. 1: 14–18. 2012. [*Pashentseva A.V.* The role of the sympathoadrenal system and adipokines in the development of arterial hypertension in type 2 diabetes mellitus and obesity. Obesity and Metabolism. 1: 14–18. 2012. (In Russ)].
40. *Lambert E.A., Straznicky N.E, Dixon J.B., Lambert G.W.* Should the sympathetic nervous system be a target to improve cardiometabolic risk in obesity. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 309(2): 244–258. 2015.
41. *Лоскутова А.Н., Максимов А.Л.* Влияние ортостатической пробы на перестройки вариабельности кардиоритма у аборигенов Магаданской области. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 100 (9): 1098–1112. 2014. [*Loskutova A.N., Maximov A.L.* The influence of orthostatic test on changes of the heart rate variability observed in aboriginals of magadan region. Russ. J. Physiol. 100 (9): 1098–1112. 2014. (In Russ)].
42. *Московченко О.Н., Захарова Л.В., Третьякова Н.В., Люлина Н.В., Катцин О.А., Саволайнен Г.С.* Использование аппаратно-программного комплекса для индивидуализации физкультурно-оздоровительной и спортивной деятельности студентов. Наука и образование. 21 (1): 124–149. 2019. [*Moskovchenko O.N., Zakharova L.V., Tretyakova N.V., Lyulina N.V., Kattsin O.A., Savolaynen G.S.* Application of hardware and software complex for individualisation of students' sport and recreational physical activities. The Education and Science J. 21 (1): 124–149. 2019. (In Russ)].

Parameters of Physical Development of Children with Special Health Possibilities with Various Types of Initial Vegetative Tonus

O. V. Smirnova[a], *, E. S. Ovcharenko[a], E. V. Kasparov[a], and V. V. Fefelova[a]

[a] *Scientific Research Institute for Medical Problems of the North SD RAS, Krasnoyarsk, Russia*
**e-mail:ovsmirnova71@mail.ru*

At present, the deterioration in the health status of children is a priority public health problem. Special (limited) health abilities are understood as insufficiency of physical and/or mental development, which, among other things, negatively affects the adaptive and adaptive abilities of the body of children. The study of physical development coupled with indicators of autonomic regulation allows us to evaluate the general biological development of the body and adaptive mechanisms. The aim of the study was to analyze the state of physical development in children with special health abilities associated with impaired intellectual development, depending on the initial type of autonomic regulation. 168 children of primary school age were examined. Of these, 54 are children with special health abilities (SHA) associated with intellectual disabilities (F70, F71), and 114 mentally healthy children as control group. It was found that in children with disabilities, sympathicotonic (33%) and hypersympathicotonic (24%) types of initial tone dominate. At the same time, the number of children with an eutonic type of IVT in the group with SHA is 2 times lower (26%) compared with the control group (47%). In the analysis of physical development, depending on the initial vegetative tone in children with SHA, the minimum values of anthropometric parameters were established with vagotonia. As sympathetic modulations increase, an increase in all anthropometric indicators is recorded. Also, in the group of children with SHA, the lag of anthropometric parameters in vagotonia and the predominance of the sympathicotonic type of IVT compared with the control group were revealed. Identified features can be taken into account when selecting an individual correctional program for children with special health abilities associated with intellectual developmental disorders.

Keywords: autonomic regulation, primary schoolchildren, special health abilities, mental retardation, anthropometric parameters, initial vegetative tone

ЦИТИРОВАТЬ:

Смирнова О.В., Овчаренко Е.С., Каспаров Э.В., Фефелова В.В. Параметры физического развития детей с особыми возможностями здоровья с различными типами исходного вегетативного тонуса. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 107(1): 85–97. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010088

TO CITE THIS ARTICLE:

Smirnova O.V., Ovcharenko E.S., Kasparov E.V., Fefelova V.V. Parameters of physical development of children with special health possibilities with various types of initial vegetative tonus. Russian Journal of Physiology. 107(1): 85–97. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010088

РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2021, том 107, № 1, с. 98–118

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

СОДЕРЖАНИЕ МОНОАМИНОВ В СИММЕТРИЧНЫХ ЗОНАХ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ИЗМЕНЕНИИ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА

© 2021 г. С. Н. Прошин[1, *], И. В. Карпова[2], Р. И. Глушаков[3], Е. Р. Бычков[2], П. Д. Шабанов[2]

[1]Медицинский университет РЕАВИЗ, Санкт-Петербург, Россия

[2]Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

[3]Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

**E-mail: psnjsn@rambler.ru*

Поступила в редакцию 05.06.2020 г.
После доработки 08.11.2020 г.
Принята к публикации 07.12.2020 г.

У самцов мышей линии С3Н-А исследовали влияние длительного (44 нед.) тироксинового гипер- и пропилтиоурацилового гипотиреоза на гормональный статус и содержание моноаминов и их метаболитов в симметричных зонах переднего мозга. Уровень гормонов в сыворотке крови определяли методами энзим-связанного иммуносорбентного анализа, а содержание моноаминов и их метаболитов в головном мозге – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Экспериментальный гипер- и гипотиреоз не вызывал противоположных изменений содержания моноаминов. Так, при любом изменении тиреоидного статуса в гиппокампе и обонятельном бугорке возрастал уровень серотонина. При этом содержание норадреналина в стриатуме снижалось, а в обонятельном бугорке – повышалось. Уровень дофамина в стриатуме и в обонятельном бугорке у животных обеих экспериментальных групп возрастал, однако у гипотиреоидных мышей данный эффект наблюдался билатерально, а у гипертиреоидных – унилатерально: только в левом стриатуме и правом обонятельном бугорке. Кроме этих изменений, при экспериментальном гипертиреозе происходило снижение уровня дофамина в коре больших полушарий, а при гипотиреозе – повышение содержания серотонина в правом стриатуме и коре правого полушария. Большинство параметров моноаминергических систем коррелировало не с содержанием тироксина, а с уровнями тиреотропина и пролактина в крови. При этом корреляций между содержанием тиреотропина и пролактина с уровнем тироксина выявлено не было, хотя содержание тиреотропина и пролактина коррелировало между собой. Можно предположить, что ведущую роль в механизмах влияния длительного изменения тиреоидного статуса на моноаминергические системы головного мозга играет не тироксин, а тиреотропный гормон.

Ключевые слова: мыши линии С3Н-А, экспериментальный гипер- и гипотиреоз, моноамины

DOI: 10.31857/S0869813921010118

Тиреоидные гормоны являются единственными из известных на сегодняшний день биологически активных веществ, содержащих йод [1, 2]. В организме взрослых млекопитающих они осуществляют регуляцию метаболизма, действуя почти на все органы и ткани [3]. Ведущая роль в механизмах регуляции секреции тирео-

идных гормонов принадлежит таницитам, которые выстилают дно третьего желудочка головного мозга и посылают свои длинные проекции в гипоталамус [4]. Уровень тиреоидных гормонов регулируется гипоталамо-гипофизарной системой с участием механизмов отрицательной обратной связи [5]. Особенностью этой регуляции является то, что гипоталамические нейроны, выделяющие тиреолиберин, экспрессируют мембранные рецепторы, чувствительные к тироксину (T_4). При действии на эти рецепторы, секреция тиреолиберина угнетается [6]. Однако на периферические органы тиреоидные гормоны действуют в основном через внутриклеточные рецепторы, влияющие на экспрессию тех или иных генов. Внутриклеточные рецепторы более чувствительны к другой форме гормона – трийодтиронину (T_3), который образуется из T_4 с участием фермента дейодиназы [2].

Таким образом, если одна форма гормона (T_3) необходима для его периферических эффектов, то другая (T_4) – важна для реализации эффектов отрицательной обратной связи [1].

Широкое распространение заболеваний щитовидной железы приводит к частым назначениям фармакологических препаратов, направленных на изменение тиреоидного статуса. При этом основной целью терапии является нормализация уровня гормонов в периферической крови. При гипотиреозе наиболее часто используемым препаратом является L-тироксин, который в организме пациента постепенно преобразуется в активную форму гормона (T_3). При гипертиреозе часто применяется его антагонист – пропилтиоурацил (ПТУ), ингибирующий дейодиназу и тем самым снижающий интенсивность перехода T_4 в T_3, а следовательно, избыточный эффект тиреоидных гормонов [7].

Как гипотиреоз, так и избыточный синтез тиреоидных гормонов являются состояниями, которые могут привести к нарушению психики, включая расстройства мышления, изменения личности, неврозы и психозы. В клинической практике регистрация начала дисфункции щитовидной железы зачастую совпадает с развитием депрессии. Анализ клинических наблюдений и экспериментальных исследований, выполненных при использовании разных методов и моделей, подтверждает положение о том, что изменение тиреоидного статуса и развитие депрессии взаимосвязано между собой [8]. Согласно современным представлениям, в основе патогенеза развития депрессий лежит дисфункция центральных моноаминергических систем [9]. Известно, что дисбаланс тиреоидных гормонов влияет на моноаминергические системы. Так, например, перинатально или неонатально вызванный гипотиреоидизм снижает активность моноаминоксидазы (МАО) в целом головном мозге, но не влияет на активность МАО в отдельно взятых участках мозга [10]. Ранее предпринимались попытки оценить реакцию нейромедиаторных систем ЦНС на острое изменение уровня тиреоидных гормонов [11]. Однако вопрос о реакции моноаминергических систем на длительное медикаментозное изменение тиреоидного статуса остается открытым.

В связи с этим на самцах мышей линии С3Н-А мы предприняли исследование влияния длительно измененного тиреоидного статуса на уровень моноаминов в различных структурах переднего мозга.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на 19 самцах мышей линии С3Н-А массой 27–31 г, выращенных в питомнике Рапполово (Ленинградская область). В начале исследования возраст лабораторных животных составлял 40 ± 10 сут, масса – 20–22 г. После получения из питомника до начала эксперимента животные проходили 18-суточный акклиматизационный период, на протяжении которого дважды в день оценивали

поведение и общее состояние каждого животного. Эксперимент проводили в течение 44 недель по методике, предложенной ранее [12]. Перед началом исследования животные были распределены случайным образом по трем клеткам, соответствующим экспериментальным группам: первая – эутиреоидная, или контрольная (10 мышей), вторая – гипертиреоидная (5 мышей) и третья – гипотиреоидная (4 мыши). Клетки с животными были размещены в одной комнате. Температура воздуха в помещении составляла 19–22°C, относительная влажность – 50–70%. Температуру и влажность воздуха регистрировали ежедневно. На протяжении эксперимента мыши содержались на стандартном пищевом рационе. Это исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями этического комитета Института экспериментальной медицины.

Мыши первой (эутиреоидной) группы не получали препаратов, изменяющих тиреоидный статус, и служили контролем.

На лабораторных животных второй группы воспроизведена модель экспериментального гипертиреоза посредством хронического внутрибрюшинного введения L-тироксина (РУП Белмедпрепараты, Минск, Республика Беларусь) в дозе 200 мкг на 100 г массы тела. Необходимое количество L-тироксина (T_4) разводили в 0.2 мл физиологического раствора и вводили через день на протяжении всего эксперимента (44 нед.). В дни введения препарата для расчета его дозы животных взвешивали на электронных весах ВЛР-500 (Россия) с пределом взвешивания 200 г и точностью ±0.1 г.

На лабораторных животных третьей (гипотиреоидной) группы воспроизведена модель экспериментального пропилтиоурацилового гипотиреоза путем замены воды в автопоилке на 0.5%-ный раствор пропилтиоурацила (Merck, Дармштадт, Германия). Количество выпитого раствора контролировали путем регулярного взвешивания автопоилки. Таким образом, в среднем каждое животное получало примерно 1.9–2.2 мг ПТУ на 100 г массы тела в сутки. Животные первой (контрольной, эутиреоидной) и второй (гипертиреоидной) группы получали чистую воду из автопоилок *ad libitum*.

Для корректности эксперимента лабораторным животным первой и третьей групп на протяжении всего эксперимента внутрибрюшинно вводили 0.2 мл физиологического раствора в том же режиме, что и мышам второй группы.

По окончании эксперимента (44 нед. хронического фармакологического воздействия) мышей декапитировали, собирали кровь и извлекали головной мозг.

Пробы крови отстаивали при комнатной температуре около двух часов, а затем для уплотнения сгустка центрифугировали при 1000 *g* в течение 10 мин при 10°C. Очищенную сыворотку делили на три порции (по количеству веществ, подлежащих определению) и хранили при −70°C до последующего анализа. Содержание T_4, ТТГ и пролактина (ПЛ) в сыворотке крови определяли методами энзим-связанного иммуносорбентного анализа, для чего использовали стандартные наборы реактивов: ТироидИФА-тироксин, ТироидИФА-ТТГ и ИФА-пролактин (ООО Алкор Био, Санкт-Петербург, Россия) [13]. Из правой и левой половин мозга на льду выделяли определенные морфологические структуры, взвешивали на торсионных весах и помещали в 0.1 М раствор соляной кислоты: стриатум – в 50 мкл, гиппокамп и обонятельный бугорок – в 100 мкл, кору больших полушарий – в 150 мкл. Пробы гомогенизировали с помощью механического гомогенизатора-блендера (10000 об./мин), центрифугировали в течение 10 мин при 15000 *g*. Надосадочную жидкость собирали в пробирки и хранили до анализа при –90°C. Содержание норадреналина (НА), дофамина (ДА), серотонина (5-ГТ) и их метаболитов – диоксифенилуксусной (ДОФУК), гомованилиновой (ГВК) и 5-гидроксииндолуксусной (5-ГИУК) кислот определяли методом обращеннофазной высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе Beckman Coulter (США) с электрохи-

мическим детектором LC-4C BAS (США). Хроматографическая система включала инжектор Rheodyne 7125 с петлей на 20 мкл для нанесения образцов и колонку 250.0 × 4.6 мм с сорбентом Sphere Clone 5 u ODS(2) (Phenomenex, США). Определение концентраций исследуемых веществ проводили при потенциале +0.70 В. Подвижная фаза включала 5.5 мМ цитратно-фосфатного буфера с 0.7 мМ октансульфоновой кислоты, 0.5 мМ ЭДТА и 8% ацетонитрила (pH 3.0). Скорость элюции подвижной фазы составляла 1 мл/мин, время анализа одной пробы – около 20 мин.

Полученные результаты обрабатывали методами непараметрической статистики с применением стандартного статистического пакета GraphPad PRISM 6.0. Достоверность различий между группами оценивали по критерию Манна–Уитни. Для сравнения данных, полученных от одноименных структур левой и правой сторон мозга, применяли парный критерий Вилкоксона (в группе эутиреоидных мышей) или параметрический парный критерий Стьюдента (в группах гипер- и гипотиреоидных мышей). Взаимодействия между измеренными параметрами оценивали путем расчета коэффициентов корреляции Спирмена. Статистически значимыми считали корреляции с $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты сравнения уровней гормонов у контрольных мышей и животных с экспериментально измененным тиреоидным статусам представлены на рис. 1–3. Сравнение уровней T_4 у трех групп животных подтвердило адекватность примененной физиологической модели: у мышей, хронически получавших L-тироксин, уровень соответствующего гормона был наибольшим, а у получавших ПТУ – наименьшим, причем различия между группами были достоверны на 95%-ном уровне значимости (рис. 1).

