

ISSN 0044-4677

Том 74, Номер 6

Ноябрь - Декабрь 2024



ЖУРНАЛ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

имени И.П. Павлова



НАУКА

— 1727 —

СОДЕРЖАНИЕ

Том 74, Номер 6, 2024

Обзоры и теоретические статьи

| | |
|---|-----|
| Гетеросинаптическая пластичность: один термин, обозначающий разные феномены <i>И. В. Смирнов, А. Ю. Малышев</i> | 643 |
| Память и время <i>П. М. Балабан, А. А. Бородинова</i> | 657 |
| Роль деполимеризации актина в изменении тормозных влияний на долговременную потенциацию возбуждающих синапсов гиппокампа крыс <i>И. В. Курдяшова</i> | 667 |
| Фундаментальные исследования и практическое использование нейропротекторных свойств GDNF при нейродегенеративных нарушениях <i>Д. В. Шамадыкова, Г. В. Павлова</i> | 687 |

Физиология высшей нервной (когнитивной) деятельности человека

| | |
|--|-----|
| Смещение внимания в парадигме эмоционального Струп теста у девушки с вегетативной дисфункцией различной выраженности <i>Е. С. Михайлова, А. Б. Кушнир, Н. Ю. Герасименко</i> | 701 |
| ФМРТ-исследование связи нейротизма с индивидуальными различиями в активности мозга в процессе социальных взаимодействий <i>Г. Г. Князев, А. Н. Савостьянов, А. В. Бочаров, А. Е. Сапрыгин</i> | 717 |

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

| | |
|--|-----|
| Длительная социальная изоляция ухудшает обучение в задаче двустороннего активного избегания у самок крыс <i>Н. А. Крупина, Н. Н. Хлебникова</i> | 727 |
|--|-----|

Методика

| | |
|---|-----|
| Хроническая визуализация морфологии дендритных шипиков у трансгенных мышей гибридной линии 5XFAD-М, являющихся моделью болезни Альцгеймера <i>А. Е. Матухно, П. В. Ткачёва, В. Б. Войнов, Л. В. Лысенко, Е. В. Евсюкова, А. О. Тайсаева, И. Б. Безпрозванный</i> | 742 |
|---|-----|

| | |
|--|-----|
| Когнитивный тест на «неисчезаемость». Модифицированный вариант для крыс <i>А. Г. Королёв, П. Д. Огурцов, А. Н. Иноземцев, И. И. Полетаева</i> | 756 |
|--|-----|

Информация

| | |
|------------------------------------|-----|
| Авторский указатель т. 74, 2024 г. | 761 |
| Правила для авторов | 764 |

CONTENTS

Vol. 74, No. 6, 2024

Reviews and theoretical articles

| | |
|--|-----|
| Heterosynaptic plasticity: one name for several phenomena <i>I. V. Smirnov, A. Yu. Malyshev</i> | 643 |
| Time and memory <i>P. M. Balaban, A. A. Borodinova</i> | 657 |
| The role of action depolymerization in the changes of inhibitory control during long-term potentiation of excitatory transmission in the rat hippocampus <i>I. V. Kudryashova</i> | 667 |
| Fundamental research and practical application of GDNF as a neuroprotective agent in neurodegenerative diseases <i>D. V. Shamadykova, G. V. Pavlova</i> | 687 |

Physiology of higher nervous (mental) activity in humans

| | |
|---|-----|
| Attentional biases in emotional Stroop test in girls with vegetative dysfunction of varying severity <i>E. S. Mikhailova, A. B. Kushnir, N. Yu. Gerasimenko</i> | 701 |
| The relationship of neuroticism to individual differences in the dynamics of brain activity during social interactions <i>G. G. Knyazev, A. N. Savostyanov, A. V. Bocharov, A. E. Saprigyn</i> | 717 |

Physiology of behavior: perception, locomotion, learning and memory

| | |
|--|-----|
| Long-term social isolation impairs learning in a two-way active avoidance task in female rats <i>N. A. Krupina, N. N. Khlebnikova</i> | 727 |
|--|-----|

Methods

| | |
|---|-----|
| Chronic imaging of dendritic spine morphology in 5xFAD-M hybrid line mice of Alzheimer's disease model <i>A. E. Matukhno, P. V. Tkacheva, V. B. Voinov, L. V. Lysenko, E.V. Evsyukova, A.O. Taisaeva, I. B. Bezprozvanny</i> | 742 |
|---|-----|

“Object permanence” test for rats. First experiments

| | |
|--|-----|
| <i>A. G. Korolev, P. D. Ogourtsov, A. N. Inozemtsev, I. I. Poletaeva</i> | 756 |
|--|-----|

Information

| | |
|---------------------------------|-----|
| Author Index to Volume 74, 2024 | 761 |
| Instruction to authors | 764 |

ОБЗОРЫ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 612.822 + 577.35

ГЕТЕРОСИНАПТИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ: ТЕРМИН, ОБОЗНАЧАЮЩИЙ РАЗНЫЕ ФЕНОМЕНЫ

© 2024 г. И. В. Смирнов, А. Ю. Малышев*

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

*e-mail: malyshev@ihna.ru

Поступила в редакцию 25.04.2024 г.

После доработки 09.09.2024 г.

Принята к публикации 09.09.2024 г.

Считается, что синаптическая пластичность, представляющая собой долговременные изменения эффективности синаптической передачи в виде потенциации и депрессии, является клеточным механизмом обучения и памяти. Долговременную потенциацию и депрессию можно индуцировать в разнообразных экспериментальных условиях с помощью множества протоколов индукции. Одним из таких примеров является протокол, следующий правилу Хебба, когда для индукции пластичности необходима сочетанная активация пре- и постсинаптического нейрона, происходящая в узком временном окне друг относительно друга. Такую пластичность называют гомосинаптической, поскольку те же самые (гомо- – греческая приставка, обозначающая «тот же самый, идентичный») синапсы, которые принимали участие в индукции пластичности, и претерпевают долговременные изменения. Однако, как показывают многочисленные эксперименты, синапсы, которые были неактивны во время индукции пластичности, также подвергаются долговременным модификациям. Этот процесс в исследованиях на млекопитающих получил название гетеросинаптической пластичности (гетеро- – «иной, различный»). Однако исторически впервые термин «гетеросинаптическая пластичность» возник в исследованиях, проведенных на моллюсках, где пластическая модификация синаптической передачи вызывалась сочетанием стимуляции «слабого» и «сильного» синаптических входов. Как впоследствии было показано, потенцирующий эффект стимуляции «сильного» входа в этом случае связан с выбросом нейромодуляторов, в первую очередь серотонина. Позже данный тип пластичности также был показан для млекопитающих, где он получил название модулированной пластичности. В обзоре рассматриваются различные виды гетеросинаптической пластичности, клеточные и молекулярные механизмы их индукции и поддержания и объясняются причины существования в литературе некоторой терминологической путаницы, связанной с данным феноменом.

Ключевые слова: синаптическая пластичность, гетеросинаптическая пластичность, гомосинаптическая пластичность, правило Хебба, нейромодуляция, локально координированная пластичность, структурная пластичность, обучение, память

DOI: 10.31857/S0044467724060019

1. ГЕТЕРОСИНАПТИЧЕСКАЯ ФАСИЛИТАЦИЯ НА АПЛИЗИИ

В 1965 году Кендел и Таус опубликовали пионерскую работу, в которой описали клеточный механизм, лежащий в основе простого ассоциативного обучения (условного рефлекса) морского моллюска аплазии (Kandel, Tauss, 1965a). В серии последовавших затем работ были детально описаны молекулярные, клеточные и поведенческие механизмы простых форм обучения на этом животном. На уровне целого животного ассоциативное обучение заключалось в том, что после ряда сочетаний сильного болевого стимула, нанесенного

в область головы или хвоста, со слабым тактильным (прикосновением к сифону) сам по себе слабый тактильный стимул начинал вызывать оборонительную реакцию, чего не наблюдалось до сочетаний (до обучения) (Kandel, Tauss, 1965a). На клеточном уровне было показано, что в основе этого обучения лежит увеличение эффективности синаптической передачи (fasilitacija) между механосенсорными нейронами, передающими информацию о прикосновении к сифону, и моторнейронами, опосредующими оборонительную реакцию (отдергивание хвоста или жабры) (Kandel, Tauss, 1965b). Как было в дальнейшем показано, клеточным механизмом фасилитации является

выделение специализированными нейронами – интернейронами – нейромодуляторов (главным образом серотонина) одновременно с активацией пре- и постсинаптических нейронов. Данный эффект был назван гетеросинаптической фасилитацией (гетеро- – другой), поскольку другой (т.е. отличный от тестируемого) синапс выступает индуктором пластических изменений. Гетеросинаптическая фасилитация может быть как ассоциативной (как в вышеописанном примере), так и неассоциативной, и тогда на поведенческом уровне это будет выражаться в виде сенситизации. Сенситизация на аплизии заключается в том, что если сильный болевой стимул не сочетать со слабым тактильным, то это также приведет к появлению оборонительного ответа на слабый тактильный стимул, но этот ответ будет менее выраженным и исчезнет быстрее, чем в случае с сочетанной стимуляцией (Carew et al., 1971; Pinsker et al., 1973). В ходе последующих исследований было обнаружено, что ассоциативное обучение и, соответственно, ассоциативная синаптическая фасилитация по своим механизмам являются смешанными, сочетающей в себе элементы гомо- и гетеросинаптической пластичности, в то время как неассоциативная сенситизация и лежащая в ее основе фасилитация сенсомоторной синаптической связи являются чисто гетеросинаптическим феноменом (Bailey et al., 2000). Таким образом, в случае сенситизации активация одних только модуляторных нейронов, в первую очередь серотониновых, обеспечивает потенциацию глутаматергической синаптической связи, в которой как пре-, так и постсинаптические нейроны «молчали» во время индукции пластичности. Данный феномен легко воспроизводится на препарате изолированной ЦНС аплизии или даже культуре нейронов, когда 5-кратная аппликация серотонина вызывает долговременное, длившееся до нескольких суток увеличение амплитуды синаптической передачи между сенсорным и моторным нейронами (Montarolo et al., 1986). Здесь необходимо отметить, что существует принципиальная разница между первичной культурой нейронов млекопитающих и моллюсков. В первом случае используются незрелые нейроны, извлеченные из эмбрионального мозга, которые в процессе созревания культуры устанавливают между собой синаптические связи в случайном порядке и зачастую формируют свойственные нормальному мозгу связи, например аутапсы (Bekkers, 2020). В случае культуры нейронов моллюсков используются, как правило, идентифицированные и полностью дифференцированные нейроны из мозга взрослых, хотя и молодых особей, и эти нейроны устанавливают между собой только такие связи, которые уже существовали в ЦНС. Поэтому данные, полученные на культурируемых нейронах моллюсков, гораздо более релевантны тому, что происходит в целом мозге, по сравнению

с ситуацией с использованием первичной культуры нейронов коры и гиппокампа лабораторных грызунов. Именно на ко-культуриваемых сенсорном и моторном нейронах аплизии было показано, что 5-кратная аппликация серотонина вызывает увеличение амплитуды глутаматергического ВПСП между клетками, длившееся более суток (Montarolo et al., 1986). Отличительной особенностью данной системы является то, что пре- и постсинаптический нейрон можно зарегистрировать внутриклеточно при помощи острых электродов, протестировать связь, после чего аккуратно «выйти» из нейронов, поставить чашку в ламинар и на следующий день снова «войти» в нейроны электродами и повторить измерение. Было показано, что аппликация серотонина вызывает увеличение активности ПКА, что, в свою очередь, через МАП-киназу активирует КРЕБ и запускает синтез генов, обеспечивающих в том числе образование новых синаптических связей между клетками (Bartsch et al., 1998; Dash et al., 1990; Kaang et al., 1993; Martin et al., 1997). Если ассоциативная модулированная пластичность, опосредующая формирование условного рефлекса на аплизии, была впоследствии показана на позвоночных (см. далее), то модуляторная гетеросинаптическая фасилитация на аплизии, при которой один только нейромодулятор может вызвать долговременное изменение эффективности синаптической передачи, как представляется, является феноменом, свойственным только беспозвоночным животным.

Интересно, что на аплизии, как и на других животных, существует еще одна форма простейшего обучения – привыкание, или габитуация, которое выражается в том, что оборонительный ответ на тактильный стимул умеренной интенсивности снижается при многократном повторении такого стимула. В основе этой формы пластичности лежат чисто гомосинаптические механизмы – депрессия синаптической передачи между сенсорными и моторными нейронами (Kupfermann et al., 1970; Pinsker et al., 1970).

2. ГЕТЕРОСИНАПТИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ, ИНДУЦИРОВАННАЯ ПОТЕНЦИАЛАМИ ДЕЙСТВИЯ В ПОСТСИНАПТИЧЕСКОМ НЕЙРОНЕ

В 1973 году Блисс и Ломо открыли феномен долговременной потенциации (ДВП) в гиппокампе (Bliss, Lomo, 1973), которая на долгие годы стала одной из главных экспериментальных моделей для изучения механизмов синаптической пластичности. Феномен ДВП заключается в долговременном увеличении амплитуды синаптических ответов после высокочастотной стимуляции волокон пресинаптических нейронов (Bliss, Lomo, 1973).

Затем в 1977 году появляется работа, в которой демонстрируется, что при индукции ДВП синаптических входов, приходящих на апикальные дендриты пирамидных нейронов области CA1 гиппокампа, параллельно возникает долговременная депрессия (ДВД) других синаптических входов, приходящих на базальные дендриты этих же нейронов (Lynch et al., 1977). И наоборот, индукция ДВП на базальных дендритах приводит к ДВД апикальных входов. Снижение эффективности синаптической передачи нестимулируемых входов авторы называют гетеросинаптической долговременной депрессией, поскольку в данном эксперименте модификация, возникшая в одних синапсах, повлияла на эффективность тестируемых (гетеро-, т.е. других) синапсов. При терминологической схожести гетеросинаптической потенциации на апилзии и гетеросинаптической депрессии на гиппокампе видно, что между этими явлениями существует принципиальная разница. В первом случае модификация тестируемого синапса обеспечивается нейромодуляторным влиянием серотонинергического (гетеро-, другого) синапса. В случае же гетеросинаптической депрессии на гиппокампе в модели Линча гетеросинаптическая депрессия (ДВД) запускается активностью постсинаптического нейрона (Christofi et al., 1993).

После пионерской работы Линча было опубликовано большое количество исследований, описывающих гетеросинаптические изменения, происходящие в нестимулируемых при выработке гомосинаптической ДВП синаптических входах нейронов (Christie et al., 1994), см. обзор (Chistiakova et al., 2015). Первоначальный анализ результатов экспериментов, где исследовались фокальные синаптические ответы на переживающих срезах гиппокампа, показывал, что гомо- и гетеросинаптическая пластичности являются взаимосвязанными процессами и что гомосинаптическая ДВП на апикальных синапсах индуцирует гетеросинаптическую ДВД на базальных дендритах. Эта идея основывалась на ряде работ, авторы которых обнаружили, что для индукции как гомосинаптической ДВП, так и гетеросинаптической ДВД требуется активация NMDA-каналов (Artola et al., 1990; Desmond et al., 1991; Wickens, Abraham, 1991). Однако в работе Bradler и Barrio Nuevo было обнаружено, что выработка гетеросинаптической долговременной депрессии возможна и без возникновения гомосинаптической ДВП (Bradler, Barrio Nuevo, 1990). Кроме того, в одной из работ было показано, что выработка гетеросинаптической ДВД, но не гомосинаптической ДВП, предотвращается блокадой потенциал-зависимых кальциевых каналов L-типа (Wickens, Abraham, 1991).

В последующих экспериментах с внутриклеточной регистрацией было обнаружено, что сама по себе индукция пачек потенциалов действия в постсинаптическом нейроне достаточна для

развития гетеросинаптической ДВД даже в отсутствие синаптической активности (Christofi et al., 1993). В этой работе авторы показали, что в условиях блокады синаптической передачи как с помощью высоких концентраций магния (25 мМ), так и в присутствии антагониста AMPA-рецепторов CNQX долговременная депрессия может быть вызвана в коллатералах Шаффера поля CA1 путем индукции высокочастотных пачек потенциалов действия в постсинаптических нейронах, в том числе в присутствии блокатора NMDA-каналов AP-5. Кроме того, в этой работе также было показано, что индукция гетеросинаптической ДВД является кальций-зависимой. Таким образом, авторы предполагают, что гетеросинаптическая депрессия может вызываться независимо от гомосинаптической ДВП. В последующем такая индукция пластичности высокочастотными пачками потенциалов действия, вызываемых в постсинаптических нейронах, по аналогии с тетанизацией коллатералей Шаффера во время индукции ДВП на срезах гиппокампа, получила название внутриклеточной тетанизации (Volgshev et al., 1994). В 1994 году была опубликована работа, в которой авторы применяли внутриклеточную тетанизацию постсинаптических нейронов поля CA1 гиппокампа в срезах гиппокампа морской свинки и показали, что такая стимуляция приводит в основном к возникновению долговременной потенциации синаптических входов на этот нейрон, приходящих по коллатералам Шаффера (Kuhnt et al., 1994). При этом, однако, часть из зарегистрированных входов подвергалась ДВД. Существующее противоречие между описанными выше двумя работами можно объяснить различиями в использованных протоколах стимуляции постсинаптического нейрона. В работе Кристофи и соавт. всего вызывалось 6–9 пачек потенциалов действия с достаточно низкой частотой, около 30 Гц и длительностью 500 мс, в то время как в работе Кунта и соавторов ДВП возникала при индукции 10–30 пачек потенциалов действия с частотой 100 Гц и длительностью 200 мс. Согласно модели Лисмана направление долговременной синаптической пластичности определяется амплитудой и кинетикой изменения концентрации кальция в постсинаптическом нейроне (Lisman, 1989): кратковременное сильное повышение концентрации кальция в постсинаптическом нейроне является индуктором ДВП, в то время как более медленное низкоамплитудное повышение концентрации кальция индуцирует ДВД, что было продемонстрировано в одной из экспериментальных работ (Yang et al., 1999). Таким образом, можно предполагать, что более высокочастотные и короткие пачки потенциалов действия, использованные в работе Кунта и соавторов, вызывают более высокоамплитудные, но короткие всплески концентрации кальция, которые сами по себе являются индукторами

ДВП, в то время как более длинные низкочастотные пачки потенциалов действия в работе Кристофи и соавт. вызывают медленное низкоамплитудное повышение внутриклеточной концентрации ионов кальция и таким образом индуцируют ДВД.

Из сказанного выше можно предположить, что в основе феномена гетеросинаптической пластичности, впервые описанного Линчем, лежит обратное проведение пачек потенциалов действия, которые индуцируют вход ионов кальция через потенциал-зависимые кальциевые каналы L-типа, и в зависимости от частоты и количества потенциалов действия в пачке в синаптических входах на данный нейрон может возникать как гетеросинаптическая ДВП, так и гетеросинаптическая ДВД.

В дальнейшем было показано, что протокол внутриклеточной тетанизации вызывает синаптические перестройки не только в нейронах гиппокампа, но и в клетках различных отделов неокортика. Достаточно подробно эта модель изучалась на срезах зрительной коры грызунов (Chasse et al., 2021; Chistiakova et al., 1999, 2019; Simonova et al., 2019; Volgushev et al., 1994). В этих работах было показано, что внутриклеточная тетанизация способна вызвать как ДВП, так и ДВД исследуемых синаптических входов. Кроме зрительной коры данный вид пластичности был обнаружен также в слуховой коре (Lee et al., 2012) и таламусе (Sieber et al., 2013). Кроме того, также было показано, что внутриклеточная тетанизация вызывает долговременные синаптические перестройки глутаматергических входов на тормозные интернейроны неокортика (Chistiakova et al., 2019). Интересно, что схожий вид пластичности был также описан в нейронах виноградной улитки. Так, было показано, что внутриклеточная тетанизация командного нейрона оборонительного поведения виноградной улитки приводит к долговременному увеличению амплитуды ВПСП, вызванных стимуляцией афферентного нерва (Bravarenko et al., 1995). Интересно, что данная потенциация была серотонин-зависимой, однако, по всей видимости, непосредственно в момент выработки пластичности выброс серотонина не происходил, а требовалось лишь его присутствие в мозге на некотором уровне, который достигался лишь в определенные сезоны года (Malyshev et al., 1997).

Таким образом, внутриклеточная тетанизация постсинаптических нейронов является валидной моделью для изучения механизмов гетеросинаптической пластичности не только в гиппокампе, но и в других отделах мозга.

Выше было описано, что применение протокола внутриклеточной тетанизации может приводить к появлению как гетеросинаптической ДВП, так и гетеросинаптической ДВД. При более детальном исследовании этой экспериментальной модели было обнаружено, что данный вид пластичности

носит сбалансированный характер, то есть количество синаптических входов, претерпевающих гетеросинаптическую ДВП после внутриклеточной тетанизации, примерно равно количеству входов, претерпевающих ДВД (Chistiakova et al., 2014). Более того, даже протоколы сочетанной стимуляции, обычно используемые для индукции ДВП, зачастую вызывают развитие ДВД, то есть можно говорить, что направление долговременной синаптической пластичности, кроме используемых экспериментальных моделей, также зависит от каких-то иных факторов, например предыстории данного синапса.

При проведении экспериментов с использованием модели внутриклеточной тетанизации было обнаружено, что направление изменения синаптического ответа после тетанизации положительно коррелирует с изначальным значением коэффициента парной стимуляции (Paired-pulse ratio; PPR), который вычисляется как отношение амплитуды второго синаптического ответа к амплитуде первого при парной стимуляции с небольшим интервалом (например, 50 мс) (Lee et al., 2012; Volgushev et al., 1999). В данных работах показано, что внутриклеточная тетанизация может вызывать как гетеросинаптическую ДВП, так и гетеросинаптическую ДВД, в зависимости от изначального PPR исследуемых синапсов. Принято считать, что PPR является характеристикой пресинаптических волокон (Xu-Friedman, Regehr, 2004). В прямых измерениях было показано, что этот параметр отражает вероятность выброса медиатора в различных синапсах (Dobrunz, Stevens, 1997). Тем не менее этот параметр также зависит и от постсинаптической части синапса и регулируется через кальциевые каналы L-типа и NMDA-рецепторы и не всегда изменяется при изменении вероятности выброса медиатора (Akopian, Walsh, 2002; Manita et al., 2007; Watanabe et al., 2005). Однако поскольку в экспериментах с внутриклеточной тетанизацией исследуется гомогенная популяция нейронов, находящихся в одинаковых условиях, можно предполагать, что в этой ситуации, в первом приближении, PPR является характеристикой именно вероятности выброса медиатора из пресинаптических волокон. Таким образом, в экспериментах с внутриклеточной тетанизацией чисто постсинаптическое воздействие вызывает изменения, которые зависят от состояния пресинапса. Возникает важный для понимания механизмов гетеросинаптической пластичности вопрос: как тетанируемый постсинаптический нейрон «узнает», какой PPR имеет данный синапс, и должен ли он подвергнуться гетеросинаптической ДВП или ДВД после тетанизации? В одной из работ на срезах зрительной коры крыс было показано, что блокада NMDA-рецепторов с помощью AP-5 приводит к исчезновению гетеросинаптической ДВД, но не гетеросинаптической ДВП,

после внутриклеточной тетанизации (Chistiakova et al., 1999). В ряде работ было показано, что частота миниатюрных возбуждающих постсинаптических токов, а также фоновая концентрация глутамата в синапсе зависят от вероятности выброса медиатора пресинаптическим окончанием (Prange, Murphy, 1999). Поскольку синаптические входы с низким PPR (склонные к гетеросинаптической ДВД) имеют более высокую вероятность выброса медиатора, то можно полагать, что одним из механизмов, обеспечивающим выбор между гетеросинаптической ДВП и гетеросинаптической ДВД, является фоновая концентрация глутамина в синаптической щели, которая выше у входов с более высокой вероятностью выброса медиатора. Этот результат также косвенно подтверждает, что в описанных экспериментах, в которых исследовался эффект блокатора NMDA-рецепторов на пластичность, вызванную внутриклеточной тетанизацией, значение PPR действительно отражает вероятность выброса медиатора из пресинаптического окончания. Таким образом, для возникновения гетеросинаптической ДВД важен не просто сам факт увеличения внутриклеточной концентрации ионов кальция, но и путь, через который этот кальций поступает внутрь нейронов. Для развития этого типа гетеросинаптической пластичности в дополнение ко входу кальция через каналы L-типа, по всей видимости, необходим также вход кальция через NMDA-каналы.

Внутриклеточная тетанизация пирамидных нейронов неокортикса вызывает сбалансированные изменения в синаптических входах: примерно в трети входов развивается ДВП, в другой трети – ДВД, и оставшуюся треть представляют непластичные синапсы. Тем не менее существует ряд работ, где показано, что внутриклеточная тетанизация может приводить и к несбалансированным изменениям. Во-первых, было показано, что в новообразованных нейронах гиппокампа внутриклеточная тетанизация в основном приводит к ДВП тормозных входов на апикальные дендриты этих клеток (Simonova et al., 2022). С другой стороны, было показано, что внутриклеточная тетанизация приводит к возникновению ДВП ГАМКергических входов на пирамиды 5 слоя боченковой коры (barrel cortex) от парвальбумин-положительных (PV), но не соматостатин-содержащих (SST) нейронов (Lourenço et al., 2014). Поскольку основная часть синаптических входов от PV-интернейронов располагаются перисоматически, а от SST-нейронов приходят на дистальную часть апикального дендрита, авторы предполагают, что использованные в этих экспериментах пачки потенциалов действия не вызывают в дистальных дендритах подъема уровня кальция, достаточного для индукции гетеросинаптической ДВП. Схожая ситуация наблюдалась также в таламокортикальных

нейронах, в которых внутриклеточная тетанизация приводила к развитию ДВП тормозных входов (Sieber et al., 2013).

При исследовании связи изначального PPR с направлением развития гетеросинаптической пластичности было продемонстрировано, что как блокада NO-синтазы (используя блокаторы L-NAME, NOArg), так и добавление скавенджеров NO (PTIO, Hb) в экстраклеточный раствор приводят к тому, что направление гетеросинаптической пластичности перестает зависеть от изначального PPR (Volgushev et al., 2000). Тем не менее в этой работе было также показано, что внутриклеточная тетанизация даже в присутствии блокаторов NO индуцирует гетеросинаптические ДВП и ДВД, хотя в некоторых работах показано, что блокада синтеза NO приводит к нарушению выработки гомосинаптической ДВП на срезах гиппокампа в некоторых моделях (Nicolarakis et al., 1994), а также к нарушению долговременной фазы ДВП (Lu et al., 1999).

Считается, что монооксид азота играет важную роль в ретроградной регуляции пресинаптических окончаний во время выработки синаптической пластичности (Hardingham et al., 2013). Внутриклеточная тетанизация, как показано во многих работах, вызывает изменения как в пре-, так и постсинапсе. В работе Волгушева и соавторов 2000 года (Volgushev et al., 2000) было показано, что внутриклеточная тетанизация приводит к изменению PPR и обратного коэффициента вариации постсинаптических ответов исследуемых синапсов, параметров, отражающих работу пресинапса. При этом блокада NO никак не влияла на данные параметры. Таким образом, можно предполагать, что кроме оксида азота должны существовать иные механизмы обратного сигналинга, модулирующие работу пресинаптических окончаний при индукции данного типа гетеросинаптической пластичности. К сожалению, другие каскады, которые могут быть задействованы в этом процессе, остаются неизученными.

Кроме участия NO в регуляции этого вида гетеросинаптической пластичности было также показано, что важную роль играет пуринергическая передача, опосредованная A1-аденозиновыми рецепторами. В работе 2021 года на мышах, нокаутированных по гену этого рецептора, было показано, что внутриклеточная тетанизация нейронов первичной зрительной коры приводила в основном к депрессии синаптических входов (напомним, у нормальных мышей внутриклеточная тетанизация вызывает как ДВП, так и ДВД), в то время как гомосинаптическая пластичность, индуцированная протоколом сочетанной стимуляции, не была нарушена (Chasse et al., 2021). Кроме того, было показано, что у нокаутных животных не наблюдается явных нарушений в поведенческих тестах на ротороде и в «открытом поле». Однако

нокаутные мыши теряли способность к повторному обучению в некоторых поведенческих тестах. В этих экспериментах животных сначала учили выбирать зрительный стимул, вознаграждаемый пищевым подкреплением. В этой первой серии экспериментов нокаутные животные не отличались от мышей контрольной группы. Во второй серии экспериментов этих же мышей переучивали, подкрепляя новый зрительный стимул. В результате мыши, у которых был нокаутирован ген аденоzinового рецептора, испытывали затруднения в серии экспериментов с переучиванием. Можно предполагать, что данный вид гетеросинаптической пластичности необходим в тех процессах обучения и памяти, где требуется модификация предыдущего опыта. Однако клеточные и молекулярные механизмы влияния аденоцина на этот вид пластичности остаются неясными. Интересно, что модельные эксперименты также указывают на то, что нарушение гетеросинаптической пластичности при сохранении гомосинаптической в нейронных сетях приведут к дефициту именно в задачах с переучиванием, при сохранении способности к первоначальному обучению (Volgushev et al., 2016).

При использовании модели внутриклеточной тетанизации возникает вопрос: а наблюдается ли подобный паттерн активности единичных нейронов головного мозга *in vivo*? В действительности при исследовании активности нейронов гиппокампа животных как под наркозом, так и в состоянии бодрствования было показано, что единичные нейроны полей CA1 и CA3 способны генерировать спонтанные пачки ПД, схожие по паттерну с используемыми в экспериментах с внутриклеточной тетанизацией (Bittner et al., 2015; Kowalski et al., 2016; Núñez et al., 1987). Нейроны неокортика также могут демонстрировать схожую пачечную активность во время медленноволнового сна (Steriade et al., 2001; Timofeev et al., 2001). Однако здесь стоит отметить, что большая часть работ, посвященных регистрации активности единичных нейронов неокортика во время различных состояний мозга, были выполнены не на грызунах (Timofeev, Chauvette, 2019). Тем не менее можно предполагать, что внутриклеточная тетанизация является достаточно физиологичной моделью для изучения гетеросинаптической пластичности в срезах мозга. Из этого следует, что высокочастотная спонтанная пачечная активность единичных нейронов должна приводить к постоянным перестройкам синаптических связей нейронов *in vivo*, развивающимся по механизмам гетеросинаптической пластичности. Одним из морфологических коррелятов синаптических перестроек пирамидных нейронов является физический размер их шипиков, которые являются местами образования синаптических связей. В достаточно большом количестве работ,

с использованием двухфотонной микроскопии, было показано, что размеры и форма отдельных шипиков нейронов неокортика могут претерпевать значительные изменения с течением времени, особенно после длительных периодов активности соответствующих отделов мозга, а также во время сна (De Vivo et al., 2017; Maret et al., 2011; Runge et al., 2020). Кроме того, в других работах было показано, что в нейронах гиппокампа также происходят активные перестройки групп шипиков во время поведенческого опыта и сна (Nebeling et al., 2023; Pfeiffer et al., 2018). Постоянно меняющиеся шипики нейрона могут свидетельствовать о происходящих перестройках синаптических связей, развивающихся в том числе по механизмам гетеросинаптической пластичности вследствие спонтанной высокочастотной активности нейронов.

Кроме участия в переучивании, в теоретических работах на модельных нейронах было показано, что гетеросинаптическая пластичность обеспечивает стабильную работу нейронных сетей. Так, нейронная сеть, построенная на правилах только хеббовской синаптической пластичности, с течением времени будет переходить в насыщенное состояние, когда все синаптические веса будут иметь одинаковую максимальную или минимальную величину (Chen et al., 2013). Однако добавление в математическую модель правил гетеросинаптической пластичности, основанных на корреляции PPR с изменением синаптических весов, позволяет стабилизировать эту модельную нейронную сеть.

В недавней работе на пирамидных нейронах первичной зрительной коры мыши было показано, что оптогенетическая тетанизация этих клеток высокочастотными пачками потенциалов действия приводит к долговременным изменениям свойств зрительных ответов. Было обнаружено, что тетанизация вызывает снижение дирекциональной селективности нейронов, при этом ширина ориентационной настройки увеличивается. Авторы предполагают, что гетеросинаптическая пластичность здесь может играть важную гомеостатическую роль в работе нейронных сетей и поддерживать настройку нейрональных ответов в диапазоне, оптимизированном для наиболее эффективного популяционного кодирования максимально большого количества зрительных признаков (Smirnov et al., 2024).

3. ЛОКАЛЬНО КООРДИНИРОВАННАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ («ПЛАСТИЧНОСТЬ МЕКСИКАНСКОЙ ШЛЯПЫ»)

Кроме описанных выше видов гетеросинаптической пластичности существует еще один тип, получивший название «пластичность мексиканской шляпы». Данный термин был впервые введен

в работе (Mapelli, D'Angelo, 2007), в которой исследовалась гомосинаптическая долговременная пластичность синапсов, образованных мишистыми волокнами на гранулярных клетках мозжечка. Авторы проводили регистрацию активности гранулярных клеток микроэлектродной матрицей на срезах мозжечка. Оказалось, что тета-берст-стимуляция мишистых волокон приводит к тому, что потенциация, возникающая в одном месте гранулярного слоя, сопровождается депрессией ответа в соседних местах. Если изобразить профиль такой пластичности, то в центре будет возвышение (потенциация), а по бокам — понижение (депрессия), что напоминает профиль типичной мексиканской шляпы сомбреро. Применительно к гетеросинаптической пластичности впервые этот феномен был описан при исследовании синаптических входов в зубчатую фасцию гиппокампа из энторинальной коры *in vivo*. Так как проекции из латеральной и медиальной энторинальной коры образуют пространственно разделенные синаптические входы на апикальные дендриты пирамидных нейронов зубчатой фасции, авторам удалось исследовать влияние индукции ДВП на независимые синаптические входы, приходящие на соседние участки дендрита регистрируемых нейронов (White et al., 1990). Авторы этой работы показали, что индукция ДВП синаптических входов из одного полушария может вызывать ДВД других входов, приходящих на соседний участок того же дендрита.

В 2003 году Ройер и Паре, используя матрицу стимулирующих электродов, расположенную в базолатеральной миндалине, и регистрируя ответы от вставочных ГАМКергических нейронов миндалины, показали, что выработка LTP или LTD одного из входов приводит к противоположным пластическим изменениям во входах, стимулируемых соседними электродами матрицы. Наблюдаемые гетеросинаптические пластические изменения зависели от кальций-индуцированного высвобождения кальция из внутриклеточных депо (Royer, Paré, 2003).

Наиболее важным отличием данного вида гетеросинаптической пластичности от модели Линча является механизм ее возникновения, обеспечивающий локальность таких гетеросинаптических перестроек. В ранних работах было показано, что синаптическая пластичность «мексиканской шляпы» зависит от активации рецепторов, обеспечивающих кальций-зависимый выход кальция из эндоплазматического ретикулума, а также ионотропного рецептора InsP₃ (Nishiyama et al., 2000), но не зависит от активации кальциевых каналов L-типа (Scanziani et al., 1996).

Поскольку данный вид синаптической пластичности развивается на очень коротких расстояниях (менее 100 мкм), классические электрофизиологические методы зачастую не обеспечивают достаточной

разрешающей способности для изучения механизмов данного феномена. В связи с этим в достаточно большом количестве работ, посвященных изучению механизмов данного вида гетеросинаптической пластичности, используются различные оптические методы стимуляции и регистрации (El-Boustani et al., 2018; Harvey, Svoboda, 2007; Kleindienst et al., 2011; Letellier et al., 2019; Oh et al., 2015; Tong et al., 2021).

Поскольку пластичность «мексиканской шляпы» затрагивает изменения отдельных синаптических входов на локальных участках дендритов, часто для ее оценки используются морфологические корреляты синаптической пластичности в виде структурных изменений шипикового аппарата. В ряде работ было показано, что после индукции ДВП происходит увеличение объема шипиков, принимающих участие в формировании синаптического ответа, подвергшегося потенциации (Matsuzaki et al., 2004; O'Donnell et al., 2011; Yang et al., 2008). Однако следует учитывать, что далеко не всегда долговременная синаптическая пластичность сопровождается морфологическими изменениями шипикового аппарата (Thomazeau et al., 2021). Кроме того, при изучении структурной пластичности часто используются экспериментальные модели, в которых стимуляция постсинаптического нейрона осуществляется за счет фотовысвобождения связанного глутамата (анкейджинга), при этом возможные функциональные изменения пресинаптических волокон ускользают от анализа (Magó et al., 2020; Oh et al., 2015; Yang et al., 2008).

Если рассматривать механизмы структурной пластичности, то основные происходящие при ней изменения связаны с перестройкой цитоскелета шипикового аппарата (Runge et al., 2020). В данном обзоре для нас представляют интерес не механизмы морфологических изменений в шипиках постсинаптических нейронов сами по себе, а те сигнальные каскады и молекулы, которые обеспечивают локальную координацию гомо- и гетеросинаптической пластичности. Во-первых, гетеросинаптическая пластичность по типу «мексиканской шляпы», в отличие от пластичности «линчского» типа, запускается высвобождением кальция из эндоплазматического ретикулума из кальций-управляемых кальциевых каналов (Nishiyama et al., 2000). Во-вторых, в качестве сигнальных молекул, обеспечивающих локальную координацию синаптической пластичности, здесь выступают белки, способные локально диффундировать вдоль дендрита в соседние шипики. Одной из таких молекул является продукт немедленного раннего гена Arc, мРНК которого локально транслируется в шипиках, подвергающихся гомосинаптической потенциации, после чего белковый продукт диффундирует вдоль дендрита в соседние шипики, связывается с неактивной формой CaMKII β и запускает

в них процессы, приводящие к гетеросинаптической депрессии, вызывая в том числе эндоцитоз AMPA-рецепторов и уменьшение размеров шипика (Okuno et al., 2012). В работе 2018 года было также показано, что данный белок играет важную роль в выработке пластичности рецептивных полей нейронов первичной зрительной коры (El-Boustani et al., 2018). В данной работе зрительная стимуляция области, находящейся рядом с рецептивным полем нейрона, сочетанная с его оптогенетической стимуляцией, приводила к смещению рецептивного поля клетки в сторону области подкрепляемой зрительной стимуляции. При этом, если рассматривать изменения, возникающие в отдельных синапсах, то шипики, активирующиеся предъявлением подкрепляемых зрительных стимулов, демонстрировали структурную ДВП, в то время как шипики, удаленные от потенцированных входов на 10–30 мкм, демонстрировали гетеросинаптическую ДВД. В случае нокаута гена Arc путем инъектирования shRNA данный пространственный паттерн нарушался и большая часть шипиков начинала демонстрировать ДВП после сочетанной стимуляции. Кроме того, нокаут данного гена также приводит к нарушению пластичности рецептивного поля нейрона (El-Boustani et al., 2018). Кроме белка Arc также было показано, что кальцийнейрин, IP₃- и mGlu-рецепторы, а также молекулы бета-катенина (Bian et al., 2015) необходимы для индукции гетеросинаптической ДВД, но не гомосинаптической ДВП (Oh et al., 2015).

В работе 2021 года на органотипической культуре гиппокампа было показано, что в локально-координированной гетеросинаптической ДВД участвует не только постсинапс, но также и пресинапс, в котором происходит изменение вероятности выброса медиатора, обеспечиваемое синтезом и обратной диффузией из пресинапса NO (Tong et al., 2021). В своих экспериментах авторы показывают, что при добавлении блокатора синтеза NO LNAME гетеросинаптическая ДВД меняется на ДВП, при этом возникающие пластические изменения обеспечиваются уже только постсинаптическими механизмами, без изменения вероятности выброса медиатора из пресинапсов. Кроме того, добавление такролимуса, ингибитора кальцийнейрина, приводило к нарушению локальной координации между гомо- и гетеросинаптической пластичностью (Tong et al., 2021).

Гетеросинаптическая пластичность по типу мексиканской шляпы может играть важную роль в различных биологических процессах. Данный вид пластичности может через синаптическую конкуренцию обеспечивать кластеризацию синаптических входов в гиппокампе и неокортексе (Chater, Goda, 2021; Lee et al., 2016; Wilson et al., 2016). Интересно, что в свое время был даже предложен термин *synaptic competition* (синаптическое

соревнование) (Purves, Lichtman, 1980), подразумевающий прямую физическую конкуренцию соседних синапсов за ресурсы (различные белки, необходимые для функционирования синапса, например рецепторы к медиатору). В соответствии с этой концепцией, если один синапс усиливается, то из-за того, что он для своего усиления использовал все имеющиеся в дендрите белки, окружающие синапсы могут ослабляться. Притом что экспериментально конкуренция между соседними элементами за ресурсы показана не была, тем не менее феноменологически события, происходящие между соседними синапсами при выработке пластичности типа «мексиканской шляпы», вполне можно охарактеризовать термином «синаптическое соревнование». Кроме того, согласно некоторым моделям, одним из механизмов формирования энграмм долговременной памяти является кластеризация функционально схожих синаптических входов, в основе которой может лежать гетеросинаптическая пластичность «мексиканской шляпы» (Govindarajan et al., 2006).

В уже цитированной выше работе 2018 года было показано, что гетеросинаптическая пластичность играет важную роль в пластичности рецептивных полей отдельных нейронов зрительной коры (El-Boustani et al., 2018). Интересно, что действованный в этом процессе немедленный ранний ген Arc является важным белком, принимающим участие в развитии именно синаптической депрессии. У животных с нокаутом по этому гену наблюдаются различные поведенческие нарушения, например, нарушается консолидация памяти: но при этом сохраняется ДВП в гиппокампе (Bramham et al., 2010; Kyrke-Smith et al., 2021). Можно сделать предположение, что Arc является специфической молекулой, необходимой для функционирования только локально координированной гетеросинаптической пластичности, поскольку его нокаут или нокаут не приводят к изменению параметров гомосинаптической пластичности *in vitro* (Kyrke-Smith et al., 2021), но блокируют процессы гетеросинаптической пластичности (El-Boustani et al., 2018), а также поведенческое обучение. В то же время ингибирование многих других каскадов, например кальцийнейрина, приводит к нарушению как развития гомосинаптической ДВД, так и формирования пластичности «мексиканской шляпы».

4. МОДУЛИРОВАННАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ У ПОЗВОНОЧНЫХ

Интересно, что гетеросинаптическая пластичность, очень похожая на ту, что была первоначально описана на аплизии, была впоследствии показана на срезах мозга грызунов. Так, в работе Ягишита и соавторов изучалась пластичность

синаптических входов проекционных нейронов стриатума (Yagishita et al., 2014). В этой работе использовалось фотовысвобождение связанного глутамата, которое производилось при помощи двухфотонного микроскопа непосредственно возле шипика постсинаптического нейрона. Каждое такое высвобождение («пафф») вызывало постсинаптический возбуждающий ток. Авторы использовали парадигму STDP: один пафф глутамата через 10 мс подкреплялся пачкой внутриклеточно индуцированных потенциалов действия. Всего давалось 150 таких сочетаний. Как было показано в работе, сами по себе подобные сочетания не приводили ни к изменению размеров стимулируемого шипика (основному критерию синаптической пластичности, используемому в данной работе), ни к увеличению возбуждающего постсинаптического тока, вызванному аппликацией глутамата. Однако если во время сочетаний производилась оптогенетическая стимуляция дофаминергических волокон или локальная аппликация дофамина, то тот же протокол сочетаний приводил к значительному увеличению размеров шипика, при том что соседние шипики не менялись. Интересно, что существовало сравнительно узкое временное окно, в котором выброс дофамина приводил к потенциации искусственного синапса: от 0.3 до 2 секунд после паффа глутамата. Таким образом, в данном протоколе для выработки долговременных синаптических изменений была необходима активация модуляторной системы, в данном случае дофаминергической.

В другой показательной работе, проведенной на срезах зрительной коры мышей, был также продемонстрирован феномен модулированной пластичности у позвоночных (He et al., 2015). В этой статье авторы регистрировали внутриклеточно пирамидные нейроны 2–3-го слоя неокортика мышей и экстраклеточно стимулировали синаптические входы, идущие со стороны 4-го слоя. Здесь также использовалась парадигма слабой STDP, когда за 10 мс до (протокол «пост-пред») или через 10 мс после (протокол «пред-пост») ВПСП в постсинаптической клетке индуцировалась короткая пачка потенциалов действия. Всего проводилось 200 таких сочетаний с частотой 10 Гц. Один из протоколов должен был вызвать потенциацию, а другой – депрессию синаптической передачи. Однако оказалось, что сам по себе выбранный протокол не приводил к каким-либо изменениям в амплитуде постсинаптических ответов. Затем, в следующих сериях экспериментов, через 10 секунд после окончания сочетаний, в течение 10 секунд проводилась аппликация одного из следующих нейромодуляторов: норэpineфрина, серотонина, дофамина или ацетилхолина. Оказалось, что аппликация норэpineфрина приводила к манифестации долговременной потенциации в протоколе «пред-пост», а аппликация серотонина – к манифестации долговременной депрессии

в протоколе «пост-пред». Все остальные протестированные нейромодуляторы не оказали сколько-нибудь выраженного влияния на выработку синаптической пластичности (He et al., 2015).

Таким образом, описанные выше эксперименты укладываются в концепцию, высказанную Кенделлом в своем обзоре 2000 года, о том, что хеббовская гомосинаптическая пластичность лишь оставляет в синапсе некую долговременную метку, «eligibility trace». Долговременная модификация такого синапса происходит лишь в случае, если на него в нужном временном окне подействует определенный нейромодулятор (Bailey et al., 2000). Данная концепция, получившая также название «reward-based learning», или «правило трехфакторного обучения», снимает проблему с разными временными шкалами: миллисекундной временной шкалой, на которой происходит выработка хеббовской пластичности, и гораздо более медленным поведенческим обучением (Brzosko et al., 2019). Кроме того, с точки зрения теории информации гомосинаптическая пластичность является «обучением без учителя», что в плане работы нейронных сетей (как искусственных, так и естественных) является более слабым протоколом, чем «обучение с учителем», которым является «reward-based learning» (Frémaux, Gerstner, 2015).

В литературе сложно найти прямое подтверждение того, что чисто гомосинаптические процессы без нейромодуляции могут или не могут вызвать действительно долговременные модификации синапсов, поскольку практически все эксперименты с STDP, в которых четко контролируется активность пре- и постсинаптического нейрона и можно исключить активацию модуляторных систем непосредственно в момент выработки пластичности, проводятся с использованием инвазивных методов регистрации, что ограничивает длительность эксперимента временем не более часа. Тем не менее можно найти примеры, показывающие, что точка зрения, высказанная в обзоре 2000 года, о том, что без нейромодуляции вообще невозможна долговременная синаптическая пластичность, излишне радикальна. Так, в работе на культивируемых нейронах гиппокампа, где полностью отсутствуют модуляторные нейроны, поскольку тела этих клеток находятся в других структурах мозга и не попадают при выделении в культуральную чашку, была показана возможность развития долговременных форм синаптической пластичности, которая длилась на протяжении многих суток и зависела от процессов транскрипции и трансляции (Arnold et al., 2005).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, термином «гетеросинаптическая пластичность» в настоящее время обозначается несколько принципиально различных феноменов,

имеющих разные механизмы развития и разное функциональное значение для работы нейронных сетей. Модулированная пластичность, впервые описанная как гетеросинаптическая фасилитация на аплизии, для своей индукции требует активации в момент выработки той или иной нейромодуляторной системы. Основная роль этого типа пластичности – поведенческое обучение с подкреплением. Гетеросинаптическая пластичность, индуцированная потенциалами действия в постсинаптическом нейроне, запускается входом кальция через потенциал-зависимые кальциевые каналы L-типа, которые открываются вследствие обратного распространения потенциалов действия по дендритному дереву постсинаптического нейрона. Одним из механизмов развития этого вида пластичности является диффузия различных ретроградных посредников в пресинапс и индукция там пресинаптических изменений. Была показана роль оксида азота, однако имеющиеся экспериментальные данные свидетельствуют о вовлечении и других систем ретроградных посредников. Основная роль этого типа пластичности – стабилизация работы нейронных сетей за счет уравновешивания дестабилизирующих эффектов хеббовской пластичности. Локально координированная пластичность (пластичность «мексиканской шляпы») запускается входом кальция через NMDA-каналы в потенциализированном синапсе (шипике), что, в свою очередь, вызывает кальций-зависимый релиз кальция из эндоплазматического ретикулума и последующую диффузию различных сигнальных молекул, в первую очередь продукта немедленного раннегена Arc, в соседние синапсы (соседние шипики), где развивается синаптическая депрессия, сопровождающаяся снижением размеров депрессированных шипиков. Роль данного типа пластичности состоит в кластеризации функционально схожих синаптических входов, что, предположительно, увеличивает эффективность работы нейронной сети.

ВКЛАД АВТОРОВ

И.В. Смирнов, А.Ю. Малышев – концепция, работа с литературными источниками, написание текста, редактирование текста статьи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа поддержана Российским научным фондом, грант № 20-15-00398П.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания проведенных непосредственно авторами оригинальных исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

УКАЗАНИЕ НА ДОСТУПНОСТЬ ПЕРВИЧНЫХ ДАННЫХ

Статья не содержит описания оригинальных экспериментальных данных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Akopian G., Walsh J.P.* Corticostriatal paired-pulse potentiation produced by voltage-dependent activation of NMDA receptors and L-type Ca²⁺ channels. *J. Neurophysiol.* 2002. 87 (1): 157–165.
- Arnold F.J.L., Hofmann F., Bengtson C.P., Wittmann M., Vanhoutte P., Bading H.* Microelectrode array recordings of cultured hippocampal networks reveal a simple model for transcription and protein synthesis-dependent plasticity. *J. Physiol.* 2005. 564 (1): 3–19.
- Artola A., Bröcher S., Singer W.* Different voltage-dependent thresholds for inducing long-term depression and long-term potentiation in slices of rat visual cortex. *Nature.* 1990. 347 (6288): 69–72.
- Bailey C.H., Giustetto M., Huang Y.Y., Hawkins R.D., Kandel E.R.* Is heterosynaptic modulation essential for stabilizing Hebbian plasticity and memory? *Nat. Rev. Neurosci.* 2000. 1 (1): 11–20.
- Bartsch D., Casadio A., Karl K.A., Serodio P., Kandel E.R.* CREB1 encodes a nuclear activator, a repressor, and a cytoplasmic modulator that form a regulatory unit critical for long-term facilitation. *Cell.* 1998. 95 (2): 211–223.
- Bekkers J.M.* Autaptic cultures: methods and applications. *Front. Synaptic Neurosci.* 2020. 12 (4): 1–20.
- Bian W.J., Miao W.Y., He S.J., Qiu Z., Yu X.* Coordinated spine pruning and maturation mediated by inter-spine competition for cadherin/catenin complexes. *Cell.* 2015. 162 (4): 808–822.
- Bittner K.C., Grienberger C., Vaidya S.P., Milstein A.D., Macklin J.J., Suh J., Tonegawa S., Magee J.C.* Conjunctive input processing drives feature selectivity in hippocampal CA1 neurons. *Nat. Neurosci.* 2015. 18 (8): 1133–1142.
- Bliss T.V.P., Lomo T.* Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.* 1973. 232 (2): 331–356.
- Bliss T.V., Lomo T.* Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.* 1973. 232 (2): 331–356.

- Bradler J.E., Barrionuevo G.* Heterosynaptic correlates of long-term potentiation induction in hippocampal CA3 neurons. *Neuroscience*. 1990. 35 (2): 265–271.
- Bramham C.R., Alme M.N., Bittins M., Kuipers S.D., Nair R.R., Pai B., Panja D., Schubert M., Soule J., Tiron A., Wibrand K.* The Arc of synaptic memory. *Exp. Brain Res.* 2010. 200 (2): 125–140.
- Bravarenko N.I., Gusev P.V., Balaban P.M., Voronin L.L.* Postsynaptic induction of long-term synaptic facilitation in snail central neurones. *Neuroreport*. 1995. 6 (8): 1182–1186.
- Brzozko Z., Mierau S.B., Paulsen O.* Neuromodulation of spike-timing-dependent plasticity: past, present, and future. *Neuron*. 2019. 103 (4): 563–581.
- Carew T.J., Castellucci V.F., Kandel E.R.* An analysis of dishabituation and sensitization of the gill-withdrawal reflex in Aplysia. *Int. J. Neurosci.* 1971. 2 (2): 79–98.
- Chasse R., Malyshev A., Fitch R.H., Volgushev M.* Altered heterosynaptic plasticity impairs visual discrimination learning in adenosine A1 receptor knock-out mice. *J. Neurosci.* 2021. 41 (21): 4631–4640.
- Chater T.E., Goda Y.* My Neighbour Hetero – deconstructing the mechanisms underlying heterosynaptic plasticity. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2021. 67: 106–114.
- Chen J.-Y., Lonjers P., Lee C., Chistiakova M., Volgushev M., Bazhenov M.* Heterosynaptic plasticity prevents runaway synaptic dynamics. *J. Neurosci.* 2013. 33 (40): 15915–15929.
- Chistiakova M., Balaban P., Eysel U.T., Volgushev M.* NMDA receptor blockade prevents LTD, but not LTP induction by intracellular tetanization. *Neuroreport*. 1999. 10 (18): 3869–3874.
- Chistiakova M., Bannon N.M., Bazhenov M., Volgushev M.* Heterosynaptic plasticity: Multiple mechanisms and multiple roles. *Neuroscientist*. 2014. 20 (5): 483–498.
- Chistiakova M., Bannon N.M., Chen J.-Y., Bazhenov M., Volgushev M.* Homeostatic role of heterosynaptic plasticity: models and experiments. *Front. Comput. Neurosci.* 2015. 9 : 89.
- Chistiakova M., Ilin V., Roshchin M., Bannon X.N., Malyshev A., Kisvárdy Z., Volgushev M.* Distinct heterosynaptic plasticity in fast spiking and non-fast-spiking inhibitory neurons in rat visual cortex. 2019. *Journal of Neuroscience*, 39(35): 6865–6878.
- Christie B.R., Kerr D.S., Abraham W.C.* Flip side of synaptic plasticity: Long-term depression mechanisms in the hippocampus. *Hippocampus*. 1994. 4 (2): 127–135.
- Christofi G., Nowicky A.V., Bolsover S.R., Bindman L.J.* The postsynaptic induction of nonassociative long-term depression of excitatory synaptic transmission in rat hippocampal slices.. *J. Neurophysiol.* 1993. 69 (1): 219–229.
- Dash P.K., Hochner B., Kandel E.R.* Injection of the cAMP-responsive element into the nucleus of Aplysia sensory neurons blocks long-term facilitation. *Nature*. 1990. 345 (6277): 718–721.
- De Vivo L., Bellesi M., Marshall W., Bushong E.A., Ellisman M.H., Tononi G., Cirelli C.* Ultrastructural evidence for synaptic scaling across the wake/sleep cycle. *Science*, 2017. 355(6324): 507–510.
- Desmond N.L., Colbert C.M., Zhang D.X., Levy W.B.* NMDA receptor antagonists block the induction of long-term depression in the hippocampal dentate gyrus of the anesthetized rat. *Brain Res.* 1991. 552 (1): 93–98.
- Dobrunz L.E., Stevens C.F.* Heterogeneity of release probability, facilitation, and depletion at central synapses. *Neuron*. 1997. 18 (6): 995–1008.
- El-Boustani S., Ip J.P.K., Breton-Provencher V., Knott G.W., Okuno H., Bito H., Sur M.* Locally coordinated synaptic plasticity of visual cortex neurons in vivo. *Science*. 2018. 360 (6395): 1349–1354.
- Frémaux N., Gerstner W.* Neuromodulated spike-timing-dependent plasticity, and theory of three-factor learning rules. *Front. Neural Circuits*. 2015. 9: 85.
- Govindarajan A., Kelleher R.J., Tonegawa S.* A clustered plasticity model of long-term memory engrams.. *Nat. Rev. Neurosci.* 2006. 7 (7): 575–583.
- Hardingham N., Dachtler J., Fox K.* The role of nitric oxide in pre-synaptic plasticity and homeostasis. *Front. Cell. Neurosci.* 2013. 7: 190.
- Harvey C.D., Svoboda K.* Locally dynamic synaptic learning rules in pyramidal neuron dendrites. *Nature*. 2007. 450 (7173): 1195–1200.
- He K., Huertas M., Hong S.Z., Tie X., Hell J.W., Shouval H., Kirkwood A.* Distinct eligibility traces for LTP and LTD in cortical synapses. *Neuron*. 2015. 88 (3): 528–538.
- Kaang B.-K., Kandel E.R., Grant S.G.N.* Activation of cAMP-Responsive genes by stimuli that produce long-term facilitation in aplysia sensory neurons. *Neuron*. 1993. 10 (3): 427–435.
- Kandel E.R., Tauc L.* Heterosynaptic facilitation in neurones of the abdominal ganglion of Aplysia depilans. *J. Physiol.* 1965a. 181 (1): 1–27.
- Kandel E.R., Tauc L.* Mechanism of heterosynaptic facilitation in the giant cell of the abdominal ganglion of Aplysia depilans. *J. Physiol.* 1965b. 181 (1): 28–47.
- Klein Dienst T., Winnubst J., Roth-Alpermann C., Bonhoeffer T., Lohmann C.* Activity-Dependent Clustering of Functional Synaptic Inputs on Developing Hippocampal Dendrites. *Neuron*, 2011. 72(6): 1012–1024.
- Kowalski J., Gan J., Jonas P., Pernía-Andrade A.J.* Intrinsic membrane properties determine hippocampal differential firing pattern in vivo in anesthetized rats. *Hippocampus*. 2016. 26 (5): 668–682.
- Kuhnt U., Kleschevnikov A., Voronin L.L.* Long-term enhancement of synaptic transmission in the hippocampus after tetanization of single neurones by short intracellular current pulses. 1994. 14(2): 115–123.
- Kupfermann I., Castellucci V., Pinsker H., Kandel E.* Neuronal correlates of habituation and dishabituation of the gill-withdrawal reflex in Aplysia.. *Science*. 1970. 167 (3926): 1743–1745.
- Kyrke-Smith M., Volk L.J., Cooke S.F., Bear M.F., Huganir R.L., Shepherd J.D.* The immediate early gene Arc is not required for hippocampal long-term potentiation. *J. Neurosci.* 2021. 41 (19): 4202–4211.

- Lee C.M., Stoelzel C., Chistiakova M., Volgushev M.* Heterosynaptic plasticity induced by intracellular tetanization in layer 2/3 pyramidal neurons in rat auditory cortex. *J. Physiol.* 2012. 590 (10): 2253–2271.
- Lee K.F.H., Soares C., Thivierge J.P., Béïque J.C.* Correlated synaptic inputs drive dendritic calcium amplification and cooperative plasticity during clustered synapse development. *Neuron.* 2016. 89 (4): 784–799.
- Letellier M., Levet F., Thoumine O., Goda Y.* Differential role of pre-and postsynaptic neurons in the activity-dependent control of synaptic strengths across dendrites. *PLoS Biol.* 2019. 17 (6): e2006223.
- Lisman J.* A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1989. 86 (23): 9574–9578.
- Lourenço J., Pacioni S., Rebola N., Woerden G.M. van, Marinelli S., DiGregorio D., Bacci A.* Non-associative potentiation of perisomatic inhibition alters the temporal coding of neocortical layer 5 pyramidal neurons. *PLoS Biol.* 2014. 12 (7): e1001903.
- Lu Y.F., Kandel E.R., Hawkins R.D.* Nitric oxide signaling contributes to late-phase LTP and CREB phosphorylation in the hippocampus.. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 1999. 19 (23): 10250–10261.
- Lynch G.S., Dunwiddie T., Gribkoff V.* Heterosynaptic depression: a postsynaptic correlate of long-term potentiation.. *Nature.* 1977. 266 (5604): 737–739.
- Magó Á., Weber J.P., Ujfalussy B.B., Makara J.K.* Synaptic plasticity depends on the fine-scale input pattern in thin dendrites of CA1 pyramidal neurons. *J. Neurosci.* 2020. 40 (13): 2593–2605.
- Malyshev A., Bravarenko N., Balaban P.* Dependence of synaptic facilitation postsynaptically induced in snail neurons on season and serotonin level. *Neuroreport.* 1997. 8 (5): 1179–1182.
- Manita S., Suzuki T., Inoue M., Kudo Y., Miyakawa H.* Paired-pulse ratio of synaptically induced transporter currents at hippocampal CA1 synapses is not related to release probability. *Brain Res.* 2007. 1154 (1): 71–79.
- Mapelli J., D'Angelo E.* The spatial organization of long-term synaptic plasticity at the input stage of cerebellum.. *J. Neurosci.* 2007. 27 (6): 1285–1296.
- Maret S., Faraguna U., Nelson A.B., Cirelli C., Tononi G.* Sleep and waking modulate spine turnover in the adolescent mouse cortex. *Nat. Neurosci.* 2011. 14 (11): 1418–1420.
- Martin K.C., Michael D., Rose J.C., Barad M., Casadio A., Zhu H., Kandel E.R.* MAP kinase translocates into the nucleus of the presynaptic cell and is required for long-term facilitation in aplysia. *Neuron.* 1997. 18 (6): 899–912.
- Matsuzaki M., Honkura N., Ellis-Davies G.C.R., Kasai H.* Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature.* 2004. 429 (6993): 761–766.
- Montarolo P.G., Goelet P., Castellucci V.F., Morgan J., Kandel E.R., Schacher S.* A critical period for macromolecular synthesis in long-term heterosynaptic facilitation in Aplysia. *Science.* 1986. 234 (4781): 1249–1254.
- Nebeling F.C., Poll S., Justus L.C., Steffen J., Kepler K., Mittag M., Fuhrmann M.* Microglial motility is modulated by neuronal activity and correlates with dendritic spine plasticity in the hippocampus of awake mice. *Elife.* 2023. 12: e83176.
- Nikolarakis P.J., Lin Y.-Q., Bennett M.R.* Effect of nitric oxide synthase inhibition on long-term potentiation at associational-commissural and mossy fibre synapses on CA3 pyramidal neurones. *Br. J. Pharmacol.* 1994. 111 (2): 521–524.
- Nishiyama M., Hong K., Mikoshiba K., Poo M.M., Kato K.* Calcium stores regulate the polarity and input specificity of synaptic modification. *Nature.* 2000. 408 (6812): 584–588.
- Núñez A., García-Austt E., Buño W.* Intracellular θ-rhythm generation in identified hippocampal pyramids. *Brain Res.* 1987. 416 (2): 289–300.
- O'Donnell C., Nolan M.F., Rossom M.C.W. van.* Dendritic spine dynamics regulate the long-term stability of synaptic plasticity. *J. Neurosci.* 2011. 31 (45): 16142–16156.
- Oh W.C., Parajuli L.K., Zito K.* Heterosynaptic structural plasticity on local dendritic segments of hippocampal CA1 neurons. *Cell Rep.* 2015. 10 (2): 162–169.
- Okuno H., Akashi K., Ishii Y., Yagishita-Kyo N., Suzuki K., Nonaka M., Kawashima T., Fujii H., Takemoto-Kimura S., Abe M., Natsume R., Chowdhury S., Sakimura K., Worley P.F., Bito H.* Inverse synaptic tagging of inactive synapses via dynamic interaction of Arc/Arg3.1 with CaMKIIβ. *Cell.* 2012. 149 (4): 886–898.
- Pfeiffer T., Poll S., Bancelin S., Angibaud J., Invalil V.V.G.K., Kepler K., Mittag M., Fuhrmann M., Nägerl U.V.* Chronic 2P-STED imaging reveals high turnover of dendritic spines in the hippocampus in vivo. *Elife.* 2018. 7: e34700.
- Pinsker H., Kupfermann I., Castellucci V., Kandel E.* Habituation and dishabituation of the gill-withdrawal reflex in Aplysia.. *Science.* 1970. 167 (3926): 1740–1742.
- Pinsker H.M., Hening W.A., Carew T.J., Kandel E.R.* Long-term sensitization of a defensive withdrawal reflex in Aplysia.. *Science.* 1973. 182 (4116): 1039–1042.
- Prange O., Murphy T.H.* Correlation of miniature synaptic activity and evoked release probability in cultures of cortical neurons. *J. Neurosci.* 1999. 19 (15): 6427–6438.
- Purves D., Lichtman J.W.* Elimination of synapses in the developing nervous system. *Science.* 1980. 210 (4466): 153–157.
- Royer S., Paré D.* Conservation of total synaptic weight through balanced synaptic depression and potentiation.. *Nature.* 2003. 422 (6931): 518–522.
- Runge K., Cardoso C., Chevigny A. de.* Dendritic spine plasticity: function and mechanisms. *Front. Synaptic Neurosci.* 2020. 12: 566347.
- Scanziani M., Malenka R.C., Nicoll R.A.* Role of intercellular interactions in heterosynaptic long-term depression. *Nature.* 1996. 380 (6573): 446–450.
- Sieber A.R., Min R., Nevian T.* Non-Hebbian long-term potentiation of inhibitory synapses in the thalamus. *J. Neurosci.* 2013. 33 (40): 15675–15685.

- Simonova N.A., Bal N.V., Balaban P.M., Volgushev M.A., Malyshev A.Y.* An optogenetic approach to studies of the mechanisms of heterosynaptic plasticity in neocortical neurons. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2019. 49 (2): 208–215.
- Simonova N.A., Volgushev M.A., Malyshev A.Y.* Enhanced non-associative long-term potentiation in immature granule cells in the dentate gyrus of adult rats. *Front. Synaptic Neurosci.* 2022. 14: 889947.
- Smirnov I.V., Osipova A.A., Smirnova M.P., Borodinova A.A., Volgushev M.A., Malyshev A.Y.* Plasticity of response properties of mouse visual cortex neurons induced by optogenetic tetanization in vivo. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2024. 46.(4): 3294–3312.
- Steriade M., Timofeev I., Grenier F.* Natural waking and sleep states: a view from inside neocortical neurons. *J. Neurophysiol.* 2001. 85 (5): 1969–1985.
- Thomazeau A., Bosch M., Essayan-Perez S., Barnes S.A., Jesus-Cortes H. De, Bear M.F.* Dissociation of functional and structural plasticity of dendritic spines during NMDAR and mGluR-dependent long-term synaptic depression in wild-type and fragile X model mice. *Mol. Psychiatry.* 2021. 26 (9): 4652–4669.
- Timofeev I., Chauvette S.* Neuronal activity during the sleep-wake cycle. handbook of behavioral neuroscience. Elsevier. 2019: 3–17.
- Timofeev I., Grenier F., Steriade M.* Disfacilitation and active inhibition in the neocortex during the natural sleep-wake cycle: An intracellular study. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001. 98 (4): 1924–1929.
- Tong R., Chater T.E., Emptage N.J., Goda Y.* Heterosynaptic cross-talk of pre- and postsynaptic strengths along segments of dendrites. *Cell Rep.* 2021. 34 (4): 108693.
- Volgushev M., Balaban P., Chistiakova M., Eysel U.T.* Retrograde signalling with nitric oxide at neocortical synapses. *Eur. J. Neurosci.* 2000. 12 (12): 4255–4267.
- Volgushev M., Chen J.-Y., Ilin V., Goz R., Chistiakova M., Bazhenov M.* Partial breakdown of input specificity of stdp at individual synapses promotes new learning. *J. Neurosci.* 2016. 36 (34): 8842–8855.
- Volgushev M., Mittmann T., Chistiakova M., Balaban P., Eysel U.T.* Interaction between intracellular tetanization and pairing-induced long-term synaptic plasticity in the rat visual cortex. *Neuroscience.* 1999. 93 (4): 1227–1232.
- Volgushev M., Voronin L.L., Chistiakova M., Singer W.* Induction of LTP and LTD in visual cortex neurones by intracellular tetanization. *Neuroreport.* 1994. 5 (16): 2069–2072.
- Watanabe J., Rozov A., Wollmuth L.P.* Target-specific regulation of synaptic amplitudes in the neocortex. *J. Neurosci.* 2005. 25 (4): 1024–1033.
- White G., Levy W.B., Steward O.* Spatial overlap between populations of synapses determines the extent of their associative interaction during the induction of long-term potentiation and depression. *J. Neurophysiol.* 1990. 64 (4): 1186–1198.
- Wickens J.R., Abraham W.C.* The involvement of L-type calcium channels in heterosynaptic long-term depression in the hippocampus. *Neurosci. Lett.* 1991. 130 (1): 128–132.
- Wilson D.E., Whitney D.E., Scholl B., Fitzpatrick D.* Orientation selectivity and the functional clustering of synaptic inputs in primary visual cortex. *Nat. Neurosci.* 2016. 19 (8): 1003–1009.
- Xu-Friedman M.A., Regehr W.G.* Structural Contributions to Short-Term Synaptic Plasticity. *Physiol. Rev.* 2004. 84 (1): 69–85.
- Yagishita S., Hayashi-Takagi A., Ellis-Davies G.C.R., Urakubo H., Ishii S., Kasai H.* A critical time window for dopamine actions on the structural plasticity of dendritic spines. *Science.* 2014. 345 (6204): 1616–1620.
- Yang S.-N., Tang Y.-G., Zucker R.S.* Selective induction of LTP and LTD by postsynaptic $[Ca^{2+}]_i$ elevation. *J. Neurophys.* 1999. 81(2): 781–787.
- Yang Y., Wang X., Frerking M., Zhou Q.* Spine expansion and stabilization associated with long-term potentiation. *J. Neurosci.* 2008. : The Official Journal of the Society for Neuroscience, 28(22), 5740–5751. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3998-07.2008>

HETERO SYNAPTIC PLASTICITY: ONE NAME FOR SEVERAL PHENOMENA

I. V. Smirnov, A. Yu. Malyshev[#]

*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
[#]e-mail: malyshev@ihna.ru*

Synaptic plasticity, which refers to long-term changes in the efficiency of synaptic transmission in the form of potentiation and depression, is thought to be a cellular mechanism of learning and memory. Long-term potentiation and depression can be induced under a variety of experimental conditions using different induction protocols. One such example is a protocol that follows Hebb's rule, where induction of plasticity requires paired activation of a pre- and postsynaptic neuron that occur within a narrow temporal window relative to each other. Such plasticity is called homosynaptic plasticity because the same (homo-, Greek prefix meaning “same, identical”) synapses that participated in the

induction of plasticity undergo long-term changes. However, as numerous experiments have shown, synapses that were inactive during the induction of plasticity also undergo long-term changes. This process has been termed heterosynaptic (hetero – “other, different”) plasticity in mammalian studies. Historically, however, the term heterosynaptic plasticity first appeared in studies of mollusks, where plastic changes in synaptic transmission were caused by a combination of stimulation of “weak” and “strong” synaptic inputs. As was later shown, the potentiating effect of stimulating the “strong” input in this case was associated with the release of neuromodulators, primarily serotonin. This type of plasticity was later demonstrated in mammals, where it was termed modulatory plasticity. The review considers different types of heterosynaptic plasticity, cellular and molecular mechanisms of its induction and maintenance, and explains the reasons for some terminological confusion related to this phenomenon in the literature.

Keywords: synaptic plasticity, heterosynaptic plasticity, homosynaptic plasticity, Hebb’s rule, neuromodulation, locally coordinated plasticity, structural plasticity, learning, memory

ОБЗОРЫ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 577.1

ПАМЯТЬ И ВРЕМЯ

© 2024 г. П. М. Балабан¹, А. А. Бородинова^{1,*}

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

«Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН», Москва, Россия

*e-mail: borodinova.msu@mail.ru

Поступила в редакцию 29.05.2024 г.

После доработки 22.07.2024 г.

Принята к публикации 22.07.2024 г.

В настоящем обзоре на основе собственных и литературных данных анализируется временное течение формирования долговременной памяти, длительность процессов консолидации и реконсолидации, временные параметры взаимодействия глиальных и нейрональных элементов нервной сети, возможные механизмы нейро-глиальных взаимодействий. На основе проведенного анализа выдвигается предположение, позволяющее объяснить длительность периода консолидации и реконсолидации долговременной памяти (4–6 часов) необходимостью вклада глиального окружения в локальные эпигенетические изменения экспрессии генов пластичности в нейронах энграмм памяти.

Ключевые слова: память, синаптическая пластичность, экспрессия генов, эпигенетика, глия, астроцит, микроРНК, внеклеточные везикулы

DOI: 10.31857/S0044467724060023

ВВЕДЕНИЕ

Изучение проблемы формирования и хранения долговременной памяти является в настоящее время одной из самых важных задач науки XXI века, несмотря на то что уже сотни лет многие ученые пытаются понять, что конкретно меняется в мозге после приобретения нового знания, как это приобретение хранится, как и где кодируется информация. Последние 50 лет усилия ученых были почти целиком направлены на изучение коррелятов пластических изменений в синапсах нейронов и возбудимости нейронов на самых разных уровнях организации нервной системы (Bliss, Lomo, 1973; Lauri et al., 2007; Lisman, 2017). При этом крайне важно отметить, что электрофизиологические характеристики нейронов изменяются при выработке пластичности за секунды после получения подкрепляющих стимулов и после этого сохраняются в той или иной степени на *in vitro*-препаратах срезов мозга часами, а при регистрации ответов на целом животном — и днями. Более того, высокий уровень пластичности синаптической передачи, неизбежное участие в очень многих событиях, необходимость возврата после потенциации к некоторой средней величине за 40–60 минут прямо указывают на то, что долговременная память реализуется (извлекается) через изменения эффективности синапсов. Собственно долговременные

события, отражающиеся в изменениях работы синапсов, реализуются через изменения уровней экспрессии генов пластичности в нейронах энграмм путем эпигенетической регуляции (Arshavsky, 2006; Gold, Glanzman, 2021), причем занимает процесс изменения экспрессии генов часы, а не минуты. На животных с относительно простой нервной системой (брюхоногий моллюск) стало возможным тестировать наличие новой памяти каждые 30 минут после ее формирования, и оказалось, что в некоторые промежутки времени память отсутствует, а потом (без дополнительного обучения) проявляется, но уже через часы после обучения (Magga et al., 2013; Fulton et al., 2005). В наших экспериментах по изучению формирования ассоциативной памяти при регистрации активности идентифицированных нейронов обнаружено, что в первый час после окончания обучения условнорефлекторные ответы в нейронах не наблюдаются, но через 2 часа ответы появляются без дополнительного обучения (Balaban et al., 2016). Блокада молекул протеинклизазы Мзета, которая регулирует транспорт AMPA-рецепторов в постсинаптическую мембрану и считается одной из специфических для памяти молекул, становится эффективной не сразу, а только через 90 минут после обучения (Balaban et al., 2015). Это прямо указывает на то, что наблюдаемые в первый час после обучения электрофизиологические изменения каким-то загадочным способом после

этого периода преобразуются в долговременные изменения, контролируемые через изменения экспрессии генов.

Эти и многие другие данные указывают на большую роль фактора времени в формировании долговременной памяти. Вопросы о том, что же происходит в первые часы после выработки памяти, какова роль глиальных клеток в формировании и консолидации памяти, с помощью каких нейротехнологий можно исследовать механизмы эпигенетической регуляции памяти, и составили основные темы настоящего обзора.

Консолидация и реконсолидация памяти как биологическое явление

В поведенческих экспериментах по обучению детально описан несколько таинственный феномен «консолидации», который можно обнаружить, только попытавшись нарушить вновь образованную память каким-либо воздействием в течение нескольких часов после формирования памяти. Первые описания консолидации памяти опубликованы более 120 лет назад (McGaugh, 2000; Müller, Pilzecker, 1900), и это явление детально исследовалось весь двадцатый век (McGaugh, 2000). Крайне существенно отметить, что длительность собственно момента запоминания составляет секунды, а длительность времени, в течение которого многими воздействиями можно нарушить вновь формирующую долговременную память, экспериментально определена как 4–6 часов.

Уже изначальная гипотеза предполагала, что трансформация новой памяти в долговременную является длительным процессом, занимающим часы. Существенно важно отметить, что убедительно показана независимость краткосрочной и различных этапов формирования долговременной памяти, то есть это не последовательные события, как это предполагалось рядом авторов (Agranoff et al., 1966). Данные о том, что фармакологически можно избирательно блокировать либо кратковременную (от секунд до часов), либо долговременную память (от часов до месяцев), свидетельствуют о том, что зависящие от времени стадии памяти основаны на независимых процессах, действующих параллельно (McGaugh, 2000). Очень коротко: суть консолидации заключается в том, что любое сильное воздействие, включая другую форму обучения, блокаду синтеза нового белка, активацию астроцитов и многие другие, нарушает формирование долговременной памяти, но только при условии, что это воздействие произойдет в первые 1–4 часа после обучения (Crossley et al., 2019; McGaugh, 2000; Santollo et al., 2019).

Для анализа роли времени в процессе формирования памяти необходимо также дать определение того, что происходит с долговременной памятью

при ее реактивации. Реактивация вызывает процесс временной протеин-зависимой лабилизации памяти и дальнейшую повторную консолидацию. Впервые прямо было показано в работе Мизанина и др. (Misanin et al., 1968), что крысы, обученные избегательному условному рефлексу (Pavlovian fear conditioning task), при предъявлении условного стимула и следующего сразу после него электроконвульсивного воздействия забывают, чему их учили за сутки до шока. Потеря памяти при сильной стимуляции после напоминания (тестирования) была сравнима с потерей при нанесении электрошока сразу после собственно процедуры начального обучения (fear-conditioning). Электрошок без напоминания не приводил к изменениям в памяти. Был сделан вывод о том, что амнестический эффект электрошока возможен не только в фазе консолидации памяти, но и в результате реактивации памяти, при которой ранее сформированная устойчивая память, переходя в лабильное состояние, может быть нарушена различными амнестическими вмешательствами (Mactutus et al., 1979; Meyer, 1972; Montarolo et al., 1986). До середины 90-х годов фактически не было публикаций, посвященных этому явлению, однако затем количество работ по описанию того, что происходит при реактивации памяти, резко возросло. В работе (Nader et al., 2000) было показано, что введение блокатора синтеза белка в базолатеральную миндалину крыс сразу после реактивации памяти об электрошоке вызывало значительное уменьшение условной реакции в ответ на условный стимул. Время эффективного нарушения формирования новой памяти блокадой синтеза белка после напоминания не превышало 6 часов, что указывает на временные границы реконсолидации памяти, совпадающие со временем консолидации. Эти данные были подтверждены с разными блокаторами, с разными парадигмами обучения на крысах (Debiec et al., 2002; Duvarci et al., 2008; Han et al., 2009). Появились работы с описанием феномена реконсолидации и на самых разных животных, включая брюхоногих моллюсков (Eisenberg et al., 2003; Pedreira, Maldonado, 2003; Suzuki, 2004; Gainutdinova et al., 2005). Таким образом, при формировании долговременной ассоциативной памяти существует период консолидации в несколько часов после окончания обучения или напоминания, во время которого память только формируется (повторно консолидируется при реконсолидации) и может быть стерта многими путями. Экспериментально доказано, что процесс реконсолидации переводит воспоминания в состояние лабильности на 1–4 часа, позволяющее их изменения до тех пор, пока они снова не стабилизируются и изменения не будут возможны. В период реконсолидации, так же как и при консолидации, необходим синтез новых белков, связанных с пластичностью (Schroeder et al., 2023).

Роль глии в пластичности нервной системы

Многие нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера, равно как и многие нейропсихиатрические расстройства, включая депрессию, шизофрению и аутизм, связаны с изменениями в количестве, морфологии и функционировании астроцитов (Rajkowska et al., 1999; Miguel-Hidalgo, 2009; Liou et al., 2011; Furman et al., 2012; Cotter et al., 2002). Эти и многие другие данные позволяют считать, что роль глиальных элементов мозга в когнитивных функциях очень велика.

Астроциты через выделяемые глиотрансмиттеры локально регулируют пластичность в близлежащих нейронах и синапсах со временем отклика в десятки минут (Maltsev et al., 2023), а через экзосомы и липопротeinовые частицы, содержащие эпигенетические агенты, регулируют долговременные изменения экспрессии генов пластичности в нейронах со временем отклика, измеряемым часами (Schiera et al., 2019), то есть по фактору времени основное действие астроцитов направлено не на быстрые синаптические процессы, а на долговременные изменения активности нейронных сетей, локальную регуляцию экспрессии генов в нейронах, которые активировали окружающую нейроны глию (рис. 1). Крайне существенно не забывать, что астроциты очень ограниченно общаются между собой и реагируют только на активность тех нейронов, которые по сути пространственно соприкасаются с астроцитами. Иными словами реакция астроцитов очень локальна и избирательна, четко очерчена активностью нейронной сети. Замедленная реакция астроцитов на происходящие вокруг события и локальность отклика явились основой того, что их участие в процессах обучения и формирования памяти очень долго не исследовалось. Действительно, процесс формирования ассоциативной памяти запускается за секунды, в нем просто не могут играть роль такие медленные элементы нервной системы. Однако процесс формирования долговременных изменений, как это стало понятно из изучения консолидации и реконсолидации, очень медленный, и совершенно очевидно, что именно в нем могут участвовать астроциты.

Роль, которую играют астроциты в работе нервной системы, до конца не изучена, но есть данные о том, что астроциты участвуют именно в медленных процессах в нервной системе, в частности в консолидации памяти. Если попробовать учесть фактор времени, то оказывается, что астроциты не способны модулировать синапсы в масштабе времени синаптических событий и вместо этого оказывают более медленное влияние, настраивая базальные синаптические свойства, такие как вероятность высвобождения передатчика и постсинаптическая возбудимость в соседних нейронах. Эти отставленные во времени влияния астроцитов

могут быть необходимы не во время индукции синаптической пластичности, но для сохранения истории прошлой активности и инициирования процессов сохранения долговременных пластических изменений (Santello et al., 2019). Можно сказать, что астроциты обеспечивают долгосрочное влияние прошедшего на будущее.

Учитывая последние данные о том, что тончайшие отростки одного астроцита образуют облако, охватывающее в пространстве до 100 000 синапсов, можно уверенно сказать, что эти элементы нервной системы интегрируют активность нескольких соседних нейронов (Halassa et al., 2007). При этом количество астроцитов в мозге больше, чем нейронов. Интуитивно можно предположить, что многомасштабная пространственно-временная интеграция астроцитов с нейронной сетью должна обеспечить организацию обработки информации более высокого порядка, то есть интеграция астроцитами работы нейронного кластера улучшает производительность сети (Santello et al., 2019).

Способы взаимодействия астроцитов с нейронами. Внеклеточные везикулы

В центральной нервной системе различают два основных типа межклеточной коммуникации, а именно проводниковую передачу (wiring transmission), где взаимодействие клеток осуществляется через специализированные контакты (синаптическая передача, щелевые контакты), а также объемную передачу (volume transmission), при которой клетки взаимодействуют друг с другом за счет распространения различных сигнальных молекул во внеклеточной жидкости (Agnati, Fux, 2014). Объемная передача протекает с временной динамикой в часы и занимает важное место в регуляции функционального состояния крупных компартментов мозга и в нейро-глиальной коммуникации.