Вместе с тем, содержание ТТГ достоверно снижалось только у гипотиреоидных мышей ($p < 0.05$), в то время как у гипертиреоидных была отмечена только соответствующая тенденция ($p = 0.0727$, рис. 2).Снижение уровня этого гормона у гипертиреоидных животных (получавших T_4) было вполне предсказуемо, т.к. известно, что тироксин тормозит выработку ТТГ по механизму отрицательной обратной связи. Падение уровня ТТГ у животных с экспериментальным гипотиреозом на первый взгляд кажется неожиданным. Однако известно, что в основе механизма действия ПТУ лежит его способность блокировать дейодиназу – фермент, катализирующий переход T_4 в его активную форму – T_3 [1, 2]. Поэтому, возможно, у животных, получавших этот препарат, периферическое действие тиреоидных гормонов (которое, в основном, осуществляется за счет T_3) было ослаблено, а регуляторное влияние на аденогипофиз (которое во многом осуществляется за счет T_4) оставалось достаточно выраженным. Тот факт, что у мышей этой группы уровень T_4 был также снижен (см. рис. 1), позволяет предположить, что для успешного ингибирования выброса ТТГ важно не столько высокое содержание T_4, сколько определенное соотношение между уровнями T_4 и T_3.

Экспериментальное изменение тиреоидного статуса оказывало аналогичное влияние на содержание ПЛ: уровень этого гормона снижался у мышей обеих экспериментальных групп ($p < 0.05$, рис. 3).

Сходные закономерности, полученные при изучении влияния измененного тиреоидного статуса на содержание двух гипоталамических гормонов (ТТГ и ПЛ) подтверждаются данными корреляционного анализа. Была обнаружена значимая положительная корреляция ($r = 0.729$; $p = 0.001$) между уровнями этих гормонов.

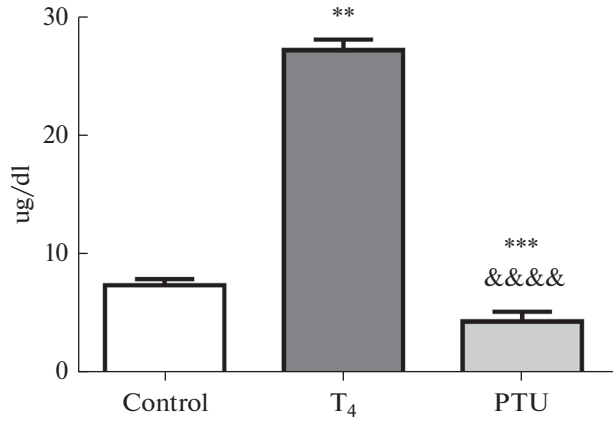

Рис. 1. Уровень тироксина в крови у самцов мышей линии С3Н-А.

Control – контрольные (эутиреоидные, $n = 10$), T_4 – получавшие тироксин (гипертиреоидные, $n = 5$), PTU – получавшие пропилтиоурацил (гипотиреоидные, $n = 4$).

** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$, достоверные отличия от соответствующего показателя той же стороны мозга у животных контрольной группы (отличия от контроля); &&&& – $p < 0.0001$, достоверные различия между соответствующими показателями той же стороны мозга у животных разных экспериментальных групп (отличия от группы, получавших T_4).

Fig. 1. The level of T_4 in blood in C3H-A male mice.

Control – control (euthyroid group, $n = 10$), T_4 – treated with thyroxine (hyperthyroid group, $n = 5$), PTU – treated with propylthiouracil (hypothyroid group, $n = 4$).

** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$, significant differences from the corresponding values in animals of the control group, the difference from the control; &&&& – $p < 0.0001$, significant differences between similar values of the same side of the brain in animals of different experimental groups. The difference from the group treated with T_4.

Результаты исследования содержания моноаминов и их метаболитов в тех структурах переднего мозга, где были отмечены достоверные различия между группами, представлены в табл. 1–4.

В коре больших полушарий различий по содержанию НА в симметричных структурах выявлено не было. Содержание ДА отличалось от контроля только у гипертиреоидных мышей: уровень этого медиатора был ниже, чем у эутиреоидных в коре как левого ($p < 0.05$), так и правого полушария ($p < 0.01$), что сопровождалось правосторонним снижением ДОФУК, возрастанием соотношения ДОФУК/ДА и появлением левосторонней асимметрии по этому показателю ($p < 0.05$, табл. 1). У гипотиреоидных животных уровень ДОФУК достоверно снижался только в коре левого полушария ($p < 0.01$, табл. 1). Содержание 5-ГТ в коре правого полушария у гипотиреоидных мышей было выше, чем аналогичный показатель контрольной группы ($p < 0.05$), при этом соотношение ГИУК/СЕР в коре снижалось билатерально ($p < 0.05$ – слева и $p < 0.01$ – справа, табл. 1).

Как хронический гипер-, так и хронический гипотиреоз сопровождались значительным угнетением ДА-ергической системы гиппокампа: содержание ДА у животных с измененным тиреоидным статусом оказывалось ниже предела обнаружения детектора (в табл. не показано), а уровень его метаболита – ДОФУК в гиппокампе у животных обеих экспериментальных групп был ниже, чем у мышей контрольной группы (табл. 2). Содержание 5-ГТ в гиппокампе у животных обеих

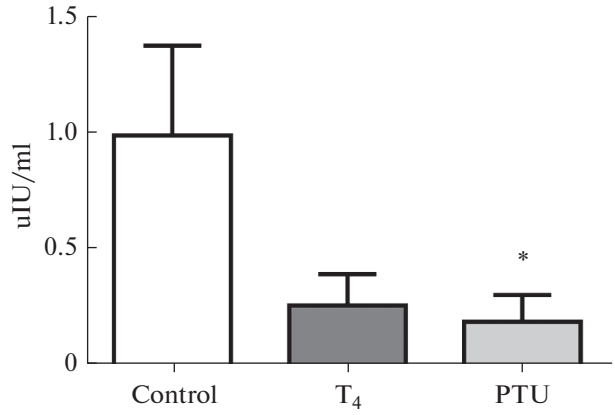

Рис. 2. Уровень ТТГ в крови у самцов мышей линии C3H-A.

Control – контрольные (эутиреоидные, $n = 10$), T_4 – получавшие тироксин (гипертиреоидные, $n = 5$), PTU – получавшие пропилтиоурацил (гипотиреоидные, $n = 4$).

* – $p < 0.05$, достоверные отличия от соответствующего показателя у животных контрольной группы (отличия от контроля).

Fig. 2. The level of TSH in blood in C3H-A male mice.

Control – control (euthyroid group, $n = 10$), T_4 – treated with thyroxine (hyperthyroid group, $n = 5$), PTU – treated with propylthiouracil (hypothyroid group, $n = 4$).

* – $p < 0.05$, significant differences from the corresponding values in animals of the control group, the difference from the control.

экспериментальных групп оказывалось выше, чем у эутиреоидных, а уровень 5-ГИУК (метаболита 5-ГТ) был повышен только у мышей гипертиреоидной группы (табл. 2). Соотношение 5-ГИУК/5-ГТ у гипертиреоидных мышей значимо снижалось только в правом гиппокампе, а у гипотиреоидных – билатерально.

В обонятельном бугорке у мышей эутиреоидной группы была отмечена асимметрия с преобладанием НА справа ($p < 0.01$). У животных обеих экспериментальных групп уровень этого медиатора был выше, чем у эутиреоидных мышей, причем у гипертиреоидных мышей содержание НА становилось симметричным, а у гипотиреоидных – сохранялась асимметрия, характерная для контрольных животных ($p < 0.05$, табл. 3). Содержание ДА в обонятельном бугорке при изменении тиреоидного статуса повышалось, причем при гипертиреозе – только справа (что приводило к возникновению асимметрии), а при гипотиреозе – билатерально (табл. 3). Уровень метаболитов ДА в обонятельном бугорке у животных обеих экспериментальных групп также возрастал, причем содержание ДОФУК у гипертиреоидных мышей повышалось только справа, а ГВК – только слева (табл. 3). Соотношение ДОФУК/ДА в левом обонятельном бугорке у гипотиреоидных животных было значимо ниже, чем у гипертиреоидных ($p < 0.01$), хотя от данного показателя у контрольной группы не отличалось, при этом у гипотиреоидных мышей соотношение ДОФУК/ДА в правом обонятельном бугорке оказывалось выше, чем в левом (табл. 3). Содержание 5-ГТ и его метаболита – 5-ГИУК билатерально повышалось у животных обеих экспериментальных групп (табл. 3). Уровень 5-ГИУК у гипертиреоидных мышей оставался симметричным, а у гипотиреоидных – возникала правосторонняя асимметрия по данному показателю ($p < 0.05$, табл. 3).

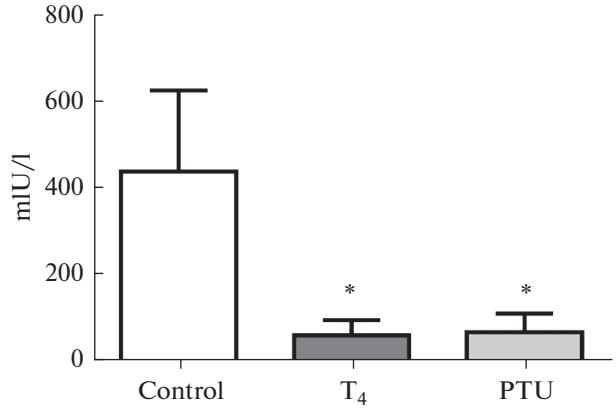

Рис. 3. Уровень пролактина в крови у самцов мышей линии C3H-A.

Control – контрольные (эутиреоидные, $n = 10$), T_4 – получавшие тироксин (гипертиреоидные, $n = 5$), PTU – получавшие пропилтиоурацил (гипотиреоидные, $n = 4$).

* – $p < 0.05$, достоверные отличия от соответствующего показателя у животных контрольной группы (отличия от контроля).

Fig. 3. The level of prolactin in blood in C3H-A male mice.

Control – control (euthyroid group, $n = 10$), T_4 – treated with thyroxine (hyperthyroid group, $n = 5$), PTU – treated with propylthiouracil (hypothyroid group, $n = 4$).

* – $p < 0.05$, significant differences from the corresponding values in animals of the control group, the difference from the control.

Соотношение 5-ГИУК/5-ГТ у гипертиреоидных мышей снижалось только в правом обонятельном бугорке, а у гипотиреоидных – билатерально (табл. 3).

В стриатуме как у гипер-, так и у гипотиреоидных животных было отмечено билатеральное снижение содержания НА по сравнению с контролем (табл. 4). Содержание ДА в стриатуме у мышей обеих экспериментальных групп повышалось, однако статистически достоверно – только при гипотиреозе (табл. 4). Уровень ДОФУК у животных обеих экспериментальных групп был повышен в правом стриатуме. При этом показатель внутриклеточного обмена ДА (ДОФУК/ДА) у гипертиреоидных мышей оставался неизменным, в то время как у гипотиреоидных – снижался ($p < 0.001$, табл. 4). Животные гипотиреоидной группы также характеризовались билатеральным снижением соотношения ГВК/ДА – косвенного показателя интенсивности выброса ДА ($p < 0.01$ – слева и $p < 0.001$ – справа, табл. 4). Содержание 5-ГТ в стриатуме у гипертиреоидных мышей не менялось, а у гипотиреоидных – увеличивалось только в правом стриатуме, становясь выше, чем у животных как контрольной ($p < 0.01$), так и гипотиреоидной ($p < 0.05$) группы (табл. 4). Содержание 5-ГИУК (метаболита 5-ГТ) в правом стриатуме у эутиреоидных мышей было выше, чем в левом ($p < 0.05$), при этом как при гипер-, так и при гипотиреозе этот показатель в левом стриатуме достоверно возрастал ($p < 0.001$ и $p < 0.01$ соответственно), и асимметрия исчезала. В результате описанных изменений соотношение 5-ГИУК/5-ГТ в правом стриатуме у гипотиреоидных мышей оказывалось ниже, чем у контрольных и гипертиреоидных животных ($p < 0.05$, табл. 4). Таким образом, индуцированный гипотиреоз оказывал более сильное влияние на содержание моноаминов в стриатуме, чем индуцированный гипертиреоз.

Таблица 1. Содержание моноаминов и их метаболитов в коре больших полушарий при длительном экспериментальном изменении тиреоидного статуса у самцов мышей линии С3Н-А
Table 1. The contents of monoamines and their metabolites in the cerebral cortex after a long-term experimental change in thyroid status in male C3H-A mice

	Контроль Control ($n = 10$)		T_4 ($n = 5$)		ПТУ PTU ($n = 4$)	
	левая сторона left hemisphere	правая сторона right hemisphere	левая сторона left hemisphere	правая сторона right hemisphere	левая сторона left hemisphere	правая сторона right hemisphere
НА (нг/мг ткани) NA (ng/mg of tissue)	0.16 ± 0.03	0.12 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.13 ± 0.03	0.17 ± 0.03	0.16 ± 0.03
ДА (нг/мг ткани) DA (ng/mg of tissue)	0.26 ± 0.06	0.18 ± 0.02	0.03 ± 0.01*	0.03 ± 0.01**	0.23 ± 0.08	0.11 ± 0.05
ДОФУК (нг/мг ткани) DOPAC (ng/mg of tissue)	0.29 ± 0.04	0.25 ± 0.04	0.21 ± 0.03	0.11 ± 0.02*##	0.11 ± 0.03 **&	0.11 ± 0.07
ДОФУК/ДА (усл. ед.) DOPAC/DA (arb. unit)	1.12 ± 0.10	1.35 ± 0.09	6.92 ± 2.93*	3.83 ± 1.04*#	1.16 ± 0.33	1.31 ± 0.55
5-ГТ (нг/мг ткани) 5-HT (ng/mg of tissue)	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.18 ± 0.02*	0.14 ± 0.02
5-ГИУК (нг/мг ткани) 5-HIAA (ng/mg of tissue)	0.27 ± 0.03	0.27 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.02	0.24 ± 0.01&	0.22 ± 0.01&
5-ГИУК/5-ГТ (усл. ед.) 5-HIAA/5-HT (arb. unit)	3.38 ± 0.50	3.52 ± 0.36	3.38 ± 0.51	4.33 ± 0.85	1.44 ± 0.24*&	1.62 ± 0.17**

##$p < 0.01$ – достоверные различия между аналогичными показателями левой и правой сторон мозга (асимметрия), оцененные по парному *t*-критерию Стьюдента. *$p < 0.05$; **$p < 0.01$ – достоверные отличия от соответствующего показателя той же стороны мозга у животных контрольной группы (отличия от контроля); &$p < 0.05$ – достоверные различия между показателями той же стороны мозга у животных разных экспериментальных групп (отличия от группы, получавших T_4), оцененные по непарному критерию Манна–Уитни.
##$p < 0.01$ – significant differences between the corresponding values of the left and right sides of the brain (asymmetry), estimated by the Student's paired *t*-test. *$p < 0.05$; **$p < 0.01$ – significant differences from the corresponding value of the same side of the brain in animals of the control group (differences from the control); &$p < 0.05$ – significant differences between values of the same side of the brain measured in animals of different experimental groups (differences from the group of mice treated with T_4), evaluated by the unpaired Mann–Whitney criterion.

Таблица 2. Содержание моноаминов и их метаболитов в гиппокампе при длительном экспериментальном изменении тиреоидного статуса у самцов мышей линии С3Н-А
Table 2. The contents of monoamines and their metabolites in the hippocampus with a long-term experimental change in thyroid status in male C3H-A mice

	Контроль Control ($n = 10$)		T_4 ($n = 5$)		ПТУ PTU ($n = 4$)	
	левая сторона left hemisphere	правая сторона right hemisphere	левая сторона left hemisphere	правая сторона right hemisphere	левая сторона left hemisphere	правая сторона right hemisphere
НА (нг/мг ткани) NA (ng/mg of tissue)	0.53 ± 0.04	0.56 ± 0.06	0.49 ± 0.04	0.45 ± 0.06	0.32 ± 0.10	0.38 ± 0.14
ДОФУК (нг/мг ткани) DOPAC (ng/mg of tissue)	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.04	0.03 ± 0.03 *	0.02 ± 0.01 ***	0.05 ± 0.03 *	0.03 ± 0.02 *
5-ГТ (нг/мг ткани) 5-HT (ng/mg of tissue)	0.25 ± 0.02	0.26 ± 0.03	0.55 ± 0.05 ***	0.57 ± 0.03 ***	0.43 ± 0.07 **	0.52 ± 0.10 *
5-ГИУК (нг/мг ткани) 5-HIAA (ng/mg of tissue)	0.40 ± 0.03	0.43 ± 0.03	0.81 ± 0.07 ***	0.70 ± 0.07 ***	0.40 ± 0.11 &	0.47 ± 0.14
5-ГИУК/5-ГТ (усл. ед.) 5-HIAA /5-HT (arb. unit)	1.59 ± 0.08	1.69 ± 0.07	1.53 ± 0.21	1.22 ± 0.11 **	0.93 ± 0.22 *	0.85 ± 0.11 *** &

*$p < 0.05$; **$p < 0.01$; ***$p < 0.001$ – достоверные отличия от соответствующего показателя той же стороны мозга у животных контрольной группы (отличия от контроля); &$p < 0.05$ – достоверные различия между показателями той же стороны мозга у животных разных экспериментальных групп (отличия от группы, получавших T_4), оцененные по непарному критерию Манна–Уитни.
*$p < 0.05$; **$p < 0.01$; ***$p < 0.001$ significant differences from the corresponding value of the same part of the brain in animals of the control group (difference from control); &$p < 0.05$ – significant differences between values of the same side of the brain measured in animals of different experimental groups (differences from the group of mice treated with T_4), evaluated by unpaired Mann–Whitney test.

Таблица 3. Содержание моноаминов и их метаболитов в обонятельном бугорке при длительном экспериментальном изменении тиреоидного статуса у самцов мышей линии С3Н-А

Table 3. The contents of monoamines and their metabolites in the tuberculum olfactorium with a long-term experimental change in thyroid status in male C3H-A mice

	Контроль Control ($n = 10$)		T_4 ($n = 5$)		ПТУ PTU ($n = 4$)	
	левая сторона left hemisphere	правая сторона right hemisphere	левая сторона left hemisphere	правая сторона right hemisphere	левая сторона left hemisphere	правая сторона right hemisphere
НА (нг/мг ткани) NA (ng/mg of tissue)	0.27 ± 0.02	0.34 ± 0.03$^{\#\#}$	0.77 ± 0.09 ***	0.90 ± 0.08 ***	0.64 ± 0.10 ***	1.12 ± 0.07 $^{\#}$***
ДА (нг/мг ткани) DA (ng/mg of tissue)	0.96 ± 0.05	1.10 ± 0.10	1.14 ± 0.31	1.81 ± 0.16 $^{\#}$ **	2.29 ± 0.12***$^{\&\&}$	2.29 ± 0.29***
ДОФУК (нг/мг ткани) DOPAC (ng/mg of tissue)	0.31 ± 0.02	0.36 ± 0.03	0.50 ± 0.11	0.63 ± 0.02 ***	0.58 ± 0.08 **	0.81±0.05$^{\#}$***$^{\&\&}$
ГВК (нг/мг ткани) HVA (ng/mg of tissue)	0.08 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.17 ± 0.03 **	0.17 ± 0.03	0.17 ± 0.01***	0.19 ± 0.02*
ДОФУК/ДА (усл. ед.) DOPAC/DA (arb. unit)	0.33 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.67 ± 0.24	0.36 ± 0.03	0.25 ± 0.03$^{\&\&}$	0.36 ± 0.02$^{\#}$
ГВК/ДА (усл. ед.) HVA/DA (arb. unit)	0.085 ± 0.012	0.102 ± 0.014	0.118 ± 0.003	0.093 ± 0.007	0.075 ± 0.004$^{\&}$	0.087 ± 0.007
5-ГТ (нг/мг ткани) 5-HT (ng/mg of tissue)	0.23 ± 0.03	0.24 ± 0.04	0.59 ± 0.06***	0.81 ± 0.04***	0.90 ± 0.09**	1.12 ± 0.17**
5-ГИУК (нг/мг ткани) 5-HIAA (ng/mg of tissue)	0.20 ± 0.01	0.25 ± 0.02	0.52 ± 0.04***	0.55 ± 0.06**	0.35 ± 0.06*$^{\&}$	0.56 ± 0.04 $^{\#}$ ***
5-ГИУК/5-ГТ (усл. ед.) 5-HIAA /5-HT (arb. unit)	0.96 ± 0.09	1.16 ± 0.12	0.91 ± 0.09	0.67 ± 0.06*	0.41 ± 0.10*$^{\&}$	0.55 ± 0.08*

$^{\#}p < 0.05$ – достоверные различия между аналогичными показателями левой и правой сторон мозга (асимметрия), оцененные по парному *t*-критерию Стьюдента; $^{\#\#}p < 0.01$ – достоверные различия между аналогичными показателями левой и правой сторон мозга (асимметрия), оцененные по парному критерию Вилкоксона; *$p < 0.05$; **p < 0.01; ***p < 0.001 – достоверные отличия от соответствующего показателя той же стороны мозга у животных контрольной группы (отличия от контроля); $^{\&}p < 0.05$; $^{\&\&}p < 0.01$ – достоверные различия между показателями той же стороны мозга у животных разных экспериментальных групп (отличия от группы, получавших T_4), оцененные по непарному критерию Манна–Уитни.

$^{\#}p < 0.05$ – significant differences between the corresponding values of the left and right sides of the brain (asymmetry), estimated by the Student's paired *t*-test; $^{\#\#}p < 0.01$ – significant differences between the corresponding values of the left and right sides of the brain (asymmetry), estimated by paired Wilcoxon test.; *$p < 0.05$; **$p < 0.01$; ***$p < 0.001$ significant differences from the corresponding figure of the same part of the brain in animals of the control group (difference from control); $^{\&}p < 0.05$; $^{\&\&}p < 0.01$ – significant differences between values of the same side of the brain in animals of different experimental groups (differences from the group of mice treated with T_4), evaluated by the unpaired Mann–Whitney test.

Таблица 4. Содержание моноаминов и их метаболитов в стриатуме при длительном экспериментальном изменении тиреоидного статуса у самцов мышей линии С3Н-А
Table 4. The contents of monoamines and their metabolites in the striatum with a long-term experimental change in thyroid status in male C3H-A mice

	Контроль Control ($n = 10$)		T_4 ($n = 5$)		ПТУ PTU ($n = 4$)	
	левая сторона left hemisphere	правая сторона right hemisphere	левая сторона left hemisphere	правая сторона right hemisphere	левая сторона left hemisphere	правая сторона right hemisphere
НА (нг/мг ткани) NA (ng/mg of tissue)	0.62 ± 0.10	0.74 ± 0.09	0.24 ± 0.03**	0.23 ± 0.03 ***	0.10 ± 0.01***$^{\&}$	0.12 ± 0.01***$^{\&}$
ДА (нг/мг ткани) DA (ng/mg of tissue)	2.54 ± 0.27	2.86 ± 0.32	4.70 ± 1.44	4.27 ± 0.91	7.44 ± 1.20 ***	8.20 ± 1.73***
ДОФУК (нг/мг ткани) DOPAC (ng/mg of tissue)	1.06 ± 0.08	1.23 ± 0.12	1.79 ± 0.19**	1.65 ± 0.19	1.52 ± 0.14 *	1.50 ± 0.22
ГВК (нг/мг ткани) HVA (ng/mg of tissue)	0.41 ± 0.05	0.41 ± 0.04	0.42 ± 0.04	0.41 ± 0.04	0.37 ± 0.02	0.38 ± 0.05
ДОФУК/ДА (усл. ед.) DOPAC/DA (arb. unit)	0.47 ± 0.04	0.45 ± 0.04	0.38 ± 0.07	0.43 ± 0.06	0.22 ± 0.02 ***	0.19 ± 0.02 ***$^{\&}$
ГВК/ДА (усл. ед.) HVA/DA (arb. unit)	0.21 ± 0.04	0.20 ± 0.05	0.13 ± 0.04	0.11 ± 0.01	0.052 ± 0.007**$^{\&}$	0.049 ± 0.004***$^{\&}$
5-ГТ (нг/мг ткани) 5-HT (ng/mg of tissue)	0.30 ± 0.05	0.27 ± 0.04	0.28 ± 0.10	0.25 ± 0.05	0.52 ± 0.10	0.56 ± 0.03**$^{\&}$
5-ГИУК (нг/мг ткани) 5-HIAA (ng/mg of tissue)	0.37 ± 0.04	0.54 ± 0.06 $^{\#\#}$	0.73 ± 0.05***	0.70 ± 0.04	0.66 ± 0.02 **	0.66 ± 0.08
5-ГИУК/5-ГТ (усл. ед.) 5-HIAA /5-HT (arb. unit)	2.06 ± 0.47	2.72 ± 0.55	2.70 ± 0.61	2.52 ± 0.16	1.50 ± 0.41	1.18 ± 0.11*$^{\&}$

$^{\#\#}p < 0.01$ – достоверные различия между аналогичными показателями левой и правой сторон мозга (асимметрия), оцененные по парному *t*-критерию Стьюдента; $^{*}p < 0.05$; $^{**}p < 0.01$; $^{***}p < 0.001$ – достоверные отличия от соответствующего показателя той же стороны мозга у животных контрольной группы (отличия от контроля); $^{\&}p < 0.05$ – достоверные различия между показателями той же стороны мозга у животных разных экспериментальных групп (отличия от группы, получавших T_4), оцененные по непарному критерию Манна–Уитни.
$^{\#\#}p < 0.01$ – significant differences between the corresponding values of the left and right sides of the brain (asymmetry), estimated by the Student's paired *t*-test; $^{*}p < 0.05$; $^{**}p < 0.01$; $^{***}p < 0.001$ significant differences from the corresponding values of the same part of the brain in animals of the control group (difference from control); $^{\&}p < 0.05$ – significant differences between values of the same side of the brain in animals of different experimental groups (differences from the group of mice treated with T_4), evaluated by unpaired Mann–Whitney test.

Данные корреляционного анализа, касающиеся содержания моноаминов и их метаболитов, а также показателей обмена медиаторов (отношений метаболитов к соответствующим моноаминам) представлены в табл. 5.

Не было выявлено ни одной значимой корреляции между уровнями T_4 в крови и НА в различных структурах головного мозга. С содержанием T_4 в крови коррелировали только три параметра состояния ДА-ергической системы и 6 параметров серотонинергической системы.

Параметры ДА-ергической системы, которые коррелировали с содержанием T_4 в крови, относились к категории расчетных показателей обмена ДА: соотношения ДОФУК/ДА в правой коре, а также – ДОФУК/ДА и ГВК/ДА в левом обонятельном бугорке (табл. 5).

С содержанием T_4 в крови коррелировали, в основном, параметры серотонинергической системы (табл. 5). В частности, с уровнем T_4 отрицательно коррелировало содержание 5-ГТ в правом стриатуме (табл. 5), что соответствовало возрастанию этого параметра у мышей под воздействием ПТУ. В остальных структурах переднего мозга были отмечены положительные корреляции между уровнем T_4 и содержанием 5-ГИУК (метаболита 5-ГТ). Данная закономерность была зарегистрирована билатерально в коре больших полушарий и гиппокампе и только слева – в обонятельном бугорке (табл. 5). Положительные корреляции T_4 и показателя обмена серотонина – 5-ГИУК/5-ГТ были выявлены только с правой стороны – в коре и в стриатуме (табл. 5).

В отличие от корреляций с уровнем T_4, довольно большое количество измеренных показателей моноаминергических систем переднего мозга коррелировало с содержанием ТТГ и ПЛ в крови. Было зарегистрировано 13 статистически значимых корреляций с ТТГ и 15 – с ПЛ (табл. 5). Поскольку сами уровни ТТГ и ПЛ положительно коррелировали между собой, то и структура корреляций этих гормонов с содержанием моноаминов и их метаболитов была сходной и включала большое количество отрицательных корреляций (табл. 5).

Содержание ДА в правой коре положительно коррелировало с уровнями ТТГ и ПЛ, что в целом не было характерно для всей корреляционной структуры (табл. 5). Соотношение ДОФУК/ДА в правой коре отрицательно коррелировало с уровнем ТТГ (но не ПЛ!) в крови (табл. 5). Вместе с тем, как было описано выше, данный показатель положительно коррелировал с уровнем T_4. Важно отметить, что соответствующие корреляционные зависимости проявлялись исключительно унилатерально: статистически значимых корреляций между соотношением ДОФУК/ДА в левой коре и уровнями гормонов выявлено не было.

В гиппокампе были выявлены отрицательные корреляции уровней ТТГ и ПЛ с содержанием 5-ГТ и справа, и слева (табл. 5). При этом с уровнем ПЛ отрицательно коррелировало еще и содержание 5-ГИУК с обеих сторон.

В стриатуме с уровнем ТТГ положительно коррелировало содержание НА справа и слева, а с уровнем ПЛ – только справа (табл. 5). Кроме того, в правом стриатуме была выявлена отрицательная корреляция содержания 5-ГТ с уровнем ПЛ (табл. 5).

Больше всего корреляционных зависимостей между уровнями ТТГ и ПЛ, с одной стороны, и параметрами моноаминергических систем, – с другой, было выявлено в обонятельном бугорке (табл. 5). При этом все обнаруженные корреляции были отрицательными. В целом, структура корреляций содержания моноаминов и их метаболитов с ТТГ и ПЛ была сходной. С уровнем ТТГ в крови отрицательно коррелировали содержание ДА и ГВК – слева, ДОФУК и 5-ГИУК – справа и НА – билатерально. С уровнем ПЛ – содержание ДА, ГВК и 5-ГИУК слева, ДОФУК – справа и НА – билатерально. Однако параметры, связанные с интенсивностью об-

Таблица 5. Корреляции между содержанием гормонов в крови и показателями обмена моноаминов в симметричных структурах переднего мозга мышей линии С3Н-А
Table 5. Correlations between the hormones contents in the blood and the monoamine metabolism parameters in symmetrical forebrain areas in C3H-A mice

	Гормоны крови Blood hormones					
	T_4		ТТГ TSH		ПЛ PL	
корреляции с показателем correlations with the parameter	левой стороны мозга left hemisphere	правой стороны мозга right hemisphere	левой стороны мозга left hemisphere	правой стороны мозга right hemisphere	левой стороны мозга left hemisphere	правойстороны мозга right hemisphere
Кора больших полушарий Cerebral cortex						
ДА DA				0.56		0.61
ДОФУК/ДА DOPAC/DA		0.55		–0.76		
5-ГИУК 5-HIAA	0.57	0.60				
5-ГИУК/ГТ 5-HIAA/5-HT		0.60				
Гиппокамп Hippocampus						
5-ГТ 5-HT			–0.60	–0.60	–0.82	–0.76
5-ГИУК 5-HIAA	0.63	0.63			–0.68	–0.63
5-ГИУК/5-ГТ 5-HIAA/5-HT				0.51		
Обонятельный бугорок Tuberculum olfactorium						
НА NA			–0.63	–0.61	–0.55	–0.57
ДА DA				–0.64	–0.54	
ДОФУК DOPAC				–0.66		–0.52
ДОФУК/ДА DOPAC/DA	0.58					
ГВК			–0.61		–0.59	
ГВК/ДА	0.66					
5-ГТ 5-HT			–0.67	–0.62	–0.67	–0.51
5-ГИУК 5-HIAA	0.48			–0.52	–0.51	
5-ГИУК/ГТ 5-HIAA/5-HT			0.51	0.57		
Стриатум Striatum						
НА NA			0.56	0.64		0.52
5-ГТ 5-HT		–0.52				
5-ГИУК 5-HIAA					–0.51	
5-ГИУК/ГТ 5-HIAA/5-HT		0.61				

В таблице приведены только те значения ранговых корреляций Спирмена, для которых $p < 0.05$.
The table shows only those values of Spearman's rank correlations for which $p < 0.05$.