Необходимо учитывать, что взаимодействие астроцитов и нейронов является двунаправленным: астроциты получают сигналы от нейронов и реагируют выделением сигнальных молекул, модулирующих работу нейронов (рис.1). Астроциты обладают определенной степенью пластичности, поскольку в разных условиях они способны выделять различные наборы сигнальных молекул (глиотрансмиттеры, некодирующие РНК) и метаболитов (лактат, холестерин и его производные), вызывающих в нейронах соответствующие пластические, метаболические и эпигенетические перестройки (Sofroniew, Vinters, 2010; Falkowska et al., 2015; Alberini et al., 2018; Ramírez et al., 2022; Pathak, Sriram, 2023; X. Li et al., 2021; Mulica et al., 2021). Некоторые сигнальные молекулы и метаболиты (липиды, холестерин, некодирующие РНК, белки), выделяемые астроцитами, транспортируются к нейронам в составе внеклеточных везикул

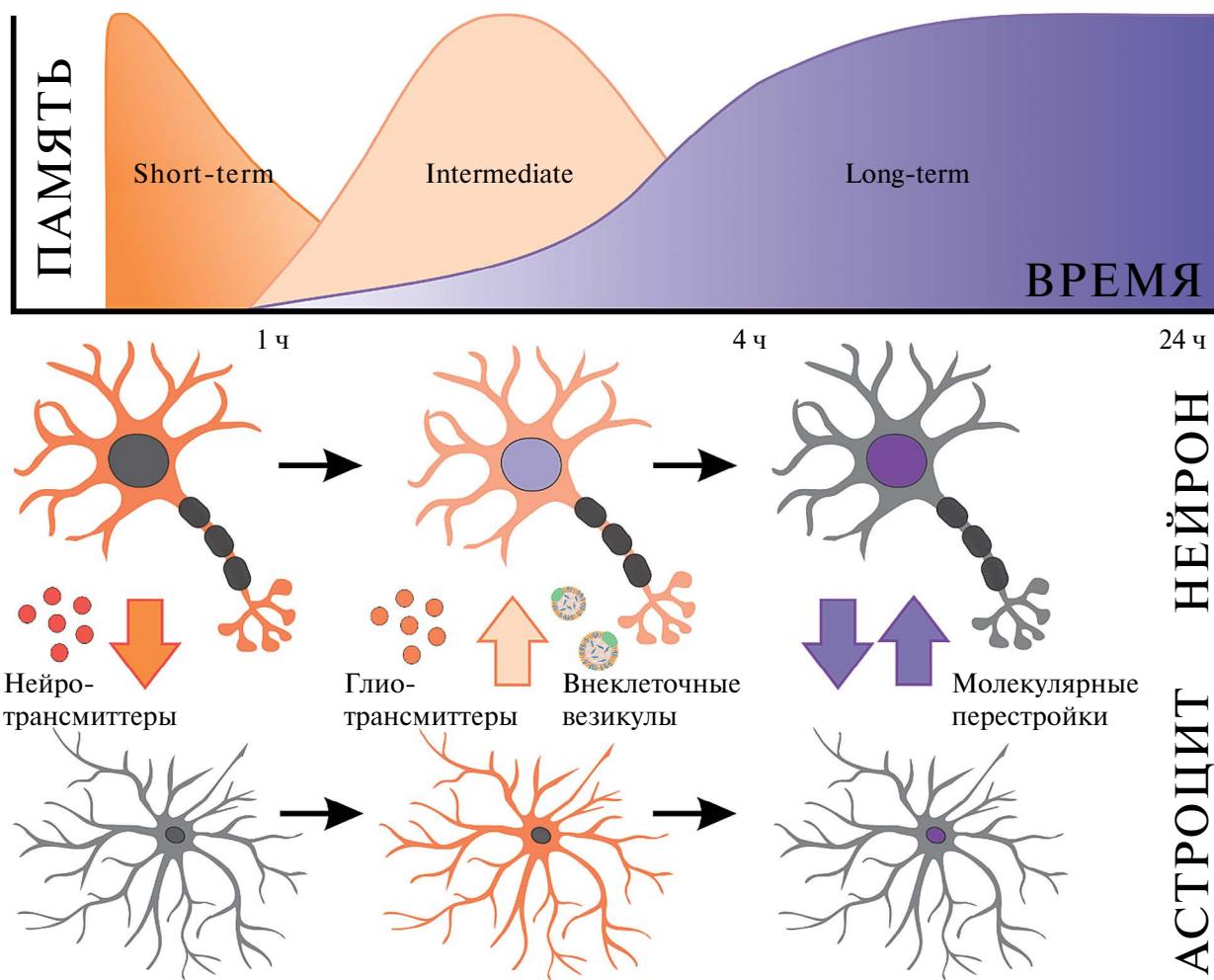


Рис. 1. Временные характеристики нейроглиальной коммуникации в пластических процессах. На верхней панели представлены фазы памяти (кратковременная, short-term; промежуточная, intermediate; долговременная, long-term), сменяющиеся в течение времени. На нижней панели представлены способы коммуникации нейронов и астроцитов. При индукции пластических изменений нейроны реагируют выделением нейротрансмиттеров, которые действуют на окружающие астроциты. Те, в свою очередь, реагируют выделением глиотрансмиттеров, обеспечивающих быструю реакцию окружающих нейронов. На молекулярном уровне происходит индукция транскрипционных перестроек в нейронах, сопряженная с изменением экспрессии немедленных ранних генов. В ответ на внешние факторы астроциты секрецируют внеклеточные везикулы с различными эпигенетическими агентами (некодирующими РНК), оказывающими отставленные долговременные влияния на молекулярную машинерию нейрона. С течением времени и в астроцитах и в нейронах происходят долговременные изменения работы генов, которые могут быть необходимы для кодирования и длительного хранения следа памяти.

Figure 1. Temporal characteristics of neuroglial communication in plasticity processes. The upper panel shows the phases of memory (short-term, intermediate, long-term) that change over time. The bottom panel shows how neurons and astrocytes interact. During the induction of plastic changes, neurons respond by releasing neurotransmitters that act on surrounding astrocytes. Those, in turn, respond by releasing gliotransmitters that provide a rapid response of surrounding neurons. At the molecular level, transcriptional rearrangements in neurons are induced, coupled with a change in the expression of immediate early genes. In response to external factors, astrocytes also secrete extracellular vesicles with various epigenetic agents (non-coding RNAs) that have a delayed long-term effects on the molecular machinery of the neuron. Over time, both astrocytes and neurons undergo long-term changes in the activity of genes, which may be necessary for encoding and long-term storage of a memory trace.

(экзосомы, эктосомы) или липопротеиновых частиц, отличающихся по происхождению, размеру и составу (Verkhratsky et al., 2016; X. Li et al., 2021). Выделение внеклеточных везикул является универсальным механизмом клеточной коммуникации

во всех организмах и описано для клеток нервной системы, включая олигодендроциты, микроглию и нейроны. Клеточно-специфичные внеклеточные везикулы с разной эффективностью поглощаются клетками-реципиентами и, по всей видимости,

имеют конкретных «адресатов» (Chivet et al., 2014; Men et al., 2019; Venturini et al., 2019; You et al., 2019).

В многочисленных обзорных статьях высказываются обоснованные предположения о том, что выделяемые астроцитами внеклеточные везикулы регулируют многие физиологические процессы в нейронах *in vivo*, включая синаптическую пластичность. Однако на сегодняшний день основные экспериментальные результаты по данной теме выполнены на модели клеточных культур. В частности, было показано, что астроциты конститутивно выделяют внеклеточные везикулы, по-видимому, необходимые для поддержания гомеостатических процессов в нервной системе. Добавление конститутивно секретируемых астроцитарных внеклеточных везикул к культурам нейронов способствует формированию дендритных шипиков и синаптогенезу (Patel, Weaver, 2021). На изменение состава внеклеточной среды астроциты реагируют изменением количества выделяемых внеклеточных везикул (Chaudhuri et al., 2018; Datta Chaudhuri et al., 2020; Fernandez et al., 2024). В зависимости от предъявляемых внешних стимулов содержание различных миРНК (Chaudhuri et al., 2018) и белков (You et al., 2019; Datta Chaudhuri et al., 2020) в астроцитарных внеклеточных везикулах (*astrocyte derived extracellular vesicles, ADEV*) существенно различается, что может определять эффективность поглощения ADEV нейронами (You et al., 2019). По последним данным, стимул-специфичное изменение секретома глиальных клеток сопровождается отставленными во времени качественными перестройками в работе клеток-мишеней. В модельных системах клеточных культур было показано, что в ответ на трофические (АТФ) или провоспалительные факторы (IL-1 β , TNF α) астроциты выделяют принципиально разные наборы внеклеточных везикул с сигнальными молекулами, которые при добавлении к нейронам, по-видимому, через изменение транскрипционных программ (см. ниже), способны увеличить или уменьшить электрическую активность нейронов (после 24 часов инкубации с ADEV), а также вызвать морфологические изменения дендритного дерева (после 48–72 часов инкубации с ADEV) (You et al., 2019; Datta Chaudhuri et al., 2020; Chaudhuri et al., 2018). Таким образом, создаваемое астроцитами микроокружение может определять работу ансамблей нейронов на клеточном уровне.

Эпигенетические факторы в нейроглиальных взаимодействиях

Долговременные пластические процессы в мозге тесно сопряжены с перестройками хроматина и изменением экспрессии определенных генов/ групп генов. Известно, что критическое окно для закрепления долговременных изменений

(консолидация и реконсолидация) составляет 4–6 часов, в течение которых, по-видимому, и происходят молекулярные перестройки, приводящие к формированию долговременной памяти. С помощью современных нейротехнологий в последних исследованиях в области нейроглиальных взаимодействий было показано, что изменение работы астроцитов, попадающее в это критическое окно, приводит к изменению эффективности обучения и памяти (Adamsky et al., 2018; Kol et al., 2020; Iwai et al., 2021). Это открывает поле для обсуждения роли астроцитов в качестве индукторов долговременных молекулярных и клеточных перестроек в нейронах и места эпигенетических факторов в нейроглиальной коммуникации.

Надо сказать, что имеющиеся в литературе данные в основном получены на клеточных культурах, поскольку те являются простой и удобной моделью для выборочного анализа состава астроцитарных и нейрональных внеклеточных везикул ввиду отсутствия у них специфических поверхностных маркеров. Секретируемые внеклеточные везикулы и липопротеиновые частицы служат защитными контейнерами для транспортировки различных регуляторных молекул (длинные некодирующие РНК, кольцевые РНК, миРНК), одной из ключевых функций которых является эпигенетическая регуляция транскрипционных программ в клетках-реципиентах. Отдельные экспериментальные работы указывают на то, что в нейронах и астроцитах существуют механизмы сортировки и загрузки отдельных некодирующих РНК в экзосомы «на экспорт», в результате чего происходит обогащение экзосом специфическими миРНК, которые практически не представлены в других компартментах исходных клеток (Jovičić, Gitler, 2017; Men et al., 2019). Секретируемые некодирующие РНК в период консолидации запускают длительные эпигенетические перестройки в клетках-мишениях, которые влияют на жизнеспособность и морфологические характеристики нейронов, долговременные изменения синаптической пластичности.

Показано, что за счет действия на специфические молекулярные мишени астроцитарные miR-29a и miR-146a контролируют выживание нейронов (Ibáñez et al., 2019; Ouyang et al., 2013). Выделяемые астроцитами miR-125a-5p и miR-16-5p в составе экзосом попадают в соседние нейроны, где регулируют морфологию дендритного дерева и активность нейронов (Chaudhuri et al., 2018), а содержащиеся в экзосомах miR-223 вызывают снижение экспрессии субъединиц NMDA-рецепторов в нейронах (Amoah et al., 2020). Отдельное внимание стоит уделить астроцитарному кластеру miR-17~92, состоящему из пяти миРНК (miR-17, miR-19a, miR-19b, miR-20a и miR-92), мишенью которого, в частности, является PTEN (D. Zhang, Wang, 2015), известный своим блокирующим влиянием на рост

аксонов (Y. Zhang et al., 2013). Было показано, что нокаут miR-17~92-кластера в нейральных стволовых клетках гиппокампа приводит к нарушению нейрогенеза *in vivo* и сопровождается нарушением гиппокамп-зависимой памяти у мышей в серии поведенческих тестов (Pan et al., 2019). В недавней работе Luarte и соавторы проанализировали возможные молекулярные мишени для целого ряда астроцитарных микроРНК и обнаружили, что miR-26a-5p может быть потенциальным мастер-регулятором группы нейрональных генов, связанных с Wnt-сигнальным каскадом, организацией цитоскелета, развитием нейронов и морфогенезом (Luarte et al., 2020). Полученные расчеты были подтверждены экспериментальными данными, показавшими снижение сложности дендритного дерева нейрона и падение экспрессии белков MAP2 и GSK3 β , связанных с регуляцией морфологии нейронов.

В немногочисленных работах показано участие астроцитарных некодирующих РНК в регуляции активности нейронов (Chaudhuri et al., 2018) и синаптической пластичности (Gu et al., 2015; Schiera et al., 2019). Авторы одной из работ проанализировали список дифференциально экспрессированных микроРНК в условиях выработки долговременной пластичности (LTP) и обнаружили противоположные изменения в экспрессии разных групп микроРНК, которые положительно (*let-7a*) или отрицательно (miR-26a, miR-384-5p) коррелируют с поддержанием поздней (зависимой от синтеза белка) фазы LTP и ростом дендритных шипиков (Gu et al., 2015). Оказалось, что мишенью miR-26a и miR-384-5p в нейронах выступает протеинкиназа RSK3, обеспечивающая активацию факторов трансляции, поэтому снижение экспрессии этих микроРНК во время выработки LTP должно облегчать протекание процессов, связанных с синтезом белка. Однако полученные данные стоит интерпретировать с осторожностью, поскольку, по разным данным, происхождение miR-26a может быть как астроцитарным (Luarte et al., 2020), так и нейрональным (B. Li, Sun, 2013) или даже смешанным (Smirnova et al., 2005).

По некоторым данным, астроциты могут влиять на экспрессию генов, связанных с морфологией нейронов и пластическими процессами, не только напрямую, но и опосредованно через управление метаболизмом нейронов (Nassar et al., 2022). В одной из недавних работ на клеточных культурах было показано, что аполипопротеин E (ApoE) служит переносчиком пула специфических астроцитарных микроРНК, которые подавляют экспрессию генов, связанных с биосинтезом холестерина в нейронах (X. Li et al., 2021). В результате неизрасходованный предшественник холестерина ацетил-КоА может быть использован нейроном в реакциях ацетилирования гистонов,

что существенно облегчает транскрипцию генов. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было обнаружено, что усиление ацетилирования гистонов преобладает в промоторных областях генов, связанных с формированием проекций нейронов и пластичностью, и сопровождается увеличением их экспрессии. Нокаут астроцитарного гена *ApoE* у мышей приводил к обратным эффектам и сопровождался снижением плотности дендритных шипиков и сложности дендритного дерева, а также нарушением формирования памяти в серии поведенческих тестов (X. Li et al., 2021). Было замечено, что разные формы ApoE обладают разной эффективностью транспортировки микроРНК, в частности, ApoE4 считается менее эффективным переносчиком некоторых микроРНК от астроцитов к нейронам и, соответственно, менее эффективным регулятором метаболических и эпигенетических процессов в нейронах, что выражается в ухудшении консолидации памяти и когнитивном дефиците (Cao et al., 2021; X. Li et al., 2021).

Полученные данные разрозненны и не дают полной картины, описывающей молекулярные механизмы нейроглиальной коммуникации в физиологических условиях. С определенной долей скептицизма можно предполагать, что в ответ на внешние стимулы (активацию нейронов энграммами при обучении) астроциты в период консолидации секретируют специфические эпигенетические факторы, которые в составе экзосом и липопротeinовых частиц путем диффузии, то есть за десятки минут, попадают в те же или соседние нейроны, где открывают окно для индукции долговременных эпигенетических перестроек и включения определенных транскрипционных программ, лежащих в основе долговременной пластичности нейронов (рис. 1).

С учетом вышесказанного астроциты являются перспективной мишенью для разработки способов управления работой нейронных сетей в норме и при патологических процессах. В течение последних лет нейрогенетические подходы (оптогенетика, хемогенетика), широко используемые для работы с нейронами, начали успешно применять для избирательного управления активностью астроцитов и регуляции их секреторного фенотипа, что облегчило получение новых данных о роли астроглии в долговременных пластических процессах в мозге и вывело исследования на принципиально новый уровень (Salmina et al., 2021; Whissell et al., 2016; Lyon, Allen, 2022). Однако, несмотря на технологический прогресс в этой области, на сегодняшний день остается немало белых пятен в молекулярных механизмах коммуникации глии и нейронов. Для понимания того, какие из астроцитарных эпигенетических факторов вносят наибольший вклад в регуляцию долговременных пластических процессов, требуется

совершенствование методов визуализации, выделения и анализа содержимого внеклеточных везикул, секретируемых астроцитами в ответ на различные физиологические стимулы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ временного течения формирования долговременной памяти, длительности процессов консолидации и реконсолидации, временных параметров взаимодействия глиальных и нейрональных элементов нервной сети, возможных механизмов нейро-глиальных взаимодействий позволил выдвинуть предположение, объясняющее длительность периода консолидации и реконсолидации долговременной памяти (4–6 часов) необходимостью вклада активности глиального окружения в локальные эпигенетические изменения экспрессии генов пластичности в нейронах энграмм памяти (рис.1). Последние данные, полученные в ходе анализа данных single-cell-секвенирования образцов медиальной префронтальной коры обученных и необученных мышей, позволили сделать неожиданное открытие о том, что в процессе консолидации памяти наряду с нейронами сами глиальные клетки также подвержены устойчивым транскрипционным изменениям, что может говорить об их активном участии в процессах памяти (Chen et al., 2020). Дальнейшие исследования показали, что молекулярные изменения, критически важные для формирования долговременной памяти, происходят в популяции периэнграммных астроцитов, окружающих нейроны энграмм (Sun et al., 2024). Похоже, что взаимодействие популяции нейронов с окружающими астроцитами необходимо для кодирования и длительного хранения следа памяти. Многомасштабная пространственно-временная интеграция астроцитов с нейронной сетью может быть основой организации обработки информации более высокого порядка, то есть интеграция астроцитами работы нейронного кластера может улучшать производительность сети, а временная задержка в десятки минут позволяет отсечь влияние не относящихся к данному виду памяти стимулов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы в равной степени участвовали в работе.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 24-15-00149.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют от отсутствия конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Неприменимо.

ДОСТУПНОСТЬ ПЕРВИЧНЫХ ДАННЫХ

Неприменимо.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Adamsky A., Kol A., Kreisel T., et al. Astrocytic Activation Generates De Novo Neuronal Potentiation and Memory Enhancement. Cell. 2018. 174 (1): 59–71.e14.*
- Agnati L.F., Fuxe K. Extracellular-vesicle type of volume transmission and tunnelling-nanotube type of wiring transmission add a new dimension to brain neuro-glial networks. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2014. 369(1652).*
- Agranoff B.W., Davis R.E., Brink J.J. Chemical studies on memory fixation in goldfish. Brain Res. 1966. 1 (3): 303–309.
doi:10.1016/0006-8993(66)90095-3*
- Alberini C.M., Cruz E., Descalzi G., Bessières B., Gao V. Astrocyte glycogen and lactate: New insights into learning and memory mechanisms. Glia. 2018. 66 (6):1244–1262.*
- Amoah S.K., Rodriguez B.A., Logothetis C.N., et al. Exosomal secretion of a psychosis-altered miRNA that regulates glutamate receptor expression is affected by antipsychotics. Neuropsychopharmacology. 2020. 45(4):656–665.*
- Arshavsky Y.I. “The seven sins” of the Hebbian synapse: Can the hypothesis of synaptic plasticity explain long-term memory consolidation? Prog Neurobiol. 2006; 80 (3): 99–113.
doi:10.1016/j.pneurobio.2006.09.004*
- Balaban P.M., Roshchin M., Timoshenko A.K., et al. Homolog of protein kinase Mzeta maintains context aversive memory and underlying long-term facilitation in terrestrial snail Helix. Front Cell Neurosci. 2015. 9(June): 222.
doi:10.3389/fncel.2015.00222*
- Balaban P.M., Vinarskaya A.K., Zuzina A.B., Ierusalimsky V.N., Malyshev A.Y. Impairment of the serotonergic neurons underlying reinforcement elicits extinction of the repeatedly reactivated context memory. Sci Rep. 2016. 6 (1): 36933. doi:10.1038/srep36933*
- Bliss T. V., Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. J Physiol. 1973. 232 (2): 331–356.*

- Cao J., Huang M., Guo L., et al.* MicroRNA-195 rescues ApoE4-induced cognitive deficits and lysosomal defects in Alzheimer's disease pathogenesis. *Mol Psychiatry.* 2021;26 (9):4687–4701.
- Chaudhuri A. D., Dasgheyb R.M., DeVine L.R., Bi H., Cole R.N., Haughey N.J.* Stimulus-dependent modifications in astrocyte-derived extracellular vesicle cargo regulate neuronal excitability. *Glia.* 2020; 68 (1):128–144.
- Chaudhuri A.D., Dastgheyb R.M., Yoo S.W., et al.* TNF α and IL-1 β modify the miRNA cargo of astrocyte shed extracellular vesicles to regulate neurotrophic signaling in neurons. *Cell Death Dis.* 2018; 9 (3).
- Chen M.B., Jiang X., Quake S.R., Südhof T.C.* Persistent transcriptional programmes are associated with remote memory. *Nature.* 2020; 587 (7834): 437–442.
- Chivet M., Javalet C., Laulagnier K., Blot B., Hemming F.J., Sadoul R.* Exosomes secreted by cortical neurons upon glutamatergic synapse activation specifically interact with neurons. *J Extracell vesicles.* 2014; 3(1). doi:10.3402/JEV.V3.24722
- Cotter D., Mackay D., Chana G., Beasley C., Landau S., Everall I.P.* Reduced neuronal size and glial cell density in area 9 of the dorsolateral prefrontal cortex in subjects with major depressive disorder. *Cereb Cortex.* 2002; 12(4): 386–394. doi:10.1093/cercor/12.4.386
- Crossley M., Lorenzetti F.D., Naskar S., et al.* Proactive and retroactive interference with associative memory consolidation in the snail *Lymnaea* is time and circuit dependent. *Commun Biol.* 2019; 2 (1). doi:10.1038/s42003-019-0470-y
- Debiec J., LeDoux J.E., Nader K.* Cellular and systems reconsolidation in the hippocampus. *Neuron.* 2002; 36 (3): 527–538. doi:10.1016/S0896-6273(02)01001-2
- Duvarci S., Nader K., LeDoux J.E.* De novo mRNA synthesis is required for both consolidation and reconsolidation of fear memories in the amygdala. *Learn Mem.* 2008; 15 (10): 747–755. doi:10.1101/lm.1027208
- Eisenberg M., Kobilo T., Berman D.E., Dudai Y.* Stability of retrieved memory: inverse correlation with trace dominance. *Science.* 2003; 301 (5636):1102–1104.
- Falkowska A., Gutowska I., Goschorska M., Nowacki P., Chlubek D., Baranowska-Bosiacka I.* Energy Metabolism of the Brain, Including the Cooperation between Astrocytes and Neurons, Especially in the Context of Glycogen Metabolism. *Int J Mol Sci.* 2015;16(11):25959–25981.
- Fernandez A., Corvalan K., Santis O., et al.* Sumoylation in astrocytes induces changes in the proteome of the derived small extracellular vesicles which change protein synthesis and dendrite morphology in target neurons. *Brain Res.* 2024; 1823.
- Fulton D., Kemenes I., Andrew R.J., Benjamin P.R.* A single time-window for protein synthesis-dependent long-term memory formation after one-trial appetitive conditioning. *Eur J Neurosci.* 2005; 21(5): 1347–1358. doi:10.1111/j.1460-9568.2005.03970.x
- Furman J.L., Sama D.M., Gant J.C., et al.* Targeting astrocytes ameliorates neurologic changes in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2012; 32 (46): 16129–16140.
- Gainutdinova T.H., Tagirova R.R., Ismailova A.I., et al.* Reconsolidation of a context long-term memory in the terrestrial snail requires protein synthesis. *Learn Mem.* 2005; 12 (6):620–625.
- Gold A.R., Glanzman D.L.* The central importance of nuclear mechanisms in the storage of memory. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021; 564: 103–113. doi:10.1016/J.BBRC.2021.04.125
- Gu Q.H., Yu D., Hu Z., et al.* miR-26a and miR-384-5p are required for LTP maintenance and spine enlargement. *Nat Commun.* 2015; 6.
- Halassa M.M., Fellen T., Takano H., Dong J.H., Haydon P.G.* Synaptic islands defined by the territory of a single astrocyte. *J Neurosci.* 2007; 27(24):6473–6477.
- Han J., Kushner S. A., Josselyn S. A., Han Jin-Hee, Kushner S. A., Yiu A. P., Hsiang H.-L. (Liz), Buch T., Waisman A., Bontempi B., Neve R. L., Frankland P. W. S.A.J.* Selective Erasure of a Fear Memory. *Science* (80-). 2009; 53 (3): 556–581.
- Ibáñez F., Montesinos J., Ureña-Peralta J.R., Guerri C., Pascual M.* TLR4 participates in the transmission of ethanol-induced neuroinflammation via astrocyte-derived extracellular vesicles. *J Neuroinflammation.* 2019; 16 (1).
- Iwai Y., Ozawa K., Yahagi K., et al.* Transient Astrocytic Gq Signaling Underlies Remote Memory Enhancement. *Front Neural Circuits.* 2021; 15. doi:10.3389/FNCIR.2021.658343
- Jovičić A., Gitler A.D.* Distinct repertoires of microRNAs present in mouse astrocytes compared to astrocyte-secreted exosomes. *PLoS One.* 2017; 12(2).
- Kol A., Adamsky A., Groysman M., Kreisel T., London M., Goshen I.* Astrocytes contribute to remote memory formation by modulating hippocampal-cortical communication during learning. *Nat Neurosci.* 2020; 23(10):1229–1239.
- Lauri S.E., Palmer M., Segerstrale M., Vesikansa A., Taira T., Collingridge G.L.* Presynaptic mechanisms involved in the expression of STP and LTP at CA1 synapses in the hippocampus. *Neuropharmacology.* 2007; 52(1):1–11. doi:10.1016/j.neuropharm.2006.06.017
- Li B., Sun H.* MiR-26a promotes neurite outgrowth by repressing PTEN expression. *Mol Med Rep.* 2013; 8(2):676–680.
- Li X., Zhang J., Li D., et al.* Astrocytic ApoE reprograms neuronal cholesterol metabolism and histone-acetylation-mediated memory. *Neuron.* 2021; 109(6):957–970.e8.
- Lioy D.T., Garg S.K., Monaghan C.E., et al.* A role for glia in the progression of Rett's syndrome. *Nature.* 2011; 475(7357): 497–500.
- Lisman J.* Criteria for identifying the molecular basis of the engram (*CaMKII, PKMzeta*). *Mol Brain.* 2017; 10(1). doi: 10.1186/S13041-017-0337-4

- Luarte A., Henzi R., Fernández A., et al.* Astrocyte-Derived Small Extracellular Vesicles Regulate Dendritic Complexity through miR-26a-5p Activity. *Cells.* 2020; 9(4).
- Lyon K.A., Allen N.J.* From Synapses to Circuits, Astrocytes Regulate Behavior. *Front Neural Circuits.* 2022; 15.
- Mactutus C.F., Riccio D.C., Ferek J.M.* Retrograde amnesia for old (reactivated) memory: some anomalous characteristics. *Science.* 1979; 204 (4399): 1319–1320. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/572083>.
- Maltsev A., Roshchin M., Bezprozvanny I., et al.* Bidirectional regulation by “star forces”: Ionotropic astrocyte’s optical stimulation suppresses synaptic plasticity, metabotropic one strikes back. *Hippocampus.* 2023; 33 (1):18–36.
- Marra V., O’Shea M., Benjamin P.R., Kemenes I.* Susceptibility of memory consolidation during lapses in recall. *Nat Commun.* 2013;4. doi:10.1038/NCOMMS2591
- McGaugh J.L.* Memory — A century of consolidation. *Science* (80-). 2000;287(5451):248–251. doi:10.1126/SCIENCE.287.5451.248
- McGaugh J.L.* Memory — A century of consolidation. *Science.* 2000; 287 (5451): 248–251. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10634773>. Accessed September 19, 2018.
- Men Y., Yelick J., Jin S., et al.* Exosome reporter mice reveal the involvement of exosomes in mediating neuron to astroglia communication in the CNS. *Nat Commun.* 2019; 10(1).
- Meyer D.R.* Access to engrams. *Am Psychol.* 1972; 27 (2):124–133. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5057735>.
- Miguel-Hidalgo J.J.* The role of glial cells in drug abuse. *Curr Drug Abuse Rev.* 2009; 2(1): 76–82.
- Misanin J.R., Miller R.R., Lewis D.J.* Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace. *Science.* 1968; 160 (3827): 554–555. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5689415>.
- Montarolo P.G., Goelet P., Castellucci V.F., Morgan J., Kandel E.R., Schacher S.* A critical period for macromolecular synthesis in long-term heterosynaptic facilitation in Aplysia. *Science.* 1986; 234 (4781): 1249–1254. doi:10.1126/SCIENCE.3775383
- Mulica P., Grünwald A., Pereira SL.* Astrocyte-Neuron Metabolic Crosstalk in Neurodegeneration: A Mitochondrial Perspective. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021; 12.
- Müller G., Pilzecker A.* Experimentelle Beiträge zur Lehre vom Gedächtniss. *Zeitschrift für Psychol.* 1900;1:1–300.
- Nader K., Schafe G.E., Le Doux J.E.* Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature.* 2000;406(6797):722–726. doi:10.1038/35021052
- Nassar A., Kodi T., Satarker S., et al.* Astrocytic Micro RNAs and Transcription Factors in Alzheimer’s Disease and Therapeutic Interventions. *Cells.* 2022; 11(24):4111.
- Ouyang Y.B., Xu L., Lu Y., et al.* Astrocyte-enriched miR-29a targets PUMA and reduces neuronal vulnerability to forebrain ischemia. *Glia.* 2013; 61(11):1784–1794.
- Pan W.L., Chopp M., Fan B., et al.* Ablation of the microRNA-17-92 cluster in neural stem cells diminishes adult hippocampal neurogenesis and cognitive function. *FASEB J.* 2019; 33 (4): 5257–5267.
- Patel M.R., Weaver A.M.* Astrocyte-derived small extracellular vesicles promote synapse formation via fibulin-2-mediated TGF-β signaling. *Cell Rep.* 2021; 34 (10).
- Pathak D., Sriram K.* Neuron-astrocyte omnidirectional signaling in neurological health and disease. *Front Mol Neurosci.* 2023; 16.
- Pedreira M.E., Maldonado H.* Protein synthesis subserves reconsolidation or extinction depending on reminder duration. *Neuron.* 2003; 38(6): 863–869.
- Rajkowska G., Miguel-Hidalgo J.J., Wei J., et al.* Morphometric evidence for neuronal and glial prefrontal cell pathology in major depression. *Biol Psychiatry.* 1999; 45(9):1085–1098.
- Ramírez A.E., Gil-Jaramillo N., Tapias M.A., et al.* MicroRNA: A Linking between Astrocyte Dysfunction, Mild Cognitive Impairment, and Neurodegenerative Diseases. *Life (Basel, Switzerland).* 2022; 12(9).
- Salmina A.B., Gorina Y. V., Erofeev A.I., Balaban P.M., Bezprozvanny I.B., Vlasova O.L.* Optogenetic and chemogenetic modulation of astroglial secretory phenotype. *Rev Neurosci.* 2021; 32(5):459–479.
- Santello M., Toni N., Volterra A.* Astrocyte function from information processing to cognition and cognitive impairment. *Nat Neurosci.* 2019; 22 (2):154–166. doi:10.1038/s41593-018-0325-8
- Schiera G., Di Liegro C.M., Di Liegro I.* Cell-to-Cell Communication in Learning and Memory: From Neuro- and Glio-Transmission to Information Exchange Mediated by Extracellular Vesicles. *Int J Mol Sci.* 2019; 21(1).
- Schroeder M.N., Fullio C.L., Ballarini F., Moncada D.* Modulation of memory reconsolidation by adjacent novel tasks: timing defines the nature of change. *Commun Biol.* 2023; 6 (1).
- Smirnova L., Gräfe A., Seiler A., Schumacher S., Nitsch R., Wulczyn F.G.* Regulation of miRNA expression during neural cell specification. *Eur J Neurosci.* 2005; 21(6):1469–1477.
- Sofroniew M.V., Vinters H.V.* Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol.* 2010; 119(1):7–35.
- Sun W., Liu Z., Jiang X., et al.* Spatial transcriptomics reveal neuron-astrocyte synergy in long-term memory. *Nature.* 2024; 627(8003):374–381.
- Suzuki A.* Memory Reconsolidation and Extinction Have Distinct Temporal and Biochemical Signatures. *J Neurosci.* 2004; 24 (20): 4787–4795.
- Venturini A., Passalacqua M., Pelassa S., et al.* Exosomes From Astrocyte Processes: Signaling to Neurons. *Front Pharmacol.* 2019; 10.
- Verkhratsky A., Matteoli M., Parpura V., Mohtet J., Zorec R.* Astrocytes as secretory cells of the central nervous

- system: idiosyncrasies of vesicular secretion. *EMBO J.* 2016. 35 (3): 239–257.
- Whissell P.D., Tohyama S., Martin L.J.* The Use of DRE-ADDS to Deconstruct Behavior. *Front Genet.* 2016. 7(MAY).
- You Y., Borgmann K., Edara V.V., Stacy S., Ghorpade A., Ikezu T.* Activated human astrocyte-derived extracellular vesicles modulate neuronal uptake, differentiation and firing. *J Extracell vesicles.* 2019. 9 (1).
- Zhang D., Wang X.* A Simple Protocol for Single Lung Cancer Cell Isolation-Making the Single Cell Based Lung Cancer Research Feasible for Individual Investigator. In: *Wang X.*, ed. *Single Cell Sequencing and Systems Immunology.* 2015. 165–174.
- Zhang Y., Ueno Y., Liu X.S., et al.* The MicroRNA-17-92 cluster enhances axonal outgrowth in embryonic cortical neurons. *J Neurosci.* 2013. 33 (16): 6885–6894.

TIME AND MEMORY

P. M. Balaban^a, A. A. Borodinova^{a, #}

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia*
[#]*e-mail: borodinova.msu@mail.ru*

In this review, based on our own and literature data, the temporal course of long-term memory formation, the duration of consolidation and reconsolidation processes, the temporal parameters of the interaction of glial and neuronal elements of the neural network, and possible mechanisms of neuro-glial interactions are analyzed. Based on the analysis, an assumption was made that allows us to explain the duration of the period of consolidation and reconsolidation of long-term memory (4–6 hours) by the need for the contribution of glia to the local epigenetic regulation of plasticity gene expression in the neurons of the memory engram.

Keywords: memory, synaptic plasticity, gene expression, epigenetics, glia, astrocyte, microRNA, extracellular vesicles

ОБЗОРЫ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 612.822.3

РОЛЬ ДЕПОЛИМЕРИЗАЦИИ АКТИНА В ИЗМЕНЕНИИ ТОРМОЗНЫХ ВЛИЯНИЙ НА ДОЛГОВРЕМЕННУЮ ПОТЕНЦИАЦИЮ ВОЗБУЖДАЮЩИХ СИНАПСОВ ГИППОКАМПА КРЫС

© 2024 г. И. В. Кудряшова^{1,*}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

«Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН», Москва, Россия

*e-mail: iv_kudryashova@mail.ru

Поступила в редакцию 22.03.2024 г.

После доработки: 15.05.2024 г.

Принята к публикации 22.07.2024 г.

Для исследования изменения эффективности торможения при долговременной потенциации в поле CA1 переживающих срезов гиппокампа крыс был использован метод парной стимуляции. Коэффициенты торможения вычисляли по соотношению зависимых и независимых от ТПСП реакций. В экспериментальной группе срезов тетанизация коллатералей Шаффера производилась на фоне джасплакинолида, ингибитора деполимеризации, применяемого также для индукции полимеризации актина. Обнаружено, что особенности развития CA1 LTP при индукции на фоне блокады деполимеризации актина включают изменение динамики модификаций тормозного компонента реакций на парную стимуляцию. Первоначальное усиление торможения зависело от его исходного уровня, и изменения при аппликации джасплакиналида до начала тетанизации могут быть главной причиной межгрупповых различий. Поэтому этот фактор учитывался при анализе изменений, специфичных для блокады ранней фазы деполимеризации актина. Показано, что к ним относится нарушение процесса растормаживания в фазе консолидации и поддержания LTP. Предполагается, что координирующая роль актинового цитоскелета определяет сбалансированность долговременных модификаций возбуждающих и тормозных синапсов.

Ключевые слова: гиппокамп, долговременная потенциация, дестабилизации синапсов, деполимеризация актина, джасплакинолид, растормаживание, бисинаптическое торможение

DOI: 10.31857/S0044467724060033

Способность синапса поддерживать относительно стабильное состояние и менять его в зависимости от индивидуального опыта находится под контролем образующих нейронный ансамбль клеток. К ним относятся разнообразные интернейроны и глиальные клетки. Их функции в нейросетевой пластичности не всегда достаточно изучены, за исключением некоторых видов тормозных интернейронов. Возбуждающий сигнал, поступающий к пирамидным нейронам гиппокампа и других ассоциативных отделов мозга, нередко сопровождается одновременной активацией тормозных интернейронов. Их синапсы оканчиваются на дендритах и соме тех же пирамидных клеток (Bloss et al., 2016; Rivasenga et al., 2022). Для нестабильных сетей «обучающихся» систем нейронов с высоким адаптационным потенциалом особое значение приобретают синапсы, расположенные на дендритах (Bloss et al., 2016; Rivasenga et al., 2022).

Феномен долговременной синаптической потенциации (LTP) представляет одну из наиболее распространенных моделей долговременной синаптической пластичности, которая позволяет выявить механизмы, лежащие в основе увеличения синаптической эффективности. Активация ключевых для синаптической пластичности ферментов происходит при изменении внутриклеточного содержания кальция. Гиперполяризация нейрона ограничивает приток кальция в дендритные компартменты, в том числе может приводить к снижению вероятности открытия NMDA каналов (Bartley, Dobrunz, 2015; Rivasenga et al., 2022). Слишком сильное торможение может в той или иной степени препятствовать достижению необходимой для консолидации LTP пороговой концентрации внутриклеточного кальция (Кудряшова, 2015; Gandolfi et al., 2020).

Выступая в качестве ограничителя длительного поддержания модификаций, которые происходят

при активации возбуждающих синапсов (Кудряшова, 2015; Gandolfi et al., 2020), тормозные синапсы и сами способны к модификациям при изменении уровня активации нейронов (Chiu et al., 2019; Gandolfi et al., 2020; Ravasenga et al., 2022). Не только возбуждающие, но и тормозные синапсы реагируют на высокочастотное раздражение, и их эффективность тоже меняется в ходе LTP (Ormond, Woodin, 2009; Chiu et al., 2019; Gandolfi et al., 2020; Ravasenga et al., 2022). Проблема участия тормозных синапсов в LTP-зависимых перестройках включает исследования механизмов изменения их эффективности, которые происходят в фазе консолидации и контролируют поддержание LTP. Было обнаружено, что потенциация возбуждающих синапсов часто сопровождается депрессией тормозных потенциалов (Lu et al., 2000; Ormond, Woodin, 2009; Кудряшова, 2015; Hennequin et al., 2017; Gandolfi et al., 2020; Chapman et al., 2022). По некоторым данным, растормаживание совпадает с началом процесса консолидации (Ormond, Woodin, 2009; Кудряшова, 2015). При этом эффект растормаживания может выступать не только, или даже не столько как фактор, определяющий порог модификаций, но и как дополнительный фактор, стимулирующий структурную пластичность (Кудряшова, 2015; Chiu et al., 2019; Gandolfi et al., 2020), тем самым обеспечивая поддержание LTP возбуждающих синапсов (Ormond, Woodin, 2009; Кудряшова, 2015).

Другим известным фактором консолидации является дестабилизация синапсов (Кудряшова, 2015). Согласно представлениям о структурной реорганизации синапсов как основе долговременной пластичности, для начала преобразований необходима их предварительная дестабилизация (Ouyang et al., 2005; Meyer et al., 2014; Кудряшова, 2019). Дестабилизация синапсов, которая происходит вскоре после индукции LTP, тесно связана с реорганизацией актинового цитоскелета (Ouyang et al., 2005; Cingolani, Goda, 2008; Gordon-Weeks, Fournier, 2014; Yan et al., 2016; Borovac et al., 2018; Кудряшова, 2019; Runge et al., 2020). Данные электрофизиологических экспериментов свидетельствуют о том, что реполимеризация актина необходима для долговременной пластичности возбуждающих синапсов (Ouyang et al., 2005; Ramachandran, Frey, 2009). В том числе зависящие от актина модификации обнаружены при исследовании LTP, включая LTP поля CA1 (Ramachandran, Frey, 2009; Rex et al., 2010; Galvez et al., 2016).

Стабильное состояние сигнальных и регуляторных белков, определяющих эффективность синапса, поддерживается их взаимодействием со скелетными, стеллажными и якорными белками (Pizzarelli et al., 2020). Как правило, специальные белки, взаимодействующие с полимеризованным актином, обеспечивают устойчивость актиновых filamentов, в том числе и специфичные для тормозных

синапсов (Gordon-Weeks, Fournier, 2014; Yan et al., 2016). Молекулярной основой дестабилизации синапсов является деполимеризация актина (Cingolani, Goda, 2008; Ouyang et al., 2005; Кудряшова, 2019; Borovac et al., 2018). В реакции принимают участие множество регуляторных белков, в целом образуя сложную систему регуляции процессов деполимеризации и полимеризации актина (Cingolani, Goda, 2008; Lin, Webb, 2009; Gordon-Weeks, Fournier, 2014). Тот факт, что деполимеризующие актин регуляторные белки реагируют на активацию NMDA рецепторов, свидетельствует в пользу их участия в синаптической пластичности (Cingolani, Goda, 2008). В частности, для начала процесса деполимеризации необходимо дефосфорилирование кофилина (Lin, Webb 2009; Gu et al., 2010). Показано, что дефосфорилирование кофилина и, соответственно, снижение содержания F-актина в дендритных шипиках происходит при достаточно интенсивной активации нейронов (Cingolani, Goda, 2008; Rex et al., 2010; Cao et al., 2017). Что касается LTP, этот эффект может быть обнаружен уже через 5 минут, но не позже чем через 30 минут после тетанизации (Ouyang et al., 2005; Borovac et al., 2018). Блокада NMDA рецепторов приостанавливает все реакции, связанные с дефосфорилированием кофилина и деполимеризацией актина (Ouyang et al., 2005). Дополнительные подтверждения зависимых от актина механизмов консолидации были получены в экспериментах с использованием ингибиторов полимеризации и деполимеризации. В частности, было обнаружено, что тетанизация на фоне блокатора деполимеризации актина джасплакинолида блокирует транспорт CaMKII в дендритные шипики и ослабляет LTP, что свидетельствует в пользу гипотезы о необходимости деполимеризации актина в фазе дестабилизации (Ouyang et al., 2005; Rex et al., 2010).

Проблема участия деполимеризации актина и растормаживания в качестве условий, от которых зависит успешность консолидации LTP, предусматривает определение степени согласованности этих двух факторов с точки зрения их совместного влияния на длительность поддержания LTP. Вместе с тем остается открытым вопрос о влиянии деполимеризации актина на посттетанические модификации тормозных синапсов, хотя и известно, что актиновый цитоскелет имеет непосредственное отношение к подавляющему большинству постсинаптических модификаций, включая динамическую реорганизацию постсинаптических структур, удаление, встраивание и стабилизацию ГАМК_A рецепторов (Maynard, Triller, 2019; Pizzarelli et al., 2020; Кудряшова, 2023). К тому же процедуры, влияющие на реполимеризацию актина, меняют активность не только возбуждающих, но и тормозных синапсов (Gandolfi et al., 2020; Кудряшова, 2022). Это предполагает возможность

влияния структурных перестроек в фазе консолидации на эффективность не только возбуждающих, но и расположенных на шипиках тормозных синапсов. Исходя из этого, можно предположить, что эффект растормаживания в фазе консолидации и поддержания LTP может быть следствием деполимеризации актина сразу после тетанизации. С другой стороны, посттетанические модификации возбуждающих и тормозных синапсов могут развиваться независимо друг от друга, как реакция на кальциевый сигнал (Chiu et al., 2019; Gandolfi et al., 2020; Chapman et al., 2022; Ravasenga et al., 2022). К тому же, как правило, одни и те же ферменты являются источником постсинаптических модификаций возбуждающих и тормозных синапсов, и, в частности, интенсивная активация NMDA рецепторов, обеспечивающая встраивание глутаматных рецепторов, приводит к дефосфорилированию ГАМК_A рецепторов и снижению амплитуды ТПСП (Marsden et al., 2010). Все эти механизмы могут обеспечивать зависимость эффекта растормаживания от деполимеризации актина.