мена медиаторов (отношения метаболитов к соответствующим медиаторам) коррелировали только с уровнем ТТГ, но не ПЛ (табл. 5). Кроме уже описанной отрицательной корреляции ДОФУК/ДА в правой коре, с уровнем ТТГ положительно коррелировали соотношения 5-ГИУК/5-ГТ в правом гиппокампе и – левом обонятельном бугорке.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Планируя эксперимент, мы ожидали, что, по крайней мере, в некоторых случаях индуцированный гипер- и гипотиреоз будут приводить к противоположно направленным изменениям в состоянии моноаминергических систем. Наши ожидания были связаны с двумя обстоятельствами. Во-первых, тиреоидные гормоны, так же как и катехоламины, являются производными аминокислоты тирозина [14], поэтому одной из причин возможных изменений могло бы стать влияние применяемых препаратов на интенсивность тирозинового обмена, в частности, хроническое введение T_4 могло бы привести к тому, что для производства тиреоидных гормонов потребовалось бы меньше субстрата, и системы синтеза катехоламинов могли бы оказаться в условиях избытка тирозина или, по крайней мере, – в условиях возможности неограниченного поступления этой аминокислоты в нейроны. Таким образом, если бы ключевым обстоятельством связи системы тиреоидных гормонов и катехоламинергических систем было бы их метаболическое единство на основе использования одного и того же субстрата, мы увидели бы не только противоположные, но и существенные изменения показателей катехоламинергических систем, но – не серотонинергической. Во-вторых, поскольку модели тироксинового гипертиреоза и пропилтиоурацилового гипотиреоза являются классическими для интенсификации или подавления обмена веществ в организме [15], мы полагали, что их хроническое воздействие увеличит (в случае T_4) или уменьшит (в случае ПТУ) разницу по $P O_2$ и $P CO_2$ в крови, протекающей по левой и правой сонной артериям, что приведет к появлению или усилению асимметрии воздействия на каротидные хеморецепторные зоны у мышей, получавших T_4, и ее ослаблению – под действием ПТУ. Поскольку наши исследования моноаминергических систем в условиях гипоксии с гиперкапнией показали их асимметричный ответ [16], мы предполагали, что применение T_4 усилит проявление асимметрии моноаминергических систем, а ПТУ – ослабит.

Вопреки вышеизложенным предположениям, нами не было выявлено ни одного случая противоположно направленных изменений состояния центральных моноаминергических систем при индуцированном гипер- и гипотиреозе. Из 24 эффектов, описанных выше, 12 параметров изменялись синергично, 5 – только под действием T_4 и 7 – только под действием ПТУ. Поскольку применяемые воздействия приводили не только к изменению содержания T_4 в крови (рис. 1), но также – к снижению ТТГ (рис. 2) и ПЛ (рис. 3), мы предприняли изучение корреляций между показателями состояния моноаминергических систем в симметричных структурах переднего мозга и уровнями исследованных гормонов в крови.

Поскольку именно катехоламины, подобно T_4, являются производными тирозина, нас, прежде всего, интересовали корреляции содержания данного гормона с параметрами НА- и ДА-ергических систем. Вопреки нашим ожиданиям, показатели катехоламинергических систем слабо коррелировали с уровнем T_4. В частности, содержание НА не коррелировало с уровнем T_4. А из параметров ДА-ергической системы с содержанием T_4 в крови коррелировали только три показателя: соотношение ДОФУК/ДА в правой коре, а также – ДОФУК/ДА и ГВК/ДА в левом обо-

нятельном бугорке (табл. 5). Унилатеральность описанных закономерностей позволяет считать, что их причины, скорее всего, связаны не с особенностями обмена тирозина в мозге, а с ответом ДА-ергических систем на модуляцию афферентных сигналов, поступающих в ЦНС, которое возникает при общем изменении интенсивности метаболизма.

Поскольку существуют генетически предопределенные анатомические различия в строении правой и левой стороны организма (в частности, асимметричное строение и расположение внутренних органов) [17], афферентация, поступающая в мозг от висцеральных органов, асимметрична. При этом данная асимметричная афферентация является постоянно действующим фактором, оказывающим влияние на активность моноаминергических ядер ствола мозга. В частности, в основе асимметричной реакции мозга на этот сигнал может лежать различная интенсивность эфферентной импульсации от левых и правых периферических хеморецептивных зон: от левой – слабее (сосуды короче), от правой – сильнее (сосуды длиннее). Возможно именно этим объясняется обнаруженная нами ранее асимметричная реакция моноаминергических систем правой и левой стороны мозга на гипоксию с гиперкапнией [16]. Можно предположить, что чем выше уровень метаболизма, тем интенсивнее будет снижение уровня кислорода в крови, омывающей правый каротидный синус, по сравнению с левым. Соответственно при снижении уровня метаболизма разница между правым и левым каротидным синусом будет меньше. Поэтому T_4, способствующий повышению потребления кислорода, может усиливать асимметрию афферентной импульсации, поступающей в ствол мозга от левой и правой синокаротидных зон, а ПТУ, снижающий потребление кислорода – ослаблять. Кроме того, возможно, изменение уровня метаболизма влияет на интенсивность поступления информации от внутренних органов (особенно связанных с процессами пищеварения). Поскольку эти органы асимметричны, то и импульсация, поступающая от них в левый и правый отделы ствола мозга, может способствовать асимметричной активности, а, следовательно, различного уровня выработки медиаторов в его моноаминергических структурах. Это предположение позволяет объяснить важное наблюдение о том, что данные по асимметрии моноаминов, связанные с функционированием лимбических систем, более стабильны и лучше воспроизводимы в различных исследованиях [18]. Если это так, то можно ожидать, что повышение уровня метаболизма будет способствовать “асимметризации” импульсации от висцеральных органов, а снижение – делать ее более симметричной. Иными словами, под действием T_4 асимметрия будет появляться или усиливаться, под действием ПТУ – ослабляться или исчезать (а может быть – меняться на противоположную – в тех системах, которые в норме “компенсируют” постоянно действующую “висцерогенную” асимметрию).

Изменения моноаминергических систем в коре больших полушарий, обнаруженные в настоящей работе, вполне согласуются с этим предположением. Так, под действием T_4 в коре больших полушарий происходит правостороннее снижение уровня ДОФУК, что сопровождается появлением асимметрии с преобладанием ДОФУК с левой стороны (табл. 1). Вместе с тем, в обонятельном бугорке (табл. 3) по этому показателю возникала правосторонняя асимметрия под действием ПТУ, а не T_4, как можно было бы ожидать. Аналогичная правосторонняя асимметрия в обонятельном бугорке возникла под действием ПТУ и по другим параметрам: соотношению ДОФУК/ДА и содержание 5-ГИУК. При исследовании влияния уровня T_4 на состояние другой катехоламинергической системы – НА-ергической – в обонятельном бугорке было обнаружено, что под влиянием T_4 исходная правосторонняя асимметрия исчезала, но сохранялась под действием ПТУ, причем уровень

НА возрастал как при гипер-, так и при гипотиреозе (табл. 3). Таким образом, на кору больших полушарий асимметризующее влияние оказывал хронический гипертиреоз, а на обонятельный бугорок – гипотиреоз.

В литературе нам не удалось найти экспериментальные данные о длительном воздействии измененного тиреоидного статуса на активность катехоламинергических структур ЦНС. Вместе с тем, последствия острого или непродолжительного изменения уровня тиреоидных гормонов активно изучались на лабораторных грызунах. Так, было выявлено, что у крыс-самцов наблюдается снижение концентрации ДА в промежуточном мозге на 29 и 40% через 22 или 37 сут. после тиреоидэктомии соответственно [19]. Nakahara с соавт. обнаружили значительное снижение активности тирозингидроксилазы в медиальной палисадной зоне через 21 сут. после тиреоидэктомии [20]. При этом некоторое повышение активности данного фермента отмечалось в субэпендимальном слое и латеральной палисадной зоне. Также было показано, что тиреоидэктомия повышает скорость обмена ДА в срединном возвышении [14]. Повышение концентрации метаболитов моноаминов (ГВК и ДОФУК) у молодых гипертиреоидных крыс в головном мозге отмечали Bliss и Ailion. У взрослых гипертиреоидных крыс снижение уровня тирозина на 23% не сопровождалось увеличением эндогенного уровня ДА [21]. Rastogi с соавт. выявили, что введение T_3 (10 мкг/кг массы тела, дважды в день в течение 30 сут.) увеличивает транспорт тирозина в головной мозг, а также повышает концентрацию этой аминокислоты в головном мозге молодых и взрослых крыс [22]. Изменение тиреоидного статуса влияет на поведенческие ответы агонистов и антагонистов ДА, например, на апоморфин. Обнаружено, что гипотиреоидизм у взрослых крыс-самцов ассоциирован с несущественным снижением плотности α_1- и β_2-адренергических рецепторов в коре мозга. Frazer с соавт. изучали эффекты введения T_3 (15 мкг/кг) в течение пяти суток на систему цАМФ во фронтальной коре, предварительно простимулированную введением НА. Выраженное аддитивное действие гормона на данный показатель проявлялось при введении T_4 (50 мкг/кг) и трициклического антидепрессанта (3 мг/кг), который, с одной стороны, стимулировал адренергическую активность, а с другой – тормозил обратный захват НА [23]. Существенное различие между контрольной группой крыс и группой животных, получавших T_4, было зарегистрировано через 7 сут. после начала введения препарата [24]. Эффект T_4 был обратимым, поскольку отмена введения препарата приводила к полному восстановлению норадренергической чувствительности. При изучении влияния повторного введения T_4 на связывающую способность β-адренергических рецепторов в некоторых областях переднего (неокортекс) и заднего (мозжечок) мозга у крыс было показано, что введение T_4 в дозе 375 мкг/кг (в течение 7 сут.) сопровождалось повышением плотности β-адренергических рецепторов в переднем мозге и снижением связывающей способности этих рецепторов в области заднего мозга [25]. Таким образом, данные литературы подтверждают, что гипертиреоидное состояние избирательно влияет на НА-ергическую систему в разных регионах головного мозга.

Вместе с тем, по данным нашего исследования, содержание НА в структурах переднего мозга не коррелировало с уровнем T_4. Это позволяет предположить, что воздействие этого гормона на НА-ергическую передачу в области неокортекса, скорее всего, обусловлено его постсинаптическим влиянием.

Важно отметить, что с содержанием T_4 в крови коррелировали, в основном, параметры серотонинергической системы. При этом статистически значимые корреляционные зависимости не обязательно сопровождались достоверными различиями параметров серотонинергической системы у мышей трех экспериментальных

групп. Так, несмотря на положительные корреляции с T_4, содержание 5-ГИУК в коре больших полушарий и соотношение ГИУК/5-ГТ в правом стриатуме не изменялись ни под действием T_4, ни под действием ПТУ. Однако остальные показатели, продемонстрировавшие корреляцию с уровнем T_4 при экспериментальном изменении тиреоидного статуса, все-таки показали достоверные отличия от контроля. В частности, содержание 5-ГТ в правом стриатуме, которое отрицательно коррелировало с уровнем T_4 в крови (табл. 5), возрастало под действием ПТУ (табл. 4). Содержание 5-ГИУК в гиппокампе, которое положительно коррелировало с уровнем T_4 (табл. 5), достоверно возрастало при экспериментальном гипертиреозе (табл. 2), а аналогичный показатель в левом обонятельном бугорке увеличивался как при гипер-, так и при гипотиреозе, но при гипертиреозе – в большей степени (табл. 3).

В гиппокампе были выявлены отрицательные корреляции уровней ТТГ и ПЛ с содержанием 5-ГТ (табл. 5). При этом с уровнем ПЛ отрицательно коррелировало еще и содержание 5-ГИУК (табл. 5). Поскольку 5-ГИУК является внутриклеточным метаболитом 5-ГТ, который образуется под действием фермента, локализованного в цитоплазме, а не в везикулах [26], логично предположить, что его образование может быть стимулировано усилением синаптического выброса 5-ГТ с последующим обратным захватом этого медиатора. Таким образом, несмотря на наличие рецепторов к ТТГ на телах моноаминергических нейронов ствола мозга [27], синаптический выброс 5-ГТ в гиппокампе, по-видимому, в большей мере контролируется ПЛ, чем ТТГ.

Таким образом, при анализе корреляционных связей между уровнями гормонов и параметрами моноаминергических систем можно отметить преобладание корреляций с показателями серотонинергической системы, большинство из которых – отрицательные. Важно отметить, что, за редким исключением, корреляционные зависимости проявлялись только с одной стороны мозга (табл. 5).

Давно известно, что серотонинергическая система непосредственно вовлекается в адаптационные процессы, связанные с изменением тиреоидного статуса. Обнаружено, что при экспериментальном гипертиреозе может происходить как повышение [28], так и снижение плотности серотониновых рецепторов, причем количество рецепторов 5-HT_{1A} увеличивается, а рецепторов подтипа 5-HT_{2A} – уменьшается [29]. На фоне измененного тиреоидного статуса изменяется и содержание моноаминов в мозге животных: острое или ежедневное введение T_4 в дозе 100 мкг/кг в течение 3-х или 7-ми суток повышает концентрацию 5-ГТ во фронтальной коре, но не в гиппокампе [29]. Эти данные не совпадают с результатами нашей работы, согласно которым концентрация 5-ГТ в коре под влиянием T_4 не изменялась, а под действием ПТУ – увеличивалась, в то время как уровень 5-ГТ в гиппокампе возрастал как у гипер-, так и у гипотиреоидных мышей. По нашему мнению, данное несоответствие может быть вызвано тем, что, во-первых, мы анализировали не префронтальную, а тотальную кору, во-вторых, в нашем исследовании мы применяли не T_3, а T_4 (его предшественник и основной регулятор секреции гипофизарного ТТГ) и, наконец, в-третьих, сроки введения препаратов в нашей работе (44 недели) были гораздо более длительными, чем в цитируемом исследовании (3 и 7 сут.). Сопоставляя результаты двух исследований, можно предположить, что при экспериментальном воздействии на тиреоидный статус животных, изменения содержания 5-ГТ в гиппокампе развиваются значительно позже, чем соответствующие изменения в новой коре. Необходимо отметить, что по данным литературы, следствием как однократного, так и хронического введения T_3 является значимое снижение плотности серотониновых рецепторов подтипа 5-HT_{2A}, которое с определенной временной задержкой всегда регистрировалось во фронтальной коре [29]. Считается, что снижение плот-

ности серотониновых рецепторов типа 5-HT_{2A} может выводить из-под тормозного контроля нейроны, на которых расположены соответствующие рецепторы, и, тем самым, вызывать поведенческую активацию или приводить к анксиолитическим эффектам при типичном гипертиреоидизме [30, 31]. Так, например, заметное повышение поведенческой гиперактивности, вызванное введением антагонистов 5-ГТ, наблюдается у гипертиреоидных животных. Обнаружено, что ежедневное введение T_3 потенцирует синдром подергивания головой, вызванный введением предшественника 5-ГТ – 5-гидрокситриптофана [32]. Принимая во внимание наши данные об отрицательной корреляции между уровнем T_4 и содержанием 5-ГТ в правом стриатуме, можно предположить, что в основе механизма двигательных нарушений, развивающихся при гипертиреозе, лежит специфическое влияние на те проекции серотонинергических нейронов, которые имеют отношение к регуляции движений.