В пирамидных нейронах поля CA1 в ответ на стимуляцию коллатералей Шаффера регистрируется сложный постсинаптический потенциал, который состоит из первоначального ВПСП, на фоне которого развивается более поздний ТПСП. ТПСП генерируется тормозными интернейронами поля CA1, которые, так же как и пирамидные нейроны, иннервируются коллатералями Шаффера (Ormond, Woodin, 2009). В частности, тормозные интернейроны гиппокампа вовлечены в кратковременную пластичность при парной стимуляции. При этом тормозные потенциалы ограничивают возможность генерации потенциала действия определенным интервалом времени. Поэтому при парной стимуляции с достаточно короткими межстимульными интервалами пресинаптическая фасилитация (paired pulse facilitation, далее PPF), суммируясь с тормозным потенциалом, не в состоянии обеспечить максимально возможный прирост амплитуды постсинаптического ответа, причем генерация высокоамплитудных ТПСП может приводить к отсутствию PPF или даже кратковременной депрессии (paired pulse depression, PPD) возбуждающих синапсов. Об участии тормозных синапсов в кратковременной пластичности в поле CA1 переживающих срезов гиппокампа крыс свидетельствует тот факт, что эффект подавления PPF при коротких межстимульных интервалах блокируется бикукулином (Кудряшова, 2015). Соответственно, по соотношению зависимых и независимых от ТПСП реакций на парную стимуляцию можно количественно определить вклад тормозных потенциалов в модуляцию свойств кратковременной пластичности. В нашей работе эффект кратковременного подавления PPF₁₅ относительно PPF₇₀ был использован для вычисления «коэффициентов

торможения» (Кудряшова, 2015; Кудряшова, 2022). Этот метод дает возможность проследить динамику взаимодействия LTP зависимых модификаций возбуждающих и тормозных синапсов, в том числе и при блокаде ранней фазы деполимеризации актина.

Ингибитор деполимеризации актина джасплакинолид проникает через клеточную мембрлю (Bubb et al., 2000), что в значительной степени снижает методические ограничения при исследовании функций актина в центральных синапсах высших позвоночных животных. Предполагалось, что как ингибитор деполимеризации джасплакинолид будет ограничивать дестабилизацию синапсов. Необходимо отметить, что непродолжительность фазы деполимеризации создает методические трудности для определения возникающих при ее блокаде нарушений. К тому же джасплакинолид применяют *in vitro* не только как ингибитор деполимеризации, но и как активатор полимеризации актина (Bubb et al., 2000). Поэтому его эффекты зависят от момента аппликации. К сожалению, при исследовании LTP этот ингибитор используется чаще всего слишком поздно, так что момент предполагаемой деполимеризации актина в ответ на индуцирующие долговременную пластичность сигналы уже упущен. В частности, джасплакинолид улучшает LTP, предотвращая депотенциацию в фазе поддержания (Rex et al., 2010; Galvez et al., 2016). Более сложным представляется применение джасплакинолида для блокады ранней фазы LTP, связанной с деполимеризацией актина. В частности, влияние блокатора на процесс консолидации может осложниться действием сопутствующих факторов. Ранее показано, что предварительная инкубация с джасплакинолидом может изменять свойства синаптических реакций еще до тетанизации (Кудряшова, 2022; 2023), что делает выборки для сравнения LTP исходно неравнозначными. Такие изменения, несомненно, вносят вклад в последующие перестройки синаптической активности, и их необходимо учитывать при исследовании специфичных для дестабилизации синапсов нарушений.

Влияние джасплакинолида на эффективность тормозных синапсов (Кудряшова, 2023) подразумевает возможность изменения закономерностей их участия в долговременной пластичности. Задачей работы было исследование влияния ингибитора деполимеризации актина джасплакинолида на посттетанические изменения тормозного компонента реакций как одного из существенных факторов консолидации LTP. С этой целью в поле CA1 переживающих срезов гиппокампа крыс была проанализирована динамика изменения коэффициентов торможения после высокочастотного раздражения коллатералей Шаффера в норме или на фоне джасплакинолида. Для выявления специфичных для фазы дестабилизации синапсов эффектов джасплакинолида различия

в величине тормозного компонента до тетанизации учитывались в качестве дополнительного действующего фактора.

МЕТОДИКА

Электрофизиологические эксперименты проводились на переживающих срезах гиппокампа крыс Вистар массой 90–180 г. Состав перфузационной среды (мМ): NaCl 124; KCl 5; MgSO₄ * 7H₂O 1.3; CaCl₂ 2.5; NaH₂PO₄ 1; NaHCO₃ 26; D-глюкоза – 10; карбоген – 95% O₂ и 5% CO₂; pH 7.3–7.4, температура 30° С. Для регистрации фокальных потенциалов в пирамидном слое поля CA1 использовались стеклянные микроЭлектроды, заполненные 0,33-ным раствором хлористого натрия. Раздражающие биполярные электроды устанавливали в радиальном слое на коллатерали Шаффера. Для индукции LTP применялось высокочастотное раздражение коллатералей Шаффера 100 Гц, 1 с. Во всех экспериментах для тетанизации использована максимальная интенсивность раздражения (14 В). До и в течение 1 ч после тетанизации тестирование моносинаптических фокальных потенциалов производилось каждые 30 с в режиме парной стимуляции с чередованием межстимульных интервалов 70 мс и 15 мс.

В экспериментальной группе срезов тетанизация коллатералей Шаффера производилась на фоне ингибитора деполимеризации и активатора полимеризации актина джасплакинолида (0.2 μM). Перфузия раствором, содержащим джасплакинолид, осуществлялась для каждого среза индивидуально. Не прекращая тестирования, этот раствор постепенно подводили к одному из срезов непосредственно в область регистрации в течение 20 минут с помощью программируемого микроинъектора без отключения основного протока. Такой способ подведения позволяет минимизировать эффект смены протока. Порядок тестирования зависел от расположения среза в экспериментальной камере, начиная с наиболее удаленного по ходу основного протока. Чтобы минимизировать зависимость испытаний при тестировании срезов одного и того же животного, использовалась разная интенсивность раздражения. Срезы контрольных животных подвергались тем же процедурам, за исключением аппликации джасплакинолида. Учитывая тот факт, что активирующее или блокирующее консолидацию действие джасплакинолида зависит от момента аппликации, а главной мишенью при исследовании особенностей развития LTP в инкубированных с джасплакинолидом срезах была фаза деполимеризации актина, которая начинается почти сразу после индукции, тетанизация производилась через 5 мин после добавления в перфузционную среду джасплакинолида. Чтобы исключить активирующее

влияние на полимеризацию актина в фазе консолидации, подачу джасплакинолида прекращали через 15 минут после тетанизации.

Метод определения коэффициентов торможения основан на эффекте подавления PPF при коротких межстимульных интервалах. Для определения коэффициентов, характеризующих эффективность тормозных влияний, сравнивали парную фасилитацию при одной и той же интенсивности тестирующего раздражения, но с разными межстимульными интервалами. Вычисления производились на основании двух последовательных предъявлений парных стимулов, с межстимульным интервалом 15 мс и 70 мс, с измерением амплитуды популяционного спайка (как более зависимого от ТПСП показателя) первого и второго в паре ответа ($A_{1(15\text{мс})}$, $A_{1(70\text{мс})}$, $A_{2(15\text{мс})}$, $A_{2(70\text{мс})}$) и их соотношения (paired pulse ratio, $\text{PPR}_{70} = A_{2(70\text{мс})}/A_{1(70\text{мс})}$, $\text{PPR}_{15} = A_{2(15\text{мс})}/A_{1(15\text{мс})}$, $\text{PPR} > 1$ и $\text{PPR} < 1$ означали PPF или PPD соответственно). С целью оптимизации метода было использовано несколько зависимых от эффективности тормозных влияний количественных показателей. Для количественного сравнения величины прироста при разных межстимульных интервалах определяли разницу между PPR_{70} и PPR_{15} ($\text{PPR}_{15} - \text{PPR}_{70}$) и амплитудами второго ответа ($A_{2(15\text{мс})} - A_{2(70\text{мс})}$), а также соотношение амплитуд второго ответа ($A_{2(15\text{мс})}/A_{2(70\text{мс})}$). Использование относительных показателей исключает влияние фактора индивидуальной вариабельности величины амплитуды ответа, в том числе из-за условий регистрации. Чтобы избежать деления на ноль, в данной работе для вычисления коэффициентов торможения использован показатель $(A_{1(15\text{мс})} + A_{2(15\text{мс})})/(A_{1(70\text{мс})} + A_{2(70\text{мс})})$. При этом следует заметить, что вычисление коэффициентов торможения по соотношению активности зависимых и независимых от ТПСП компонентов реакций подразумевает их обратную корреляцию с действительной величиной тормозных реакций.

Для более точного определения специфичных для дестабилизации изменений, при статистическом сравнении динамики LTP-зависимых модификаций в контрольных и инкубированных с джасплакинолидом срезах введен дополнительный фактор, учитывающий различия в эффективности тормозных влияний до тетанизации. Помимо всего прочего, это позволило контролировать межгрупповые различия, связанные с необходимостью аппликации джасплакинолида до тетанизации. Критерием распределения в ту или иную подгруппу была низкая или высокая (относительно среднего уровня всей выборки в целом) эффективность тормозных влияний непосредственно перед тетанизацией. Для определения статистической значимости влияния джасплакинолида на специфические характеристики LTP-зависимых модификаций были использованы Anova (Repeated Measure), двухфакторный Anova и t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При исследовании влияния джасплакинолида на свойства кратковременной пластичности в поле CA1 переживающих срезов гиппокампа крыс было обнаружено, что блокада деполимеризации и активация полимеризации актина увеличивает вероятность выброса медиатора возбуждающих синапсов и тормозный компонент реакции на парную стимуляцию (Кудряшова, 2022; 2023). При исследовании особенностей развития CA1 LTP в группе экспериментальных срезов тетанизация коллатералей Шаффера производилась на фоне джасплакинолида, и предварительное изменение входных характеристик может быть одной из причин дефицита LTP при его аппликации еще до начала тетанизации. Ранее было показано, что характерные для обработанных с джасплакинолидом срезов низкие значения PPF больше не меняются после высокочастотного раздражения коллатералей Шаффера, что в целом подтверждает возможность окклюзии пресинаптической LTP из-за исходно высокой вероятности выброса медиатора (Кудряшова, 2023). Различия в эффективности исходного торможения также, по-видимому, могут затруднять выявление эффектов, связанных с блокадой дестабилизации синапсов. Поэтому при статистическом сравнении LTP в контрольных и инкубированных с джасплакинолидом срезах необходимо контролировать разные свойства исходных выборок, и прежде всего – баланс возбуждения и торможения.

Для исследования динамики изменения коэффициентов торможения было использовано 10 контрольных и 14 экспериментальных животных. Сравнение средних величин LTP в контрольной и экспериментальной группах показало, что прирост амплитуды ответа после высокочастотного раздражения коллатералей Шаффера на фоне джасплакинолида был достоверно ниже ($120 \pm 10\%$ и $196 \pm 13\%$, $F(1,238) = 29.61, p = 0.000$), и одним из возможных объяснений может быть окклюзия пресинаптической LTP. Пресинаптическая LTP в контрольных срезах сопровождалась снижением PPF, что свидетельствует об увеличении вероятности выброса медиатора. Достоверное снижение PPF наблюдалось сразу после тетанизации (2.34 ± 0.07 до и 1.73 ± 0.05 после тетанизации, $t = 7.02, p = 0.0000$ для зависимых переменных).

Одновременно с этим в контрольных срезах сразу после тетанизации обнаружено достоверное уменьшение коэффициентов торможения (1.45 ± 0.05 до и 1.15 ± 0.03 после тетанизации, $t = 5.78, p = 0.0000$ для зависимых переменных), что свидетельствует об усилении тормозных влияний. Такое же уменьшение коэффициентов торможения происходило после аппликации джасплакинолида еще до тетанизации, и, вероятно, поэтому их величина больше не снижалась (рис. 1). Так же как

посттетаническое снижение коэффициентов торможения в контрольных срезах, аналогичный эффект джасплакинолида тоже ассоциирован со снижением

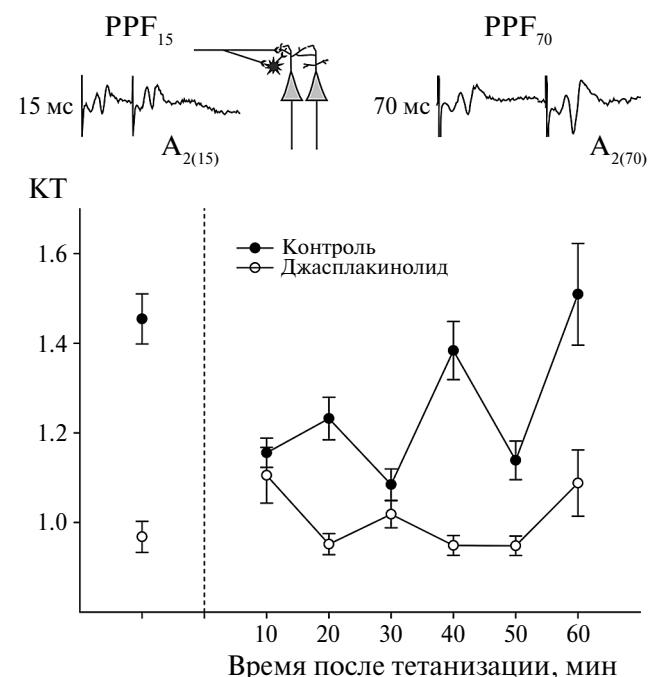


Рис. 1. Динамика изменения коэффициентов торможения в поле CA1 после высокочастотного раздражения коллатералей Шаффера. Абсцисса – время после тетанизации, мин; ордината – абсолютные значения коэффициентов торможения $(A_{1(15\text{ms})} + A_{2(15\text{ms})}) / (A_{1(70\text{ms})} + A_{2(70\text{ms})})$. Обоснование выбора формулы для расчетов представлено в разделе «Методы». Здесь отметим, что снижение величины этого показателя, как следует из формулы, обозначает усиление тормозных влияний. Результаты представлены в виде $M \pm S.E.M.$. Пунктиром отмечен момент тетанизации. Темные символы – изменения в контрольной группе, светлые символы – изменения при тетанизации на фоне джасплакинолида. В верхней части рисунка представлены примеры реакций на парную стимуляцию с межстимульными интервалами 15 и 70 мс. Измеряемые величины обозначены используемыми в тексте символами. Схема объясняет возможность подавления PPF_{15} за счет бисинаптического ТПСП.

Fig. 1. The dynamics of inhibition coefficients in CA1 area changed after high frequency stimulation of Schaffer collaterals. Abscissa – time after tetanization, min; ordinate – absolute values of inhibition coefficients $(A_{1(15\text{ms})} + A_{2(15\text{ms})}) / (A_{1(70\text{ms})} + A_{2(70\text{ms})})$. This formula use is explained in the “Methods”. Note here that decreased value of this index, as follows from formula, means larger inhibition. The results are presented as mean \pm S. E. M. Dotted line indicates time point of tetanization. Dark symbols – control group; light symbols – experimental group, tetanization with jasplakinolide in perfusion medium. Experimental traces at the top represent responses to paired pulse stimulation with 15 ms and 70 ms interpulse intervals. Taken for measurement parameters indicated by the used in the text symbols. The scheme illustrates a possibility of PPR_{15} suppression by disynaptic IPSP.

PPF возбуждающих синапсов и, вероятно, может объясняться активацией дополнительных тормозных интернейронов и синапсов при увеличении секреции медиатора. В пользу этого предположения свидетельствует тот факт, что усиление торможения сразу после тетанизации наблюдается только при условии LTP и зависит от ее величины. Соответственно, значимая корреляция между первоначальным снижением коэффициентов торможения и величиной ранней LTP ($r = -0.73, p < 0.000$, рис.2, темные символы), скорее всего, определяется не причинно-следственной связью, а влиянием общего фактора, тем более что увеличение ТПСП скорее ограничивает прирост амплитуды ответа.

Та же закономерность и, в частности, значимая корреляция между первоначальным снижением коэффициентов торможения и величиной ранней LTP выявлялась также и в экспериментальной группе срезов ($r = -0.45, p < 0.000$, рис. 2, светлые символы). Однако при таком же уровне снижения коэффициентов торможения величина ранней потенциации на фоне джасплакинолида была существенно меньше. В рамках представлений, учитывающих исходное торможение как фактор, определяющий порог модификаций, это может быть связано не только с окклюзией

пресинаптической LTP из-за исходно высокой вероятности выброса медиатора, но и с увеличением порога индукции постсинаптических модификаций на фоне повышенной активности тормозных синапсов, наблюдавшейся после аппликации джасплакинолида.

Через 10 минут после тетанизации начинается рост коэффициентов торможения, и к 40-й минуте их величина в среднем достигает контрольного, а затем и более высокого уровня. Этот факт вряд ли может объясняться угашением пресинаптической LTP, тем более что значимое снижение PPF относительно исходного уровня сохранялось в среднем до конца регистрации (через час после тетанизации $t = 5.39, p = 0.0000$ для зависимых переменных). В соответствии с литературными данными можно предположить, что на фоне пресинаптической потенциации появляются первые признаки постсинаптического растормаживания. Обращает на себя внимание тот факт, что такой же эффект растормаживания отсутствовал в экспериментальной группе срезов, за исключением почти значимой тенденции к увеличению коэффициентов торможения в первые 10 минут после тетанизации (0.97 ± 0.03 до и 1.11 ± 0.06 после тетанизации, $t = 1.9, p = 0.05$ для зависимых переменных). К тому же при дальнейшем тестировании не было обнаружено значимых различий между коэффициентами торможения до и после тетанизации, и лишь незначительный прирост наблюдался к 30-й ($1.02 \pm 0.03, t = 1.07, p = 0.28$ для зависимых переменных) и 60-й минуте ($1.09 \pm 0.07, t = 1.5, p = 0.13$ для зависимых переменных). Такая неустойчивость изменений не позволяет сделать окончательный вывод об их возможной причастности к эффекту растормаживания.

Чтобы исключить влияние фактора различий исходной величины коэффициентов торможения в контрольной и экспериментальной группе при статистическом сравнении посттетанических модификаций, были использованы относительные показатели $\Delta Kt = Kt_{\text{после}} - Kt_{\text{до}}$. В фазе консолидации и поддержания LTP в контрольных срезах величина ΔKt постепенно увеличивалась (влияние фактора времени $F(5,1190) = 8.07, p = 0.0000$), что свидетельствует о снижении тормозных влияний. В экспериментальной группе коэффициенты торможения оставались стабильными вне зависимости от тетанизации, что определяло практически нулевые значения ΔKt и их значимое отличие от контрольной группы ($F(1,238) = 15.04, p = 0.0001$). С точки зрения задачи исследования решающее значение имеет статистическая значимость различий в динамике посттетанических модификаций (взаимодействие факторов «группа» х «порядковый номер тестирования» $F(5,1190) = 6.35, p = 0.0000008$), что свидетельствует в пользу гипотезы о нарушении процессов растормаживания

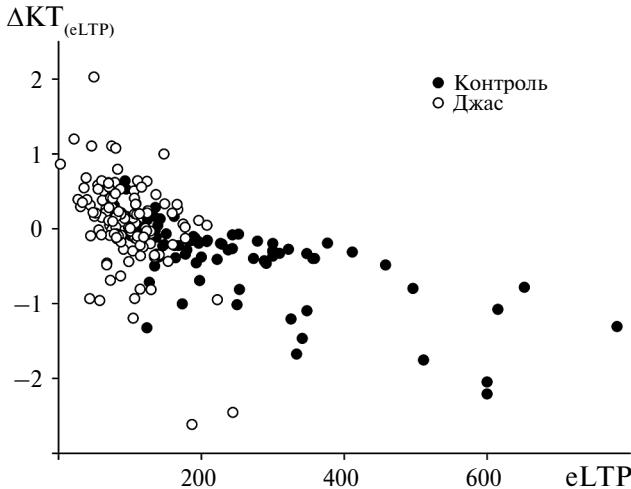


Рис. 2. Корреляция между первоначальным снижением коэффициентов торможения и величиной ранней LTP. Абсцисса – магнитуда ранней LTP через 15 мин после тетанизации; ордината – изменение коэффициентов торможения через 15 мин после тетанизации относительно исходной величины ($Kt_{15\text{мин}} - Kt_{\text{до}}$). Обозначения групп – как на рис. 1.

Fig. 2. Correlation between posttetanic decrease of inhibition coefficients and early LTP magnitude. Abscissa – early LTP magnitude 15 min after tetanization; ordinate – differences between inhibition coefficients 15 min after tetanization and baseline value ($Kt_{15\text{min}} - Kt_{\text{before}}$). Group symbols as in fig. 1.

при блокаде ранней фазы деполимеризации актина. Необходимо отметить, что неравноценность контрольной и экспериментальной выборки по величине исследуемых показателей еще до тетанизации (рис. 1) существенно усложняет задачу статистического сравнения посттетанических модификаций. Тем не менее удаление из экспериментальной выборки всех данных, которые по величине коэффициентов торможения до тетанизации лежали за пределами контрольной выборки, в целом не изменило результаты статистического анализа и выводы (различие между группами $F(1,213) = 5.57, p = 0.0019$, влияние фактора времени $F(5,1065) = 8.35, p = 0.000000$, взаимодействие факторов «группа» х «порядковый номер тестирования» $F(5,1065) = 5.01, p = 0.00015$). Даже в более сбалансированной с контролем экспериментальной выборке тетанизация по-прежнему в среднем не оказывала заметного влияния на величину коэффициентов торможения и ΔKT оставались в области нулевых значений в течение всего времени регистрации.

Чтобы убедиться, что отсутствие эффекта растормаживания в экспериментальной группе срезов не связано с исходно разной эффективностью тормозных влияний, для дальнейшего определения различий в динамике посттетанических модификаций были использованы подгруппы, сформированные с учетом величины коэффициентов торможения до тетанизации. Несмотря на общее усиление торможения на фоне джасплакинолида (рис. 1), в некоторых экспериментах его эффективность оставалась на достаточно низком уровне, сопоставимом с контрольными экспериментами, в которых величина коэффициентов торможения до тетанизации была выше среднего. Оказалось, что коэффициенты торможения более 1.17 (средний контрольный уровень) значимо снижались сразу после тетанизации не только в контроле, но и на фоне джасплакинолида (рис. 3, в контрольной подгруппе с 1.71 ± 0.06 до $1.22 \pm 0.04, t = 7.37, p = 0.000000$ для зависимых переменных и в экспериментальной подгруппе с 1.61 ± 0.13 до $0.97 \pm 0.07, t = 4.01, p = 0.0006$ для зависимых переменных). По величине спада ΔKT контрольная и экспериментальная подгруппа в среднем не различались (-0.49 ± 0.06 и -0.64 ± 0.15 соответственно, $t = 0.95, p = 0.34$ для независимых переменных). Это означает, что дефицит посттетанического снижения коэффициентов торможения по всей экспериментальной выборке в целом (рис. 1) не относится к эффектам джасплакинолида и, скорее всего, связан с максимальным возможным торможением еще до тетанизации. Действительно, посттетаническое снижение коэффициентов торможения меньше 1.17 отсутствует, в том числе и в соответствующей контрольной подгруппе (1.0 ± 0.02 до 1.04 ± 0.03 сразу после тетанизации, $t = 1.05, p = 0.3$ для зависимых переменных), что

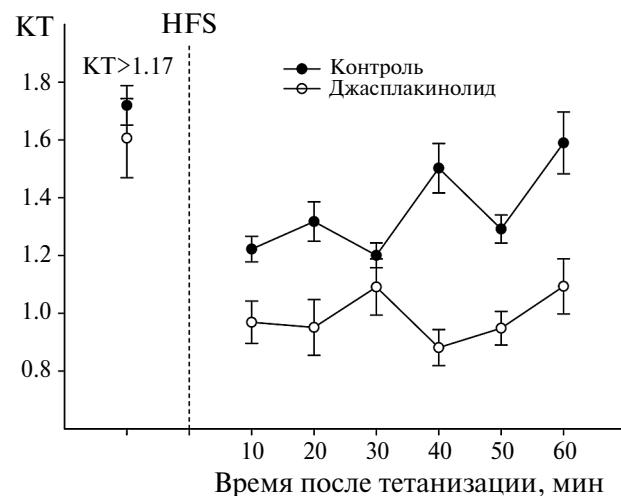


Рис. 3. Посттетаническое снижение коэффициентов при исходно слабом торможении. Для сравнения использованы только те эксперименты, в которых величина коэффициентов торможения до тетанизации больше общего среднего. Все обозначения как – на рис. 1.

Fig. 3. Posttetanic decrease of coefficients in case of initially low inhibition. Subgroups of slices with pretetanic coefficients more than general group mean were taken for comparison. All designs as in fig. 1.

тем не менее не препятствует дальнейшему растормаживанию в фазе консолидации и поддержания LTP (рис. 4). Этот факт свидетельствует о независимости растормаживания от ранних модификаций тормозного компонента реакций на парную стимуляцию.

Джасплакинолид при любых условиях предотвращал эффект растормаживания (рис. 3, 4), что подтверждает статистическая значимость взаимодействия факторов «подгруппа» х «порядковый номер тестирования» при исследовании динамики изменения ΔKT в каждой из подгрупп ($F(5,765) = 2.86, p = 0.014$ и $F(5,415) = 2.82, p = 0.016$ при исходных коэффициентах торможения меньше или больше 1.17 соответственно). Слишком быстрый и кратковременный прирост коэффициентов торможения меньше 1.17 в экспериментальной группе (0.85 ± 0.0 до 1.13 ± 0.07 сразу после тетанизации, $t = 3.84, p = 0.0002$ для зависимых переменных) вряд ли имеет отношение к основному процессу растормаживания и, скорее всего, объясняется «побочными» с точки зрения проверяемой гипотезы влияниями джасплакинолида. Все вместе дает основания полагать, что именно блокада ранней фазы деполимеризации актина, а не действие сопутствующих факторов нарушает процесс растормаживания и, следовательно, изменение баланса возбуждения и торможения в фазе консолидации и поддержания LTP тоже зависит от дестабилизации синапсов.

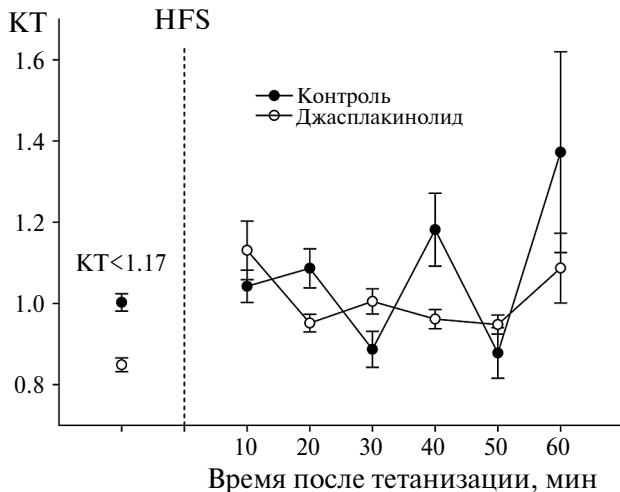


Рис. 4. Относительная стабильность КТ при исходно сильном торможении. Для сравнения использованы только те эксперименты, в которых величина коэффициентов торможения до тетанизации меньше общего среднего. Все обозначения – как на рис. 1.

Fig. 4. Relatively resistant coefficients in case of initially high inhibition. Subgroups of slices with pretetanic coefficients less than general group mean were taken for comparison. All designs as in fig. 1.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты в целом соответствуют концептуальным представлениям о координирующей роли актинового цитоскелета в нейросетевом обеспечении механизмов долговременной пластичности. При исследовании особенностей развития долговременной потенциации (LTP) в поле CA1 инкубированных с джасплакинолидом переживающих срезов гиппокампа крыс было обнаружено, что блокада деполимеризации актина влияет в том числе и на посттетанические изменения эффекта кратковременного подавления PPF₁₅ относительно PPF₇₀. На этом основании предполагается, что последствия реорганизации актинового цитоскелета могут, по всей вероятности, распространяться на модификации участвующих в LTP тормозных синапсов.

Функции актинового цитоскелета в синаптических структурах и его способность к реорганизации под действием поступающих сигналов делает его одним из главных участников в формировании и поддержании специфического молекулярного состава пре- и постсинапса (Кудряшова, 2021; 2023). Иммобилизация рецепторов в зоне синаптического контакта поддерживается образованным актиновыми филаментами естественным барьером, ограничивающим утечку рецепторов и других белков, участвующих в образовании функционально активных комплексов (Ouyang et al., 2005;

Cingolani, Goda, 2008; Maynard, Triller, 2019). Относительная подвижность этих комплексов может быть спровоцирована двигательной активностью актиновых филаментов (Maynard, Triller, 2019; Mele et al., 2019).

Очевидно, что изменение размера и формы шипиков при реорганизации актинового матрикса (Bosch et al., 2014; Yan et al., 2016; Borovac et al., 2018) влияет на функциональные характеристики расположенных на них рецепторов, в том числе менее стабильных в этом отношении ГАМК_A рецепторов (Gordon-Weeks, Fournier, 2014; Chiu et al., 2019; Pizzarelli et al., 2020). Вместе с тем динамическая компартментализация сигнальных и регуляторных белков позволяет быстро адаптироваться к постоянно меняющимся условиям сигналинга (Cingolani, Goda, 2008; Gordon-Weeks, Fournier, 2014; Petrini, Barberis, 2014; Yan et al., 2016). Наличие общих посредников предполагает возможность взаимодействия возбуждающих и тормозных синапсов в развитии долговременной пластичности. Необходимость временной деполимеризации актина связывают с его барьераными функциями (Ouyang et al., 2005). Актиновые филаменты служат надежным барьером для распространения ферментов за пределы их активной зоны, участвуют в защите необходимых для реализации синаптических функций белков (Ouyang et al., 2005; Ramachandran, Frey, 2009; Maynard, Triller, 2019). Ослабление этих функций, по мнению авторов, необходимо для избирательного проникновения в шипики связанных с долговременной пластичностью белков и белковых комплексов (Gordon-Weeks, Fournier, 2014), в частности, для доставки СaMKII и глутаматных рецепторов (Ouyang et al., 2005; Gu et al., 2010; Rust et al., 2010). Видимо, по той же причине активация молекулярных механизмов при индукции LTP может распространять свое влияние на пластичность расположенных на шипиках тормозных синапсов, тем более что СaMKII и многие другие ключевые для LTP ферменты имеют непосредственное отношение к изменению их эффективности (Wei et al., 2004; Marsden et al., 2010; Mele et al., 2019; Chapman et al., 2022).

Результаты, полученные при тестировании коэффициентов торможения методом парной стимуляции (Кудряшова, 2015; 2022), в основном соответствуют этим представлениям. Вместе с тем, помимо ожидаемого при LTP-зависимых перестройках растормаживания, эффективность тормозных влияний увеличивалась сразу после тетанизации. Эта первоначальная реакция может быть прямым результатом потенциации возбуждающих синапсов, в частности увеличения секреции глутамата, и, предположительно, связана с активацией механизмов поддержания оптимального баланса между возбуждением и торможением (Sprekeler, 2017; Chiu et al., 2019; Gandolfi et al., 2020). Тормозные

синапсы реагируют на повышенную спайковую активность нейронов, метаботропные пресинаптические и постсинаптические рецепторы отслеживают увеличение концентрации медиаторов (Hennequin et al., 2017; Sprekeler, 2017; Chiu et al., 2019; Gandolfi et al., 2020; Chapman et al., 2022). В результате ТПСП может увеличиваться или снижаться в зависимости от уровня возбуждения нейронов и поступающих по возбуждающим и тормозным входам сигналов (Petrini, Barberis, 2014).

От условий активации зависит постсинаптическая локализация ГАМК_A рецепторов (Bannai et al., 2015). Латеральная диффузия ГАМК_A рецепторов считается главным фактором, определяющим их число в зоне синаптического контакта (Luscher et al., 2011; Petrini, Barberis, 2014; Maynard, Triller, 2019). В норме около половины тех рецепторов, которые имеют в своем составе типичные для ГАМКергических синапсов субъединицы, расположены вне зоны синаптического контакта. Такие рецепторы могут быть использованы как источник обновления синаптических ГАМК_A рецепторов и в качестве резервного пула при потенциации тормозной передачи (Kneussel, Hausrat, 2016). Интенсивная активация нейронов стимулирует процесс пополнения синаптического пула ГАМК_A рецепторов (Petrini, Barberis, 1914), увеличивая скорость рециркуляции и вероятность транслокации ГАМК_A рецепторов к зоне синаптического контакта (Luscher et al., 2011; Maynard, Triller, 2019; Mele et al., 2019; Pizzarelli et al., 2020). Стабильность синаптических ГАМК_A рецепторов поддерживается постсинаптическим стеллажным белком гефирином (Pizzarelli et al., 2020), который при NMDA-зависимой потенциации тормозных потенциалов накапливается в зоне синаптического контакта в течение первых 30 минут после индукции (Bannai et al., 2015; Pennacchietti et al., 2017; Pizzarelli et al., 2020). Потенциация ТПСП происходит в полном соответствии с его мобилизацией из экстрасинаптической зоны (Bannai et al., 2015; Pennacchietti et al., 2017; Mele et al., 2019). Вместе с тем в экстрасинаптической зоне существуют свои, не зависимые от гефирина, системы стабилизации ГАМК_A рецепторов (Hausrat et al., 2015), локализация и функции которых связаны преимущественно с тоническим торможением (Mele et al., 2019). Полагают, что конкурентное зараживание ГАМК_A рецепторов в синаптической и экстрасинаптической может иметь отношение к восстановлению баланса между возбуждением и торможением (Hausrat et al., 2015).

Судя по изменениям PPF, вероятность выброса медиатора увеличивается сразу после индукции LTP. Активация AMPA рецепторов ослабляет зараживание экстрасинаптических ГАМК_A рецепторов (Hausrat et al., 2015). Их появление в составе синаптических рецепторов наблюдается при повышенной активности глутаматергических синапсов, что

сопровождается увеличением амплитуды и длительности ТПСП (Hausrat et al., 2015). Кроме того, усиление ГАМК_A торможения при активации метаботропных глутаматных рецепторов может быть связано с механизмами регуляции восстановления ионного баланса, обеспечивающими ионную пластичность (Mahadevan, Woodin, 2016).

Наиболее существенное влияние глутамата на обновление постсинаптических ГАМК_A рецепторов опосредовано NMDA рецепторами (Marsden et al., 2010), хотя вероятность латеральной диффузии меняется в зависимости от величины кальциевого сигнала (Luscher et al., 2011; Bannai et al., 2015; de Luca et al., 2017). Слишком сильная и продолжительная активация и поступление кальция стимулирует мобильность ГАМК_A рецепторов (Luscher et al., 2011), и только умеренный Ca²⁺ сигнал способствует их иммобилизации (Bannai et al., 2015; de Luca et al., 2017). Устойчивость постсинаптических ГАМК_A рецепторов повышается при их фосфорилировании (Luscher et al., 2011; Bannai et al., 2015; Mele et al., 2019). В фосфорилировании ГАМК_A рецепторов участвуют СaMKII, протеинкиназы C, протеинкиназы A (Luscher et al., 2011; Mele et al., 2019), и их активация при индукции LTP может способствовать привлечению дополнительных экстрасинаптических ГАМК_A рецепторов и потенциации тормозных синапсов (Marsden et al., 2010; Luscher et al., 2011; Xue et al., 2011; Hausrat et al., 2015; Mele et al., 2019). К тому же протеинкиназы облегчают доставку из внутриклеточных депо, экзоцитоз и встраивание дополнительных ГАМК_A рецепторов (Chou et al., 2010; Marsden et al., 2010; Luscher et al., 2011; Maynard, Triller, 2019; Mele et al., 2019). Повышенная спайковая активность и деполяризация нейронов приводят к открытию потенциал-зависимых кальциевых каналов, что дополнительно стимулирует экзоцитоз ГАМК_A рецепторов (Saliba et al., 2009). Активация экзоцитоза увеличивает пул мембранных рецепторов и, как следствие, потенциальные возможности для потенциации тормозных синапсов (Marsden et al., 2010; Luscher et al., 2011; Kneussel, Hausrat, 2016; Mele et al., 2019).

Активация нейронов и глутаматергических синапсов на фоне фосфорилирования участвующими в LTP ферментами и изменения зависимой от фосфолипазы C фосфатазной активности ограничивает интернализацию ГАМК_A рецепторов (Luscher et al., 2011; Rannals, Kapur, 2011; Mele et al., 2019; Chapman et al., 2022). При этом СaMKII сдерживает протеолиз рецепторов после интернализации. При дефиците эндоцитоза регулярное обновление в условиях активации приводит к увеличению общего числа участвующих в рециркуляции рецепторов, что, несомненно, вносит вклад в потенциацию тормозных синапсов (Bannai et al., 2015; Luscher et al., 2011; Maynard, Triller, 2019; Mele et al., 2019).

Принципы молекулярной организации пресинаптических функций ГАМКергических и глутаматергических синапсов имеют много общего (Кудряшова, 2021), включая участие актина в обеспечении секреторных функций (Bleckert et al., 2012). На этом основании можно ожидать, что также как и при тетанизации возбуждающих синапсов пресинаптические механизмы участвуют в потенциации тормозных синапсов при активации NMDA рецепторов (Xue et al., 2011; Yan et al., 2016). Кроме того, модификации расположенных на интернейронах синапсов, как известно, вносят дополнительный вклад в изменения бисинаптических тормозных потенциалов (Horn, Nicoll, 2018; Chiu et al., 2019; Pizzarelli et al., 2020; Yap et al., 2020) и их увеличение может объясняться вовлечением в реакцию добавочных тормозных интернейронов и синапсов.

Все эти модификации так или иначе зависят от поддержки актинового цитоскелета (Кудряшова, 2023). К тому же любые модификации, включая кратковременные, нуждаются в зависимом от актина транспорте вновь синтезированных белков (Mele et al., 2019). Соответственно, аппликация джасплакинолида может изменять течение зависимых от актина модификаций, таких как транспорт и заакорчивание сигнальных молекул, подвижность ГАМК_A рецепторов, их кластеризацию, латеральную диффузию и т.д. (Bannai et al., 2015), включая регуляцию ассоциированных с цитоскелетом белков и ферментов, ответственных за встраивание, интернализацию и заакорчивание ГАМК_A рецепторов в экстрасинаптической зоне при оптимизации тормозного контроля (Кудряшова, 2023).

Представленные результаты свидетельствуют о том, что по сравнению с контролем при тех же условиях стимуляции на фоне джасплакинолида посттетанический прирост тормозного компонента даже увеличивается. Этот факт еще не означает, что посттетанская деполимеризация актина может иметь отношение к росту торможения ранней фазы LTP. Во-первых, джасплакинолид является не только блокатором деполимеризации, но и активатором полимеризации актина. Что еще более существенно, похожие изменения происходят при обычном тестировании на фоне джасплакинолида (Кудряшова, 2022), и его вынужденная аппликация до начала тетанизации побуждает контролировать синаптический фон до тетанизации при определении специфичных для дестабилизации синапсов изменений LTP.

Актиновые филаменты состоят из молекул полимеризованного F-актина, но в тех же компартментах обнаруживается достаточно много диффузно распространенного мономерного G-актина. При тетанизации эти мономеры используются для образования коротких, склонных к деполимеризации филаментов (Rex et al., 2010). Образование новых филаментов на фоне джасплакинолида улучшает

стабилизацию ГАМК_A рецепторов и гефириновых комплексов в зоне синаптического контакта. При стабилизации актиновых филаментов снижается вероятность латеральной диффузии синаптических рецепторов. Вероятно, поэтому джасплакинолид ослабляет LTD тормозных синапсов (Galvez et al., 2016). К тому же полимеризация актина может способствовать мобилизации и встраиванию дополнительных ГАМК_A рецепторов (Gu et al., 2010; Luscher et al., 2011; Bannai et al., 2015; Mele et al., 2019; Maynard, Triller, 2019), снижению интернализации при активации глутаматергических синапсов и, как следствие, увеличению общего пула мембранных рецепторов (Rannals, Kapur, 2011).

Активация полимеризации актина провоцирует увеличение объема и числа шипиков (Fukazawa et al., 2003; Matsuzaki et al., 2004; Chen et al., 2007; Ramachandran, Frey, 2009; Rex et al., 2010; Bellot et al., 2014; Bosch et al., 2014; Borovac et al., 2018). Структурная пластичность шипиков развивается достаточно быстро, по некоторым данным – в течение нескольких минут активации (Lushnikova et al., 2011; Villa et al., 2016; Mele et al., 2019; Pizzarelli et al., 2020). Джасплакинолид не препятствует росту шипиков (Rex et al., 2010), но ограничивает их элиминацию (Jaworski et al., 2009). Такое изменение баланса может, по-видимому, объяснить активирующее влияние джасплакинолида на эффективность расположенных на шипиках рецепторов, включая тормозные, тем более в условиях более интенсивного посттетанического обновления шипикового аппарата.

Вполне вероятно, что на фоне джасплакинолида улучшается доставка и компартментализация молекулярного обеспечения реакций, участвующих в мобилизации рецепторов (Ouyang et al., 2005; Кудряшова, 2022). Протеинкиназы долговременной пластичности возбуждающих синапсов способствуют увеличению мембранныго пула ГАМК_A рецепторов (Marsden et al., 2010; Chou et al., 2010; Luscher et al., 2011; Mele et al., 2019; Chapman et al., 2022). Известно, что при активации синапсов увеличивается плотность окружающих синаптические везикулы филаментов, причем их мобилизация из соседних областей дополняется образованием новых филаментов (Bleckert et al., 2012). Улучшение барьерных функций на фоне активатора полимеризации джасплакинолида может способствовать увеличению вероятности выброса медиатора.