Вместе с тем, регистрируемые изменения показателей серотонинергической системы у гипо- и гипертиреоидных мышей не позволяют сделать вывод об однозначной зависимости метаболизма 5-ГТ от тиреоидного статуса, поскольку положительные корреляции между 5-ГИУК/5-ГТ и содержанием T_4 в крови были отмечены только в правой коре и в правом стриатуме (табл. 5). Можно осторожно предположить, что такое унилатеральное влияние тиреоидного статуса на серотонинергические системы связано с тем, что данный эффект опосредован изменениями афферентной импульсации, поступающей в ствол мозга от асимметрично расположенных внутренних органов [17], на состоянии которых интенсивность обмена веществ сказывается в первую очередь.

Результаты настоящего исследования показали, что для большинства показателей обмена моноаминов в структурах переднего мозга характерны корреляции не с уровнем T_4, а с содержанием ТТГ и ПЛ в крови. Поскольку классическое снижение секреции ТТГ по механизму отрицательной обратной связи опосредовано не только рецепторами к T_3, но и рецепторами к T_4 [1], не исключено, что эффекты длительного введения T_4 или ПТУ (препятствующего конвертации T_4 в T_3) обусловлены не прямым действием T_4 на моноаминергические системы, а его способностью регулировать секрецию ТТГ. Рецепторы к ТТГ обнаружены в различных областях головного мозга, в том числе и в тех, где расположены тела моноаминергических нейронов или в которые проецируются их аксоны [33]. Поэтому можно предположить, что в основе механизма влияния тиреоидного статуса на состояние моноаминергических систем лежит не собственно воздействие T_4 на изучаемые процессы, а чувствительность моноаминергических нейронов к ТТГ.

ВКЛАД АВТОРОВ

С.Н. Прошин – планирование эксперимента, написание и редактирование статьи; И.В. Карпова – сбор данных, написание и редактирование статьи; Р.И. Глушаков – планирование эксперимента, сбор данных; Е.Р. Бычков – обработка данных; П.Д. Шабанов – написание и редактирование статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа была профинансирована за счет средств госбюджета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ortiga-Carvalho T.M., Chiamolera M.I., Pazos-Moura C.C., Wondisford F.E.* Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis. Compar. Physiol. 6(3): 1387–1428. 2016.

2. *Paragliola R.M., Corsello A., Concolino P., Ianni F., Papi G., Pontecorvi A., Corsello S.M.* Iodothyronine deiodinases and reduced sensitivity to thyroid hormones. Front. Biosci. (Landmark Ed). 25: 201–228. 2019.
3. *Prezioso G., Giannini C., Chiarelli F.* Effect of thyroid hormones on neurons and neurodevelopment. Horm. Res. Pediatr. 90: 73–81. 2018.
4. *Rodríguez-Rodríguez A., Lazcano I., Sánchez-Jaramillo E., Uribe R.M., Jaimes-Hoy L., Joseph-Bravo P., Charli J.L.* Tanycytes and the control of thyrotropin-releasing hormone flux into portal capillaries. Front. Endocrinol. (Lausanne). 10: 401–411. 2019.
5. *Taylor P.N., Eligar V., Muller I., Scholz A., Dayan C., Okosieme O.* Combination thyroid hormone replacement: known and unknowns. Front. Endocrinol. (Lausanne). 10: 706–710. 2019. https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00706
6. *Aranda A., Alonso-Merino E., Zambrano A.* Receptors of thyroid hormones. Pediatr. Endocrinol. Rev. 11: 2–13. 2013.
7. *Глушаков Р.И., Власьева О.В., Соболев И.В., Прошин С.Н., Тапильская Н.И.* Стратегия фармакологической коррекции длительно протекающих негеномных эффектов тиреоидных гормонов. Обзоры по клин. фармакол. и лекарств. терапии. 13: 48–49. 2015. [*Glushakov R.I., Vlas'eva O.V., Sobolev I.V., Proshin S.N., Tapil'skaya N.I.* Strategy for pharmacological correction of the long-lasting non-genomic effects of thyroid hormones. Rev. Clin. Pharm. Drug Ther. 13: 48–49. 2017. (In Russ)].
8. *Feng G., Kang C., Yuan J., Zhang Y., Wei Y., Xu L., Zhou F., Fan X., Yang J.* Neuroendocrine abnormalities associated with untreated first episode patients with major depressive disorder and bipolar disorder. Psychoneuroendocrinology. 107: 119–123. 2019.
9. *Perez-Caballero L., Torres-Sanchez S., Romero-López-Alberca C., González-Saiz F., Mico J.A., Berrocoso E.* Monoaminergic system and depression. Cell. Tissue Res. 377: 107–113. 2019.
10. *Gripois D., Fernandez C.* Effects of thyroid hormones on the evolution of monoamine oxidase activity in the brain and heart of the developing rat. Enzyme. 22: 378–384. 1977.
11. *Mendoza A., Hollenberg A.N.* New insights into thyroid hormone action. Pharmacol. Ther. 173: 135–145. 2017.
12. *Прошин С.Н., Глушаков Р.И., Карпова И.В., Козырко Е.В., Лебедев А.А., Михеев В.В.* Динамика проявления экспериментально измененного тиреоидного статуса у самок мышей линии С3Н-А. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 100(4): 473–486. 2014. [*Proshin S.N., Glushakov R.I., Karpova I.V., Kozyrko E.V., Lebedev A.A., Mikheev V.V.* The time course of experimentally altered thyroid status manifestations in female C3H-A mice. Russ. J. Physiol. 100(4): 473–486. 2014. (In Russ)].
13. *Proshin S., Bagaturiya G., Karpova I., Kurbanov R., Glushakov R.* Unequal Hormonal Response of Male and Female C3H-A Mice to the Thyroid and Antithiroid Agent Treatements. Georgian Med. News. 11(284): 128–132. 2018.
14. *Kizer J.S., Humm J., Nicholson G.* The effects of castration, thyroidectomy and haloperidol upon the turnover rates of dopamine and norepinephrine and the kinetic properties of tyrosine hydroxylase in discrete hypothalamic nuclei of the male rat. Brain Res. 146: 95–107. 1978.
15. *Mullur R., Liu Y.Y., Brent G.A.* Thyroid hormone regulation of metabolism. Physiol. Rev. 94(2): 355–382. 2014.
16. *Карпова И.В., Михеев В.В., Марышева В.В., Курицына Н.А., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д.* Динамика изменений состояния моноаминергических систем головного мозга мышей под влиянием острой гипоксии с гиперкапнией. Биомед. химия. 65(6): 485–497. 2019. [*Karpova I.V., Mikheev V.V., Marysheva V.V., Kuritsyna N.A., Bychkov E.R., Shabanov P.D.* Dynamics of changes in the state of monoaminergic systems of the brain of mice under the influence of acute hypoxia with hypercapnia. Biomed. Chem. 65(6): 485–497. 2019. (In Russ)].
17. *Blum M., Ott T.* Animal left–right asymmetry. Current Biol. 28(7): R301–R304. 2018.
18. *Molochnikov I., Cohen D.* Hemispheric differences in the mesostriatal dopaminergic system. Front. Syst. Neurosci. 8: 110. 2014.
19. *Leret M.L., Fraile A.* Influence of thyroidectomy on brain catecholamines during the postnatal period. Compar. Biochem. Physiol. 83: 117–121. 1986.
20. *Nakahara T., Matsumoto T., Hirano M.* Effects of DN-1417, a thyrotropin releasing hormone analog, on dopaminergic neurons in rat brain. Peptides. 6: 1093–1099. 1985.
21. *Bliss E.L., Ailion J.* Relationship of stress and activity to brain dopamine and homovanillic acid. Lif. Sci. 10: 1161–1169. 1971.
22. *Rastogi R.B., Singhal R.L., Lapierre Y.D.* Thyrotropin releasing hormone potentiates the effects of imipramine on brain serotonergic system. Brain Res. Bull. 7: 449–451. 1981.
23. *Frazer A., Pandey G., Mendels J., Neeley S., Kane M., Hess M.E.* The effect of tri-iodothyronine in combination with impramine on [3H]-cyclic AMP production in slices of rat cerebral cortex. Neuropharmacology. 13(12): 1311–1340. 1974.

24. *Schultz J.* Psychoactive drug effects on a system which generates cyclic AMP in brain. Nature. 261: 417–418. 1976.
25. *Perumal A.S., Halbreich U., Barkai A.I.* Modification of beta-adrenergic receptor binding in rat brain following thyroxine administration. Neurosci. Lett. 48: 217–221. 1984.
26. *Stahl S.M.* Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical application. 4th Edition. Cambridge. Cambridge Univer. Press. 2013.
27. *Heuer H., Schäfer M.K., O'Donnell D., Walker P., Bauer K.* Expression of Thyrotropin-Releasing Hormone Receptor 2 (TRH-R2) in the Central Nervous System of Rats. J. Compar. Neurol. 428(2): 319–336. 2000.
28. *Tejani-Butt S.M., Yang J., Kaviani A.* Time course of altered thyroid states on 5-HT_{1A} receptors and 5-HT uptake sites in rat brain: an autoradiographic analysis. Neuroendocrinology. 57: 1011–1018. 1993.
29. *Sandrini M., Vitale G., Vergoni A.V.* Effects of acute and chronic treatment with triiodothyronine on serotonin levels and serotonergic receptor subtypes in the rat in the rat brain. Life Sci. 58: 1551–1559. 1996.
30. *Arnt J., Hyttel J.* Facilitation of 8-OHDPAT-induced forepaw treading of rats by the 5-HT2 agonist. Eur. J. Pharmacol. 161(1): 45–51. 1989.
31. *Tunnicliff G.* Molecular basis of buspirone's anxiolytic action. Pharmacol. Toxicol. 69: 149–156. 1991.
32. *Brochet D., Martin P., Soubrie P., Simon P.* Effects of triiodothyronine on the 5-hydroxy-tryptophan-induced head twitch and its potentiation by antidepressants in mice. Eur. J. Pharmacol. 112: 411–414. 1985.
33. *Heuer H., Schäfer M.K., Bauer K.* Thyrotropin-releasing hormone (TRH), a signal peptide of the central nervous system. Acta Med. Austriaca. 26(4): 119–122. 1999.

The Content of Monoamines in the Symmetric Parts of the Forebrain in the Time Course of Altered Thyroid Status

S. N. Proshin[a], *, I. V. Karpova[b], R. I. Glushakov[c], E. R. Bychkov[b], and P. D. Shabanov[b]

[a] *REAVIZ University, Saint-Petersburg, Russia*
[b] *Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia*
[c] *St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg, Russia*
**e-mail: psnjsn@rambler.ru*

In male C3H-A mice the effect of prolonged (44 weeks) thyroxine hyper- and propylthiouracyl hypothyroidism on the hormonal status and content of monoamines and their metabolites in the symmetric parts of the forebrain was studied. The level of hormones in the blood serum was determined by enzyme-linked immunosorbent analysis and the content of monoamines (MA) and their metabolites in the brain was determined by HPLC. Experimental hyper- and hypothyroidism did not cause opposite changes in the MA content. So, with any change in thyroid status in the hippocampus and tuberculum olfactorium the level of serotonin (5-HT) increased. At the same time the content of norepinephrine (NA) in the striatum decreased and in the tuberculum olfactorium increased. The level of dopamine (DA) in the striatum and tuberculum olfactorium in animals of both experimental groups increased, however, in hypothyroid mice this effect was observed bilaterally and in hyperthyroid mice it was unilateral; only in the left striatum and right tuberculum olfactorium. In addition to these changes in experimental hyperthyroidism there was a decrease in the level of DA in the cerebral cortex, and in hypothyroidism, an increase in 5-HT in the right striatum and in the right cortex. Most characteristics of monoaminergic systems did not correlate with the content of thyroxin (T_4) but correlated with the levels of thyrotropin (TSH) and prolactin (PL) in the blood. At the same time no correlation was found between the content of these hormones and T_4, although TSH and PL levels correlated with each other. It can be assumed that the leading role in the mechanisms of the influence of a prolonged change in thyroid status on the monoaminergic systems of the brain is mediated not by T_4 but by TSH.

Keywords: C3H-A mice, experimental hyper- and hypothyroid state, monoamines

ЦИТИРОВАТЬ:

Прошин С.Н., Карпова И.В., Глушаков Р.И., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. Содержание моноаминов в симметричных зонах переднего мозга при длительном изменении тиреоидного статуса. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 107(1): 98–118. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010118

TO CITE THIS ARTICLE:

Proshin S.N., Karpova I.V., Glushakov R.I., Bychkov E.R., Shabanov P.D. The content of monoamines in the symmetric parts of the forebrain in the time course of altered thyroid status. Russian Journal of Physiology. 107(1): 98–118. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921010118

РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2021, том 107, № 1, с. 119–132

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

АНАЛИЗ ПАРАДОКСАЛЬНЫХ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ВОСПРИЯТИЯ ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ЭМОЦИОНАЛЬНЫХ СТИМУЛОВ У БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ

© 2021 г. В. Б. Стрелец[1], Г. И. Родионов[1], М. К. Нурбеков[2], В. Л. Ушаков[3], А. Ю. Архипов[1, *]

[1]Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия
[2]Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия
[3]НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия
**E-mail: arhip76@bk.ru*

Поступила в редакцию 14.11.2020 г.
После доработки 28.11.2020 г.
Принята к публикации 07.12.2020 г.

Статья посвящена исследованию активации мозга на нейтральные и эмоционально значимые (угрожающие) стимулы методом вызванных потенциалов мозга у здоровых и больных параноидной шизофренией. Показано, что угрожающие стимулы, как более значимые, вызывают большую активацию (укорочение латентности и увеличение амплитуды) в затылочных и задневисочных областях на эти стимулы по сравнению с нейтральными у обеих групп испытуемых при внутригрупповом исследовании. Через 200 мс это имело место в правом, через 300 мс – в левом, а через 400 мс – снова в правом. При этом у больных, начиная с волны *P200*, в ответ на значимые стимулы отмечался эффект, который с точки зрения физиологии является парадоксальным. Так, через 200 мс после предъявления стимула в левой нижнелобной области наблюдалось увеличение и амплитуды, и латентности волны *P200*, и уменьшение обоих этих параметров в правой лобной и центральной областях по средней линии. Через 300 мс после стимула парадоксальные эффекты в виде увеличения обоих параметров отмечались в левой префронтальной и правой нижнелобной и уменьшения – в левой нижнелобной и центральной областях по средней линии. Через 400 мс парадоксальные эффекты наблюдались в левой префронтальной и правой нижнелобной области в виде увеличения обоих параметров, и в правой префронтальной области в виде их уменьшения. Межгрупповое сравнение, показавшее, что у больных имеет место либо увеличение, либо уменьшение по сравнению с нормой обоих параметров всех компонентов вызванных потенциалов, начиная с волны *P200*, то есть патологическое состояние передних мозговых областей в ответ на данную категорию стимулов, что может быть обусловлено несколькими альтернативными факторами. Это может быть объяснено нарушением нейронных связей из-за патологического процесса абберантного прунинга у больных шизофренией.