Интенсивная активация и деполяризация нейронов может облегчать полимеризацию актина (Gordon-Weeks, Fournier, 2014). Этому, по-видимому, способствует исходно слабое торможение. Тем не менее в некоторых экспериментах эффективность тормозных влияний не увеличивалась, как правило, это наблюдалось при исходно сильном торможении еще до тетанизации. Отсутствие посттетанического снижения

коэффициентов торможения в экспериментальной группе уже в первые минуты после тетанизации вряд ли может иметь отношение к блокаде посттетанической деполимеризации актина. Судя по всему, изменения на фоне джасплакинолида начинаются еще до тетанизации. В частности, увеличение эффективности тормозных влияний до максимального или почти максимального уровня не оставляет возможности для существенного посттетанического прироста. К тому же усиленная полимеризация на фоне джасплакинолида нарушает восстановление нормального баланса F- и G-актина, так что недостаточно высокое содержание свободного G-актина еще до начала тетанизации может влиять на LTP, ограничивая мобилизацию F-актина в фазе активного внутриклеточного транспорта. Кроме того, полимеризация актина стимулирует выброс медиатора (Yan et al., 2016; Кудряшова, 2021), и, вероятно, поэтому на фоне используемого в данной работе джасплакинолида в поле CA1 переживающих срезов гиппокампа крыс снижается PPF (Кудряшова, 2023). Поскольку аппликация джасплакинолида до тетанизации может приводить к увеличению вероятности выброса медиатора, снижается диапазон возможного прироста и, соответственно, метаботропные влияния пресинаптической LTP на посттетаническую потенциацию тормозных синапсов.

Вполне вероятно, что тормозные синапсы реагируют на изменение уровня активации и их модификации и до и сразу после тетанизации, предположительно, связаны с оптимизацией баланса между возбуждением и торможением. На основании обнаруженной ранее реакции на подведение джасплакинолида при сопоставлении свойств PPF и величины коэффициентов торможения предполагалось, что это тоже происходит с участием актина. Видимо, джасплакинолид может вмешиваться в процесс адаптации актинового цитоскелета к текущим условиям синаптической активности (Yan et al., 2016), стабилизируя те модификации, которые происходили в ходе тестирования. Об этом свидетельствуют неоднозначность эффектов джасплакинолида и их зависимость от исходных свойств торможения и возбуждения (Кудряшова, 2022; 2023). В частности, гомеостатическая потенциация тормозных синапсов вместе с ассоциированными с полимеризацией актина постсинаптическими модификациями могут быть причиной увеличения амплитуды ТПСП еще до тетанизации (Wei et al., 2004; Mele et al., 2019).

Таким образом, случайные или систематические отклонения в процессе гомеостатической регуляции баланса возбуждения и торможения на фоне используемого в данной работе джасплакинолида постепенно преобразуют «молекулярный фон» и другие особенности функционального состояния

участвующих в реакции синапсов. Комплекс таких модификаций включает изменение NMDA зависимой пластичности. Подвижность NMDA рецепторов относительно зоны синаптического контакта регулируется их взаимодействием с актиновым цитоскелетом (Rosenmund, Westbrook, 1993). Более надежное заядоривание удерживает синаптические NMDA рецепторы от диффузии в экстрасинаптическую область (Yan et al., 2016). Разный паттерн синаптической активации может приводить к изменению реакции на тетанизацию и, в частности, к увеличению порога индукции постсинаптических модификаций при повышенной активности тормозных синапсов. Это, по-видимому, определяет влияние джасплакинолида на вероятность тормозных модификаций ранней фазы LTP, в том числе и на ранние посттетанические изменения величины коэффициентов торможения. Поэтому при статистическом сравнении LTP в контрольных и инкубированных с джасплакинолидом срезах для определения различий, связанных именно с блокадой ранней фазы деполимеризации, необходимо контролировать разные свойства исходных выборок и, прежде всего, баланс возбуждения и торможения.

Проблема поддержания оптимального баланса активности возбуждающих и тормозных входов на фоне структурных модификаций достаточно редко обсуждается в работах, посвященных гомеостатической пластичности (Goel et al., 2019). В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что кратковременная пластичность тормозных синапсов чаще всего способствует восстановлению оптимального баланса между возбуждением и торможением (Sprekeler, 2017; Chiu et al., 2019; Goel et al., 2019; Gandolfi et al., 2020; Chapman et al., 2022). Однако эта закономерность не соблюдается или менее заметна при слишком сильной активации NMDA рецепторов, в том числе при индукции долговременной потенциации возбуждающих синапсов (Mapelli et al., 2016; Gandolfi et al., 2020; Chapman et al., 2022), и вместо ожидаемого с точки зрения гипотезы о гомеостатической регуляции усиления тормозного контроля (Rannals, Kapur, 2011; Bannai et al., 2015; Hennequin et al., 2017; Chiu et al., 2019) наблюдается растормаживание (Lu et al., 2000; Кудряшова, 2015). В том числе регуляция баланса возбуждения и торможения нарушается при растормаживании в фазе косолидации и поддержания LTP. Не исключено, что это тоже происходит лишь в результате адаптации синапсов к изменению условий синаптического притока. Альтернативная гипотеза сводится к тому, что в LTP-зависимые перестройки вмешиваются другие факторы. Предполагалось, что одним из наиболее существенных факторов является ассоциированная с началом дестабилизации деполимеризация актина.

Учитывая тот факт, что длительность поддержания зависит от свойств ранней LTP, на этом фоне

трудно определить изменения, специфичные для блокады фазы деполимеризации актина. Тот факт, что растормаживание начинается после деполимеризации актина, сам по себе не опровергает относительной независимости этих модификаций и их влияния на процесс консолидации. Может ли растормаживание быть простым следствием ранних модификаций, независимо от дестабилизации синапсов, или же наблюдаемое при этом нарушение баланса возбуждения и торможения определяется вовлечением специфичных для консолидации факторов?

Действительно, некоторые механизмы кратковременной и долговременной депрессии тормозных синапсов вполне могут быть спровоцированы ранними модификациями, однако их зависимость от деполимеризации актина не всегда очевидна. Природа сигналов, которые при растормаживании фактически приводят к нарушению баланса возбуждения и торможения, до сих пор не исследована. Некоторые данные допускают возможность растормаживания в результате ранних модификаций. Известно, что CAMKII имеет непосредственное отношение к встраиванию AMPA рецепторов при NMDA зависимой потенциации глутаматергических синапсов. Однако при умеренной активации NMDA рецепторов преобладает транслокация CAMKII к зоне тормозного контакта, что способствует встраиванию дополнительных ГАМК_A рецепторов и потенциации тормозных синапсов (Marsden et al., 2010; Xue et al., 2011). Считается, что характер модификаций определяется порогом активации кальцинейрина, ограничивающего взаимодействие CAMKII с тормозными синапсами (Marsden et al., 2010). Возможно, увеличение секреции глутамата обеспечивает дополнительную активацию NMDA рецепторов, достаточную для подключения механизмов растормаживания (Marsden et al., 2010; Mapelli et al., 2016; Gandolfi et al., 2020; Chapman et al., 2022). При этом обращает на себя внимание противоположное влияние метаботропных глутаматных и NMDA рецепторов на эффективность тормозных синапсов (Chapman et al., 2022). По имеющимся в настоящее время данным, можно лишь предполагать, как это соотносится с функцией регуляции баланса возбуждения и торможения.

Латеральная диффузия синаптических ГАМК_A рецепторов считается одним из основных механизмов растормаживания (Bannai et al., 2015; Maynard, Triller, 2019; Кудряшова, 2023). Было обнаружено, что снижение амплитуды ТПСП при активации NMDA рецепторов и кальцинейрина сопровождается декластеризацией и диффузией синаптических рецепторов в экстрасинаптическую область (Luscher et al., 2011), а калпаин-зависимый протеолиз участвует в LTD тех тормозных синапсов, которые расположены в зоне ранней потенциации

возбуждающих синапсов (Ravasenga et al., 2022). После высокочастотного раздражения декластеризация синаптических ГАМК_A рецепторов достигает максимума примерно через 10 минут (Muir et al., 2010). Гефирин более чем в три раза снижает скорость латеральной диффузии (Mukherjee et al., 2011). Тем не менее в условиях интенсивной активации нейронов могут быть обнаружены в том числе и латеральные перемещения гефирина (Hanus et al., 2006; Petrini, Barberis, 2014), что, как правило, коррелирует с депрессией тормозных синапсов (Muir et al., 2010; Bannai et al., 2015). В том числе при дефиците гефирина снижается амплитуда постсинаптических тормозных потенциалов, регистрируемых в ответ на стимуляцию экспрессирующих соматостатин и парвальбумин тормозных интернейронов, (Horn, Nicoll, 2018; Pizzarelli et al., 2020).

Процесс обновления синаптических рецепторов, включая транслокацию к зоне синаптического контакта, зависит от паттерна активации участвующих в модификациях ферментов, создаваемого активацией возбуждающих и тормозных синапсов (Luscher et al., 2011; Mele et al., 2019; Chapman et al., 2022). Очевидно, что, если преобладает отток рецепторов за пределы зоны синаптического контакта, это приводит к снижению амплитуды ТПСП (Muir et al., 2010; Bannai et al., 2015; de Luca et al., 2017). Действительно, состояние ферментных систем меняется при повышенной спайковой активности и деполяризации нейронов (Luscher et al., 2011; Mele et al., 2019; Chapman et al., 2022), что создает предпосылки для изменения характера рециркуляции рецепторов. Вход кальция по потенциал-зависимым каналам оказывает дополнительное влияние на рециркуляцию рецепторов (Chapman et al., 2022), что может иметь отношение к наблюдаемому при этом снижению тормозных потенциалов (Ravasenga et al., 2022). Депрессия тормозных потенциалов при активации NMDA рецепторов чаще всего не сопровождается усилением эндцитоза ГАМК_A рецепторов (Luscher et al., 2011). Однако накопление внеклеточного глутамата может тормозить встраивание экстрасинаптических рецепторов (Wu et al., 2021), тем самым нарушая баланс их обновления. Несмотря на отсутствие прямых экспериментальных подтверждений, этот механизм может, предположительно, участвовать в растормаживании под влиянием пресинаптической потенциации. Тем более что интернализация и встраивание ГАМК_A рецепторов происходят в экстрасинаптической зоне и пластичность тормозных синапсов так или иначе сводится к их диффузии и стабилизации в зоне синаптического контакта (Bannai et al., 2015; Luscher et al., 2011; Kneussel, Hausrat, 2016; de Luca et al., 2017).

Интересно, что увеличение эффективности тормозных синапсов тоже может провоцировать снижение амплитуды ТПСП. Наиболее изучены

механизмы постсинаптической депрессии, связанные с увеличением секреции ГАМК. К постсинаптическим механизмам кратковременной депрессии тормозных потенциалов относится десенситизация постсинаптических ГАМК_A рецепторов, значение которой возрастает при продолжительной стимуляции или большом квантовом содержании выделяемого медиатора (de Luca et al., 2017; Mele et al., 2019). Очевидно, что вместе с увеличением секреции растет вероятность активации расположенных в разных компартментах ГАМК_B рецепторов (Wright et al., 2017; Mele et al., 2019). Их активация влияет на интеграцию ГАМК_A рецепторов с гефириновым комплексом, внутриклеточный транспорт и другие процессы, участвующие в модификациях тормозных синапсов (Gerrow, Triller, 2014; Wright et al., 2017), в том числе и на секреторный аппарат пресинапса (Shao et al., 2022). В частности, при высокочастотном раздражении метаботропными влияниями опосредован тормозный контроль заякоривания менее специфичных для синаптической зоны ГАМК_A рецепторов (Wright et al., 2017). При сильном торможении увеличивается вероятность латеральной диффузии синаптических ГАМК_A рецепторов (Muir et al., 2010; Bannai et al., 2015; de Luca et al., 2017), а экстрасинаптическое накопление ГАМК усиливает эндоцитоз (Marsden et al., 2010; Mele et al., 2019). Активация ГАМК_B рецепторов по-разному влияет на высвобождение медиатора разными типами тормозных интернейронов (Shao et al., 2022).

В целом, все эти представления о возможных механизмах растормаживания основаны на предположениях о снижении эффективности тормозных синапсов. Между тем, даже высокоэффективные синапсы могут демонстрировать низкоамплитудные ТПСП при участии механизмов ионной пластиичности (Chamma et al., 2013; Hennequin et al., 2017; Wright et al., 2017; Al Awabdh et al., 2022). В частности, глутамат, ГАМК и изменения в уровне активации нейронов приводят к NMDA зависимому и Ca²⁺ зависимому перераспределению создающих хлорный градиент транспортеров (Chamma et al., 2013; Heubl et al., 2017; Al Awabdh et al., 2022). При определенных условиях транспортеры становятся доступными для калпаин-зависимого протеолиза (Puskarjov et al., 2012; Chamma et al., 2013), что может снижать общее число встроенных в мембрану транспортеров (Chamma et al., 2013). В том числе интернализации способствует активация ассоциированных с транспортерами ГАМК_B рецепторов (Heubl et al., 2017; Wright et al., 2017). Этим объясняется зависимый от активации ГАМК_B рецепторов деполяризационный сдвиг потенциала реверсии (Chamma et al., 2013; Wright et al., 2017).

Менее изучено влияние ранних модификаций на нейросетевые механизмы, вмешательство

которых может приостановить гомеостатическую потенциацию тормозных потенциалов, в первую очередь на функциональную интеграцию тормозных интернейронов (Horn, Nicoll, 2018; Chiu et al., 2019; Pizzarelli et al., 2020; Yap et al., 2020) и взаимодействие с другими медиаторными системами. Полагают, что при NMDA зависимой потенциации одновременно с активацией синапсов на пирамидных нейронах может снижаться эффективность синапсов возбуждающих интернейроны бисинаптического пути (McBain, Kauer, 2009). Иногда эффект растормаживания объясняют подключением тормозных интернейронов другого типа, образующих тормозные синапсы на парвальбумин- и соматостатин-содержащих интернейронах (Hernández-Frausto et al., 2023). Включение в рецепторный комплекс гетерогенных рецепторов других медиаторных систем обеспечивает системные влияния (Shrivastava et al., 2011; Bannai et al., 2015; Chiu et al., 2019; Mele et al., 2019; Runge et al., 2020). К тому же секреция ГАМК и возбудимость тормозных интернейронов находится под контролем разнообразных пресинаптических рецепторов (Galvez et al., 2016; Pizzarelli et al., 2020). Системная регуляция дополняется также модулирующими влияниями некоторых медиаторных систем на активность транспортеров (Mahadevan, Woodin, 2016). Не исключено, что гомеостатическое влияние потенциации возбуждающих синапсов на тормозную передачу компенсируется вмешательством других видов нейросетевой пластичности.

Многое еще не ясно, однако целый ряд фактов дает основание полагать, что дестабилизация возбуждающих синапсов при интенсивной активации NMDA рецепторов (Ouyang et al., 2005; Meyer et al., 2014; Кудряшова, 2019) может иметь отношение к наблюдаемому в тот же период времени рассогласованию в системе поддержания баланса возбуждения и торможения. Эксперименты подтверждают, что некоторые структурные и функциональные изменения при деполимеризации актина могут подавлять величину тормозных потенциалов. Образованные при деполимеризации актина мономеры способны более свободно перемещаться (Lin, Webb, 2009), и их отток в другие дендритные компартменты может приводить к сморщиванию или даже элиминации шипика (Cingolani, Goda, 2008; Gordon-Weeks, Fournier, 2014). Очевидно, что вместе с этим исчезают и расположенные на шипике рецепторы. Дестабилизирующие F-актин сигналы облегчают подвижность локальных участков клеточной мембрани (Lin, Webb, 2009; Yan et al., 2016; Maynard, Triller, 2019; Mele et al., 2019), что способствует увеличению коэффициентов латеральной диффузии расположенных на них рецепторов (Luscher et al., 2011; Bannai et al., 2015; Mele et al., 2019). Причем ГАМК_A рецепторы намного менее

устойчивы (Chiu et al., 2019; Maynard, Triller, 2019; Mele et al., 2019) по сравнению с расположенным на том же шипике глутаматными рецепторами (Gu et al., 2010; Rust et al., 2010; Chiu et al., 2019).

Ослабление барьерных функций при деполимеризации актина нарушает компартментализацию Ca^{2+} зависимых реакций, что приводит к изменению паттерна активации кальций-зависимых ферментов (Gordon-Weeks, Fournier, 2014; Mele et al., 2019), в том числе контролирующих латеральную диффузию и заакоривание ГАМК_A рецепторов, эндоцитоз и другие механизмы депрессии (Marsden et al., 2010; Luscher et al., 2011; Bannai et al., 2015; Haustrat et al., 2015; Mele et al., 2019; Chapman et al., 2022). К предполагаемым механизмам снижения амплитуды ТПСП относится зависимый от СaМКII (Marsden et al., 2010) и протеинкиназы Сε эндоцитоз ГАМК_A рецепторов (Chou et al., 2010; Luscher et al., 2011). Для сравнения деполимеризация актина усиливает интернализацию глутаматных рецепторов, причем блокатор деполимеризации джасплакинолид блокирует их эндоцитоз (Tong et al., 2018). Все эти данные дают основание предполагать, что в аналогичных условиях деполимеризация актина может приводить к нарушению баланса обновления и снижению общего числа встроенных в мембрану ГАМК_A рецепторов.

В рамках данного исследования наиболее интересным представляется тот факт, что деполимеризация актина может менять характер гомеостатической регуляции. В дополнение к снижению актиновой поддержки рецепторного аппарата постсинапса нарушается стабилизирующее влияние медиаторов. В частности, было обнаружено, что активация соматостатинсодержащих интернейронов или аппликация ГАМК стимулируют образование новых кластеров гефирина (Oh et al., 2016). Взаимодействие ГАМК_B рецепторов с одной из регуляторных субъединиц комплекса белков, поддерживающих связь интегринов с цитоскелетом, способствует более надежной стабилизации рецепторов в зоне синаптического контакта (Luscher et al., 2011; Mele et al., 2019) и потенциации синапсов при увеличении содержания ГАМК (Mele et al., 2019). Эта функция ГАМК_B рецепторов, видимо, может нарушаться вследствие разобщения с актиновым цитоскелетом.

Активация возбуждающих и тормозных синапсов по-разному влияет на заакоривание экстрасинаптических ГАМК_A рецепторов (Haustrat et al., 2015). В частности, ГАМК стимулирует, а активация AMPA рецепторов снижает фосфорилирование белков, опосредующих связь экстрасинаптических ГАМК_A рецепторов с актиновым цитоскелетом (Haustrat et al., 2015). Регуляция их взаимодействия с актиновым цитоскелетом в ходе текущей активности вполне подходит в качестве механизма переключения пластичности

тормозных синапсов с потенциации на депрессию. С другой стороны, после активации NMDA рецепторов баланс синаптических и экстрасинаптических ГАМК_A рецепторов быстро восстанавливается (Luscher et al., 2011), что мало соответствует полученным результатам. Взаимодействие ГАМК_A рецепторов с ключевыми для эндоцитоза адапторными и транспортными белками не исключает также возможности сокращения общего пула мембранных рецепторов после деполимеризации актина в условиях активного обновления всего рецепторного аппарата при долговременной пластичности (Marsden et al., 2010).

Деполимеризация актина сопровождается подавлением синаптических NMDA реакций (Rosenmund, Westbrook, 1993). Это объясняют ухудшением заакоривания (Yan et al., 2016), вследствие чего их влияние может распространяться на соседние области. Возможно, именно так достигается величина сигнала, порогового для индукции механизмов депрессии тормозных потенциалов. В результате депрессии возникает не только в активируемых, но и в соседних синапсах (Gandolfi et al., 2020; Rivasenga et al., 2022), что способствует развитию ассоциативных перестроек возбуждающих синапсов. Не исключено также, что одним из зависимых от актина механизмов растормаживания может быть пресинаптическая депрессия. Актин участвует в заакоривании транспортеров, обеспечивающих обратный захват ГАМК (Imoukhuede et al., 2009). Если действие сигналов направлено на разобщение этих транспортеров ГАМК с актином и другими скелетными белками (Imoukhuede et al., 2009), происходит их быстрая интернализация или латеральная диффузия, что, скорее всего, негативно сказывается на восстановлении пресинаптического запаса ГАМК за счет обратного захвата (Hartmann et al., 2008).

Изменение условий фосфорилирования и дефосфорилирования при деполимеризации актина, несомненно, может вносить поправки в характер модификаций, основанных на ионной пластичности (Mahadevan, Woodin, 2016; Heubl et al., 2017; Wright et al., 2017). К тому же повышенная двигательная активность, а затем и увеличение объема шипиков могут быть причиной смещения K-Cl транспортеров и, как следствие, изменения потенциала реверсии для ГАМК (Chamma et al., 2013; Wright et al., 2017). В совокупности с ранними модификациями, включающими активацию метаботропных глутаматных и ГАМК_B рецепторов, деполимеризация актина может, по-видимому, изменять дальнейшее течение основанных на ионной пластичности модификаций. Проблема заключается в том, что ионная пластичность в условиях реорганизации актинового цитоскелета не в состоянии объяснить зависимость такого механизма растормаживания от деполимеризации актина. Актиновые филаменты не участвуют

в заякоривании K-Cl транспортеров тормозных синапсов, и поэтому они, а также экстрасинаптические транспортеры более склонны к латеральной диффузии (Chamma et al., 2013). С другой стороны, часть транспортеров связывается с адапторными белками возбуждающих синапсов, обеспечивающих их взаимодействие с актином и более надежную стабилизацию (Li et al., 2007; Chamma et al., 2013; Al Awabdh et al., 2022). Причем функции транспортеров после их временного смещения к возбуждающим контактам в меньшей степени связаны с регуляцией ионного баланса (Chamma et al., 2013). Таким образом, актин имеет отношение к их заякориванию только в зоне глутаматергических (Gauvain et al., 2011; Chamma et al., 2013), но не ГАМКергических синапсов (Chamma et al., 2013; Al Awabdh et al., 2022). Соответственно, деполимеризация актина скорее увеличивает, чем снижает вероятность транслокации транспортеров к зоне тормозного контакта (Gauvain et al., 2011; Chamma et al., 2013). Не исключено, что лишение актиновой поддержки и приток K-Cl транспортеров к зоне тормозного контакта может иметь отношение к наблюдаемому в данной работе посттетаническому усилинию торможения, тем более что по последним данным, прямой контакт транспортеров с гефирином предполагает возможность их относительной стабилизации (Al Awabdh et al., 2022). Очевидно, что в фазе полимеризации актина заякоривание транспортеров в зоне глутаматергических синапсов и, соответственно, деполяризационный сдвиг потенциала реверсии могут только усиливаться.

Тот факт, что наиболее очевидный эффект растормаживания наблюдается в фазе полимеризации актина, не противоречит гипотезе о растормаживающем влиянии деполимеризации. Деполимеризация актина может способствовать началу формирования обновленного актинового матрикса (Ouyang et al., 2005). Достигнув критической концентрации, мономеры стремятся к образованию новых филаментов (Rex et al., 2010). Интересно, что на этом этапе содержание F-актина может даже увеличиваться, как это обнаружено при интенсивной синаптической активации, в том числе и при высокочастотном раздражении, применяемом для индукции LTP (Ramachandran, Frey, 2009; Rex et al., 2010). При долговременной потенциации именно эти вновь образованные короткоживущие филаменты, как полагают, осуществляют направленный транспорт протеинов пластичности (Ouyang et al., 2005). Дефицит роста и развития этих новых филаментов при блокаде полимеризации актина нарушает процесс консолидации, прекращая рост шипиков и дендритный транспорт CaMKII, что может быть причиной депотенциации синаптических потенциалов (Ramachandran, Frey, 2009; Rex et al., 2010; Galvez et al., 2016). Большая доступность CaMKII при

образовании новых филаментов дает основание предполагать, что это может облегчать транслокацию фермента к зоне тормозного контакта, достигая порога переключения механизмов пластичности с потенциации на депрессию. Вероятно, поэтому растормаживание продолжается в фазе активации полимеризации актина, которая наблюдается в течение 30–60 минут после индукции LTP и затем восстанавливается нормальный баланс F- и G-актина.

Считается, что при LTP увеличение образования F-актина обеспечивает рост шипиков (Fukazawa et al., 2003; Ramachandran, Frey, 2009; Rex et al., 2010; Bosch et al., 2014). Полученные результаты сопоставимы с данными о дифференцированном влиянии активного спиногенеза на созревание возбуждающих и тормозных синапсов. Так, при нарушении экспрессии одного из ключевых для структурной пластичности шипиков регуляторных белков процесс образования новых шипиков на фоне повышенного содержания F-актина сопровождался увеличением амплитуды ВПСП, но ожидаемого роста амплитуды ТПСП в среднем не обнаружено (Ivanov et al., 2009). Авторы полагают, что такая несогласованность созревания рецепторного аппарата может стать причиной нарушения естественного баланса возбуждения и торможения (Ivanov et al., 2009).

Блокирующие деполимеризацию актина препараты приостанавливают двигательную активность (Holtmaat, Svoboda, 2009) и элиминируют шипиков (Jaworski et al., 2009) и, скорее всего, декомпартментализацию участвующих в модификациях посредников (Ouyang et al., 2005). К тому же джасплакинолид усиливает полимеризацию актина, что еще больше ограничивает распространение метаболитов (Ouyang et al., 2005). В сочетании с дефицитом G-актина как строительного материала для образования новых филаментов это может затруднить транспорт и транслокацию CaMKII к зоне тормозного контакта, и пороговый уровень активации, необходимый для индукции депрессии ТПСП, при стимуляции на фоне джасплакинолида так и не достигается (Marsden et al., 2010). Джасплакинолид улучшает заякоривание постсинаптических рецепторов, что может быть связано с дополнительной полимеризацией актина и, по всей вероятности, ограничивает отток рецепторов из зоны тормозного контакта. Очевидно, что все эти эффекты могут лежать в основе нарушения механизмов растормаживания. Вместе с тем определение эффектов джасплакинолида, специфичных для ранней фазы деполимеризации актина и, по всей вероятности, ограничивающих отток рецепторов из зоны тормозного контакта. Очевидно, что все эти эффекты могут лежать в основе нарушения механизмов растормаживания. Вместе с тем определение эффектов джасплакинолида, специфичных для ранней фазы деполимеризации актина и, по всей вероятности, ограничивающих отток рецепторов из зоны тормозного контакта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для определения степени участия дестабилизации синапсов в LTP-зависимых перестройках тормозного компонента реакции на парную стимуляцию было проведено сравнение динамики пре- и посттетанического изменения коэффициентов торможения в норме и в условиях блокады деполимеризации актина. Изменение исходных свойств (Кудряшова, 2022; 2023) и характера ранних посттетанических модификаций возбуждающих и тормозных синапсов в инкубированных с джасплакинолидом срезах делает менее доступным непосредственное определение эффектов, специфичных для блокады деполимеризации применительно к дестабилизации синапсов. Обнаружено, что ранняя фаза LTP сопровождается усилением тормозных влияний, что, по-видимому, связано с восстановлением баланса возбуждения и торможения. Причем более существенная потенциация тормозного компонента в экспериментальных срезах свидетельствует об участии актина, хотя и не обязательно в связи с дестабилизацией синапсов. В том числе это относится к некоторым способствующим растормаживанию механизмам ранней потенциации и, прежде всего, к пресинаптической потенциации возбуждающих и тормозных синапсов, которая в состоянии обеспечить эффект растормаживания независимо от деполимеризации актина. Поскольку активирующее влияние джасплакинолида до тетанизации (Кудряшова, 2022; 2023) может ограничивать потенциальные возможности посттетанического прироста и, соответственно, растормаживающего действия пресинаптической LTP, поиск специфичных для фазы дестабилизации изменений основан на сравнении подгрупп, учитывающих различия в фоновой активности в качестве дополнительного фактора. Полученные данные дают основание полагать, что именно блокада ранней фазы деполимеризации актина, а не действие сопутствующих факторов нарушает процесс растормаживания. Предполагается, что при блокаде ранней фазы деполимеризации актина нарушается координирующая роль актинового цитоскелета, обеспечивающая временное изменение баланса возбуждения и торможения. Таким образом, комплекс зависимых от дестабилизации синапсов механизмов консолидации LTP включает снижение эффективности тормозных влияний.

ВКЛАД АВТОРА

И.В.Кудряшова – концепция и дизайн исследования; проведение экспериментов; анализ и интерпретация данных; подготовка текста статьи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации на 2021–2023 годы (AAAA-A17-117092040002-6). Дополнительное внешнее финансирование отсутствует.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит сотрудников лаборатории функциональной биохимии нервной системы за помощь в материальном и программном обеспечении экспериментальных исследований, а также сотрудников лаборатории нейрофизиологии обучения за помощь в техническом обеспечении экспериментальной установки и других лабораторий ИВНД и НФ РАН за содействие в обеспечении экспериментальными животными.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Эксперименты с животными выполнены в соответствии с требованиями международного и национального законодательства в области защиты и использования животных в экспериментальных исследованиях. Протокол эксперимента утвержден Этической комиссией ИВНД и НФ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Кудряшова И.В. Пластиность тормозных синапсов как фактор долговременных модификаций. Нейрохимия. 2015. 32 (3): 181–191.
- Кудряшова И.В. Использование парной стимуляции коллатералей Шаффера для количественного определения эффективности ГАМКергического торможения при экстраклеточной регистрации фокальных потенциалов в поле CA1 гиппокампа. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2015. 65 (2): 131–138.
- Кудряшова И.В. Молекулярные основы дестабилизации синапсов как фактор структурной пластиности. Нейрохимия. 2019. 36 (1): 3–13.
- Кудряшова И.В. Реорганизация актинового матрикса как фактор пресинаптической пластиности. Нейрохимия. 2021. 38 (3): 195–204.
- Кудряшова И.В. Тормозный контроль кратковременной пластиности при парной стимуляции

- зависит от полимеризации актина. Нейрохимия. 2022. 39 (2): 131–143.
- Кудряшова И.В.* Координирующая роль актинового цитоскелета в кратковременной нейросетевой пластичности с участием возбуждающих и тормозных синапсов. Журн. Высш. Нервн. Деяг. 2023. 73 (5): 579–605.
- Кудряшова И.В.* Свойства пресинаптической пластичности в зависимости от полимеризации актина. Биохимия. 2023. 88 (3): 477–490.
- Al Awabdh S., Donneger F., Goutierre M., Séveno M., Vigy O., Weinzettl P., Rousseau M., Moutkine I., Lévi S., Marin Ph., Poncer J.Ch.* Gephyrin Interacts with the K-Cl Cotransporter KCC2 to regulate its surface expression and function in cortical neurons. *J. Neurosci.* 2022. 42 (22): 166–182.
- Bannai H., Niwa F., Sherwood M.W., Shrivastava A.N., Arizone M., Miyamoto A., Sugura K., Lévi S.* Bidirectional control of synaptic GABAAR clustering by glutamate and calcium. *Cell Rep.* 2015. 13: 2768–2780.
- Bartley A.F., Dobrunz L.E.* Short-term plasticity regulates the excitation/inhibition ratio and the temporal window for spike integration in CA1 pyramidal cells. *Eur. J. Neurosci.* 2015. 41: 1402–1415.
- Bellot A., Guivernau B., Tajes M., Bosch-Morató M., Valls-Comamala V., Muñoz F.J.* The structure and function of actin cytoskeleton in mature glutamatergic dendritic spines. *Brain Res.* 2014. 1573: 1–16.
- Bleckert A., Photowala H., Alford S.* Dual pools of actin at presynaptic terminals. *J. Neurophysiol.* 2012. 107 (12): 3479–3492.
- Bloss E.B., Cembrowski M.S., Karsh B., Colonell J., Fetter R.D., Spruston N.* Structured dendritic inhibition supports branch-selective integration in CA1 pyramidal cells. *Neuron.* 2016. 89: 1016–1030.
- Borovac J., Bosch M., Okamoto K.* Regulation of actin dynamics during structural plasticity of dendritic spines: signaling messengers and actin-binding proteins. *Mol. Cell. Neurosci.* 2018. 91: 122–130.
- Bosch M., Castro J., Saneyoshi T., Matsuno H., Sur M., Hayashi Y.* Structural and molecular remodeling of dendritic spine substructures during long-term potentiation. *Neuron.* 2014. 82: 444–459.
- Bubb M.R., Spector I., Beyer B.B., Fosen K.M.* Effects of jasplakinolide on the kinetics of actin polymerization. An explanation for certain in vivo observations. *J. Biol. Chem.* 2000. 275: 5163–5170.
- Cao F., Zhou Z., Pan X., Leung C., Xie W., Collingridge G., Jia Z.* Developmental regulation of hippocampal long-term depression by cofilin-mediated actin reorganization. *Neuropharmacology.* 2017. 112 (2): 66–75.
- Chamma I., Heubl M., Chevy Q., Renner M., Moutkine I., Eugène E., Poncer J.Ch., Lévi S.* Activity-dependent regulation of the K/Cl transporter KCC2 membrane diffusion, clustering and function in hippocampal neurons. *J. Neurosci.* 2013. 33: 15488–15503.
- Chapman C.A., Nuwer J.L., Jacob T.C.* The Yin and Yang of GABAergic and Glutamatergic Synaptic Plasticity: Opposites in Balance by Crosstalk Mechanisms. *Front. Synapt. Neurosci.* 2022. 14: 911020.
- Chen L.Y., Rex C.S., Casale M.S., Gall C.M., Lynch G.* Changes in synaptic morphology accompany actin signaling during LTP. *J. Neurosci.* 2007. 27: 5363–5372.
- Chiu C.Q., Barberis A., Higley M.J.* Preserving the balance: Diverse forms of long-term GABAergic synaptic plasticity. *Nat. Rev. Neurosci.* 2019. 20: 272–281.
- Chou W-H., Wang D., McMahon T., Qi Z-H., Spong M., Zhang C., Shokat K.M., Messing R.* GABA(A) receptor trafficking is regulated by PKCε and the N-ethylmaleimide-sensitive factor. *J. Neurosci.* 2010. 30: 13955–13965.
- Cingolani L.A., Goda Y.* Actin in action: the interplay between the actin cytoskeleton and synaptic efficacy. *Nat. Rev. Neurosci.* 2008. 9: 344–356.
- de Luca E., Ravasenga T., Petrini E.M., Polenghi A., Nieus T., Guazzi S., Barberis A.* Inter-synaptic lateral diffusion of GABA(A) receptors shapes inhibitory synaptic currents. *Neuron.* 2017. 95 (1): 63–69.e5.
- Fukazawa Y., Saitoh Y., Ozawa F., Ohta Y., Mizuno K., Inokuchi K.* Hippocampal LTP is accompanied by enhanced F-actin content within the dendritic spine that is essential for late LTP maintenance in vivo. *Neuron.* 2003. 38: 447–460.
- Galvez B., Gross N., Sumikawa K.* Activation of α7 nicotinic acetylcholine receptors protects potentiated synapses from depotentiation during theta pattern stimulation in the hippocampal CA1 region of rats. *Neuropharmacology.* 2016. 105: 378–387.
- Gandolfi D., Bigiani A., Porro C.A., Mapelli J.* Inhibitory plasticity: from molecules to computation and beyond. *Int. J. Mol. Sci.* 2020. 21 (5): 1805.
- Gauvain G., Chamma I., Chevy Q., Cabezas C., Irinopoulou T., Bodrug N., Carnaud M., Lévi S., Poncer J.C.* The neuronal K-Cl cotransporter KCC2 influences postsynaptic AMPA receptor content and lateral diffusion in dendritic spines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. 108: 15474–15479.
- Gerrard K., Triller A.* GABA_A receptor subunit composition and competition at synapses are tuned by GABA_B receptor activity. *Mol. Cell. Neurosci.* 2014. 60: 97–107.
- Goel P., Dufour Bergeron D., Böhme M.A., Nunnally L., Lehmann M., Buser C., Walter A.M., Sigrist S.J., Dickman D.* Homeostatic scaling of active zone scaffolds maintains global synaptic strength. *J. Cell. Biol.* 2019. 218 (5): 1706–1724.
- Gordon-Weeks P.R., Fournier A.E.* Neuronal cytoskeleton in synaptic plasticity and regeneration. *J. Neurochem.* 2014. 129: 206–212.
- Gu J.C., Lee W., Fan Y., Komlos D., Tang X., Sun Ch., Yu K., Hartzell H.C., Chen G., Bamburg J.R., Zheng J.Q.* ADF/cofilin-mediated actin dynamics regulate AMPA receptor trafficking during synaptic plasticity. *Nat. Neurosci.* 2010. 13 (10): 1208–1215.
- Hanus C., Ehrenspäger M.-V., Triller A.* Activity-dependent movements of postsynaptic scaffolds at inhibitory synapses. *J. Neurosci.* 2006. 26: 4586–4595.