Ключевые слова: параноидная шизофрения, вызванные потенциалы, парадоксальный эффект

DOI: 10.31857/S086981392101012X

Шизофрения характеризуется нарушением практически всех психических функций: восприятия, внимания, памяти, мышления, а также моторных функций и выраженным нарушением поведения. При параноидной шизофрении особенно

актуально нарушение аффективного восприятия. Эмоциональные реакции представляют собой наиболее древнюю форму взаимодействия живых существ с окружающей действительностью [1]. По мере прогресса в развитии человека и усложнения его отношений с внешней средой развивается когнитивная функция, причем между ними существует неразрывная связь. В данном эволюционном процессе неизбежно присутствуют исключения, выходящие из рамок нормальной психической деятельности, обусловленные некоторыми “сбоями” функций мозга. Одним из таких побочных эффектов эволюционного развития является шизофрения, основными проявлениями которой являются нарушение эмоциональной и дефицит когнитивной сфер. Начало данного заболевания, как правило, проявляется в продуктивных симптомах – возникновение бреда и галлюцинаций, которые являются синдромами первого ранга [2, 3] и составляют классический вариант данного типа патологии [4].

Являясь неотделимой частью быстро развивающейся когнитивной функции, эмоциональная функция в ряде случаев оказывается недостаточной для полноценного развития психической деятельности, что наблюдается при шизофрении. Фундаментальной основой данной патологии является комплексное нарушение биологических механизмов деятельности мозга на разных уровнях: молекулярно-генетическом, физиологическом и поведенческом, что выражается в дисфункции нейромедиаторов, нарушении вызванной биоэлектрической активности мозга и психопатологических показателей. Описаны многочисленные биохимические и молекулярно-генетические нарушения при шизофрении. Прежде всего это отклонения в дофаминергической системе [5], которая играет важную роль в различных мозговых функциях: контроль и модуляция движений [6], когнитивные функции [7], а также мотивационное и эмоциональной поведение [8]. Известно, что уровень дофамина в восходящих дофаминовых проекциях мезолимбической системы (черная субстанция, вентральный стриатум) повышен, важное значение имеет прилежащее ядро, интегрирующее сигналы из лимбической системы, т.к. она получает возбудительные глутаматергические проекции от префронтальной коры, билатеральной миндалины и гиппокампа [9] (возвратные связи). Продуктивные симптомы могут возникать не только из-за нарушений функций дофамина в мезолимбических структурах D2-рецепторов, но и в связи с нарушениями D1-рецепторов в префронтальной коре [10]. Данные нарушения могут быть вторичными по отношению к синаптическим связям в коре. Важное значение имеет прунинг – элиминация синапсов в лобной коре в пубертатный период [11]. У больных прунинг происходит то в больших, то в меньших объемах чем у здоровых. Таким образом, имеет место либо увеличение, либо уменьшение синаптических связей у больных по сравнению с нормой. Предположительно уменьшение синаптических связей приводит к возникновению негативных симптомов, а увеличение – к позитивным, в результате чего создается следующая картина: хотя синапсов больше, они функционально недостаточны для нормального проведения и обработки информации [12]. Соответственно, наблюдаемый патологический обмен нейромедиаторов приводит к таким продуктивным симптомам, как бред и псевдогаллюцинации.

Также установлено, что глутамато-дофаминовое и дофамино-глутаматовое взаимодействие и их связь с ГАМК-ергическими системами могут быть релевантны к патофизиологии шизофрении. Дофаминовая нейротрансмиссия поражает префронтальные пирамидные нейроны через модуляцию ГАМК-интернейронов [13]. Многочисленные работы, свидетельствуют также о нарушении при данном заболевании биоэлектрической активности мозга, в основе которого лежит дисбаланс нейромедиаторных систем и, как следствие этого, нарушение передачи информации в мозге [14–16]. Таким образом, при шизофрении на всех уровнях ЦНС имеют

место патологические особенности, которые в конечном счете могут приводить к нарушениям психической деятельности.

Применение вызванных потенциалов (ВП) мозга открыло новую главу как в исследованиях механизмов здорового мозга, так и в исследовании его нарушений при шизофрении. Компоненты ВП отражают разные этапы процесса восприятия внешних и внутренних раздражителей. Происходит последовательная оценка физических свойств стимулов, что отражается в ранних компонентах ВП, затем оценивается их значимость по прошлому опыту, причем значимость включает эмоциональную и смысловую составляющие [17].

С физическими параметрами стимулов закономерно связаны изменения активации мозговых структур, обусловливающие параметры (амплитуду и латентность) ранних сенсорных компонентов ВП (до 100 мс) [18]. Промежуточные между ранними и поздними компонентами ВП (100–200 мс) отражают автоматическую "ориентировочную" реакцию на стимул, отличающийся от фоновых по своей интенсивности или частоте предъявления или являющийся неожиданным и необыкновенно ярким (salient) [19]. Биоэлектрическую реакцию мозга на подобные стимулы называют "негативностью рассогласования"; она также связана с автоматическими изменениями уровня активации корковых структур [20]. На позднем этапе восприятия (принятие перцептивного решения) высокая активация возникает на стимулы, к которым привлекается внимание, то есть, когда они становятся "релевантными" [21]. Существует две системы обработки информации "top-down" и "bottom-up" [22]. Первая система обработки информации "задается" психологической инструкцией, вторая система основана на последовательном анализе поступающей информации.

Целью данной работы явился анализ физиологических реакций мозговых структур на внешние раздражители разной значимости у больных шизофренией, относящихся к четко очерченной группе в состоянии психоза, с бредом и псевдогаллюцинациями. Для этого использовался метод исследования ВП, развивающихся в мозге на предъявление нейтральных и отрицательных эмоциональных стимулов в виде картин из международной системы IAPS (International Affective Picture System).

Мы исследовали больных с параноидным синдромом, а именно, с преобладанием бреда и галлюцинаций, находящихся вне терапии нейролептиками. Анализ ВП мозга на сложные стимулы (эмоционально-отрицательные картины) позволяет оценить у них состояние эмоционально-когнитивной сферы, высказать предположения о механизмах галлюцинаторно-параноидного синдрома и определить его биологические маркеры.

На те же стимулы, которые применялись для исследования ВП, проводился сравнительный нейровизуализационный анализ активации различных мозговых структур методом функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) в норме и при шизофрении [23].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Испытуемые. Исследование проводилось на базе Психиатрической больницы Клиника Роса (отделение острых психозов). В группу больных вошли 39 человек (21 мужчина и 18 женщин), страдающих шизофренией в психотическом периоде с галлюцинаторно-параноидным синдромом, в возрасте от 18 до 37 лет. Диагноз ставился врачами-психиатрами отделения острых психозов по Международной классификации МКБ-10 категория F20.0. Общая сумма баллов выраженности психопатологических симптомов, определялась по шкале PANSS, и у пациентов она составляла 97.1 $\pm$ 3.1. Все пациенты были с первым психотическим приступом и не получали нейролептического антипсихотического лечения.

В качестве контрольной группы было исследовано 32 здоровых испытуемых (18 мужчин и 14 женщин) в возрасте от 20 до 35 лет. В исследование отбирались как в группу контроля, так и в группу больных шизофренией, соматически здоровые правши со 100%-ным или скорректированным до 100% зрением. Статистически значимых различий по полу, возрасту и уровню образования между исследованными группами обнаружено не было ($p > 0.01$).

Проведенные исследования следуют принципам Хельсинской декларации и одобрены Этическим комитетом Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН. Все испытуемые давали письменное согласие на участие в исследовании. Исследование проводилось в имплицитной ситуации.

Стимулы и методика предъявления. Мы выбрали в качестве стимульного материала равное количество нейтральных и угрожающих изображений системы IAPS, адаптированных для российской выборки. Всего предъявлялось 120 стимулов, 60 из которых были нейтральными, и 60 – эмоционально значимыми. Порядок предъявления стимулов – псевдослучайный. Время предъявления стимула составляло 1000 мс, межстимульный интервал определялся в псевдослучайной последовательности от 1.5 до 3 с.

Процедура записи. В обеих группах – больные и контроль – испытуемым предъявляли стимулы на экране 14-дюймового монитора на расстоянии 0.75 м от испытуемого, сидящего в кресле перед компьютером в затемненной комнате. Весь эксперимент проводился при пассивном восприятии стимулов, то есть в имплицитной ситуации.

Запись вызванных потенциалов. Электроэнцефалограмма (ЭЭГ) регистрировалась с использованием 24-канального усилителя фирмы МБН (Россия) от 19 отведений (модифицированная схема постановки электродов 10–20%) с Ag/AgCl электродами. В качестве референтного отведения использовался объединенный ушной электрод, заземляющий электрод располагался в центре лба. Частота квантования 200 Гц, импеданс – ниже 10 кОм. Фильтры низких частот были установлены на 70 Гц, фильтры высоких частот – на 0.5 Гц, режекторный фильтр 50 Гц.

Обработка и анализ данных. Проводилось удаление окулографических артефактов и исключение эпох с миографическими, двигательными и иными артефактами. Предстимульный интервал составлял 300 мс, постстимульный – 700 мс. После усреднения вызванных потенциалов по группам испытуемых и выделения интересующих компонент, в индивидуальных потенциалах с шагом 5 мс находили экстремумы максимальной пиковой амплитуды, наиболее приближенные по латентности к максимальному по амплитуде экстремуму ВП в интервалах от 100 до 200 мс, от 170 до 250 мс и от 270 до 340 мс. Таким способом выделялись ранние (*P100* и *N170*), промежуточные или среднелатентные (*P200*) и поздние (*P300* и *N400*) компоненты ВП.

Далее проводился статистический анализ пиковой латентности и амплитуды компонентов *P300* и *N400* от всех отведений с помощью программы STATISTICA 8.0. Для проверки экспериментальной гипотезы о наличии межгрупповых различий использовали критерий Манна–Уитни, для анализа внутригрупповых различий (для двух экспериментальных условий) – критерий Вилкоксона. Анализировались только достоверные различия (при $p < 0.05$) в двух экспериментальных ситуациях – при внутригрупповом сравнении (эксперимент 1) и при межгрупповом сравнении (эксперимент 2). Анализировались только те отведения, в которых статистически значимыми были оба параметра ВП латентность и амплитуда.

Снижение латентности и увеличение амплитуды компонентов в данной области рассматривалось как показатель усиленной активации на более значимые (угрожающие) стимулы по сравнению с менее значимыми (нейтральными), противоположные изменения параметров – как показатель сниженной активации.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Внутригрупповое сравнение

Ранние компоненты ВП (*P100*, *N170*).

А. Здоровые испытуемые. У здоровых испытуемых значимые отличия между латентностью волны *P100* на нейтральные и угрожающие стимулы не обнаружены; различия в амплитуде данного компонента на эти стимулы также отсутствует. Значимых отличий между компонентом *N170* на стимулы двух категорий значимости у здоровых не выявлено ни по одному из параметров. Реакция отсутствует в имплицитной ситуации.

Б. Больные шизофренией. У больных шизофренией латентность компонента *P100* в правой теменной области (P_4) на угрожающие стимулы больше, а амплитуда меньше, чем на нейтральные, что указывает на торможение на значимые стимулы.

Значимых отличий между компонентом *N170* на стимулы двух категорий у больных шизофренией, так же как у здоровых, не выявлено ни по одному из параметров.

Промежуточный между ранними и поздними, среднелатентный компонент *P200*.

А. Здоровые испытуемые. Латентность компонента *P200* на угрожающие стимулы была короче, чем на нейтральные в правой нижневисочной (T_6) и правой затылочной (O_2) областях. Амплитуда этого компонента была выше в тех же областях: правой нижневисочной (T_6) и правой затылочной (O_2), что указывает на процесс активации в данных областях.

Б. Больные шизофренией. Латентность на угрожающие стимулы была короче, чем на нейтральные, в следующих областях: правая лобная (F_4), правая затылочная (O_2), правая нижневисочная (T_6), средняя центральная (Cz). В левой передне-височной области (F_7), напротив, наблюдалось увеличение латентности на угрожающие стимулы.

Амплитуда компонента *P200* у больных шизофренией была больше на угрожающие стимулы, чем на нейтральные, в правой нижневисочной (T_6) и правой затылочной (O_2) областях. У больных, так же как у здоровых, наблюдалась активация правой височной и затылочной областей. Но в левой передне-височной (F_7) области у больных наряду с увеличением латентности наблюдалось также увеличение амплитуды волны *P200* на угрожающие стимулы, а в правой лобной (F_4) и средней центральной (Cz) областях, напротив, обнаружено уменьшение амплитуды и латентности на угрожающие стимулы. Таким образом, в F_7, F_4, Cz в ответ на угрожающие стимулы наблюдался парадоксальный эффект.

Поздние компоненты ВП (*P300*, *N400*).

А. Здоровые испытуемые. Латентность компонента *P300* была меньше на угрожающие стимулы, чем на нейтральные, в левой нижне-височной (T_5) и левой затылочной (O_1) областях. Амплитуда компонента *P300* на угрожающие стимулы была больше, чем на нейтральные, в левой нижне-височной и левой затылочной областях, то есть, в тех же областях, в которых имела место более короткая латентность, то есть наблюдалась активация левой нижне-височной и левой затылочной областей на значимые стимулы.

Латентность компонента *N400* у здоровых была меньше, а амплитуда больше в правой нижне-височной (T_6) и правой затылочной (O_2) областях, это свидетельствовало об активации правых нижнее-височной и затылочной областей в ответ на значимые стимулы.

Б. Больные шизофренией. Латентность компонента *P300* у больных так же, как у здоровых была меньше, а амплитуда больше на угрожающие, чем нанейтральные стимулы, в левой нижне-височной (T_5) и левой затылочной (O_1) областях. Это сви-

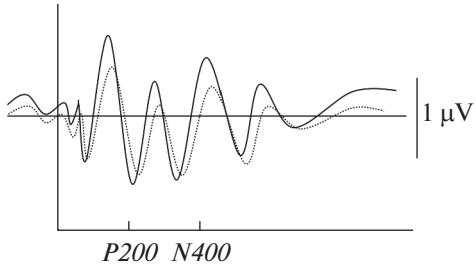

Рис. 1. Левая затылочная область (O_1) у здоровых испытуемых, повышение активации на угрожающие стимулы (увеличение амплитуды и укорочение латентности). Сплошная линия – угрожающие стимулы, пунктирная линия – нейтральные стимулы.
Fig. 1. Left occipital region (O_1) in healthy subjects, increased activation to threatening stimuli (increased amplitude and shortened latency). Solid line – threatening stimuli, dotted line – neutral stimuli).