- Hartmann K., Bruehl C., Golovko T., Draguhn A.* Fast homeostatic plasticity of inhibition via activity-dependent vesicular filling. *PLoS One.* 2008. 3: e2979.
- Hausrat T.J., Muhia M., Gerrow K., Thomas Ph., Hirdes W., Tsukita S., Heisler F.F., Herich L., Dubroqua S., Breiden P., Feldon J., Schwarz J.R., Yee B.K., Smart T.G., Triller A., Kneussel M.* Radixin regulates synaptic GABA_A receptor density and is essential for reversal learning and short-term memory. *Nat Commun.* 2015. 6: 6872.
- Hennequin G., Agnes E.J., Vogels T.P.* Inhibitory plasticity: Balance, control, and codependence. *Ann. Rev. Neurosci.* 2017. 25: 557–579.
- Hernández-Frausto M., Bilash O.M., Masurkar A.V., Basu J.* Local and long-range GABAergic circuits in hippocampal area CA1 and their link to Alzheimer's disease. *Front. Neural Circuit.* 2023. 17: 1223891.
- Heubl M., Zhang J., Pressey J.C., Al Awabdh S., Renner M., Gomez-Castro F., Moutkine I., Eugène E., Rousseau M., Kahle K.T., Poncer J.C., Lévi S.* GABA_A receptor dependent synaptic inhibition rapidly tunes KCC2 activity via the Cl⁻-sensitive WNK1 kinase. *Nat. Commun.* 2017. 8: 1776.
- Holtmaat A., Svoboda K.* Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain. *Nat. Rev. Neurosci.* 2009. 10: 647–658.
- Horn M.E., Nicoll R.A.* Somatostatin and parvalbumin inhibitory synapses onto hippocampal pyramidal neurons are regulated by distinct mechanisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018. 115: 589–594.
- Imoukhuede P.I., Moss F.J., Michael D.J., Chow R.H., Lester H.A.* Ezrin mediates tethering of the gamma-aminobutyric acid transporter GAT1 to actin filaments via a C-terminal PDZ-interacting domain. *Biophys. J.* 2009. 96: 2949–2960.
- Ivanov A., Esclapez M., Pellegrino Ch., Shirao T., Ferhat L.* Drebrin A regulates dendritic spine plasticity and synaptic function in mature cultured hippocampal neurons. *J. Cell. Sci.* 2009. 122: 524–534.
- Jaworski J., Kapitein L.C., Gouveia S.M., Dortland B.R., Wulf P.S., Grigoriev I., Camera P., Spangler S.A., Di Stefano P., Demmers J., Krugers H., Defilippi P., Akhmanova A., Hoogenraad C.C.* Dynamic microtubules regulate dendritic spine morphology and synaptic plasticity. *Neuron.* 2009. 61: 85–100.
- Kneussel M., Hausrat T.J.* Postsynaptic neurotransmitter receptor reserve pools for synaptic potentiation. *Trend. Neurosci.* 2016. 39: 170–182.
- Li H., Khiroug S., Cai C., Ludwig A., Blaeser P., Kolikova J., Afzalov R., Coleman S.K., Lauri S., Airaksinen M.S., Keinänen K., Khiroug L., Saarma M., Kaila K., Rivera C.* KCC2 interacts with the dendritic cytoskeleton to promote spine development. *Neuron.* 2007. 56: 1019–1033.
- Lin W.H., Webb D.J.* Actin and actin-binding proteins: masters of dendritic spine formation, morphology, and function. *Open Neurosci. J.* 2009. 3: 54–66.
- Lu Y.M., Mansuy I.M., Kandel E.R., Roder J.* Calcineurin-mediated LTD of GABAergic inhibition underlies the increased excitability of CA1 neurons associated with LTP. *Neuron.* 2000. 26: 197–205.
- Luscher B., Fuchs T., Kilpatrick C.L.* GABA_A receptor trafficking-mediated plasticity of inhibitory synapses. *Neuron.* 2011. 70: 385–409.
- Lushnikova I., Skibo G., Muller D., Nikonenko I.* Excitatory synaptic activity is associated with a rapid structural plasticity of inhibitory synapses on hippocampal CA1 pyramidal cells. *Neuropharmacology.* 2011. 60: 757–764.
- Mahadevan V., Woodin M.A.* Regulation of neuronal chloride homeostasis by neuromodulators. *J. Physiol.* 2016. 594: 2593–2605.
- Mapelli J., Gandolfi D., Vilella A., Zoli M., Bigiani A.* Heterosynaptic GABAergic plasticity bidirectionally driven by the activity of pre- and postsynaptic NMDA receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016. 113: 9898–9903.
- Marsden K.C., Shemesh A., Bayer K.U., Carroll R.C.* Selective translocation of Ca²⁺/calmodulin protein kinase IIalpha (CaMKIIalpha) to inhibitory synapses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. 107: 20559–20564.
- Matsuzaki M., Honkura N., Ellis-Davies G.C., Kasai H.* Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature.* 2004. 429: 761–766.
- Maynard S.A., Triller A.* Inhibitory receptor diffusion dynamics. *Front. Mol. Neurosci.* 2019. 12: 313.
- McBain C.J., Kaue J.A.* Presynaptic plasticity: targeted control of inhibitory networks. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2009. 19 (3): 254–262.
- Mele M., Costa R.O., Duarte C.B.* Alterations in GABA_A-receptor trafficking and synaptic dysfunction in brain disorders. *Front. Cell. Neurosci.* 2019. 13: 77.
- Meyer D., Bonhoeffer T., Scheuss V.* Balance and stability of synaptic structures during synaptic plasticity. *Neuron.* 2014. 82: 430–443.
- Muir J., Arancibia-Carcamo I.L., MacAskill A.F., Smith K.R., Griffin L.D., Kittler J.T.* NMDA receptors regulate GABA_A receptor lateral mobility and clustering at inhibitory synapses through serine 327 on the 2 subunit. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. 107: 16679–16684.
- Mukherjee J., Kretschmannova K., Gouzer G., Maric H.-M., Ramsden S., Treter V., Harvey K., Davies P.A., Triller A., Schindelin H., Moss S.J.* The residence time of GABA_ARs at inhibitory synapses is determined by direct binding of the receptor 1 subunit to gephyrin. *J. Neurosci.* 2011. 31 (41): 14677–14687.
- Oh W.C., Lutzu S., Castillo P.E., Kwon H.B.* De novo synaptogenesis induced by GABA in the developing mouse cortex. *Science.* 2016. 353: 1037–1040.
- Ormond J., Woodin M.A.* Disinhibition mediates a form of hippocampal long-term potentiation in area CA1. *PLoS One.* 2009. 4: e7224.
- Ouyang Y., Wong M., Capani F., Rensing N., Lee C.-S., Liu Q., Neusch C., Martone M.E., Wu J.Y., Yamada K., Ellisman M.H., Choi D.W.* Transient decrease in F-actin may be necessary for translocation of proteins into dendritic spines. *Eur. J. Neurosci.* 2005. 22 (12): 2995–3005.
- Pennacchietti F., Vascon S., Nieus T., Rosillo C., Das S., Tyagarajan S.K., Diaspro A., Del Bue A., Petrini E.M.,*

- Barberis A., Zanacchi F.C.* Nanoscale molecular reorganization of the inhibitory postsynaptic density is a determinant of gabaergic synaptic potentiation. *J. Neurosci.* 2017. 37 (7): 1747–1756.
- Petrini E.M., Barberis A.* Diffusion dynamics of synaptic molecules during inhibitory postsynaptic plasticity. *Front. Cell. Neurosci.* 2014. 8: 300.
- Pizzarelli R., Griguoli M., Zacchi P., Petrini E.M., Barberis A., Cattaneo A., Cherubini E.* Tuning GABAergic inhibition: gephyrin molecular organization and functions. *Neuroscience*. 2020. 439: 125–136.
- Puskarjov M., Ahmad F., Kaila K., Blaesse P.* Activity-dependent cleavage of the K-Cl cotransporter KCC2 mediated by calcium-activated protease calpain. *J. Neurosci.* 2012. 32: 11356–11364.
- Ramachandran B., Frey J.U.* Interfering with the actin network and its effect on long-term potentiation and synaptic tagging in hippocampal CA1 neurons in slices *in vitro*. *J. Neurosci.* 2009. 29: 12167–12173.
- Rannals M.D., Kapur J.* Homeostatic strengthening of inhibitory synapses is mediated by the accumulation of GABA_A receptors. *J. Neurosci.* 2011. 31 (48): 17701–17712.
- Ravasenga T., Ruben M., Regio V., Polenghi A., Petrini E.M., Barberis A.* Spatial regulation of coordinated excitatory and inhibitory synaptic plasticity at dendritic synapses. *Cell. Rep.* 2022. 38: 110347.
- Rex C.S., Gavin C.F., Rubio M.D., Kramar E.A., Chen L.Y., Jia Y., Huganir R.L., Muzyczka N., Gall C.M., Miller C.A., Lynch G., Rumbaugh G.* Myosin IIB regulates actin dynamics during synaptic plasticity and memory formation. *Neuron*. 2010. 67 (4): 603–617.
- Rosenmund C., Westbrook G.L.* Calcium-induced actin depolymerization reduces NMDA channel activity. *Neuron*. 1993. 10: 805–814.
- Runge K., Cardoso C., de Chevigny A.* Dendritic spine plasticity: Function and mechanisms. *Front. Synapt. Neurosci.* 2020. 12: 36.
- Rust M.B., Gurniak C.B., Renner M., Vara H., Morando L., Görlich A., Sassoè-Pognetto M., Banchaabouchi M.A., Giustetto M., Triller A., Choquet D., Witke W.* Learning, AMPA receptor mobility and synaptic plasticity depend on n-cofilin-mediated actin dynamics. *EMBO J.* 2010. 29 (11): 1889–1902.
- Saliba R.S., Gu Z., Yan Z., Moss S.J.* Blocking L-type voltage-gated Ca²⁺ channels with dihydropyridines reduces gamma-aminobutyric acid type A receptor expression and synaptic inhibition. *J. Biol. Chem.* 2009. 284: 32544–32550.
- Shao C., Dong J., Zhao M., Liu S., Wang X., Yu Y., Fang L., Zhu Z., Chen Q., Xiao X., Zhang W.-N., Yang K.* Presynaptic GABA_B receptors differentially modulate GABA release from cholecystokinin and parvalbumin interneurons onto CA1 pyramidal neurons: A cell type-specific labeling and activating study. *Neurosci. Lett.* 2022. 772: 136448.
- Shrivastava A.N., Triller A., Sieghart W.* GABA_A receptors: post-synaptic co-localization and cross-talk with other receptors. *Front. Cell. Neurosci.* 2011. 5: 7.
- Sprekeler H.* Functional consequences of inhibitory plasticity: homeostasis, the excitation-inhibition balance and beyond. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2017. 43: 198–203.
- Tong L., Prieto G.A., Cotman C.W.* IL-1 β suppresses clTP-induced surface expression of GluA1 and actin polymerization via ceramide-mediated Src activation. *J. Neuroinflammation*. 2018. 15: 127.
- Villa K.L., Berry K.P., Subramanian J., Cha J.W., Oh W.C., Kwon H.B., Kubota Y., So P.T., Nedivi E.* Inhibitory synapses are repeatedly assembled and removed at persistent sites *in vivo*. *Neuron*. 2016. 89 (4): 756–769.
- Wei J., Zhang M., Zhu Y., Wang J.-H.* Ca(2+)-calmodulin signalling pathway up-regulates GABA synaptic transmission through cytoskeleton-mediated mechanisms. *Neuroscience*. 2004. 127 (3): 637–647.
- Wright R., Newey S.E., Ilie A., Wefelmyer W., Raimondo J.V., Ginham R., McIlhinney R.A.J., Akerman C.J.* Neuronal Chloride Regulation via KCC2 Is Modulated through a GABA_B Receptor Protein Complex. *J. Neurosci.* 2017. 37 (22): 5447–5462.
- Wu K., Castellano D., Tian Q., Lu W.* Distinct regulation of tonic GABAergic inhibition by NMDA receptor subtypes. *Cell. Rep.* 2021. 37: 109960.
- Xue J.-G., Masuoka T., Gong X.-D., Chen K.-S., Yanagawa Y., Law S.K.A., Konishi S.* NMDA receptor activation enhances inhibitory GABAergic transmission onto hippocampal pyramidal neurons via presynaptic and postsynaptic mechanisms. *J. Neurophysiol.* 2011. 105 (6): 2897–2906.
- Yan Zh., Kim E., Datta D., Lewis D.A., Soderling S.H.* Synaptic actin dysregulation, a convergent mechanism of mental disorders? *J. Neurosci.* 2016. 36 (45): 11411–11417.
- Yap E.L., Pettit N.L., Davis C.P., Nagy M.A., Harmin D.A., Golden E., Dagliyan O., Lin C., Rudolph S., Sharma N., Griffith E.C., Harvey C.D., Greenberg M.E.* Bi-directional perisomatic inhibitory plasticity of a Fos neuronal network. *Nature*. 2020. 590: 115–121.

THE ROLE OF ACTION DEPOLYMERIZATION IN THE CHANGES OF INHIBITORY CONTROL DURING LONG-TERM POTENTIATION OF EXCITATORY TRANSMISSION IN THE RAT HIPPOCAMPUS

I. V. Kudryashova^a, #

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia*
#e-mail: iv_kudryashova@mail.ru

The plasticity of inhibitory responses during CA3-CA1 long-term potentiation (LTP) in the rat hippocampal slices was studied by the method of paired-pulse stimulation. Coefficients of inhibition were estimated by the differences between IPSP dependent and independent paired-pulse plasticity. In the experimental group high frequency stimulation of Schaffer collaterals was delivered under jasplakinolide exposure, this inhibitor of actin depolymerization is used also as activator of actin polymerization. It was shown that the feature of LTP development after induction with blockade of actin depolymerization include altered modification profile of inhibition, specifically involved in responses to paired-pulse stimulation. Initial enhancement of inhibition depended on the value before tetanization. Therefore this factor may be responsible for between-group differences and it was taken into account in the evaluation of specific for posttetanic depolymerization changes. In result, this phase is related to disinhibition disorder during LTP consolidation and maintenance. It may be assumed that coordinating role of actin cytoskeleton is essential for balanced modifications of excitatory and inhibitory transmission during long-term plasticity.

Keywords: hippocampus, long-term potentiation, synaptic destabilization, actin depolymerization, jasplakinolide, disinhibition, disynaptic inhibitory potentials

ОБЗОРЫ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 591.18

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
И ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ
НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ GDNF
ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ НАРУШЕНИЯХ**

© 2024 г. Д. В. Шамадыкова^{1,*}, Г. В. Павлова^{1, 2, 3, **}

¹ФГБУН «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук»
Минобрнауки России, Москва, Россия

²ФГАОУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко»
Минздрава России, Москва, Россия

³ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
Минздрава России, Москва, Россия

*e-mail: djirgala04@gmail.com

**e-mail: lkorochkin@mail.ru

Поступила в редакцию 21.07.2024 г.

После доработки 09.09.2024 г.

Принята к публикации 09.09.2024 г.

Глиальный нейротрофический фактор (GDNF) активно изучается в качестве терапевтического средства для лечения возрастных нейродегенеративных заболеваний, а также при травматической гибели нейронов. Интерес к дополнительному фундаментальному исследованию фактора обусловлен великолепным результатом в доклинических исследованиях и неудачами II фазы клинических исследований GDNF при болезни Паркинсона. Выдвинуты несколько предположений: проблемы, связанные с доставкой высокомолекулярных препаратов, высокая аффинность GDNF к гепарину и гепарин-подобным молекулам, что препятствует биораспределению в паренхиме мозга, структура используемого белка, отличная от нативной формы, наличие различных изоформ белка. Все эти вопросы требовали очевидного дополнительного исследования GDNF как на уровне гена, так и на уровне РНК и белка. Данный обзор – попытка сфокусировать внимание на последних данных по GDNF, на разработках, направленных на решение возникших проблем и вероятностях его терапевтического применения при нейродегенеративных заболеваниях человека.

Ключевые слова: GDNF, строение гена, изоформы, болезнь Паркинсона, терапия

DOI: 10.31857/S0044467724060049

ВВЕДЕНИЕ

Нейротрофические факторы представляют собой класс эндогенных малых белков с широким спектром функций. Так, например, они участвуют в пролиферации, дифференцировке и поддержании жизнеспособности клеток нервной системы (Baudet et al., 2000; Fundin et al., 1999; Jing et al., 1996; Ohnaka et al., 2012; Rossi et al., 1999; Trupp et al., 1995; Chermenina et al., 2014). Их роль оказалась значима как при эмбриогенезе, так и при нейрогенезе уже у взрослого организма (Nguyen et al., 1998; Airaksinen et al., 1999; Bourque, Trudeau, 2000; Manié et al., 2001; Airaksinen, Saarma, 2002). При этом они принимают активное участие в регенеративных процессах при травме и нейродегенеративных

заболеваниях. Кроме того, показана их роль в ветвлении нейритов и синаптогенезе, также они контролируют синаптическую пластичность взрослых нейронов и влияют на электрофизиологические свойства нервных клеток (Adina et al., 2022). Один из нейротрофических факторов получил название глиальный нейротрофический фактор (GDNF – glial cell line derived neurotrophic factor), так как впервые был обнаружен в глиальных клетках. Позже было структурировано целое подсемейство GDNF, входящее в семейство нейротрофинов. Впервые GDNF был выделен в 1993 г. из культуры линии B49 глиальных клеток крыс (Lin et al., 1993). Было показано, что GDNF способствует выживанию эмбриональных дофаминергических нейронов среднего мозга, мотонейронов спинного

мозга и центральных норадренергических нейронов (Henderson et al., 1994; Arenas et al., 1995). В более поздних работах было обнаружено, что во взрослом организме GDNF экспрессируется в парваль-бумин-экспрессирующих нейронах и поддерживает дофаминергические нейроны головного мозга (Enterría-Morales et al., 2020). Помимо этого, GDNF играет решающую роль в росте дендритов и формировании синапсов в пирамидных нейронах гиппокампа во время раннего постнатального развития (Irala et al., 2016). Известно, что GDNF способствует дифференцировке глутаматергических нейральных предшественников во время развития коры (Bonafina et al., 2018). Кроме того, GDNF играет важную роль и за пределами нервной системы. Он функционирует как морфоген в развитии почек и участвует в сперматогенезе (Sariola, Saarma, 1999; Airaksinen, Saarma, 2002). Значимость данного фактора подтверждается тем, что полный нокаут GDNF вызывает в развитии эмбриона агенезию почек, что приводит к неминуемой эмбриональной гибели зародыша (Pichel et al., 1996). Частичный нокаут GDNF у мышей вызывает быстрое старение животного, существенное нарушение развития дофаминергических нейронов и ухудшение двигательной активности особи (эксперименты сделаны на мышах) (Boger et al., 2006; Griffin et al., 2006). На данный момент GDNF известен как многофункциональный белок со способностью поддерживать выживание клеток, индуцировать пролиферацию, миграцию, а при определенных условиях управлять нейрональной дифференцировкой нейральных прогениторных клеток (Airaksinen, Saarma, 2002). Способность этого нейротрофического фактора стимулировать образование новых зрелых нейронов, а также поддерживать жизнеспособность уже существующих нейронов вызвала большой интерес в качестве потенциального терапевтического средства для лечения нейродегенеративных заболеваний. В экспериментах на животных моделях болезни Паркинсона (БП), было показано, что GDNF защищает дофаминовые нейроны от нейротоксин-индуцированной гибели (Grondin, 1998). Терапевтический потенциал GDNF пробудил интерес к поиску гомологичных белков. В результате GDNF стал основателем небольшого подсемейства – семейства GDNF лигандов (GFLs), в которое входят: собственно сам GDNF, нейротурин, артемин и персефин (Airaksinen, Saarma, 2002). Со временем GDNF (и в некоторой степени также и другие GFLs) был применен в исследованиях по лечению не только болезни Паркинсона (Vastag, 2010), но и хронических болей (Bartolini et al., 2011), амиотрофического бокового склероза (Kanning et al., 2010), болезни Хантингтона (Sari, 2011), а также для регенерации седалищного нерва (Kokai et al., 2011). Использование GDNF также рассматривается для лечения наркотической зависимости (Ghitza et al., 2010) и депрессии

(Uchida et al., 2011). Примечательно, что GDNF и NRTN являются единственными факторами роста, которые достигли второй фазы клинических испытаний для пациентов с болезнью Паркинсона (Gill et al., 2003; Lang et al., 2006; Marks et al., 2010).

СТРУКТУРА GDNF

GDNF является секреторным белком, который широко экспрессируется в центральной нервной системе (ЦНС) и периферических тканях. Обнаружено, что он синтезируется в форме предшественника pre-pro-GDNF, который в процессе созревания подвергается протеолитическому расщеплению (Lin et al., 1993). Незрелая молекула pro-GDNF состоит из 211 аминокислот, участка расщепления сигнальной последовательности и продомена. Зрелые молекулы имеют молекулярную массу 35 кДа и состоят из 134 аминокислот. В процессе созревания происходит гликозилирование белка и образование гомодимера за счет ковалентных дисульфидных связей (Lin et al., 1993). Белок GDNF содержит цистиновый «узел» и характеризуется двумя длинными сигнальными последовательностями, образованными парами антипараллельных β -структур (Eigenbrot, Gerber, 1997). Для формирования димера мономеры связываются в положении «голова–хвост».

На сегодняшний день локализация гена 5p13.2 по сборке генома GRCh38.p14 (GCF_000001405.40) (база данных NCBI). У человека и грызунов мРНК GDNF имеет как минимум два транскрипта, которые продуктируются посредством альтернативного сплайсинга: длинно-цепочный транскрипт pre-(α)pro-GDNF и короткий транскрипт pre-(β)pro-GDNF с делецией в 78 пн в области про-последовательности (Grimm et al., 1998; Suter-Cazzolara, Unsicker, 1994). Совокупность функций, присущих GDNF, давно описана, однако на данный момент мало известно о различиях в функциях двух изоформ GDNF (pre-(α)pro-GDNF и pre-(β)pro-GDNF), а также их прекурсоров, отличающихся длиной про-последовательности (Lonka-Nevalaita et al., 2010). При этом на данный момент уже очевидно, что функции этих двух модификаций отличаются, и данные отличия существенны при патологических процессах в ЦНС (Kust et al., 2015; Revischchin et al., 2016). Так, например, в работе Solius с соавторами показано, что экспрессия изоформ GDNF (pre-(α)pro-GDNF и pre-(β)pro-GDNF) существенно отличается в области четверохолмия мозга при эпилептических припадках у крыс линии Крушинского–Молодкиной от аналогичных процессов в норме. Причем в данной работе описано отличие представленности форм между собой в верхних и нижних холмиках четверохолмия (Solius et al., 2019).

СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ GDNF СЕМЕЙСТВА

GFLs специфически связываются с GFR α корецепторами и активируют RET (тироzinкиназный рецептор) – трансмембранный рецептор, который необходим для передачи сигналов внутрь клеток. Все GFLs сигналы опосредованы через RET (Chen et al., 2001). Установлено, что RET участвует в активации перестройки ДНК (Takahashi et al., 1985). Он активируется после связывания факторов семейства GFLs с рецепторами GDNF семейства α (GFR α), которые прикреплены к плазматической мембране с помощью гликозилфосфатидилинозитольного (GPI) якоря. На данный момент доказано, что семейство GFR α состоит из четырех различных рецепторов (GFR α 1-4), которые определяют лиганд-специфичность GFR α -RET комплекса. Димеризованный GDNF связывается с двумя GFR α 1, которые затем образуют комплекс с двумя молекулами RET (Airaksinen et al., 1999; Baloh et al., 2000; Lindahl et al., 2001; Takahashi, 2001). Рецепторы GFR α , как правило, локализуются в компартментах плазматической мембраны – липидных рафтах (Paratcha, Ibáñez, 2002), но в результате протеолитического расщепления могут появляться растворимые формы этих корецепторов (Paratcha et al., 2001). Экспрессия растворимых GFR α клетками, в которых не представлен RET, приводит к транс-сигналингу и привлечению GFLs к RET-положительным клеткам (Paratcha et al., 2001; Paratcha, Ledda, 2008; Worley et al., 2000). GFR α 1-рецептор GDNF в своей структуре имеет три домена (D1, D2 и D3), которые являются консервативными и характерны для всех млекопитающих. GFR α 1 состоит из 468 аминокислот, и в последовательности присутствуют мотивы трех потенциальных N-связанных сайта гликозилирования. Показано, что GFR α 1 связывается с поверхностью клетки при помощи GPI-якоря (гликозилфосфатидилинозитольный якорь) (Jing et al., 1996; Creedon et al., 1997; Suvanto et al., 1997; Airaksinen et al., 1999). В случае взаимодействия GDNF-GFR α 1-RET: сначала димер GDNF связывается с мономерной или димерной молекулой GFR α 1, а затем комплекс GDNF-GFR α 1 взаимодействует с двумя молекулами RET, тем самым индуцируя их гомодимеризацию и автофосфорилирование тирозина (Airaksinen et al., 1999). GDNF оказывает действие не только в месте синтеза, но и дистанционно. Установлено, что нейроны способны к эндоцитозу молекул нейротрофического фактора. Поглощенный телами нейронов и проксимальными дендритами по системе ретроградного транспорта, GDNF доставляется в тело и афферентные синапсы (Tomac et al., 1995; Leitner et al., 1999; Rind et al., 2005; Tsui, Pierchala, 2010). Ret-опосредованная сигнальная трансдукция GDNF включает два основных сигнальных каскада, которые способствуют выживанию клеток в различных нейрональных

и ненейрональных популяциях: Ras/ERK (MAPK)- и PI3K/Akt-пути (Ibáñez, 2013). Кроме того, в качестве дополнительных рецепторов для GDNF в нейронах были идентифицированы молекулы адгезии нервных клеток (NCAM) (Paratcha et al., 2003; Schmutzler et al., 2011). Также известно о взаимодействии GDNF с синдекан-3 с использованием гепарин-сульфатной цепи (Bespalov et al., 2011). В результате такого взаимодействия происходит повышение локальной концентрации GDNF, также активируется Src-киназа, которая фосфорилирует Met (рецепторная тирозинкиназа, связывающая фактор роста гепатоцитов) и запускает внутриклеточную передачу сигнала, что в итоге приводит к миграции клеток и росту нейрональных отростков (Sariola, Saarma, 2003; Bespalov et al., 2011).

Для понимания того, насколько важно взаимодействие GFLs и GFRs для функционирования организма, был выполнен нокаут генов *GFLs* и *GFRs*. Мыши, которые не имеют RET, GDNF или GFR α 1, умирают вскоре после рождения, в то время как мыши, лишенные других GFLs или корецепторов, остаются жизнеспособными и fertильными.

У мышей с отсутствием GDNF, GFR α 1 или RET фенотипически определяются агенезия почки и недостаток многих парасимпатических и энтерических нейронов (Airaksinen et al., 1999). Функциональная значимость GDNF включает его основную роль в нейрогенезе. Он также является необходимым фактором для поддержания жизнеспособности и функционирования нейронов. Защитное действие GDNF опосредовано его способностью блокировать апоптоз, запуская в клетке сигнальные каскады, влияющие на экспрессию антиапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-w (Cao et al., 2013).

Таким образом, можно констатировать, что GDNF реализует нейротрофическую активность через формирование активного комплекса со своими рецепторами – GDNF/GFR α /Ret. Данный комплекс активизирует работу сигнальных путей MAPK и PI3K, результатом действия которых является активация транскрипционных факторов, а также давление проапоптотических белков и каспаз.

ЭНДОГЕННЫЙ GDNF

Различными группами исследователей были предприняты попытки по изучению физиологической роли эндогенного GDNF в пренатальном и постнатальном развитии. Известно, что дофаминергическая система созревает в первые две недели постнатального развития, и было установлено, что уровень стриарного GDNF повышается в этот период (Airaksinen, Saarma, 2002; Burke, 2003). В ходе многочисленных исследований удалось сделать лишь несколько предположений о роли

эндогенного GDNF для дофаминергической системы головного мозга. Так, Pascual и его соавторы сообщают, что GDNF играет ключевую роль в выживании нейронов дофаминергической системы в постнатальном периоде у мышей с условным нокаутом по GDNF (Pascual et al., 2008). Была установлена потеря 60–70% тирозингидроксилазных (TH+) клеток после воздействия тамоксифена. Однако известны и опровергающие статьи. Так, например, группа ученых во главе с J. Корга, помимо прочего, воспроизвела вышеупомянутую модель и не обнаружила потери дофаминергических нейронов (Korpa et al., 2015). Гетерозиготные мутанты GDNF+/-, несмотря на наличие спонтанной моторной активности и нарушения координации, характеризуются незначительной 15% потерей TH+ клеток и отсутствием изменений в аксональной иннервации этих клеток (Boger et al., 2006). Однако, позднее было установлено, что мутанты более чувствительны к воздействию нейротоксинов по сравнению с диким типом (Boger et al., 2007). В работе по изучению регион-специфической аблации RET в дофаминергических (ДА) нейронах сравнительная морфометрическая и биохимическая оценка (ДА-нейронов) нигростриарной системы не показала различий между опытом и контролем у взрослых особей (Jain et al., 2006). В другом исследовании Kramer и соавторы заявляют о важности RET и связанного с ним сигнального пути в долговременном поддержании ДА-нейронов нигростриарной системы (Kramer et al., 2007). Ко второму году жизни мутантные DAT-Ret Ix/Ix животные утрачивают до 40% TH+ клеток. Работа, основанная на использовании гипермorfных мышей по GDNF, подтверждает предположение о ценности глиального нейротрофического фактора для постнатального развития и функционирования нигростриарной дофаминергической системы (Kumar et al., 2015). Гипермorfные мыши характеризовались двукратным увеличением экспрессии эндогенного GDNF, что, в свою очередь, приводило к увеличению на 25% уровня дофамина в стриатуме, на 15% увеличивалось количество дофаминергических нейронов в *pars compacta* черной субстанции, а также на 15% увеличилось число дофаминергических терминалей в стриатуме. Кроме этого, в отличие от эктопической экспрессии GDNF и от «выключения» гена, на данной модели не наблюдались негативные побочные эффекты, такие как потеря веса животного, гиперактивность и аберрантное ветвление дофаминергических аксонов в области введения вирусного вектора. Примечательно, что в лактацистиновой модели болезни Паркинсона уровень дофамина и его метаболитов у мутантных животных находится на более высоком уровне по сравнению с мышами, обладающими генотипом дикого типа, но количество ДА нейронов в обоих случаях снижается сравнительно

одинаково, что может говорить о регенеративном воздействии GDNF на стриарные терминалы дофаминергических нейронов. Суммируя результаты многочисленных исследований, можно сделать вывод, что эндогенный GDNF немаловажен при стрессовых ситуациях и нейродегенеративных нарушениях, таких как болезнь Паркинсона. Например, исследования на мышах, дефицитных по RET и по гену *Parkin*, одному из основных генов, ассоциированных с БП, продемонстрировали как потерю дофаминергических нейронов, так и утрату аксональной иннервации (Meka et al., 2015).

ЭКЗОГЕННЫЕ GFLS

Нейродегенеративное заболевание болезнь Паркинсона характеризуется поражением экстрапирамидной системы головного мозга, в частности гибелю дофаминергических нейронов передних отделов черной субстанции. В середине 90-х годов были проведены исследования на животных с химически индуцированной болезнью Паркинсона, которые показали эффективность введения GDNF в головной мозг модельных животных (Beck et al., 1995; Gash et al., 1996; Hoffer et al., 1994; Tomac et al., 1995a). Исследования как *in vitro*, так и *in vivo* продемонстрировали многообещающий результат, показав нейропротективные и нейрорегенеративные свойства GDNF (Winkler et al., 1996; Kirik et al., 2004). Но, несмотря на успешность применения GDNF *in vivo* на животных, клинические испытания в конечном итоге дали негативный результат (Nutt et al., 2003; Love et al., 2005; Morrison et al., 2007; Heiss et al., 2019).

Тем не менее с учетом положительных результатов доклинических испытаний были проведены исследования, которые выявили возможные причины этих неудач. По результатам некоторых из них, отсутствие терапевтической эффективности может быть связано с ассоциацией белка на поверхности клеточной мембранны (Salvatore et al., 2006), иммуногенностью вводимого фактора, а также с нестабильностью белка (Piccinini et al., 2013).

Возникшие проблемы частично можно решить, используя модификации GDNF и NRTN, которые обладают лучшим биораспределением в ткани и стабильностью (Runeberg-Roos et al., 2016; Grondin et al., 2019).

Помимо этого, были выдвинуты гипотезы о том, что неудачи клинических испытаний могут быть связаны непосредственно с моделированием клинического испытания, то есть с путем введения и количеством вводимого препарата, локализацией введения, а также с выбором пациентов (Sherer et al., 2006; Luz et al., 2020).

Для клинических испытаний нейротрофических препаратов отбираются преимущественно пациенты с поздней стадией БП из-за способа терапии:

высокая инвазивность метода (интракраниальное введение) и пролонгированность. Однако на поздней стадии БП гибель дофаминергических нейронов уже обширна и критична, а функция GDNF как поддерживающая жизнеспособность уже неактуальна. При этом отмечается, что на поздней стадии наблюдается дегенерация аксональных терминалей, что нарушает ретроградный транспорт трофических факторов, необходимых для генерации сигналов выживания клеток.

Помимо возможности изменения протокола клинических исследований, актуальным подходом является поиск малых изоформ GDNF, которые могут преодолеть возникшие ограничения в клиническом применении полноразмерных нейротрофических белков. Молекулы, разработанные на химической основе, могут обладать лучшими фармакодинамическими свойствами, стабильностью и хорошо распределяться в тканях и преодолевать тканевые барьеры. Последнее особенно важно для реализации неинвазивных способов доставки препаратов в ЦНС. Не менее значимы пептиды, полученные на основе полноразмерных белков. Одним из таких представителей является артефин — 15-мерный пептид, который соответствует аминокислотам 166–180 человеческого ARTN (Ilieva et al., 2019). Артефин, как и артемин, показал нейропротективные свойства и способность к стимуляции роста нейритов.

В настоящее время проводятся исследования по улучшению терапевтических свойств GDNF, например, осуществляют аминокислотные замены в первичной структуре белка, удаляют участки аминокислот в ре-про-последовательностях и изучают влияние природы экспрессионных клеток на функциональность белка (Piltonen et al., 2009; Grondin et al., 2019), а также и вовсе удаляют ре-про-последовательности, достигая зрелой *mGDNF* формы (в химерном белке с GFP) (Kust et al., 2015). Стоит отметить, что природа клеток-продуцентов, экспрессирующих рекомбинантный белок, имеет немаловажное значение для клинического применения. Так, показано, что есть различия в гликопротеиновом профиле экспрессируемого белка не только при экспрессии в клетках разных надцарств (прокариоты и эукариоты), но также и при использовании клеточных систем одного царства, но разных видов (Croset et al., 2012; Bredell et al., 2016; Goh, Ng, 2018; Shamadykova et al., 2021). Помимо этого, одним из новых акцентов исследований является применение мелкомолекулярных миметиков, способных модулировать сигнальные пути нейротрофических белков (Longo, Massa, 2013) и позволяющих избежать проблем, связанных с введением полноразмерных белков (Bespalov, Saarma, 2007). Одна из таких малых молекул, *epoxide4*, способна за счет стимуляции и активации рецепторов GDNF приводить к выживанию дофаминергических нейронов *in vitro*, оказывает

нейропротективное действие при воздействии токсина МРТР на культуру дофаминергических нейронов (Ardashov et al., 2019). Другие низкомолекулярные агенты, LY379268 (агонист метаботропного mGlu2/3 рецептора) и PYM50028, способствуют увеличению уровня мРНК эндогенного GDNF и белка, уже через три дня после системного введения агентов оказывают протективное воздействие на нигростриарные нейроны мышей при воздействии МРТР (Battaglia et al., 2009; Visanji et al., 2008). К тому же в недавних исследованиях были обнаружены пептиды, полученные из предшественника GDNF, которые имеют нейротрофические свойства. В результате расщепления про-последовательности про-протеиновыми конвертазами образуются амидированные по С-концу пептиды DNSP-5, DNSP-11 (Immonen et al., 2008; Bradley et al., 2010), которые, как было показано, оказывают протективное и восстановительное воздействие на нигростриарную систему у модельных животных с БП, вызванной 6-OHDA, МРТР (Fuqua et al., 2014; Grondin et al., 2019). Кроме того, обнаружен еще один мини-пептид DNSP-17, функционал которого пока неясен, но известно, что он получается из аминокислот (13–29) N-концевой области зрелого GDNF (Kelps et al., 2011; Sidorova, Saarma, 2020). Данные исследования позволяют предположить, что может существовать и большее количество мини-пептидов, получаемых в результате расщепления GDNF. Кроме этого, следует отметить, что в последние годы обострился интерес и к полноразмерному GDNF. Так, например, известно, что пациенты, страдающие травмой плечевого сплетения (ТПС), даже после хирургического вмешательства могут испытывать дисфункции и боли на всю оставшуюся жизнь пациента (Eggers et al., 2020). В работе Eggers и соавторов (2020) описано использование генной терапии с привлечением молекулы GDNF, защищенной от иммунной атаки, с экспрессией, индуцируемой доксициклином. С помощью этой новой системы доставки GDNF исследователям удалось достигнуть долгосрочного эффекта выживания мотонейронов и увеличить регенерацию моторных аксонов (Cintron – Colon et al., 2022).

НЕЙРОТРОФИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ PRO-ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ

Известно, что доставка и диффузия GDNF в мозге ограничены структурой и размером полноразмерной молекулы (Lang et al., 2006). Поэтому для лечения БП имеет важное значение поиск малых молекул с нейротрофическим действием.

Открытие функциональных пропептидов семейства нейротрофических факторов TGF β представило широкие возможности для исследователей

(Ibáñez, 2002). Ранее считалось, что пропептидные последовательности ответственны только за сворачивание и секрецию белка (Suter et al., 1991; Rattenholl et al., 2001). Но было установлено, что пропоследовательности фактора роста нервов (NGF) и нейротрофического фактора мозга (BDNF) способствуют гибели клеток, связываясь с проапоптотическим рецептором сортилином и привлекая зрелый рецептор p75NTR, если между продоменом и зрелым фактором роста мутирован (удален) сайт расщепления дигазного фурина (Chao, Bothwell, 2002; Dicou, 2006; Dicou et al., 1997; Lee et al., 2001; Nykjaer et al., 2004; Teng et al., 2005). Также было показано, что выделенная пропоследовательность NGF блокировала индукцию апоптоза, вероятно, предотвращая образование тройного комплекса сортилин-p75NTR-NGF (Nykjaer et al., 2004). В продомене proNGF расположены два изученных пептида, LIP1 и LIP2, которые обладают цитокиноподобным, нейропротективным действием, также обладают антипролиферативным эффектом при воздействии инсулиноподобного фактора роста и эстрогена на клетки линии MCF-7 *in vitro* (Dicou, 2008, 2006). В том же ключе описан 11-мерный пептид, полученный на основе продомена GDNF человека, – стимулирующий дофаминергические нейроны-11 (DNSP-11) (Bradley et al., 2010), а также был обнаружен гомолог у крыс DNSP-11, названный мозговым возбуждающим пептидом (BEP) (Immonen et al., 2008). DNSP-11 человека и BEP крысы оказались функциональными нейропептидами: DNSP-11 имеет мощное нейротрофическое действие, подобное полноразмерному GDNF, но не связывается с каноническим рецептором GFR α 1, а BEP обладает способностью повышать синаптическую возбудимость. Стоит отметить наличие высококонсервативных последовательностей в продомене родственных нейротрофических факторов, которые могут иметь дополнительные биологические функции.

В настоящее время известно семь сплайс-вариантов гена GDNF человека, два из которых (варианты 5 и 6) производят варианты, в которых отсутствует участок про-области из 27 аминокислот, содержащих последовательность DNSP-11 (Flieck et al., 2013). Не исключено наличие сплайс-вариантов гена GDNF, ответственных за экспрессию изолированного продомена или других функциональных активных пептидов.

ПЕРСПЕКТИВЫ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ GDNF

GDNF является мощным нейротрофическим фактором, который показал восстановительные эффекты в самых разнообразных животных моделях болезни Паркинсона, например на грызунах

и приматах при инъекционном или катерном введении (Björklund et al., 2000). И, опираясь на результаты доклинических исследований GDNF, казался очень перспективным (Ai et al., 2003; Beck et al., 1995; Bowenkamp et al., 1995; Gash et al., 2005, 1996, 1995; Hoffer et al., 1994; Kambe et al., 2021; Rosenblad et al., 2000; Sauer et al., 1995; Tomac et al., 1995a; Zhang et al., 1997). Но на стадии клинических исследований не наблюдалось длительных положительных эффектов и также сообщалось о побочных эффектах при инъекционном введении. Была предпринята попытка катетерного введения GDNF – непосредственно в путамен (лат. *putamen*), что было сделано пяти пациентам с болезнью Паркинсона на I этапе клинических исследований. Это исследование показало, что прямая доставка GDNF в путамен больных БП может приводить к значительному увеличению содержания дофамина в зоне путамен и улучшает клиническое состояние пациента, но побочные осложнения вынудили остановить эти испытания (Gill et al., 2003; Patel et al., 2013). Стало понятно, что следует вернуться к фундаментальным исследованиям и искать причины неудач.

В последние годы интерес к GDNF не утих (Conway, Kramer, 2022), даже несмотря на неудачу клинических испытаний. Расширяются фундаментальные исследования, и предпринимаются попытки достигнуть лучшего результата при терапии нейродегенеративных заболеваний с использованием GDNF. Например, были использованы трансгенные клетки с гиперэкспрессией GDNF при боковом амиотрофическом склерозе (БАС). Ряд коллективов пытаются достигнуть эффективности GDNF, используя введение экспрессирующих клеток, что показало увеличение синтеза дофамина и максимизацию нейропротекторных свойств фактора. Примечательно, что Marshall P. (2023) в своем обзоре, описав подобные исследования на старых мышах или применение высоких воздействий GDNF на пациентов с болезнью Паркинсона, показал не только улучшение моторных функций после подобного воздействия, но и снижение гипердофаминергии и других побочных эффектов (Marshall, 2023), описываемых при неудавшихся клинических исследованиях. В исследовании Baloh и соавторов (2022) использовали клетки-предшественники нейронов человека, трансгенные по GDNF (CNS10-NPC-GDNF), которые были трансплантированы в поясничный отдел спинного мозга 18 пациента с БАС (Baloh et al., 2022). На данный момент результаты клинических исследований 1/2а фазы (NCT02943850) показали, что трансплантат выживает, вырабатывает GDNF и обеспечивает образование новых нейронов как минимум в течение 42 месяцев после трансплантации. Но многие исследователи все же акцентируются на различных малых сплайс-вариантах

GDNF, которые могут быть более перспективны как терапевтические молекулы. Один из них, пропептид, который получается из более длинной изоформы α -GDNF путем расщепления прогормональными конвертазами с образованием амидированного дофамин-нейронстимулирующего пептида, содержащего 11-АА (DNSP11; PPEAPAEEDRSL), показано, что защищает дофаминергические нейроны на животных моделях болезни Паркинсона. Исследователи продолжают поиски области повышенной экспрессии подобных малых пептидов для понимания функционала клеток, производящих их (Liu et al., 2023).

На данный момент становится очевидным, что GFLs предоставляют уникальную возможность для разработки лекарственных средств, направленных на лечение и возможную профилактику ряда заболеваний, в частности нейродегенеративных или возрастных изменений. Однако GFL белки сложны и дороги для производства, они часто лабильны, и их доставка к цели усложняется тем фактом, что они не проходят гематоэнцефалический барьер. Следовательно, необходимым является найти препараты с низким молекулярным весом, которые влияют на внутриклеточные сигнальные пути, участвуя и имитируя действие естественных нейротрофических факторов.

Обнаружение пептидов, которые способны стимулировать дофаминергические нейроны, такие как DNSP-11, DNSP-5, дает право предположить существование нативных пептидов, которые образуются в результате естественного расщепления GDNF, протекающего в интактных клетках. Всё вышеупомянутое, безусловно, способствует поиску малых изоформ GDNF, обладающих высокой способностью диффундировать и стимулировать нейральную дифференцировку клеток-предшественников.

ВКЛАД АВТОРОВ

Г.В. Павлова – концепция и руководство работой; Д.В. Шамадыкова – написание текста; Г.В. Павлова – редактирование текста статьи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ №24-15-00157.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Adina T. Michael-Titus, Peter Shortland. The Nervous System, Third Edition. 2022. 233.*
- Ai Y., Markesberry W., Zhang Z., Grondin R., Elseberry D., Gerhardt G.A., Gash D.M. Intraputamenal infusion of GDNF in aged rhesus monkeys: distribution and dopaminergic effects. J Comp Neurol. 2003. 461(2): 250–261.
<https://doi.org/10.1002/CNE.10689>*
- Airaksinen M.S., Saarma M. The GDNF family: Signaling, biological functions and therapeutic value. Nat Rev Neurosci. 2002. 3 (5): 383–394.
<https://doi.org/10.1038/nrn812>*
- Airaksinen M.S., Titovskiy A., Saarma M. GDNF family neurotrophic factor signaling: Four masters, one servant. Mol Cell Neurosci. 1999. 13 (5): 313–325.
<https://doi.org/10.1006/mcne.1999.0754>*
- Ardashov O.V., Pavlova A.V., Mahato A.K., Sidorova Y., Morozova E.A., Korchagina D.V., Salnikov G.E., Genaev A.M., Patrusheva O.S., Li-Zhulanov N.S., Tolstikova T.G., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F. A Novel Small Molecule Supports the Survival of Cultured Dopamine Neurons and May Restore the Dopaminergic Innervation of the Brain in the MPTP Mouse Model of Parkinson's Disease. ACS Chem Neurosci. 2019. 10(10): 4337–4349.
<https://doi.org/10.1021/acschemneuro.9b00396>*
- Arenas E., Trupp M., Åkerud P., Ibáñez C.F. GDNF prevents degeneration and promotes the phenotype of brain noradrenergic neurons in vivo. Neuron. 1995. 15(6): 1465–1473.
[https://doi.org/10.1016/0896-6273\(95\)90024-1](https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90024-1)*
- Baloh R.H., Enomoto H., Johnson E.M., Milbrandt J. The GDNF family ligands and receptors – implications for neural development. Curr Opin Neurobiol. 2000. 10(1): 103–110.
[https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(99\)00048-3](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(99)00048-3)*
- Baloh R.H., Johnson J.P., Avalos P., Allred P., Svendsen S., Gowing G., Roxas K., Wu A., Donahue B., Osborne S., Lawless G., Shelley B., Wheeler K., Prina C., Fine D., Kendra-Romito T., Stokes H., Manoukian V., Muthukumaran A., Garcia L., Bañuelos M.G., Godoy M., Bresee C., Yu H., Drazin D., Ross L., Naruse R., Babu H., Macklin E.A., Vo A., Elsayegh A., Tourtellotte W., Maya M., Burford M., Diaz F., Patil C.G., Lewis R.A., Svendsen C.N. Transplantation of human neural progenitor cells secreting GDNF into the spinal cord of patients with ALS: a phase 1/2a trial. Nat Med. 2022. 28(9): 1813–1822.
<https://doi.org/10.1038/S41591-022-01956-3>*
- Bartolini A., Cesare Mannelli L. Di, Ghelardini C. Analgesic and antineuropathic drugs acting through central*

- cholinergic mechanisms. *Recent Pat CNS Drug Discov.* 2011. 6 (2): 119–140.
<https://doi.org/10.2174/157488911795933901>
- Battaglia G., Molinaro G., Riozzi B., Storto M., Busceti C. L., Spinsanti P., Bucci D., Liberto V. Di, Mudò G., Corti C., Corsi M., Nicoletti F., Belluardo N., Bruno V.* Activation of mGlu3 receptors stimulates the production of GDNF in striatal neurons. *PLoS One.* 2009. 4(8): e6591.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006591>
- Baudet C., Mikaelson A., Westphal H., Johansen J., Johansen T.E., Ernfors P.* Positive and negative interactions of GDNF, NTN and ART in developing sensory neuron subpopulations, and their collaboration with neurotrophins. *Development.* 2000. 127(20): 4335–44.
<https://doi.org/10.1242/dev.127.20.4335>
- Beck K.D., Valverde J., Alexi T., Poulsen K., Moffat B., Vandlen R.A., Rosenthal A., Hefti F.* Mesencephalic dopaminergic neurons protected by gdnf from axotomy-induced degeneration in the adult brain. *Nature.* 1995. 373 (6512): 339–341.
<https://doi.org/10.1038/373339a0>
- Bespalov M.M., Saarma M.* GDNF family receptor complexes are emerging drug targets. *Trends Pharmacol Sci.* 2007. 28(2): 68–74.
<https://doi.org/10.1016/J.TIPS.2006.12.005>
- Bespalov M.M., Sidorova Y.A., Tumova S., Ahonen-Bishopp A., Magalhães A.C., Kulesskiy E., Paveliev M., Rivera C., Rauvala H., Saarma M.* Heparan sulfate proteoglycan syndecan-3 is a novel receptor for GDNF, neurturin, and artemin. *Journal of Cell Biology.* 2011. 192(1): 153–169.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201009136>
- Björklund A., Kirik D., Rosenblad C., Georgievska B., Lundberg C., Mandel R.J.* Towards a neuroprotective gene therapy for Parkinson's disease: use of adenovirus, AAV and lentivirus vectors for gene transfer of GDNF to the nigrostriatal system in the rat Parkinson model. Published on the World Wide Web on 10 October 2000. *Brain Res.* 2000. 886(1–2): 82–98.
[https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02915-2](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02915-2)
- Boger H.A., Middaugh L.D., Huang P., Zaman V., Smith A.C., Hoffer B.J., Tomac A.C., Granholm A.C.* A partial GDNF depletion leads to earlier age-related deterioration of motor function and tyrosine hydroxylase expression in the substantia nigra. *Exp Neurol.* 2006. 202(2): 336–347.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.06.006>
- Boger H.A., Middaugh L.D., Patrick K.S., Ramamoorthy S., Denehy E.D., Zhu H., Pacchioni A.M., Granholm A.C., McGinty J.F.* Long-term consequences of methamphetamine exposure in young adults are exacerbated in glial cell line-derived neurotrophic factor heterozygous mice. *Journal of Neuroscience.* 2007. 27(33): 8816–8825.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1067-07.2007>
- Bonafina A., Fontanet P.A., Paratcha G., Ledda F.* GDNF/GFR α 1 Complex Abrogates Self-Renewing Activity of Cortical Neural Precursors Inducing Their Differentiation. *Stem Cell Reports.* 2018. 10(3): 1000.
<https://doi.org/10.1016/J.STEMCR.2018.01.019>
- Bourque M.J., Trudeau L.E.* GDNF enhances the synaptic efficacy of dopaminergic neurons in culture. *European Journal of Neuroscience.* 2000. 12(9): 3172–3180.
<https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2000.00219.x>
- Bowenkamp K.E., Hoffman A.F., Gerhardt G.A., Henry M.A., Biddle P.T., Hoffer B.J., Granholm A.E.* Glial cell line-derived neurotrophic factor supports survival of injured midbrain dopaminergic neurons. *J Comp Neurol.* 1995. 355(4): 479–489.
<https://doi.org/10.1002/CNE.903550402>
- Bradley L.H., Fuqua J., Richardson A., Cholewo J.T., Ai Y., Kelso K.A., Glass J.D., He X., Zhang Z., Grondin R., Littrell O.M., Huettl P., Pomerleau F., Gash D.M., Gerhardt G.A.* Dopamine Neuron Stimulating Actions of a GDNF Propeptide. *PLoS One.* 2010. 5(3): e9752.
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0009752>
- Bredell H., Smith J., Prins W., Görgens J., Zyl W. van.* Expression of rotavirus VP6 protein: a comparison amongst Escherichia coli, Pichia pastoris and Hansenula polymorpha. *FEMS Yeast Res.* 2016. 16(2): fow001.
<https://doi.org/10.1093/FEMSYR/FOW001>
- Burke R.E.* Postnatal developmental programmed cell death in dopamine neurons. *Annals of the New York Academy of Sciences.* New York Academy of Sciences, 2003. 991:69–79.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb07464.x>
- Cao J.P., Niu H.Y., Wang H.J., Huang X.G., Gao D.S.* NF- κ B p65/p52 plays a role in GDNF up-regulating Bcl-2 and Bcl-w expression in 6-OHDA-induced apoptosis of MN9D cell. *International Journal of Neuroscience.* 2013. 123(10): 705–710.
<https://doi.org/10.3109/00207454.2013.795149>
- Chao M.V., Bothwell M.* Neurotrophins: To cleave or not to cleave. *Neuron.* 2002. 33(1): 9–12.
[https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00573-6](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00573-6)
- Chen A.C.H., Eisisch A.J., Sakai N., Takahashi M., Nestler E.J., Duman R.S.* Regulation of GFRalpha-1 and GFRalpha-2 mRNAs in rat brain by electroconvulsive seizure. *Synapse.* 2001. 39(1): 42–50.
[https://doi.org/10.1002/1098-2396\(20010101\)39:1<42::aid-syn6>3.0.co;2-#](https://doi.org/10.1002/1098-2396(20010101)39:1<42::aid-syn6>3.0.co;2-#)
- Chermenina M., Schouten P., Nevalainen N., Johansson F., Örädd G., Strömbärg I.* GDNF is important for striatal organization and maintenance of dopamine neurons grown in the presence of the striatum. *Neuroscience.* 2014. 270: 1–11.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.04.008>
- Cintron-Colon A., Almeida-Alves G., Vangyseghem J., Spitsbergen J.* GDNF to the rescue: GDNF delivery effects on motor neurons and nerves, and muscle re-innervation after peripheral nerve injuries. *Neural Regen Res.* 2022. 17(4): 748.
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.322446>
- Conway J.A., Kramer E.R.* Is activation of GDNF/RET signaling the answer for successful treatment of Parkinson's disease? A discussion of data from the culture dish to the clinic. *Neural Regen Res.* 2022. 17(7): 1462–1467.
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.327330>

- Creedon D.J., Tansey M.G., Baloh R.H., Osborne P.A., Lampen P.A., Fahrner T.J., Heuckeroth R.O., Milbrandt J., Johnson E.M.* Neurturin shares receptors and signal transduction pathways with glial cell line-derived neurotrophic factor in sympathetic neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997. 94(13): 7018–7023.
<https://doi.org/10.1073/pnas.94.13.7018>
- Croset A., Delafosse L., Gaudry J.P., Arod C., Glez L., Losberger C., Begue D., Krstanovic A., Robert F., Vilbois F., Chevalet L., Antonsson B.* Differences in the glycosylation of recombinant proteins expressed in HEK and CHO cells. *J Biotechnol.* 2012. 161(3): 336–348.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.06.038>
- Dicou E.* Multiple biological activities for two peptides derived from the nerve growth factor precursor. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006. 347(3): 833–837.
<https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2006.06.171>
- Dicou E.* High levels of the proNGF peptides LIP1 and LIP2 in the serum and synovial fluid of rheumatoid arthritis patients: evidence for two new cytokines. *J Neuroimmunol.* 2008. 194(1–2): 143–146.
<https://doi.org/10.1016/J.JNEUROIM.2007.11.002>
- Dicou E., Pflug B., Magazin M., Lehy T., Djakiew D., Ferrara P., Nerrière V., Harvie D.* Two peptides derived from the nerve growth factor precursor are biologically active. *J Cell Biol.* 1997. 136(2): 389–398.
<https://doi.org/10.1083/JCB.136.2.389>
- Eggers R., Winter F. de, Tannemaat M.R., Malessy M.J.A., Verhaagen J.* GDNF Gene Therapy to Repair the Injured Peripheral Nerve. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020. 8: 583184.
<https://doi.org/10.3389/FBIOE.2020.583184/BIBTEX>
- Eigenbrot C., Gerber N.* X-ray structure of glial cell-derived neurotrophic factor at 1.9 Å resolution and implications for receptor binding. *Nat Struct Biol.* 1997. 4(6): 435–438.
<https://doi.org/10.1038/nsb0697-435>
- Enterria-Morales D., Rey N.L.G. Del, Blesa J., López-López I., Gallet S., Prevot V., López-Barneo J., D'Anglemont De Tassigny X.* Molecular targets for endogenous glial cell line-derived neurotrophic factor modulation in striatal parvalbumin interneurons. *Brain Commun.* 2020. 2(2): fcaa105.
<https://doi.org/10.1093/BRAINCOMMS/FCAA105>
- Fliceck P., Ahmed I., Amode M.R., Barrell D., Beal K., Brent S., Carvalho-Silva D., Clapham P., Coates G., Fairley S., Fitzgerald S., Gil L., García-Girón C., Gordon L., Hourlier T., Hunt S., Juettemann T., Kähäri A. K., Keenan S., Komorowska M., Kulesha E., Longden I., Maurel T., McLaren W.M., Muffato M., Nag R., Overduin B., Pignatelli M., Pritchard B., Pritchard E., Riat H.S., Ritchie G.R.S., Ruffier M., Schuster M., Sheppard D., Sobral D., Taylor K., Thormann A., Trevanion S., White S., Wilder S.P., Aken B.L., Birney E., Cunningham F., Dunham I., Harrow J., Herrero J., Hubbard T.J.P., Johnson N., Kinsella R., Parker A., Spudich G., Yates A., Zadissa A., Searle S.M.J.* Ensembl 2013. Nucleic Acids Res. 2013. 41(Database issue): D48
<https://doi.org/10.1093/NAR/GKS1236>
- Fundin B.T., Mikael Å., Westphal H., Ernfors P.* A rapid and dynamic regulation of GDNF-family ligands and receptors correlate with the developmental dependency of cutaneous sensory innervation. *Development.* 1999. 126(12): 2597–2610.
- Fuqua J.L., Littrell O.M., Lundblad M., Turchan-Cholewo J., Abdelmoti L.G., Galperin E., Bradley L.H., Cass W.A., Gash D.M., Gerhardt G.A.* Dynamic changes in dopamine neuron function after DNSP-11 treatment: Effects in vivo and increased ERK 1/2 phosphorylation in vitro. *Peptides (N.Y.).* 2014. 54: 1–8.
<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.12.007>
- Gash D.M., Zhang Z., Ai Y., Grondin R., Coffey R., Gerhardt G.A.* Trophic factor distribution predicts functional recovery in parkinsonian monkeys. *Ann Neurol.* 2005. 58(2): 224–233.
<https://doi.org/10.1002/ANA.20549>
- Gash D.M., Zhang Z., Cass W.A., Ovadia A., Simmerman L., Martin D., Russell D., Collins F., Hoffer B.J., Gerhardt G.A.* Morphological and functional effects of intranigrally administered GDNF in normal rhesus monkeys. *J Comp Neurol.* 1995. 363(3): 345–358.
<https://doi.org/10.1002/CNE.903630302>
- Gash D.M., Zhang Z., Ovadia A., Cass W.A., Yi A., Simmerman L., Russell D., Martin D., Lapchak P.A., Collins F., Hoffer B.J., Gerhardt G.A.* Functional recovery in parkinsonian monkeys treated with GDNF. *Nature.* 1996. 380(6571): 252–255.
<https://doi.org/10.1038/380252a0>
- Ghitza U.E., Zhai H., Wu P., Airavaara M., Shaham Y., Lu L.* Role of BDNF and GDNF in drug reward and relapse: A review. *Neurosci Biobehav Rev.* 2010. 35 (2): 157–171.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2009.11.009>
- Gill S.S., Patel N.K., Hotton G.R., O'Sullivan K., McCarter R., Bunnage M., Brooks D.J., Svendsen C.N., Heywood P.* Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat Med.* 2003. 9(5): 589–595.
<https://doi.org/10.1038/nm850>
- Goh J.B., Ng S.K.* Impact of host cell line choice on glycan profile. *Crit Rev Biotechnol.* 2018. 38 (6): 851–867.
<https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1416577>
- Griffin W.C., Boger H.A., Granholm A.C., Middaugh L.D.* Partial deletion of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in mice: Effects on sucrose reward and striatal GDNF concentrations. *Brain Res.* 2006. 1068(1): 257–260.
<https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2005.10.080>
- Grimm L., Holinski-Feder E., Teodoridis J., Scheffer B., Schindelhauer D., Meitinger T., Ueffing M.* Analysis of the human GDNF gene reveals an inducible promoter, three exons, a triplet repeat within the 3'-UTR and alternative splice products. *Hum Mol Genet.* 1998. 7(12): 1873–1886. <https://doi.org/10.1093/hmg/7.12.1873>
- Grondin R.* Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF): A drug candidate for the treatment

- of Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Supplement.* J Neurol. 1998. 245 (11 Suppl 3): 35–42.
<https://doi.org/10.1007/pl00007744>
- Grondin R., Littrell O.M., Zhang Z., Ai Y., Huettl P., Pomerleau F., Quintero J.E., Andersen A.H., Stenslik M.J., Bradley L.H., Lemmon J., O'Neill M.J., Gash D.M., Gerhardt G.A.* GDNF revisited: A novel mammalian cell-derived variant form of GDNF increases dopamine turnover and improves brain biodistribution. *Neuropharmacology.* 2019. 147: 28–36.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.05.014>
- Heiss J.D., Lungu C., Hammoud D.A., Herscovitch P., Ehrlich D.J., Argersinger D.P., Sinharay S., Scott G., Wu T., Federoff H.J., Zaghloul K.A., Hallett M., Lonser R.R., Bankiewicz K.S.* Trial of magnetic resonance-guided putaminal gene therapy for advanced Parkinson's disease. *Movement Disorders.* 2019. 34(7): 1073–1078.
<https://doi.org/10.1002/mds.27724>
- Henderson C.E., Phillips H.S., Pollock R.A., Davies A.M., Lemeulle C., Armanini M., Simpson L.C., Moffet B., Vandlen R.A., Koliatsos V.E., Rosenthal A.* GDNF: A potent survival factor for motoneurons present in peripheral nerve and muscle. *Science (1979).* 1994. 266(5187): 1062–1064.
<https://doi.org/10.1126/science.7973664>
- Hoffer B.J., Hoffman A., Bowenkamp K., Huettl P., Hudson J., Martin D., Lin L.F.H., Gerhardt G.A.* Glial cell line-derived neurotrophic factor reverses toxin-induced injury to midbrain dopaminergic neurons in vivo. *Neurosci Lett.* 1994. 182(1): 107–111.
[https://doi.org/10.1016/0304-3940\(94\)90218-6](https://doi.org/10.1016/0304-3940(94)90218-6)
- Ibáñez C.F.* Jekyll-Hyde neurotrophins: the story of proNGF. *Trends Neurosci.* 2002. 25(6): 284–286.
[https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(02\)02169-0](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(02)02169-0)
- Ibáñez C.F.* Structure and physiology of the RET receptor tyrosine kinase. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013. 5(2):
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009134>
- Ilieva M., Nielsen J., Korshunova I., Gotfryd K., Bock E., Pankratova S., Michel T.M.* Artemin and an artemin-derived peptide, artefin, induce neuronal survival, and differentiation through ret and NCAM. *Front Mol Neurosci.* 2019. 12: 47.
<https://doi.org/10.3389/FNMOL.2019.00047/FULL>
- Immonen T., Alakuijala A., Hytönen M., Sainio K., Poteryaev D., Saarma M., Pasternack M., Sariola H.* A proGDNF-related peptide BEP increases synaptic excitation in rat hippocampus. *Exp Neurol.* 2008. 210(2): 793–796.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.12.018>
- Irala D., Bonafina A., Fontanet P.A., Alsina F.C., Paratcha G., Ledda F.* The GDNF-GFR α 1 complex promotes the development of hippocampal dendritic arbors and spines via NCAM. *Development.* 2016. 143(22): 4224–4235.
<https://doi.org/10.1242/DEV.140350>
- Jain S., Golden U.P., Wozniak D., Pehek E., Johnson E.M., Milbrandt J.* RET is dispensable for maintenance of midbrain dopaminergic neurons in adult mice. *Journal of Neuroscience.* 2006. 26(43): 11230–11238.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1876-06.2006>
- Jing S., Wen D., Yu Y., Holst P.L., Luo Y., Fang M., Tamir R., Antonio L., Hu Z., Cupples R., Louis J.C., Hu S., Altrock B.W., Fox G.M.* GDNF-induced activation of the Ret protein tyrosine kinase is mediated by GDNFR- α , a novel receptor for GDNF. *Cell.* 1996. 85(7): 1113–1124.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81311-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81311-2)
- Kambay P.A., Kanwore K., Ayanlaja A.A., Nadeem I., Du Y.Z., Buberwa W., Liu W.Y., Gao D.* Failure of Glial Cell-Line Derived Neurotrophic Factor (GDNF) in Clinical Trials Orchestrated By Reduced NR4A2 (NURR1) Transcription Factor in Parkinson's Disease. A Systematic Review. *Front Aging Neurosci.* 2021. 13: 645583.
<https://doi.org/10.3389/FNAGI.2021.645583>
- Kanning K.C., Kaplan A., Henderson C.E.* Motor neuron diversity in development and disease. *Annu Rev Neurosci.* 2010. 33: 409–440.
<https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135722>
- Kelps K.A., Turchan-Cholewo J., Hascup E.R., Taylor T.L., Gash D.M., Gerhardt G.A., Bradley L.H.* Evaluation of the physical and in vitro protective activity of three synthetic peptides derived from the pro- and mature GDNF sequence. *Neuropeptides.* 2011. 45(3): 213–218.
<https://doi.org/10.1016/j.npep.2011.03.003>
- Kirik D., Georgievska B., Björklund A.* Localized striatal delivery of GDNF as a treatment for Parkinson disease. *Nat Neurosci.* 2004. 7 (2): 105–110.
<https://doi.org/10.1038/nn1175>
- Kokai L.E., Bourbeau D., Weber D., McAtee J., Marra K.G.* Sustained growth factor delivery promotes axonal regeneration in long gap peripheral nerve repair. *Tissue Eng Part A.* 2011. 17(9–10): 1263–1275.
<https://doi.org/10.1089/ten.tea.2010.0507>
- Kopra J., Vilenius C., Grealy S., Härmä M.A., Vareni K., Lindholm J., Castrén E., Vöikar V., Björklund A., Piepponen T.P., Saarma M., Andressoo J.O.* GDNF is not required for catecholaminergic neuron survival in vivo. *Nat Neurosci.* 2015. 18 (3): 319–322.
<https://doi.org/10.1038/nn.3941>
- Kramer E.R., Aron L., Ramakers G.M.J., Seitz S., Zhuang X., Beyer K., Smidt M.P., Klein R.* Absence of Ret signaling in mice causes progressive and late degeneration of the nigrostriatal system. *PLoS Biol.* 2007. 5(3): 0616–0628.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050039>
- Kumar A., Kopra J., Vareni K., Porokuokka L.L., Panhelainen A., Kuure S., Marshall P., Karalija N., Härmä M.A., Vilenius C., Lilleväli K., Tekko T., Mijatovic J., Pulkkinen N., Jakobson M., Jakobson M., Ola R., Palm E., Lindahl M., Strömborg I., Vöikar V., Piepponen T.P., Saarma M., Andressoo J.O.* GDNF Overexpression from the Native Locus Reveals its Role in the Nigrostriatal Dopaminergic System Function. *PLoS Genet.* 2015. 11(12): e1005710.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005710>
- Kust N., Panteleev D., Mertsalov I., Savchenko E., Rybalkina E., Revishchin A., Pavlova G.* Availability of Pre- and Pro-regions of Transgenic GDNF Affects the Ability to Induce Axonal Sprout Growth. *Mol Neurobiol.* 2015. 51(3): 1195–1205.
<https://doi.org/10.1007/s12035-014-8792-8>

- Lang A.E., Gill S., Patel N.K., Lozano A., Nutt J.G., Penn R., Brooks D.J., Hotton G., Moro E., Heywood P., Brodsky M.A., Burchiel K., Kelly P., Dalvi A., Scott B., Stacy M., Turner D., Wooten V.G.F., Elias W.J., Laws E.R., Dhawan V., Stoessl A.J., Matcham J., Coffey R.J., Traub M.* Randomized controlled trial of intraputamenal glial cell line-derived neurotrophic factor infusion in Parkinson disease. *Ann Neurol.* 2006. 59(3): 459–466.
<https://doi.org/10.1002/ana.20737>
- Lee R., Kermani P., Teng K.K., Hempstead B.L.* Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science* (1979). 2001. 294(5548): 1945–1948.
<https://doi.org/10.1126/science.1065057>
- Leitner M.L., Molliver D.C., Osborne P.A., Vejsada R., Golden J.P., Lampe P.A., Kato A.C., Milbrandt J., Johnson E.M.* Analysis of the retrograde transport of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), neurturin, and persephin suggests that in vivo signaling for the GDNF family is GFR α coreceptor-specific. *Journal of Neuroscience*. 1999. 19(21): 9322–9331.
<https://doi.org/10.1523/jneurosci.19-21-09322.1999>
- Lin L.F.H., Doherty D.H., Lile J.D., Bektesh S., Collins F.* GDNF: A glial cell line – Derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons. *Science* (1979). 1993. 260(5111): 1130–1132.
<https://doi.org/10.1126/science.8493557>
- Lindahl M., Poteryaev D., Yu L., Arumäe U., Timmusk T., Bongarzone I., Aiello A., Pierotti M.A., Airaksinen M.S., Saarma M.* Human Glial Cell Line-derived Neurotrophic Factor Receptor α 4 is the Receptor for Persephin and is Predominantly Expressed in Normal and Malignant Thyroid Medullary Cells. *Journal of Biological Chemistry*. 2001. 276(12): 9344–9351.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M008279200>
- Liu Q.R., Zhu M., Chen Q., Mustapic M., Kapogiannis D., Egan J.M.* Novel Hominid-Specific IAPP Isoforms: Potential Biomarkers of Early Alzheimer's Disease and Inhibitors of Amyloid Formation. *Biomolecules*. 2023. 13(1): 167.
<https://doi.org/10.3390/BIOM13010167>
- Longo F.M., Massa S.M.* Small-molecule modulation of neurotrophin receptors: a strategy for the treatment of neurological disease. *Nat Rev Drug Discov.* 2013. 12(7): 507–525.
<https://doi.org/10.1038/NRD4024>
- Lonka-Nevalaita L., Lume M., Leppänen S., Jokitalo E., Peränen J., Saarma M.* Characterization of the intracellular localization, processing, and secretion of two glial cell line-derived neurotrophic factor splice isoforms. *Journal of Neuroscience*. 2010. 30(34): 11403–11413.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5888-09.2010>
- Love S., Plaha P., Patel N.K., Hotton G.R., Brooks D.J., Gill S.S.* Glial cell line-derived neurotrophic factor induces neuronal sprouting in human brain. *Nat Med.* 2005. 11 (7): 703–704.
<https://doi.org/10.1038/nm0705-703>
- Luz M., Whone A., Bassani N., Wyse R.K., Stebbins G.T., Mohr E.* The Parkinson's Disease Comprehensive Response (PDCORE): a composite approach integrating three standard outcome measures. *Brain Commun.* 2020. 2(2): fcaa046.
<https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaa046>
- Manié S., Santoro M., Fusco A., Billaud M.* The RET receptor: Function in development and dysfunction in congenital malformation. *Trends in Genetics*. 2001. 17 (10): 580–589.
[https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(01\)02420-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(01)02420-9)
- Marks W.J., Bartus R.T., Siffert J., Davis C.S., Lozano A., Boulis N., Vitek J., Stacy M., Turner D., Verhagen L., Bakay R., Watts R., Guthrie B., Jankovic J., Simpson R., Tagliati M., Alterman R., Stern M., Baltuch G., Starr P.A., Larson P.S., Ostrom J.L., Nutt J., Kieburtz K., Kordower J.H., Olanow C.W.* Gene delivery of AAV2-neurturin for Parkinson's disease: A double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet Neurol.* 2010. 9(12): 1164–1172.
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70254-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70254-4)
- Marshall P.* Finding an Optimal Level of GDNF Overexpression: Insights from Dopamine Cycling. *Cell Mol Neurobiol.* 2023. 43(7): 3179–3189.
<https://doi.org/10.1007/S10571-023-01375-Z>
- Meka D.P., Müller-Rischart A.K., Nidadavolu P., Mohammadi B., Motori E., Ponna S.K., Aboutalebi H., Bassal M., Annamneedi A., Finckh B., Miesbauer M., Rotermund N., Lohr C., Tatzelt J., Winklhofer K.F., Kramer E.R.* Parkin cooperates with GDNF/RET signaling to prevent dopaminergic neuron degeneration. *Journal of Clinical Investigation*. 2015. 125(5): 1873–1885.
<https://doi.org/10.1172/JCI79300>
- Morrison P.F., Lonser R.R., Oldfield E.H.* Convective delivery of glial cell line-derived neurotrophic factor in the human putamen. *J Neurosurg.* 2007. 107(1): 74–83.
<https://doi.org/10.3171/JNS-07/07/0074>
- Nguyen Q.T., Parsadanian A.S., Snider W.D., Lichtman J.W.* Hyperinnervation of neuromuscular junctions caused by GDNF overexpression in muscle. *Science* (1979). 1998. 279(5357): 1725–1729.
<https://doi.org/10.1126/science.279.5357.1725>
- Nutt J.G., Burchiel K.J., Comella C.L., Jankovic J., Lang A.E., Laws E.R., Lozano A.M., Penn R.D., Simpson R.K., Stacy M., Wooten G.F., Johnston L., Lopez J., Harrigan M., Marciano F.F., Carter J.H., Stone C., Trugman J., Rost-Ruffner E., O'Brien C., McVicker J.H., Davis T.L., Charles D., Allen G., Weiner W., Landy H.J., Bronstein J., Koller W., Pahwa R., Wilkinson S., Siemers E.R., Wojcieszek J.M., Witt T., Tuite P.J., Ebbitt B.J., Maxwell R., Cravets M., Hilt D., Klein M., Lee D.R., Schultz B.* Randomized, double-blind trial of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in PD. *Neurology*. 2003. 60(1): 69–73.
<https://doi.org/10.1212/WNL.60.1.69>
- Nykjaer A., Lee R., Teng K.K., Jansen P., Madsen P., Nielsen M.S., Jacobsen C., Kliemann M., Schwarz E., Willnow T.E., Hempstead B.L., Petersen C.M.* Sortilin is essential for proNGF-induced neuronal cell death. *Nature*. 2004. 427(6977): 843–848.
<https://doi.org/10.1038/nature02319>

- Ohnaka M., Miki K., Gong Y.Y., Stevens R., Iwase T., Hackett S.F., Campochiaro P.A.* Long-term expression of glial cell line-derived neurotrophic factor slows, but does not stop retinal degeneration in a model of retinitis pigmentosa. *J Neurochem.* 2012. 122(5): 1047–1053. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2012.07842.x>
- Paratcha G., Ibáñez C.F.* Lipid rafts and the control of neurotrophic factor signaling in the nervous system: Variations on a theme. *Curr Opin Neurobiol.* 2002. 12 (5): 542–549. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(02\)00363-X](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(02)00363-X)
- Paratcha G., Ledda F.* GDNF and GFR α : a versatile molecular complex for developing neurons. *Trends Neurosci.* 2008. 31(8): 384–391. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2008.05.003>
- Paratcha G., Ledda F., Baars L., Couplier M., Basset V., Anders J., Scott R., Ibáñez C.F.* Released GFR α 1 potentiates downstream signaling, neuronal survival, and differentiation via a novel mechanism of recruitment of c-Ret to lipid rafts. *Neuron.* 2001. 29(1): 171–184. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00188-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00188-X)
- Paratcha G., Ledda F., Ibáñez C.F.* The neural cell adhesion molecule NCAM is an alternative signaling receptor for GDNF family ligands. *Cell.* 2003. 113(7): 867–879. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00435-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00435-5)
- Pascual A., Hidalgo-Figueroa M., Piruat J.I., Pintado C.O., Gómez-Díaz R., López-Barneo J.* Absolute requirement of GDNF for adult catecholaminergic neuron survival. *Nat Neurosci.* 2008. 11(7): 755–761. <https://doi.org/10.1038/nn.2136>
- Patel N.K., Pavese N., Javed S., Hotton G.R., Brooks D.J., Gill S.S.* Benefits of putaminal GDNF infusion in Parkinson disease are maintained after GDNF cessation. *Neurology.* 2013. 81(13): 1176–1178. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182a55ea5>
- Piccinini E., Kalkkinen N., Saarma M., Runeberg-Roos P.* Glial cell line-derived neurotrophic factor: Characterization of mammalian posttranslational modifications. *Ann Med.* 2013. 45(1): 66–73. <https://doi.org/10.3109/07853890.2012.663927>
- Pichel J.G., Shen L., Sheng H.Z., Granholm A.C., Drago J., Grinberg A., Lee E.J., Sing Ping Huang, Saarma M., Hoffer B.J., Sariola H., Westphal H.* Defects in enteric innervation and kidney development in mice lacking GDNF. *Nature.* 1996. 382(6586): 73–75. <https://doi.org/10.1038/382073A0>
- Piltonen M., Bespalov M.M., Ervasti D., Matilainen T., Sidorova Y.A., Rauvala H., Saarma M., Männistö P.T.* Heparin-binding determinants of GDNF reduce its tissue distribution but are beneficial for the protection of nigral dopaminergic neurons. *Exp Neurol.* 2009. 219(2): 499–506. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.07.002>
- Rattenholl A., Ruoppolo M., Flagiello A., Monti M., Vinci F., Marino G., Lilie H., Schwarz E., Rudolph R.* Pro-sequence assisted folding and disulfide bond formation of human nerve growth factor. *J Mol Biol.* 2001. 305(3): 523–533. <https://doi.org/10.1006/JMBI.2000.4295>
- Revischchin A., Moiseenko L., Kust N., Bazhenova N., Teslia P., Panteleev D., Kovalzon V., Pavlova G.* Effects of striatal transplantation of cells transfected with GDNF gene without pre- and pro-regions in mouse model of Parkinson's disease. *BMC Neurosci.* 2016. 17(1): 34. <https://doi.org/10.1186/s12868-016-0271-x>
- Rind H.B., Butowt R., Bartheld C.S. Von.* Synaptic targeting of retrogradely transported trophic factors in motoneurons: Comparison of glial cell line-derived neurotrophic factor, brain-derived neurotrophic factor, and cardiotrophin-1 with tetanus toxin. *Journal of Neuroscience.* 2005. 25(3): 539–549. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4322-04.2005>
- Rosenblad C., Kirik D., Björklund A.* Sequential administration of GDNF into the substantia nigra and striatum promotes dopamine neuron survival and axonal sprouting but not striatal reinnervation or functional recovery in the partial 6-OHDA lesion model. *Exp Neurol.* 2000. 161(2): 503–516. <https://doi.org/10.1006/EXNR.1999.7296>
- Rossi J., Luukko K., Poteryaev D., Laurikainen A., Sun Y.F., Laakso T., Eerikäinen S., Tuominen R., Lakso M., Rauvala H., Arumäe U., Pasternack M., Saarma M., Airaksinen M.S.* Retarded Growth and Deficits in the Enteric and Parasympathetic Nervous System in Mice Lacking GFR α 2, a Functional Neurturin Receptor. *Neuron.* 1999. 22(2): 243–252. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)81086-7](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)81086-7)
- Runeberg-Roos P., Piccinini E., Penttilin A.M., Mälik K., Heikkilä H., Kuure S., Bespalov M.M., Peränen J., Garea-Rodríguez E., Fuchs E., Airavaara M., Kalkkinen N., Penn R., Saarma M.* Developing therapeutically more efficient Neurturin variants for treatment of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2016. 96: 335–345. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.07.008>
- Salvatore M.F., Ai Y., Fischer B., Zhang A.M., Grondin R.C., Zhang Z., Gerhardt G.A., Gash D.M.* Point source concentration of GDNF may explain failure of phase II clinical trial. *Exp Neurol.* 2006. 202(2): 497–505. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.07.015>
- Sari Y.* Huntington's Disease: From Mutant Huntingtin Protein to Neurotrophic Factor Therapy. *Int J Biomed Sci.* 2011. 7(2): 89–100.
- Sariola H., Saarma M.* GDNF and its receptors in the regulation of the ureteric branching. *International Journal of Developmental Biology.* 1999. 43 (5): 413–418. <https://doi.org/10.1387/ijdb.10535317>
- Sariola H., Saarma M.* Novel functions and signalling pathways for GDNF. *J Cell Sci.* 2003. 116(19): 3855–3862. <https://doi.org/10.1242/jcs.00786>
- Sauer H., Rosenblad C., Björklund A.* Glial cell line-derived neurotrophic factor but not transforming growth factor β 3 prevents delayed degeneration of nigral dopaminergic neurons following striatal 6-hydroxydopamine lesion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995. 92(19): 8935–8939. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.19.8935>
- Schmutzler B.S., Roy S., Pittman S.K., Meadows R.M., Hinggen C.M.* Ret-dependent and Ret-independent mechanisms of Gfl-induced sensitization. *Mol Pain.* 2011. 7:22. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-7-22>

- Shamadykova D.V., Panteleev D.Y., Kust N.N., Savchenko E.A., Rybalkina E.Y., Revishchin A.V., Pavlova G.V.* Neuroinductive properties of mGDNF depend on the producer, *E. Coli* or human cells. *PLoS One.* 2021. 16(10): e0258289. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258289>
- Sherer T.B., Fiske B.K., Svendsen C.N., Lang A.E., Langston J.W.* Crossroads in GDNF therapy for Parkinson's disease. *Movement Disorders.* 2006. 21 (2): 136–141. <https://doi.org/10.1002/mds.20861>
- Sidorova Y.A., Saarma M.* Small Molecules and Peptides Targeting Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Receptors for the Treatment of Neurodegeneration. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020. 21(18): 6575. <https://doi.org/10.3390/IJMS21186575>
- Solius G., Panteleev D., Pustogarov N., Revishchin A., Polletaeva I., Pavlova G.* Time course of transient expression of pre- α -pro-GDNF and pre- β -pro-GDNF transcripts, and mGDNF mRNA region in Krushinsky–Molodkina rat brain after audiogenic seizures. *Epilepsy & Behavior.* 2019. 96: 87–91. <https://doi.org/10.1016/J.YEBEH.2019.03.007>
- Suter U., JV Heymach J., Shooter E.M.* Two conserved domains in the NGF propeptide are necessary and sufficient for the biosynthesis of correctly processed and biologically active NGF. *EMBO J.* 1991. 10(9): 2395. <https://doi.org/10.1002/J.1460-2075.1991.TB07778.X>
- Suter-Cazzolara C., Unsicker K.* GDNF is expressed in two forms in many tissues outside the CNS. *Neuroreport.* 1994. 5(18): 2486–2488. <https://doi.org/10.1097/00001756-199412000-00020>
- Suvanto P., Wartiovaara K., Lindahl M., Arumäe U., Moshnyakov M., Horelli-Kuitunen N., Airaksinen M.S., Palotie A., Sariola H., Saarma M.* Cloning, mRNA distribution and chromosomal localisation of the gene for glial cell line-derived neurotrophic factor receptor β , a homologue to GDNFR- α . *Hum Mol Genet.* 1997. 6(8): 1267–1273. <https://doi.org/10.1093/hmg/6.8.1267>
- Takahashi M.* The GDNF/RET signaling pathway and human diseases. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2001. 12(4): 361–373. [https://doi.org/10.1016/S1359-6101\(01\)00012-0](https://doi.org/10.1016/S1359-6101(01)00012-0)
- Takahashi M., Ritz J., Cooper G.M.* Activation of a novel human transforming gene, ret, by DNA rearrangement. *Cell.* 1985. 42(2): 581–588. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(85\)90115-1](https://doi.org/10.1016/0092-8674(85)90115-1)
- Teng H.K., Teng K.K., Lee R., Wright S., Tevar S., Almeida R.D., Kermani P., Torkin R., Chen Z.Y., Lee F.S., Kraemer R.T., Nykjaer A., Hempstead B.L.* ProBDNF induces neuronal apoptosis via activation of a receptor complex of p75NTR and sortilin. *J Neurosci.* 2005. 25(22): 5455–5463. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5123-04.2005>
- Tomac A., Lindqvist E., Lin L.F.H., ögren S.O., Young D., Hoffer B.J., Olson L.* Protection and repair of the nigrostriatal dopaminergic system by gdnf in vivo. *Nature.* 1995a. 373(6512): 335–339. <https://doi.org/10.1038/373335a0>
- Tomac A., Widenfalk J., Lin L.F.H., Kohno T., Ebendal T., Hoffer B.J., Olson L.* Retrograde axonal transport of glial cell line-derived neurotrophic factor in the adult nigrostriatal system suggests a trophic role in the adult. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995b. 92(18): 8274–8278. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.18.8274>
- Trupp M., Rydén M., Jörnvall H., Funakoshi H., Timmusk T., Arenas E., Ibáñez C. F.* Peripheral expression and biological activities of GDNF, a new neurotrophic factor for avian and mammalian peripheral neurons. *Journal of Cell Biology.* 1995. 130(1): 137–148. <https://doi.org/10.1083/jcb.130.1.137>
- Tsui C.C., Pierchala B.A.* The differential axonal degradation of ret accounts for cell-type-specific function of glial cell line-derived neurotrophic factor as a retrograde survival factor. *Journal of Neuroscience.* 2010. 30(15): 5149–5158. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5246-09.2010>
- Uchida S., Hara K., Kobayashi A., Otsuki K., Yamagata H., Hobara T., Suzuki T., Miyata N., Watanabe Y.* Epigenetic status of Gdnf in the ventral striatum determines susceptibility and adaptation to daily stressful events. *Neuron.* 2011. 69(2): 359–372. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.12.023>
- Vastag B.* Biotechnology: Crossing the barrier. *Nature.* 2010. 466(7309): 916–918. <https://doi.org/10.1038/466916a>
- Visanji N.P., Orsi A., Johnston T.H., Howson P.A., Dixon K., Callizot N., Brotchie J.M., Rees D.D.* PYM50028, a novel, orally active, nonpeptide neurotrophic factor inducer, prevents and reverses neuronal damage induced by MPP⁺ in mesencephalic neurons and by MPTP in a mouse model of Parkinson's disease. *The FASEB Journal.* 2008. 22(7): 2488–2497. <https://doi.org/10.1096/fj.07-095398>
- Winkler C., Sauer H., Lee C.S., Björklund A.* Short-term GDNF treatment provides long-term rescue of lesioned nigral dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson's disease. *Journal of Neuroscience.* 1996. 16(22): 7206–7215. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.16-22-07206.1996>
- Worley D.S., Pisano J.M., Choi E.D., Walus L., Hession C.A., Cate R.L., Sanicola M., Birren S.J.* Developmental regulation of GDNF response and receptor expression in the enteric nervous system. *Development.* 2000. 127(20): 4383–4393. <https://doi.org/10.1242/DEV.127.20.4383>
- Zhang Z., Miyoshi Y., Lapchak P.A., Collins F., Hilt D., Lebel C., Kryscio R., Gash D.M.* Dose Response to Intraventricular Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Administration in Parkinsonian Monkeys. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 1997. 282(3):1396-401.

FUNDAMENTAL RESEARCH AND PRACTICAL APPLICATION OF GDNF AS A NEUROPROTECTIVE AGENT IN NEURODEGENERATIVE DISEASES

D. V. Shamadykova^{a, #}, G. V. Pavlova^{a, b, c, ##}

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Science (IHNA), Moscow, Russia*

^b*Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery, Moscow, Russia*

^c*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (MSMU), Moscow, Russia*

#e-mail: djirgala04@gmail.com

##e-mail: lkorochkin@mail.ru

Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) is under extensive investigation as a therapeutic agent for treating age-related neurodegenerative diseases and traumatic neuronal injury. The compelling results from preclinical studies contrast with the disappointing outcomes of phase II clinical trials in Parkinson's disease, highlighting the need for further fundamental research. Several hypotheses have been proposed to explain these discrepancies, including challenges with the delivery of high molecular weight drugs, GDNF's high affinity for heparin and heparin-like molecules, which limits its biodistribution in the brain parenchyma, the use of protein forms differing from the native GDNF, and the existence of multiple isoforms of the protein. These issues underscore the necessity for further investigation into GDNF at the genetic, RNA, and protein levels. This review aims to consolidate the latest data on GDNF, address the challenges identified, and explore its potential for therapeutic application in human neurodegenerative diseases.

Keywords: GDNF, gene structure, isoforms, Parkinson's disease therapy, neurodegenerative diseases

ФИЗИОЛОГИЯ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ (КОГНИТИВНОЙ)
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА

УДК 616.839: 159.952.12

СМЕЩЕНИЕ ВНИМАНИЯ В ПАРАДИГМЕ
ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРУП-ТЕСТА
У ДЕВУШЕК С ВЕГЕТАТИВНОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ
РАЗЛИЧНОЙ ВЫРАЖЕННОСТИ

© 2024 г. Е. С. Михайлова¹, *, А. Б. Кушнир¹, Н. Ю. Герасименко¹

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

*e-mail: mikhailovaes@gmail.com

Поступила в редакцию 14.05.2024 г.

После доработки 09.07.2024 г.

Принята к публикации 22.07.2024 г.

В группе из 49 девушек в экспериментальной модели эмоционального теста Струпа исследовали влияние нерелевантной информации на внимание и его контроль в зависимости от уровня сомато-вегетативных изменений (выраженные, умеренные, отсутствие). Испытуемые выполняли задачу опознания мимических выражений гнева, страха и отвращения, затрудненную наложением на изображения лиц напечатанных слов – названий эмоций, конгруэнтных или неконгруэнтных предъявляемой лицевой экспрессии. Результаты показали, что наличие вегетативной дисфункции ухудшает контроль внимания, затрудняет подавление нерелевантной задаче словесной информации, приводит к смещению внимания, количественно определяемому по величине Струп-эффекта. Струп-эффект был максимальен в группе девушек с более выраженными изменениями сомато-вегетативной сферы. Среди использованных в работе негативных эмоций отвращение оказалось наиболее эффективным для анализа влияния вегетативной дисфункции на смещение внимания.

Ключевые слова: человек, зрение, внимание, когнитивный контроль, Струп-эффект, вегетативная нервная система

DOI: 10.31857/S0044467724060054

ВВЕДЕНИЕ

Способность избирательно обращать внимание и обрабатывать только определенные особенности окружающей среды, игнорируя другие, имеет важное значение во многих повседневных действиях. Действительно, именно это позволяет нам вести машину, не отвлекаясь на красивые окрестности, или быстро находить друга в коридоре, полном людей. Задача Струпа (Stroop, 1935) представляет собой задачу избирательного внимания в том смысле, что она требует от участников сосредоточиться на одном измерении стимула, игнорируя другое измерение того же самого стимула. Когда измерение игнорируется с затруднением, это вызывает замедление выполнения задачи. Так, например, произнесение вслух цвета, которым напечатано слово, занимает больше времени, когда слово обозначает другой цвет, не соответствующий тому, которым напечатано слово. Это различие во времени называют «эффектом интерференции Струпа» или «эффектом Струпа». Цвето-словесные стимулы,

изобретенные и истолкованные Струпом, стали основной парадигмой для изучения избирательного внимания. Эффект Струпа был описан как золотой стандарт измерения избирательного внимания, в котором меньший эффект интерференции Струпа является показателем большей избирательности внимания (MacLeod, 1992).