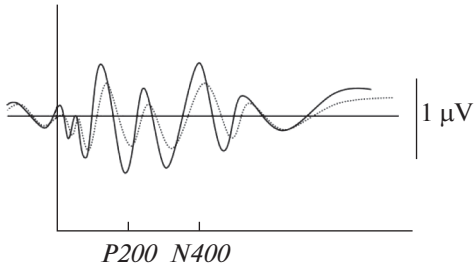

Рис. 2. Правая затылочная область (O_2) у больных шизофренией, повышение активации на угрожающие стимулы (увеличение амплитуды и укорочение латентности). Сплошная линия – угрожающие стимулы, пунктирная линия – нейтральные стимулы.
Fig. 2. Right occipital region (O_2) in patients with schizophrenia, increased activation to threatening stimuli (increased amplitude and shortened latency). Solid line – threatening stimuli, dotted line – neutral stimuli.

детельствовало о том, что как и в норме, наблюдалась активация левой височной и левой затылочной областей в ответ на угрожающие стимулы.

Латентность компонента *N400* у больных была меньше, а амплитуда больше в правой нижне-височной (T_6) и правой затылочной (O_2) областях в ответ на угрожающие стимулы по сравнению с нейтральными, то есть как и в норме происходила активация правых височной и затылочной областей при действии угрожающих стимулов.

Таким образом, средние и поздние компоненты ВП (*P200, P300* и *N400*) как у здоровых, так и у больных шизофренией обнаружили изменения параметров, свидетельствующие о наличии у обеих групп более высокого уровня активации в ответ на угрожающие стимулы по сравнению с нейтральными сначала в правых, затем в левых и потом снова в правых височной и затылочной областях (рис. 1–2).

Однако у больных отмечались парадоксальные с точки зрения физиологии эффекты: на волне *P200* в левой лобной (F_3), на компонентах *P300* и *N400* – левой префронтальной (Fp_1) и правой лобно-височной (F_8) областях в виде увеличения на более значимый стимул обоих параметров ВП (амплитуды и латентности). В правой лобной (F_4), центральной по средней линии *Cz* (на волне *P200*), правой лобной (F_7) и центральной по средней линии (*Cz*) (на компоненте *P300*) и правой

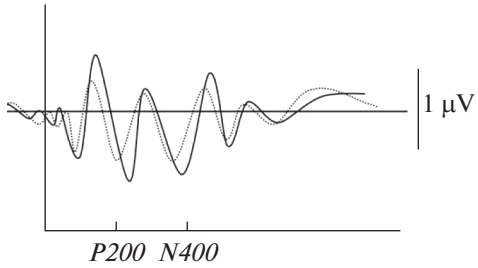

Рис. 3. Левая префронтальная область (Fp_1) у больных шизофренией, парадоксальный эффект с увеличением обоих параметров ВП (латентности и амплитуды). Сплошная линия – угрожающие стимулы, пунктирная линия – нейтральные стимулы.

Fig. 3. Left prefrontal area (Fp_1) in patients with schizophrenia, paradox effect with an increase in both EP parameters (latency and amplitude). Solid line – threatening stimuli, dotted line – neutral stimuli.

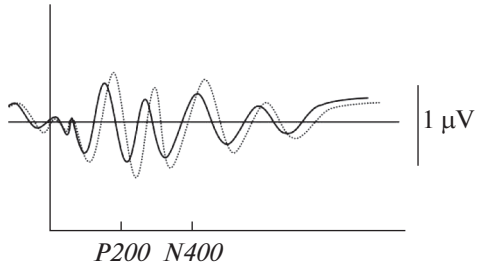

Рис. 4. Центральная теменная область (Cz) у больных шизофренией, парадоксальный эффект с уменьшением обоих параметров ВП (латентности и амплитуды). Сплошная линия – угрожающие стимулы, пунктирная линия – нейтральные стимулы.

Fig. 4. Central parietal region (Cz) in schizophrenic patients, a paradox effect with a decrease in both EP parameters (latency and amplitude). Solid line – threatening stimuli, dotted line – neutral stimuli.

префронтальной (Fp_2) (на компоненте *N400*) Парадоксальный эффект отмечался в виде уменьшения обоих параметров на более значимый стимул (рис. 3–4).

Межгрупповое сравнение

Ранние компоненты ВП (*P100*, *N170*).

У больных шизофренией в ответ на угрожающие стимулы и латентность и амплитуда компонента *N170* в лобных областях были больше, чем у здоровых, то есть наблюдалось парадоксальное состояние нейронных сетей на угрожающие стимулы.

Средний компонент *P200*.

У больных шизофренией в ответ на нейтральные стимулы и латентность и амплитуда волны *P200* в правой и центральной теменных областях (P_4, Pz), а также правой центральной (C_4) были меньше, а в правой лобной (F_4) больше, чем у здоровых что свидетельствовало о парадоксальном состоянии нейронных сетей при действии нейтральных стимулов.

При этом в левой височной и левой нижне-височной областях (T_3, T_5) у больных отмечались более короткая латентность и более высокая, чем у здоровых амплитуда на нейтральные стимулы, что свидетельствует о повышенной по сравнению с нормой активации при действии нейтральных стимулов через 200 мс после стимула.

В ответ на угрожающие стимулы у больных оба параметра в центральных левой и по средней линии (C_3, Cz) областях были меньше, а в лобных левой и центральной (F_7, Fz) больше, чем у здоровых (парадоксальное состояние нейронных сетей через 200 мс на угрожающие стимулы).

Поздние компоненты ВП (*P300*, *N400*).

У больных шизофренией на волне *P300* оба параметра ВП при действии нейтральных стимулов были больше, чем у здоровых в левой префронтальной области (Fp_1) и меньше, чем у здоровых в левых передне-височной (F_7), и центральных левой (C_3), и по средней линии (Cz) областях, то есть имело место парадоксальное состояние нейронных сетей через 300 мс после начала стимуляции.

На угрожающие стимулы на волне *P300* наблюдалось увеличение обоих параметров стимулов в следующих областях: правых префронтальной (Fp_2) и верхне-височной (F_8), центральных левой (C_3) и по средней линии (Cz), то есть выявлялось парадоксальное состояние нейронных сетей через 300 мс после начала стимуляции.

На волне *N400* в ответ на нейтральные стимулы и латентность и амплитуда у больных были больше, чем у здоровых, в левой (Fp_1), правой верхне-височной (F_8) и теменной области по средней линии (Pz), а в правых префронтальной (Fp_2) и височной областях оба эти параметра были меньше, что свидетельствовало о парадоксальном состоянии нейронных сетей при нейтральных стимулах через 400 мс.

Через 400 мс после начала стимуляции оба параметра этой волны в ответ на угрожающий стимул у больных были больше, чем у здоровых в левой префронтальной (Fp_1) и правой височной (T_6) областях, и меньше, чем в норме – в правой префронтальной области (Fp_2) что свидетельствовало о парадоксальном состоянии нейронных сетей при действии угрожающих стимулов через 400 мс.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В нашем исследовании показано, что угрожающие стимулы, как более значимые, вызывали большую активацию (укорочение латентности и увеличение амплитуды) в затылочных и задневисочных областях по сравнению с нейтральными у обеих групп испытуемых.

При внутригрупповом исследовании и у больных и у здоровых на значимые, отрицательные эмоциональные стимулы наблюдалась более выраженная активация височной и затылочной областей. Через 200 мс это имело место в правом, через 300 мс – в левом, а через 400 мс – снова в правом полушарии. Более высокая активация связана с более быстрой обработкой информации в нервных структурах и большим числом нейронов, участвующих в данной реакции [24].

При этом у больных, начиная с волны *P200*, в ответ на значимые стимулы отмечался эффект, который с точки зрения физиологии является парадоксальным. Так, через 200 мс после предъявления стимула в F_7 было увеличение и амплитуды и латентности волны *P200* и уменьшение обоих этих параметров в F_4, F_7 и Cz. Через 300 мс после стимула парадоксальные эффекты в виде увеличения обоих параметров отмечались в Fp_1 и F_8 и уменьшения – в F_7 и Cz. Через 400 мспарадоксальные эффекты наблюдались в Fp_1 и F_8 в виде увеличения обоих параметров и в Fp_2 в виде их уменьшения.

Таким образом, как в норме, так и у больных с первым эпизодом психоза с галлюцинаторно-параноидным синдромом в имплицитной ситуации отрицательные эмоциональные стимулы как более значимые вызывали повышенную (по сравнению с нейтральными стимулами) активацию височных и затылочных областей попеременно правого и левого полушарий. Это свидетельствует о сохранности при шизофрении основных механизмов мозговой оценки значимости раздражителей.

Однако наряду с этим, парадоксальные в физиологическом аспекте эффекты указывают на наличие у них патологического механизма, который обусловливает, с одной стороны, более медленную обработку информации (увеличение латентности), а с другой стороны – участие в реакции на данный раздражитель большего числа нейронов (увеличение амплитуды). Таким образом, сочетаются как бы обе противоположные характеристики состояния мозга – и возбуждение и торможение. Тот же самый смысл имеет и обратное сочетание – более быстрая обработка информации (уменьшение латентности) и понижение числа нейронов, участвующих в реакции (уменьшение амплитуды), которое также имеет место у больных. Представляет интерес, что все эти парадоксальные эффекты происходят в передних областях мозга, (преимущественно в лобных и префронтальных), ответственных за формирование бредовых переживаний [25]. Фронтальные области получают информацию от височных проекций, и роль "височного входа" очень велика при восприятии стимулов всех модальностей, так как он "фильтрует" все поступающие сигналы [26].

В то же время в обработке этой информации принимают участие и другие области коры и подкорковые структуры, а также корково-подкорковые связи. Особенно велика роль функции подкорковых, в частности, лимбических структур в эмоциональной сфере. MacLean считал, что эмоции определяются связями между филогенетически более старыми и новыми структурами мозга. В частности, по его мнению, в гиппокампе имеет место ассоциация висцеральных ощущений с восприятием физических характеристик внешнего стимула [27]. Сейчас описанные MacLean и Papez мозговые системы дополнены другими коррелятами эмоциональной переработки стимулов, но полностью подтверждены взгляды этих авторов на лимбическую систему как центр определения наиболее неожиданных и ярких (salient) стимулов в окружающей среде [28]. Особо важную роль в регуляции эмоций играет миндалина, которая получает информацию от всех сенсорных модальностей и участвует также в восприятии, памяти и познавательной деятельности [29, 30].

При шизофрении выявлено множество фактов, свидетельствующих о нарушении эмоциональной и когнитивной переработки стимулов. Методом фМРТ у больных не было выявлено нейронных коррелятов повышения активации левой миндалины, которое имело место у здоровых, хотя и те и другие испытывали схожие психологические реакции в ответ на предъявление лиц с грустным и счастливым выражением [31]. Целый ряд работ позволяет считать отсутствие адекватной активации миндалин эндотипическим признаком шизофрении с преобладанием параноидного синдрома [32, 33]. Однако в отдельных работах разницы в распознавании нейтральных и эмоциональных лиц у здоровых и больных шизофренией не обнаружено [34]. Причины расхождений могут быть разнообразными – малые выборки, гендерные различия, различия в медикаментозной терапии и разная степень привыкания к стимулам, что также оказывает влияние на выраженность активации. Однако в настоящее время доказано, что наибольшую роль в нарушении эмоциональной регуляции играет состояние префронтальной и орбито-фронтальной коры, тормозящее влияние которой определяет адекватные эмоциональные реакции.

ВП мозга из всех современных методов позволяют более точно получить сведения о физиологических механизмах восприятия в норме и его нарушении при патологии мозга [35]. В частности, это связано с тем, что псевдогаллюцинации, имеющиеся при шизофрении, по сути, и есть нарушение процесса восприятия, а ВП мозга представляют собой восприятие на физиологическом уровне.

Причина нарушений активации мозговых структур, возможно, кроется в дисбалансе этого процесса, проявляющемся при межгрупповом сопоставлении полученных данных.

При межгрупповом сравнении получены следующие результаты.

Самые ранние компоненты ВП не обнаруживают значимых отклонений от нормы в параметрах ВП, поскольку исследование проведено в имплицитной ситуации и не связано с влиянием инструкции. Из ранних компонентов ВП у здоровых и больных различия наблюдались только по компоненту *N170* в ответ на угрожающие стимулы: и латентность и амплитуда этого компонента у больных были больше, чем в норме, в лобных областях (F_7, F_8). Это можно характеризовать как парадоксальное состояние мозговых структур, участвующих в реакции лобных областей на данном периоде восприятия, которое имеет место при шизофрении.

У больных шизофренией латентность волны *P200* при действии нейтральных стимулов в T_3 и T_5 была меньше, а амплитуда больше, чем у здоровых, то есть при шизофрении имеет место патологическая активация височных областей левого полушария. Патологическое состояние височного входа в кору очень характерно для шизофрении [36].

Кроме того, на волне *P200* парадоксальное состояние мозговых структур у больных шизофренией наблюдается при действии нейтральных стимулов в F_4, где и латентность и амплитуда данного компонента были больше, чем у здоровых, и в C_4, P_3 и Pz, где оба параметра были меньше, чем у здоровых. В ответ на угрожающие стимулы парадоксальное состояние мозговых структур при шизофрении отмечается в F_7 и Fz, где параметры волны *P200* были больше, чем в норме, и в C_3 и Cz, где оба параметра ВП у больных были меньше.

Тот факт, что компонент *P200* в ответ на нейтральные стимулы у больных имеет и большую латентность и большую амплитуду, чем у здоровых в правой лобной области (F_4), свидетельствует о том, что в этой области проведение информации у больных замедлено по сравнению с нормой, но в реакции участвует больше нейронов – то есть в этой области отмечается парадоксальное состояние, при котором обработка информации производится медленнее, чем в норме, но в реакции участвует больше нейронов, чем в норме. Тот факт, что у больных отмечается более низкое по сравнению с нормой значение обоих параметров компонента *P200* в правых центральной и теменной, а также в теменной по средней линии областях, свидетельствует о более быстром у них проведении информации, которое, однако, осуществляется при участии в реакции меньшего, чем в норме, числа нейронов.

Волна *P200* является очень важным компонентом ВП, на котором происходит синтез информации о физических параметрах стимула и его значимости в прошлом опыте субъекта [18]. Таким образом, на этом этапе при шизофрении имеют место как нарушения оценки параметров стимулов, так и его значимости. Важнейшим последствием такой неадекватной оценки является неполноценная физиологическая основа возникновения субъективного ощущения, которое также формируется на данном этапе. Для его преодоления, по-видимому, и необходима дополнительная по сравнению с нормой активация височного входа на фоновые стимулы, которая способствует правильному распознаванию стимулов разной значимости, так как на этом этапе осуществляется реакция узнавания.

Изменение активации на нейтральные стимулы у больных шизофренией обнаруживается через 200 мс после предъявления стимулов. Во-первых, на волне *P200* отмечается повышенная по сравнению с нормой активация височных областей левого полушария (T_3, T_5). Таким образом, при шизофрении уже в этот временной период требуется более высокая активация для прохождения “височного входа” в кору даже для нейтральных стимулов, что соответствует представлению о нарушении его функции [36]. Известно также, что многие проявления неадекватной реакции на значимые стимулы у больных могут быть связаны именно с нарушением этой реакции на незначимые “фоновые” стимулы [37]. Во-вторых, волна *P200* в

лобной области (F_4) обнаруживает парадоксальный эффект в виде увеличения и латентности и амплитуды, а в правых центральной и теменной (C_4, P_4), а также в теменной по средней линии (Cz) – уменьшение этих параметров.

У волны *P300* в Fp_1 оба параметра – и латентность и амплитуда в ответ на нейтральные стимулы при шизофрении были больше, а в C_3, F_7 и Cz – меньше, чем в норме. На угрожающие стимулы в Fp_2, F_3, F_8 и C_4 оба эти параметра у больных были больше, чем у здоровых.

Латентность и амплитуда волны *N400* при действии нейтральных стимулов у больных шизофренией в Fp_1, F_8 и P_4 были больше, а в Fp_2 и T_6 – меньше, чем у здоровых. При угрожающих стимулах в Fp_1 и T_6 оба эти параметра у больных были больше, а в Fp_2 – меньше, чем в норме.

Полученные данные указывают на наличие при шизофрении парадоксального состояния мозговых структур в передних областях, то есть, на этапе восприятия, выраженном волной *P200*, с одной стороны, обработка информации является более быстрой, чем в норме, а с другой – число клеток, участвующих в реакции, у больных меньше, чем в норме.

Это парадоксальное состояние мозговых структур, по-видимому, и обусловливает парадоксальные эффекты патологической активации на значимые и незначимые стимулы, обнаруживающуюся при внутригрупповом сравнении.

На более поздних этапах восприятия (*P300*, *N400*) эта дополнительная активация уже не требуется. Однако парадоксальное по сравнению с нормой состояние мозговых структур в реакции на нейтральные стимулы продолжается, поскольку на волне *P300* имеет место увеличение обоих параметров стимула в левой префронтальной (Fp_1) и уменьшение их в левых лобной и центральной и центральной по средней линии областях (F_7, C_3, Cz). Продолжает сохраняться патологическое состояние и на волне *N400*: на нейтральные стимулы в виде увеличения обоих параметров стимулов в левой префронтальной, правых лобной и теменной областях (Fp_1, F_8, P_4) и уменьшения их в правых префронтальной и височной (Fp_2, T_6) областях.

На угрожающие стимулы патологическое состояние на волне *P300* остается в виде увеличения по сравнению с нормой обоих параметров этой волны в правой префронтальной, левой лобной (Fp_2, P_3), правых центральной (C_4) и верхне-височной (F_8) областях, а на волне *N400* – в виде увеличения обоих параметров в левой префронтальной (Fp_1) и правой височной (T_6) областях и уменьшения их в правой префронтальной (Fp_2) области.

P300 отражает процесс принятия перцептивного решения; в данной имплицитной ситуации у обеих групп сохраняется активация сенсорных областей как проекционных зон зрительного анализатора и "височного входа" в кору левого и попеременно полушария, что сочетается у больных с наличием парадоксальных эффектов в передних областях коры.

И, наконец, на волне *N400*, по-видимому, происходит проверка правильности восприятия "конгруэнтности" [38] путем одинаковой активации сенсорных областей и "височного входа" правого полушария, но с "подключением" у больных парадоксальных эффектов в передних областях обоих полушарий.

В нашем раннем исследовании фМРТ [23] этим же больным предъявлялись такие же угрожающие и нейтральные стимулы что и для ВП. Полученные результаты указывают на то, что у здоровых префронтальная кора участвовала в дифференцировании двух типов стимулов уже на ранних этапах их предъявлении, и в дальнейшем на значимые стимулы реакция осуществлялась темпоро-париетально-окципитальными областями. У больных дифференцирование на раннем этапе осуществлялось без участия префронтальной коры, в результате чего на заключительном этапе опознание

значимых стимулов осуществлялось с участием этой структуры, что требовало энергетических затрат, ресурсы которых ограничены. Кроме того было выявлено, что у больных активировалось больше структур лимбической системы, и их уровень активации был выше по сравнению с нормой, тогда как тормозная функция префронтальной коры была снижена.

ВЫВОДЫ

1. В ответ на эмоционально-отрицательные стимулы, как более значимые, наблюдалась активация в затылочных и задневисочных областях у больных шизофренией и здоровых испытуемых.

2. У больных при внутригрупповом сравнении обнаружено одновременное увеличение латентности и амплитуды ВП на значимые стимулы по сравнению с нейтральными в лобных областях, что не является конгруэнтным как для процесса возбуждения, так и для торможения.

3. При межгрупповом сравнении у больных выявлено повышение по сравнению со здоровыми обоих параметров компонентов ВП в лобных областях в ответ на значимые стимулы.

4. Как при внутригрупповом, так и при межгрупповом сравнении у больных шизофренией было обнаружено одновременное уменьшение и латентности и амплитуды ВП в центральных и височных областях коры мозга.

5. Выявленные у больных шизофренией парадоксальные проявления в виде одновременного увеличения или уменьшения обоих параметров компонентов ВП связаны с обнаруженными нами при исследовании фМРТ [23] изменениями в виде увеличения активации структур лимбической системы и снижения тормозной функции префронтальной коры.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа частично поддержана грантом Конкурс ориентированных фундаментальных исследований по актуальным междисциплинарным темам РФФИ № 17-29-02518 (Нейроиммунологический статус и особенности базовых когнитивно-эффективных архитектур головного мозга в норме и у больных шизофренией).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Darwin Charles*. The Expression of the Emotions in Man and Animals. London. John Murray. 1872.
2. *Тиганов А.С.* Руководство по психиатрии. Т. 1. М. Медицина. 1999. [*Tiganov A.S.* Psychiatric Guide. Vol. 1. Moscow. Medicine. 1999. (In Russ)].
3. *Ясперс К.* Общая психопатология. М. Практика. 1997. [*Jaspers K.* General psychopathology. Moscow. Practice. 1997. (In Russ)].
4. *Bleuler E.* Dementia Praecox or the Group of Schizophrenias. Leipzig und Wien. Franz Deuticke. 1911.
5. *Oliver D., Howes Shitij Kapur.* The Dopamine Hypothesis of Schizophrenia: Version III—The Final Common Pathway. Schizophr. Bull. 35(3): 549–562. 2009.
6. *Gepshtein S., Xiaoyan L., Snider J., Plank M., Lee D., Poizner H.* Dopamine Function and the Efficiency of Human Movement. J. Cognitive Neurosci. 26(3): 645–657. 2014.
7. *Pillon B., Czernecki V., Dubois B.* Dopamine and cognitive function. Current Opin. Neurol. 16(2): S17–S22. 2003.
8. *Chiew K.S., Braver T.S.* Positive affect versus reward: emotional and motivational influences on cognitive control. Front. Psychol. 2: 279. 2011.
9. *Gigg J., Tan A.M., Finch D.M.* Glutamatergic hippocampal formation projections to prefrontal cortex in the rat are regulated by GABAergic inhibition and show convergence with glutamatergic projections from the limbic thalamus. Hippocampus. 4(2): 189–198. 1994.
10. *Okubo Y., Suhara T., Suzuki K., Kobayashi K., Inoue O., Terasaki O., Someya Y., Sassa T., Sudo Y., Matsushima E., Iyo M., Tateno Y., Toru M.* Decreased prefrontal dopamine D1 receptors in schizophrenia revealed by PET. Nature. 385(6617): 634–636. 1997.

11. *McAllister A.K.* Dynamic aspects of CNS synapse formation. Annu. Rev. Neurosci. 30: 425–450. 2007.
12. *Faludi G., Mirnics K.* Synaptic changes in the brain of subjects with schizophrenia. Int. J. Dev. Neurosci. 29(3): 305–309. 2011.
13. *Heinz A., Schlagenhauf F.* Dopaminergic dysfunction in schizophrenia: salience attribution revisited. Schizophr. Bull. 36: 472–485. 2010.
14. *Ford J.M.* Studying Auditory Verbal Hallucinations Using the RDoC framework. Psychophysiology. 53(3): 298–304. 2016.
15. *Стрелец В.Б., Архипов А.Ю.* Влияние угрожающих стимулов на компонент вызванных потенциалов Р200 у больных параноидной шизофренией. Физиология человека. 41(5): 66–73. 2015. [*Strelets V.B., Arkhipov A.Yu.* Influence of threatening stimuli on the P200 component of evoked potentials in patients with paranoid schizophrenia. Human Physiology. 41(5): 66–73. 2015. (In Russ)].
16. *Sanfratello L., Houck J.M., Calhoun V.D.* Relationship between MEG global dynamic functional network connectivity measures and symptoms in schizophrenia. Schizophr. Res. 2019.
17. *Clementz B.A, Geyer M.A, Braff D.L.* P50 suppression among schizophrenia and normal comparison subjects: A methodological analysis. Biol. Psychaitry. 41: 1035–1044. 1997.
18. *Иваницкий А.М., Стрелец В.Б., Корсаков И.А.* Информационные процессы мозга и психическая деятельность. Наука. 1984. [*Ivanitsky A.M., Strelets V.B., Korsakov I.A.* Informational processes of the brain and mental activity. Nauka. 1984. (In Russ)].
19. *Hillyard S.A., Vogel E.K., Luck S.J.* Sensory gain control (amplification) as a mechanism of selective attention: Electrophysiological and neuroimaging evidence. Philosoph. Transact. Royal Soc.: Biol. Sci. 353: 1257–1270. 1998.
20. *Näätänen R., Pakarinen S., Rinne T., Takegata R.* The mismatch negativity (MMN): towards the optimal paradigm. Clin. Neurophysiol. 115: 140–144. 2007.
21. *Polich J.* Clinical application of the P300 event-related potential. Phys. Med. Rehab. Clinics. 15: 133–161. 2004.
22. *Ochsner K.N., Ray R.R., Hughes B., McRae K., Cooper J.C., Weber J., Gabrieli J.D., Gross J.J.* Bottom-up and top-down processes in emotion generation common and distinct neural mechanisms. Psychol. Sci. 20(11): 1322–1331. 2009.
23. *Arkhipov A.Y., Maslennikova A.V., Ushakov V.L., Strelets V.B.* FMRI on affective stimuli in patients with paranoid schizophrenia. Curr. Trends Biomed. Eng. & Biosci. 7(4): 555718. 2017.
24. *Woodman G.F.* A Brief Introduction to the Use of Event-Related Potentials (ERPs) in Studies of Perception and Attention. Atten. Percept. Psychophys. 72 (8): 2031–2046. 2010.
25. *Gonzalez-Burgos G., Cho R.Y., Lewis D.A.* Alterations in cortical network oscillations and parvalbumin neurons in schizophrenia. Biol. Psychiatry. 77(12): 1031–1040. 2015.
26. *Burwell R.D.* The parahippocampal region: corticocortical connectivity. Ann. N.Y. Acad. Sci. 911: 25–42. 2000.
27. *MacLean P.D.* Some psychiatric implications of physiological studies on frontotemporal portion of limbic system (visceral brain). Electroencephal. Clin. Neurophysiol. 4: 407–418. 1957.
28. *Дягтерев В.П., Перцов С.С.* Нейрофизиология. Москва. ГЭОТАР-Медиа. 2018. [*Dyagterev V.P., Pertsov S.S.* Neurophysiology. Moscow. GEOTAR-Media.2018. (In Russ)].
29. *LeDoux J.* The emotional brain, fear, and the amygdala. Cell. Mol. Neurobiol. 23(4–5): 727–738. 2003.
30. *Симонов П.В.* Эмоциональный мозг. Москва. Наука. 1981. [*Simonov P.V.* The emotional brain. Moscow. Nauka. 1981. (In Russ)].
31. *Weiss U., Salloum J.B., Schneider F.* Correspondence of emotional self-rating with facial expression. Psychiatry Res. 86(2): 175–184. 1999.
32. *Kosaka H., Omori M., Murata T., Iidaka T., Yamada H., Okada T., Takahashi T., Sadato N., Itoh H., Yonekura Y., Wada Y.* Differential amygdala response during facial recognition in patients with schizophrenia: an fMRI study. Schizophr. Res. 57: 87–95. 2002.
33. *Fernandez-Egea E., Parellada E., Lomena F., Falcon C., Pavia J., Mane A., Horga G., Bernardo M.* FDG PET study of amygdalar activity during facial emotion recognition in schizophrenia. Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci. 260: 69–76. 2010.
34. *Holt D.J., Boeke E.A., Coombs G. 3rd, DeCross S.N., Cassidy B.S., Stufflebeam S., Rauch S.L., Tootell R.B.* Abnormalities in personal space and parietal-frontal function in schizophrenia. Neuroimage Clin. 9: 233–243. 2015.
35. *Гнездицкий В.В.* Вызванные потенциалы мозга в клинической практике. Таганрог. ТРТУ. 1997. [*Gnezditsky V.V.* Evoked brain potentials in clinical practice. Taganrog. TRTU. 1997. (In Russ)].
36. *Horn D., Ruppin E.* Compensatory mechanisms in an attractor neural network model of schizophrenia. Neural. Comput. 7(1): 182–205. 1996.
37. *Horton H.K., Silverstein S.M.* Visual context processing deficits in schizophrenia: effects of deafness and disorganization. Schizophr. Bull. 37(4): 716–726. 2011.
38. *Kutas M., Federmeier K.D.* N400. Scholarpedia. 4: 7790. 2009.

Analysis of Paradoxical Neurophysiological Reactions at Different Stages of Perception of Negative Emotional Stimuli in Patients with Schizophrenia

V. B. Strelets[a], G. I. Rodionov[a], M. K. Nurbekov[b], V. L. Ushakov[c], and A. Yu. Arkhipov [a, *]

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

[b] *Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia*

[c] *NIC "Kurchatov Institute", Moscow, Russia*

**e-mail: arhip76@bk.ru*

The article is aimed at the study of brain activation to neutral and emotionally significant (threatening) stimuli with evoke potential (EP) method in patients with paranoid schizophrenia and healthy controls. It was shown that threatening stimuli, as more significant, cause greater activation (shortening of latency and increase of amplitude) in the occipital and posterior temporal regions to such stimuli in comparison with neutral ones both in patients and in norm in an intragroup assessment. After 200 ms this increase was observed in the right, after 300 ms – in the left, and after 400 ms – again in the right hemisphere. However, in patients, at the P200 wave, to significant stimuli, there began a physiologically paradoxical effect. In the left lower frontal area there was an increase in both amplitude and latency of the P200 wave and a decrease in both these parameters in the right frontal and central midline areas. 300 ms after the stimulus paradoxical effects (PE) in the form of increase of both parameters were observed in left prefrontal and right lower frontal areas, and a decrease – in the left lower frontal and central midline areas. After 400 ms, PE was observed in left prefrontal and right lower frontal areas as an increase in both parameters and in the right prefrontal – as their decrease. An intergroup comparison showed that patients had either a simultaneous increase or decrease of both parameters of all components of evoked potentials (ERP) starting with the P200 in comparison with norm, thus indicating the pathological state (PS) of the anterior brain regions in response to emotionally significant stimuli, which may be caused by several alternative factors. This can be explained by a disturbance of neural connections due to the pathological process of aberrant pruning in patients with schizophrenia.

Keywords: paranoid schizophrenia, evoked potentials, paradoxical effect

ЦИТИРОВАТЬ:

Стрелец В.Б., Родионов Г.И., Нурбеков М.К., Ушаков В.Л., Архипов А.Ю. Анализ парадоксальных нейрофизиологических реакций на разных этапах восприятия отрицательных эмоциональных стимулов у больных шизофренией. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 107(1): 119–132. 2021.

DOI: 10.31857/S086981392101012X

TO CITE THIS ARTICLE:

Strelets V.B., Rodionov G.I., Nurbekov M.K., Ushakov V.L., Arkhipovs A.Yu. Analysis of paradoxical neurophysiological reactions at different stages of perception of negative emotional stimuli in patients with schizophrenia. Russian Journal of Physiology. 107(1): 119–132. 2021.

DOI: 10.31857/S086981392101012X