Однако представление о том, что избирательное внимание является когнитивным механизмом, обеспечивающим успешное выполнение задачи Струпа, сейчас расширилось (Algom, Chajut, 2019; Braem et al., 2019). В недавнем описании Струп-задачи Braem с соавторами (Braem et al., 2019) отметили, что размер Струп-эффекта «указывает на силу сигнала нерелевантного измерения относительно релевантного измерения, а также на уровень применяемого когнитивного контроля». Когнитивный контроль – это более широкое понятие, чем избирательное внимание, поскольку оно относится ко всей совокупности механизмов, используемых для контроля мышления и поведения. Важная роль системы когнитивного контроля

в том, что она должна отфильтровывать или подавлять не относящуюся к задаче информацию, часто эмоционального характера, которая мешает выполнению нужного действия. Согласно теории контроля внимания («attentional control theory») (Eysenck et al., 2007), некоторые эмоциональные состояния, например, тревожность, снижают эффективность работы системы когнитивного контроля, смещающей систему внимания в сторону управляемой стимулами восходящей обработки. По данным Iordan с соавторами (Iordan et al., 2013), снижение когнитивного контроля, вызванное эмоциональными отвлекающими факторами, сопровождается повышенной активностью вентральной префронтальной коры, что временно может отключить исполнительную систему дорсолатеральной префронтальной коры. Тест Струпа предоставляет возможности для исследования природы когнитивного контроля, включая в том числе его нейронный субстрат (Pollatos et al., 2011; Favre et al., 2015; Banich, 2019; Parris et al., 2022).

Задача Струпа широко используется в фундаментальных и клинических исследованиях в качестве вспомогательного средства для оценки расстройств, связанных с нарушениями внимания, например, при синдроме дефицита внимания и гиперактивности (Barkley, 1997; Schwartz, Verhaeghen, 2008), шизофрении (Henik, Salo, 2004), деменции (Spieler et al., 1996), депрессии (Nuno et al., 2021), тревоге (Bar-Haim et al., 2007; Holmes et al., 2009; Chechko et al., 2013; Kalanithroff et al., 2016), в онтогенетических исследованиях (Smolker et al., 2022), а также при оценке таких характеристик личности, как стрессоустойчивость (Klein et al., 2017), уровень тревожности (Morel et al., 2014).

Что касается тревожных расстройств, то смещению внимания к информации, связанной с угрозами, отводится важная роль в этиологии и поддержании тревоги (Williams et al., 1988). Согласно теории схем (Beck, Clark, 1997), схема, как когнитивная структура, выполняющая функцию организации и трактовки информации, во многом определяет, как осуществляются первичный анализ сигнала, его интерпретация и дальнейшее использование. Считается, что у тревожных людей схемы склонны смещать внимание к угрозе. В результате материалу, связанному с угрозами, отдается предпочтение на всех этапах обработки, включая ранние процессы, такие как внимание и кодирование стимулов, и более поздние процессы, такие как интерпретация и память. Эта идея способствовала интенсивным исследованиям с использованием различных экспериментальных задач как в клинических популяциях с тревожными расстройствами, так и в неклинических группах у лиц, сообщавших о высоком уровне тревоги. Многочисленные данные литературы указывают на эффективность теста Струпа для оценки функции избирательного внимания и специфичности этого дефицита

при различных формах тревожных расстройств. Например, в работе Becker с соавторами сопоставление выполнения теста Струпа пациентами с генерализованным тревожным расстройством (ГТР), с социальной фобией и нетревожными контрольными субъектами при использовании слов, связанных с заболеваниями, и слов с нейтральной и положительной валентностью показало нозологическую специфичность смещения внимания: пациенты с ГТР на все типы эмоциональных слов реагировали медленнее, чем контрольная группа, в то время как пациенты с социальной фобией демонстрировали замедление только на слова, связанные с заболеванием (Becker et al., 2001).

Важно отметить, что метаанализ, проведенный Bar-Haim с соавторами (Bar-Haim et al., 2007), не подтвердил предположение о том, что клинически тревожные люди демонстрируют более выраженную предвзятость внимания, чем люди с высоким уровнем тревожности по самооценке. Были обнаружены эквивалентные величины совокупного эффекта предвзятости внимания, связанной с угрозой, в клинической и неклинической группах. Эти результаты свидетельствуют о том, что официальное клиническое ограничение не имеет большого значения в отношении процессов смещения внимания у тревожных людей и что более мягких форм тревоги достаточно для того, чтобы задействовать весь потенциал смещения внимания. Это предоставляет возможность сравнивать данные, полученные в клинических исследованиях, с результатами, которые демонстрируют люди с высоким уровнем тревожности по самооценке.

У молодежи тревожные состояния часто сопровождаются нарушениями регуляции вегетативных функций. Актуальность исследования вегетативной дисфункции (ВД), или вегетативной лабильности, определяется ее чрезвычайно высокой распространенностью, от 25 до 80% в различных группах населения. В исследованиях на больших выборках студентов (Алипов с соавт., 2015, 2017) была подтверждена значительная распространенность ВД в молодежной среде, что сочеталось с высоким уровнем личностной тревожности, повышенной депрессивностью, а также с такими личностными особенностями, как преобладание экстравертированности, низким уровнем психотизма и высоким – нейротизма.

Следует отметить, что исследования ВД у молодежи в основном были направлены на анализ физиологических проявлений и состояние эмоциональной сферы. Что касается когнитивных функций, то их экспериментальные исследования были единичными. Так, согласно данным, приведенным в работе Гордеева с соавторами (Гордеев с соавт., 2014), у подавляющего большинства студентов с повышенной тревожностью и ВД отмечалось уменьшение избирательности внимания

и способности к переключению, снижение концентрации внимания и ухудшение кратковременной памяти.

Целью настоящего исследования является анализ выполнения задачи Струпа в его модифицированной эмоциональной версии (эмоциональное лицо – слово) здоровыми девушками с разной степенью нарушений вегетативной сферы, для того, чтобы оценить у них изменения функции внимания и когнитивного контроля поведения в условиях воздействия значимых и нерелевантных эмоциогенных стимулов при возможности их конфликта.

МЕТОДИКА

Испытуемые. В исследовании приняли участие 49 молодых здоровых испытуемых женского пола (средний возраст – 22.6 ± 0.5 лет) с нормальным или скорректированным до нормы зрением. По самоотчету 46 испытуемых были правшами, а 3 – левшами. У всех испытуемых по данным заполнения анкет-опросников оценивали уровень личностной и ситуативной тревожности (шкала тревоги Спилбергера, State-Trait Anxiety Inventory – STAI) (Spielberger et al., 1983), уровень депрессии (шкала депрессии Бека, Beck Depression Inventory) (Beck et al., 1961) и вегетативный статус (опросник для выявления признаков вегетативных изменений А.М. Вейна (Вегетативные расстройства: клиника, диагностика, лечение / Под ред. А.М. Вейна, 2003). Исследования проводили в дневное время с 11 до 17 часов.

Каждый участник был информирован о цели исследования. От всех испытуемых было получено письменное согласие на проведение исследования согласно протоколу, утвержденному Этической комиссией ИВНД и НФ РАН (протокол № 1 от 15 января 2020 г.). В состав группы испытуемых входили аспиранты и молодые сотрудники ИВНД и НФ РАН (28 чел.), студенты вузов Москвы (21 чел.).

Стимулы. Стимулами служили цветные фотографии лиц людей с выражениями гнева, страха, отвращения, радости и с эмоционально-нейтральной мимикой (база лицевых стимулов Университета Неймегена (Langner et al., 2010)). Фотографии лиц предъявляли на фоне белого экрана размером 1280×1024 пикселя, размер изображения лица – 370×520 пикселей, разрешение – 300 точек на дюйм (300 dpi). Размер фотографий на экране монитора – 11×15 см, что в условиях эксперимента (120 см от экрана до глаз испытуемого) составляло 5.5×7.5 угловых градусов. Высота букв надписи на фотографии около 1.5 см. Примеры стимулов приведены на рис. 1 (а, б).

Дизайн эксперимента. Эксперимент состоял из четырех серий. В трех из них задачей

испытуемого было опознать эмоциональное выражение лица, в контрольной серии – пол человека по фотографии лица. Длительность каждой экспериментальной серии составляла около 8 минут. В трех сериях по опознанию эмоций испытуемые определяли эмоциональное выражение в паре «негативная-позитивная эмоция»: (1-я серия) гнев и радость, (2-я серия) отвращение и радость, (3-я серия) страх и радость. Для каждой серии было отобрано по 16 лиц (8 женских и 8 мужских, по 4 с каждым эмоциональным выражением). Например, в серии «гнев-радость» использовали по 4 гневных мужских и женских лиц и по 4 радостных мужских и женских лиц. Поверх лиц черным шрифтом печатали слова, конгруэнтные или неконгруэнтные эмоциональному выражению лица. В каждой серии для каждого типа эмоциональной экспрессии использовали по 4 слова, соответствующих опознаваемым положительным эмоциям, и по 4 слова, соответствующих негативным эмоциям. Для эмоции гнева использовали слова: «гнев», «злость», «ярость», «ненависть». Для эмоции отвращения использовали слова: «отвращение», «брехливость», «мерзость», «гадость». Для эмоции страха использовали слова: «страх», «ужас», «испуг», «паника». Для эмоции радости использовали слова: «радость», «счастье», «веселье», «удовольствие». В контрольной серии определения пола использовали слова: «мужчина», «юноша», «муж», «брать» и «женщина», «девушка», «жена», «сестра». В каждой серии использовали 16 пар лицо-слово, из которых 8 – были конгруэнтными (4 – для положительной эмоции, 4 – для отрицательной), а 8 неконгруэнтными (также по 4 для каждой эмоции). Всего в каждой серии предъявляли по 128 пар лицо-слово: 64 конгруэнтные пары (32 для позитивной эмоциональной мимики и 32 для негативной) и 64 неконгруэнтные пары (32 для позитивной и 32 для негативной мимики).

В контрольной серии с опознанием пола использовали лица с эмоционально-нейтральным выражением. Для нее из базы стимулов было отобрано 8 мужских и 8 женских лиц, на которые были нанесены надписи со словами мужского (4 слова) и женского (4 слова) рода, связанные с половой принадлежностью (например, «мужчина», «брать», «девушка», «жена»). Было составлено 128 пар лицо-слово (64 конгруэнтных – 32 с мужскими и 32 с женскими лицами и 64 неконгруэнтных пар – так же, 32 с мужскими и 32 с женскими лицами). Лица, используемые в разных сериях, не совпадали. Серии по опознанию эмоций чередовались в случайном порядке; серия с опознанием пола в эксперименте всегда была последней.

Ход эксперимента. В процессе исследования испытуемые сидели в звукозаглушенной

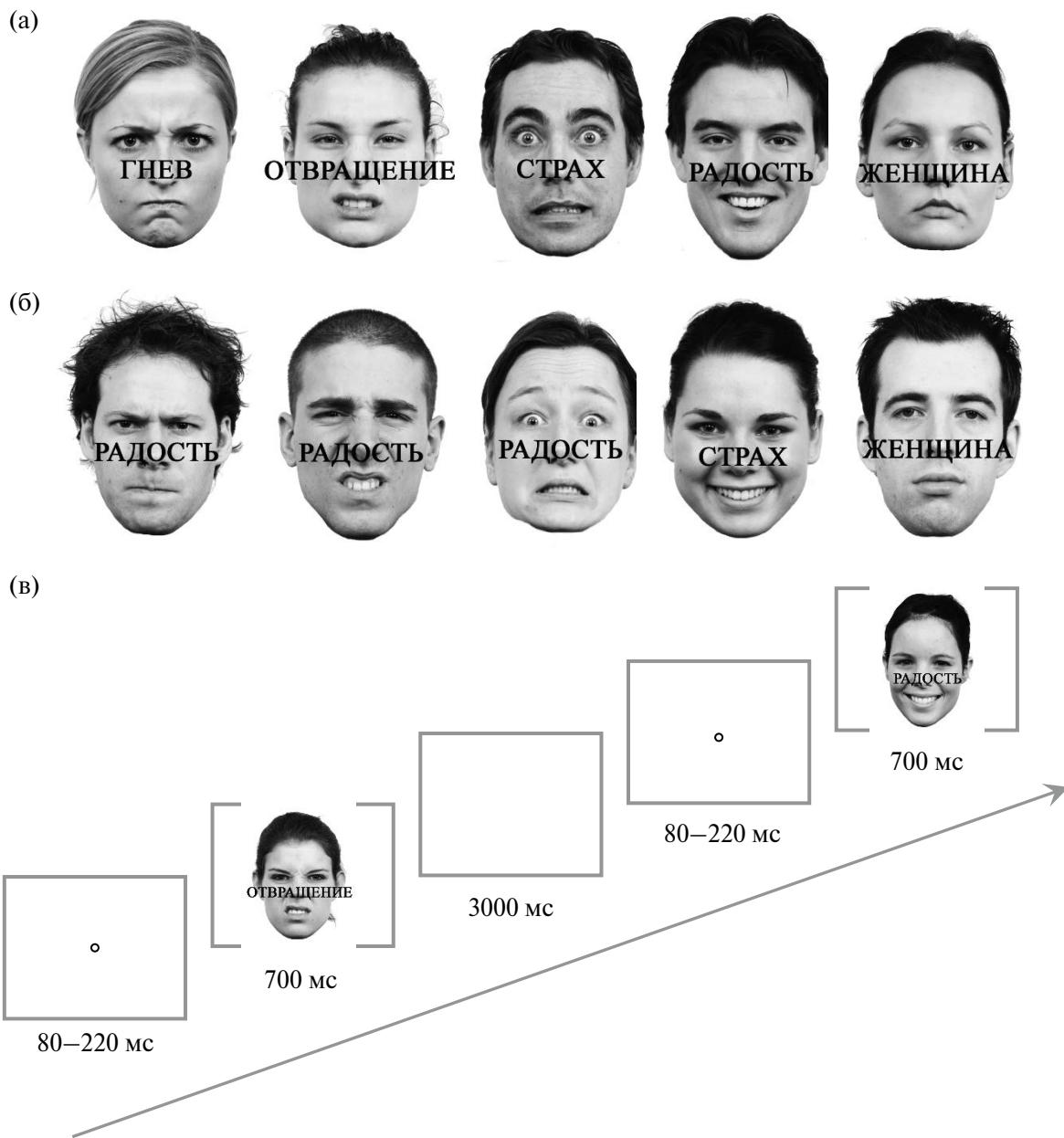


Рис. 1. Методика эксперимента. (а, б) – стимулы, использованные в эксперименте. (а) – конгруэнтные пары лицо-слово, (б) – неконгруэнтные пары лицо-слово. (в) – временная схема эксперимента.

Fig. 1. The method of the experiment. (a, b) – the stimuli used in the experiment. (a) – congruent pairs of emotional face – word, (b) – non-congruent pairs of emotional face – word. (v) – a temporary scheme of the experiment.

камере на расстоянии 120 см от экрана монитора NEC MultiSync EA193mi (размер 19", разрешение 1280 × 1024, частота обновления 60 Гц). Освещенность на уровне глаз испытуемого составляла 3 лк. Предъявление стимулов, регистрацию правильности ответов и времени реакции (ВР, мс) проводили с помощью программы E-Prime 2.0 (Psychology Software Tools, Inc., США) с выносной клавиатурой Serial Response Box.

Участников просили как можно быстрее и по возможности точно определить эмоциональное выражение лиц, игнорируя при этом написанное на лице слово. Отвечая, они нажимали на одну из двух клавиш, соответствующих, согласно инструкции, отрицательной и положительной эмоциональной мимике или женскому и мужскому лицу.

Каждая серия начиналась с тренировки для выработки моторного навыка, в ходе которой

каждое из используемых в серии шестнадцати лиц предъявлялось по одному разу без надписи на нем. Перед появлением лица на экране на 100 мс появлялась фиксационная точка, которая потом сменялась изображением лица (длительность 700 мс). Межстимульный интервал составлял 3 с. После тренировки на экране появлялась надпись «Основная часть» и стимулы начинали предъявляться с надписью на них. Перед каждым стимулом появлялась фиксационная точка, длительность предъявления которой варьировалась от 80 до 220 мс. После нее на экране появлялся на 700 мс стимул. Межстимульный интервал также составлял 3 с. Каждая пара лица-слово демонстрировалась во время серии по одному разу в псевдослучайном порядке, то есть всего испытуемый видел 128 пар стимулов. Длительность каждой серии – около 8 мин, всего эксперимента – около получаса.

Обработка данных. В ходе эксперимента измеряли индивидуальные данные по времени реакции (ВР) опознания эмоции по лицу. Для каждого испытуемого вычисляли величину Струп-эффекта – разницы ВР между неконгруэнтной и конгруэнтной парами лица-слово. Полученные результаты анализировали с помощью дисперсионного анализа с повторными измерениями (ANOVA RM), а для post-hoc сопоставлений применяли Тьюки-тест.

Все испытуемые были разделены на группы в зависимости от выраженности вегетативных и соматических симптомов (индивидуальные данные опросника Вейна и оценки по субшкале соматических проявлений шкалы депрессии Бека). Принадлежность испытуемого к группе определяли методом иерархического кластерного анализа индивидуальных данных. Во время иерархического кластерного анализа в качестве меры близости наборов характеристик двух участников в двумерном пространстве признаков использовали Евклидово расстояние, в качестве «правила объединения» в кластере – метод Варда. В результате была

построена кластерная дендрограмма, где объекты, характеризующиеся сходным набором параметров, расположены на одной ветви и где расстояние до объединяющего их узла невелико.

Статистический анализ проводили в программах IBM SPSS 23.0 и Statistica 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ данных опросников

Индивидуальные данные ответов на вопросы опросника Вейна всех 49 испытуемых были подвергнуты иерархическому кластерному анализу. В результате были выделены 3 кластера (12, 13 и 24 человека), которые различались между собой по данным опросника Вейна, а также оценкам шкалы депрессии Бека, субшкалам соматических проявлений депрессии и шкал личностной и ситуативной тревожности Спилбергера. Средние значения показателей в этих кластерах и различия между кластерами приведены в табл. 1. Как видно из таблицы, 1-й кластер характеризуется минимальными значениями оценок по всем шкалам, 2-й кластер имеет самые высокие значения и значимо отличается от первого кластера по всем шкалам, кроме шкалы депрессии Бека, 3-й кластер отличается от 1-го более высокими значениями шкал опросника Вейна, а от 2-го – более низкими значениями шкал опросника Вейна и более низким уровнем депрессии и ситуативной и личностной тревожности. На рис. 2 приведены данные по представленности отдельных вегетативных симптомов в трех кластерах (в % людей с данным симптомом). Видно, что 2-й и 3-й кластеры отличаются от 1-го большей выраженностью большинства вегетативных симптомов, включенных в опросник Вейна. При оценке выраженности вегетативных нарушений по опроснику Вейна значения от 0 до 14 баллов считаются отсутствием вегетативных нарушений,

Таблица 1. Средние значения шкал в разных группах-кластерах испытуемых
Table 1. Mean values of scales in different groups-clusters of subjects

| | Кластеры | | | Различия между кластерами (t-test) | | |
|--|--------------|--------------|--------------|------------------------------------|---------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 1vs2 | 1vs3 | 2vs3 |
| Опросник Вейна | 8.25 ± 1.46 | 41.92 ± 2.07 | 26.25 ± 0.68 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| Шкала депрессии Бека | 8.75 ± 2.90 | 16.54 ± 3.24 | 9.38 ± 1.10 | НД | НД | 0.01 |
| Субшкала соматических проявлений депрессии | 2 ± 0.77 | 5.15 ± 1.13 | 3.21 ± 0.47 | 0.03 | НД | НД |
| Шкала тревоги Спилбергера, ситуативная тревожность | 40.42 ± 2.33 | 50.77 ± 2.49 | 41.88 ± 1.77 | 0.006 | НД | 0.006 |
| Шкала тревоги Спилбергера, личностная тревожность | 46.58 ± 2.26 | 53.62 ± 1.82 | 48.88 ± 1.29 | 0.02 | НД | 0.04 |

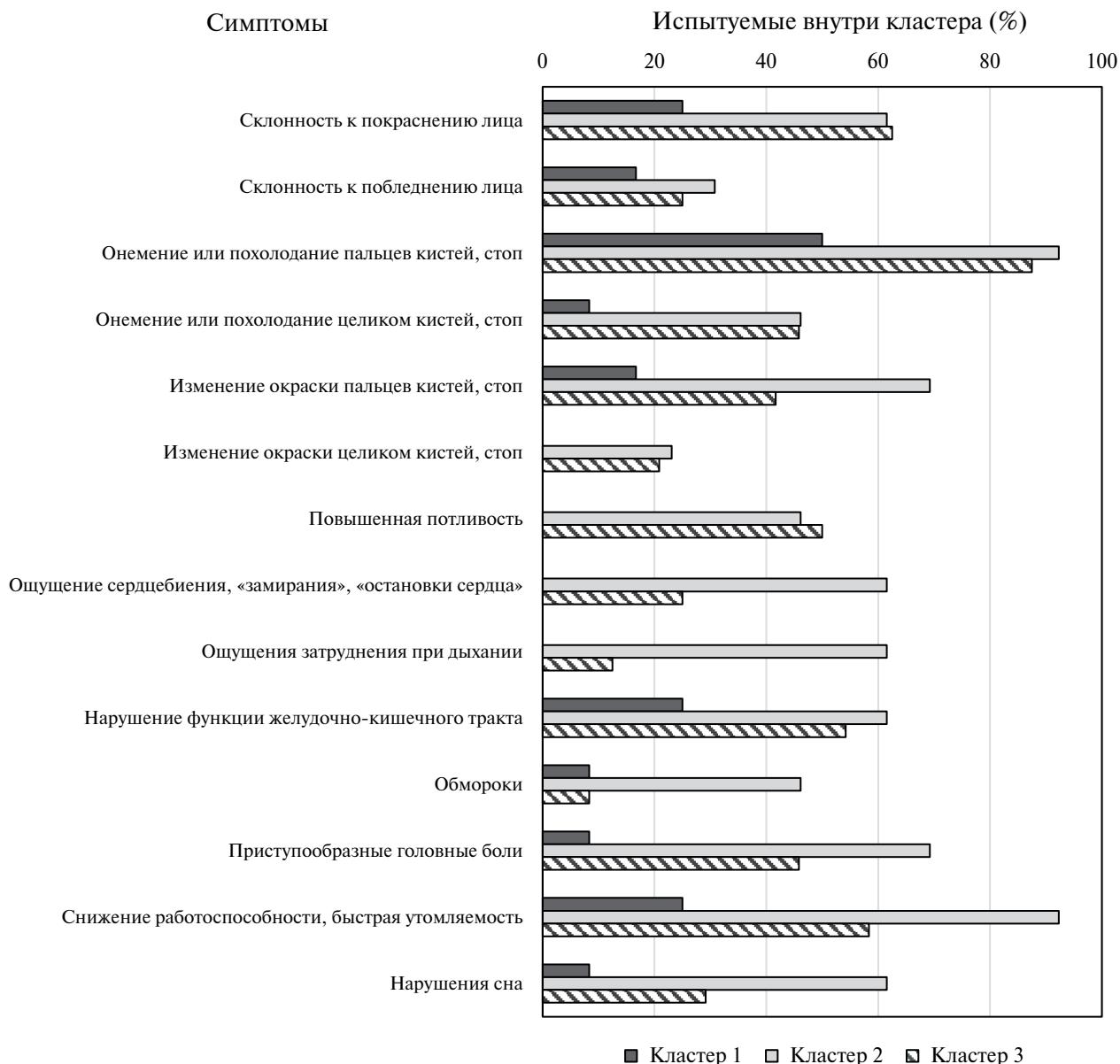


Рис. 2. Выраженность отдельных вегетативных симптомов в трех кластерах по данным заполнения опросника Вейна. По горизонтали – % испытуемых в кластере, которые ответили положительно на вопрос о наличии вегетативного симптома. По вертикали – вегетативные симптомы.

Fig. 2. The representation of individual vegetative symptoms in three clusters of subjects according to the results of filling out the Wayne questionnaire. Vertically – individual vegetative symptoms. Horizontally – % of the subjects in the cluster who answered positively to the question about the presence of a vegetative symptom.

от 15 до 29 баллов – умеренными вегетативными нарушениями, 30 и более баллов – выраженными вегетативными нарушениями.

Анализ вероятности правильных ответов

Анализ вероятности правильных ответов показал ее высокий уровень: от 0.84 до 1.0. Дисперсионный анализ (ANOVA RM) значений

вероятности правильных ответов с факторами Блок (3 уровня: гнев-радость, отвращение-радость, страх-радость), Конгруэнтность и Кластер показал значимое влияние только фактора Конгруэнтность: $F(1,46) = 30.16, p < 0.0001, \eta_p^2 = 0.39$. Влияние конгруэнтности проявлялось как уменьшение вероятности правильного ответа при неконгруэнтном стимуле по сравнению с конгруэнтным. По всей совокупности данных вероятность правильного

ответа при конгруэнтном стимуле равнялась 0.94 ± 0.02 , при неконгруэнтном – 0.96 ± 0.02 . В отдельных экспериментальных блоках значимый эффект показан также для фактора Конгруэнтность. В блоке «гнев-радость» $F(1, 46) = 14.02$, $p = 0.0005$, $\eta_p^2 = 0.23$, в блоке «отвращение-радость» $F(1, 46) = 11.91$, $p = 0.001$, $\eta_p^2 = 0.20$, в блоке «страх-радость» $F(1, 46) = 15.97$, $p = 0.0002$, $\eta_p^2 = 0.26$; в блоке определения пола $F(1, 46) = 11.00$, $p = 0.002$, $\eta_p^2 = 0.19$. Для факторов Кластер и Эмоция значимых эффектов не обнаружено. В приложении 1 приведены средние значения вероятности правильных ответов с ошибками среднего в трех кластерах испытуемых и четырех различных экспериментальных блоках.

Анализ времени реакции

На первом этапе анализа проведен дисперсионный анализ с повторными измерениями (ANOVA RM) времени реакции (ВР) с учетом факторов внутрииндивидуальной вариабельности: Блок эксперимента (4 уровня: гнев-радость, отвращение-радость, страх-радость, серия определения пола), Конгруэнтность (два уровня: конгруэнтная пара лицо-слово, неконгруэнтная пара) и фактора межиндивидуальной вариабельности – Кластер. В анализ были включены значения ВР для отрицательных эмоций (гнев, отвращение, страх) и мужского лица. Выявлены основные эффекты факторов Блок ($F(3, 138) = 14.6$, $p < 0.0005$, $\eta_p^2 = 0.24$), Конгруэнтность ($F(1, 46) = 68.23$,

Таблица 2. Результат ANOVA RM времени реакции в разных блоках эксперимента
Table 2. ANOVA RM result of reaction time in different experimental blocks

| Блок | Фактор | df | F | p | η_p^2 |
|--------------------|-----------------------------------|------|-------|----------|------------|
| Гнев-Радость | конгруэнтность | 1,46 | 21.18 | < 0.0001 | 0.30 |
| | эмоция | 2,46 | 13.15 | 0.0007 | 0.22 |
| | кластер × эмоция | 2,46 | 5.90 | 0.005 | 0.20 |
| Отвращение-Радость | конгруэнтность | 1,46 | 58.05 | < 0.0001 | 0.56 |
| | кластер × конгруэнтность | 2,46 | 4.23 | 0.02 | 0.16 |
| | эмоция × конгруэнтность | 1,46 | 3.89 | 0.054 | 0.08 |
| Страх-Радость | конгруэнтность | 1,46 | 46.40 | < 0.0001 | 0.50 |
| | Эмоция × кластер × конгруэнтность | 2,46 | 2.99 | 0.06 | 0.11 |
| | эмоция | 1,46 | 10.62 | 0.002 | 0.19 |
| Определение пола | конгруэнтность | 1,46 | 33.49 | < 0.0001 | 0.42 |

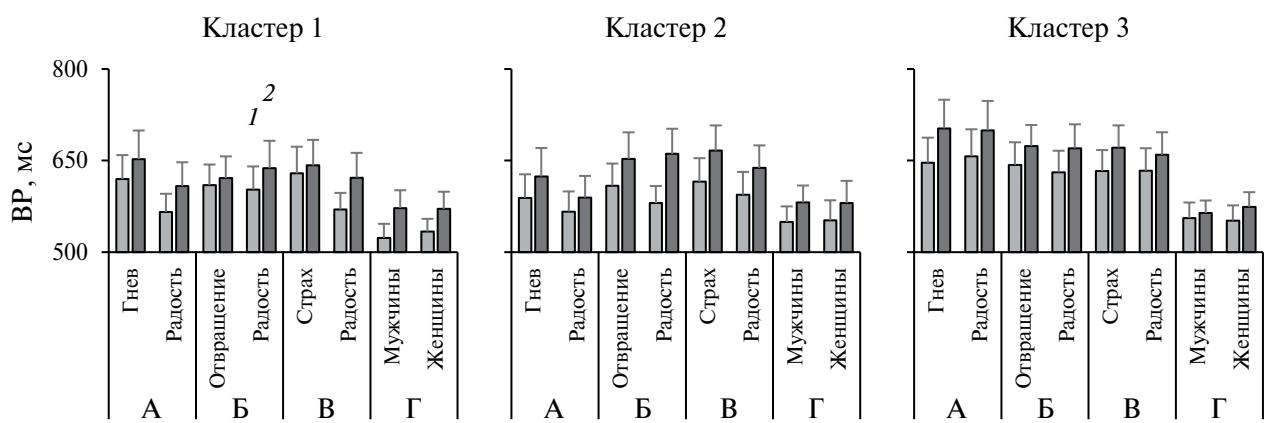


Рис. 3. Время реакции выполнения Струп-теста в разных экспериментальных блоках у испытуемых трех кластеров. По горизонтали – экспериментальные блоки: (А) – гнев-радость, (Б) – отвращение-радость, (В) – страх-радость, (Г) – определение пола. По вертикали – ВР (мс). Условные обозначения: 1 – конгруэнтная пара лицо-слово. Приведены средние значения и стандартная ошибка среднего.

Fig. 3. Reaction time in the Stroop test in different experimental blocks in subjects of three clusters. Horizontally, there are experimental blocks: (A) – anger-joy, (B) – disgust-joy, (B) – fear-joy, (Г) – sex determination. Vertically – RT (ms). Symbols: 1 – congruent pair of emotional face-word. 2 – an incongruent pair of emotional face-word. The average values and the standard error of the average are given.

$p < 0.0001$, $\eta_p^2 = 0.60$) и тройное взаимодействие Блок \times Конгруэнтность \times Кластер ($F(6, 138) = 2.35$, $p = 0.034$, $\eta_p^2 = 0.09$).

Анализ ВР в каждом из блоков эксперимента

Дальнейший анализ проводили отдельно в каждом из блоков эксперимента с факторами Эмоция (положительная, отрицательная), в блоке определения пола с фактором Пол (мужчина, женщина), а также Конгруэнтность (2 уровня) и Кластер (3 уровня). Результаты дисперсионного анализа приведены в табл. 2, средние значения ВР для всех условий – в приложении 2. Диаграммы средних значений ВР для конгруэнтных и неконгруэнтных пар в 1, 2 и 3 кластерах в четырех экспериментальных блоках представлены на рис. 3.

Блок гнев-радость. Основные эффекты получены для факторов Конгруэнтность ($F(1, 46) = 21.18$, $p < 0.0001$, $\eta_p^2 = 0.30$) в виде большего ВР при неконгруэнтной паре лицо-слово по сравнению с конгруэнтной (658.78 ± 27.77 и 617.79 ± 24.2 , соответственно) и Эмоция ($F(2, 46) = 13.15$, $p = 0.0007$, $\eta_p^2 = 0.22$) в виде большего ВР для гнева по сравнению с радостью (647.18 ± 26.08 и 629.39 ± 25.83). Взаимодействие Эмоция \times Кластер ($F(2, 46) = 5.9$, $p = 0.005$, $\eta_p^2 = 0.20$) проявлялось как большее ВР для гнева по сравнению с радостью значимо ($p = 0.005$) только в кластере 1 (рис. 3, кластер 1; приложение 2).

Блок «отвращение-радость». Основной эффект Конгруэнтности ($F(1, 46) = 58.05$, $p < 0.0001$, $\eta_p^2 = 0.56$) проявлялся как большее ВР при неконгруэнтной паре по сравнению с конгруэнтной (657.49 ± 22.98 и 618.20 ± 20.94). Взаимодействие Кластер \times Конгруэнтность ($F(2, 46) = 4.23$, $p = 0.02$, $\eta_p^2 = 0.16$) проявлялось как значимо большее ВР при неконгруэнтной паре лицо-слово по сравнению с конгруэнтной во 2-м ($p = 0.0001$) и 3-м ($p = 0.001$) кластерах, но не в 1-м (рис. 3, кластеры 2 и 3; приложение 2). Близкое к значимому взаимодействие Конгруэнтность \times Эмоция ($F(1, 46) = 3.89$, $p = 0.054$, $\eta_p^2 = 0.08$) проявлялось как большие различия между конгруэнтным и неконгруэнтным стимулами для радости (610.58 ± 20.84 и 659.64 ± 24.40) ($p = 0.0002$) по сравнению с отвращением (625.82 ± 21.87 и 655.30 ± 27.08) ($p = 0.002$).

Блок «страх-радость». Основной эффект Конгруэнтности ($F(1, 46) = 46.4$, $p < 0.0001$, $\eta_p^2 = 0.50$) проявлялся как большее ВР при неконгруэнтной паре по сравнению с конгруэнтной (653.72 ± 22.42 и 617.34 ± 21.40); основной эффект фактора Эмоция ($F(1, 46) = 10.62$, $p = 0.002$, $\eta_p^2 = 0.19$) – как большее ВР для страха по сравнению с радостью (645.04 ± 22.36 и 628.01 ± 21.72) (рис. 3).

Блок определения пола лица. Показан только основной эффект Конгруэнтности ($F(1, 46) = 33.49$, $p < 0.0001$, $\eta_p^2 = 0.42$) как большее ВР при

неконгруэнтной паре по сравнению с конгруэнтной (572.88 ± 14.53 и 546.81 ± 14.92) (рис. 3).

Таким образом, эффект Конгруэнтности зависел от Кластера только в блоке «отвращение-радость» и проявлялся как значимые различия между конгруэнтными и неконгруэнтными парами во 2-м и 3-м кластерах, но не в 1-м кластере.

Анализ ВР в трех экспериментальных сериях

В связи с необходимостью сравнить выполнение Струп-теста в блоках с разными отрицательными эмоциями был проведен дисперсионный анализ значений ВР, объединенных в трех блоках Струп-теста («гнев-радость», «отвращение-радость», «страх-радость»). Были проанализированы различия ВР между конгруэнтной и неконгруэнтной парами раздельно для трех отрицательных эмоций (гнев, отвращение, страх) и для выражений радости в трех экспериментальных блоках. В качестве факторов использованы Конгруэнтность (2 уровня), Кластер (3 уровня) и Блок (3 уровня).

При анализе ВР для отрицательных эмоциональных выражений выявляется эффект Конгруэнтности ($F(1, 46) = 57.04$, $p < 0.0001$, $\eta_p^2 = 0.55$) и близкое к значимому взаимодействие Конгруэнтность \times Кластер ($F(2, 46) = 2.61$, $p = 0.085$, $\eta_p^2 = 0.10$). Далее мы провели дисперсионный анализ только для фобических эмоциональных реакций – отвращения и страха. Выявлен эффект Конгруэнтности ($F(1, 46) = 42.08$, $p < 0.0001$, $\eta_p^2 = 0.48$), ВР для неконгруэнтной пары больше, чем для конгруэнтной (659.05 ± 21.64 и 626.55 ± 21.02). Взаимодействие Кластер \times Конгруэнтность ($F(2, 46) = 3.75$, $p = 0.03$, $\eta_p^2 = 0.14$) проявилось как различия между конгруэнтной и неконгруэнтной парами во 2-м и 3-м кластерах при их отсутствии в 1-м (приложение 2). По данным анализа контрастов во 2-м кластере различия значимы для отвращения ($p = 0.01$), а в 3-м – для отвращения ($p = 0.02$) и страха ($p = 0.001$; приложение 2).

Дисперсионный анализ ВР для выражения радости в трех экспериментальных блоках показал высокозначимый эффект Конгруэнтности ($F(1, 46) = 4.30$, $p < 0.0001$, $\eta_p^2 = 0.49$), который проявлялся как большее ВР для неконгруэнтной пары лицо-слово по сравнению с конгруэнтной (650.74 ± 23.01 и 609.60 ± 21.05) (рис. 3). Этот эффект не зависел от Кластера, то есть группы испытуемых.

Анализ Струп-эффекта

Проведен дисперсионный анализ Струп-эффекта (СЭ) с учетом факторов Блок (4 уровня: гнев-радость, отвращение-радость, страх-радость

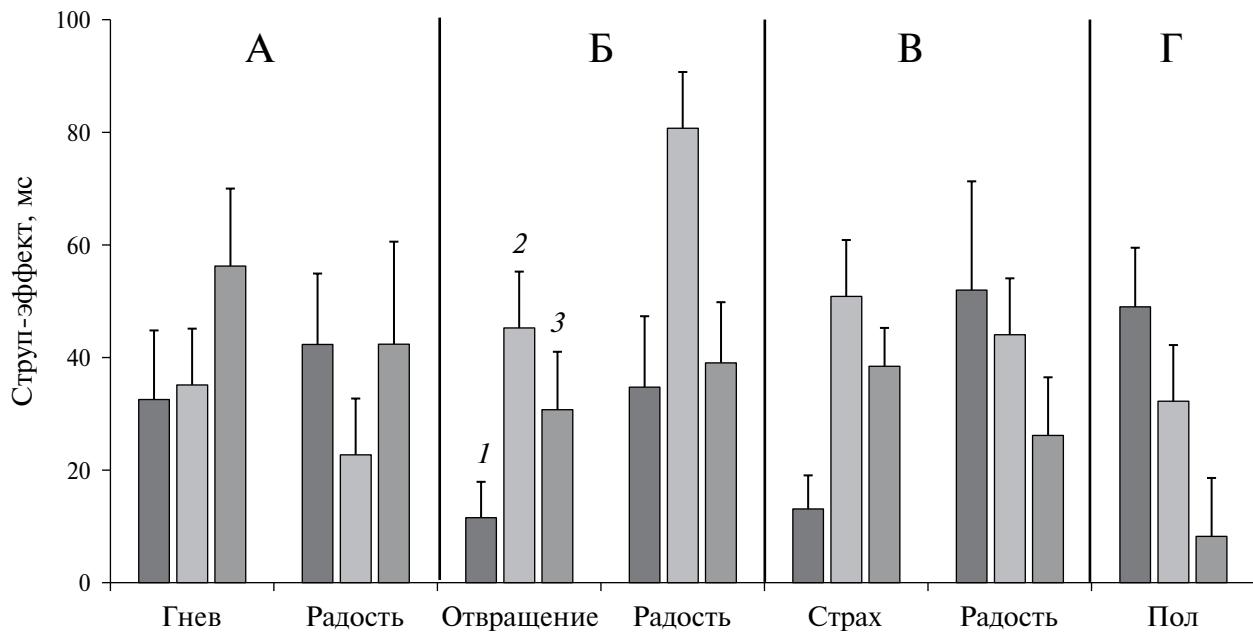


Рис. 4. Величины Струп-эффектов в четырех блоках эксперимента для испытуемых разных кластеров. Цифрами 1, 2, 3 обозначены кластеры испытуемых. Буквами обозначены блоки эксперимента. (А) – гнев-радость, (Б) – отвращение-радость, (В) – страх-радость, (Г) – определение пола. По вертикали – величина Струп-эффекта (мс).

Fig. 4. The values of Strop effects in four blocks of the experiment for subjects from different clusters. The numbers 1, 2, 3 indicate clusters of subjects. The letters indicate the blocks of the experiment. (A) – anger-joy, (B) – disgust-joy, (B) – fear-joy, (Г) – sex determination. Vertically – the value of the Strop effect (ms).

и определение пола) и Кластер (3 уровня). Выявлено значимое взаимодействие Блок × Кластер ($F(6, 135) = 2.42, p = 0.03, \eta_p^2 = 0.10$). Следовательно, различия между кластерами испытуемых зависят от блока.

Далее проводили дисперсионный анализ значений Струп-эффекта отдельно в каждом из экспериментальных блоков с факторами Эмоция (положительная, отрицательная, а в контрольной серии – пол) и фактором Кластер (3 уровня). Средние значения СЭ в четырех блоках эксперимента представлены на рис. 4 и в приложении 2.

В блоке «гнев-радость» не выявлено значимых эффектов.

В блоке «отвращение-радость» выявлен основной эффект Кластера ($F(2, 45) = 4.33, p = 0.02, \eta_p^2 = 0.16$). По результатам post-hoc-сопоставлений Струп-эффект больше во 2-м кластере по сравнению с 1-м (приложение 2). Обнаружен (на уровне тенденции) основной эффект Эмоции ($F(2, 45) = 3.71, p = 0.06, \eta_p^2 = 0.08$); Струп-эффект больше для радости по сравнению с отвращением (приложение 2).

В блоке «страх-радость» выявлено близкое к значимому взаимодействие Эмоция × Кластер: $F(2, 45) = 2.98, p = 0.06, \eta_p^2 = 0.12$. Только в 1-м кластере Струп-эффект для радости больше, чем для страха, $p = 0.034$ (приложение 2).

Для Струп-эффекта в блоке определения пола показан основной эффект Кластера, $F(2, 45) = 3.92, p = 0.02, \eta_p^2 = 0.15$, в виде больших значений СЭ в 1-м кластере по сравнению с другими, различия значимы между 1-м и 3-м кластерами ($p = 0.02$) (приложение 2).

Представляло интерес сравнить СЭ для пар лицо-слово с разными эмоционально-отрицательными выражениями, а также для радостного лица в разных экспериментальных блоках. Схема дисперсионного анализа включала факторы Эмоция (3 уровня) и Кластер (3 уровня). Результаты проиллюстрированы на рис. 5, где сравниваются величины СЭ в трех группах испытуемых, относящихся к разным кластерам. На фрагменте А сравниваются величины СЭ для негативных эмоциональных выражений (гнев, отвращение, страх), на фрагменте Б – величины СЭ для эмоции радости в разных экспериментальных блоках. Для негативных эмоциональных выражений получен близкий к значимому эффект кластера, $F(2, 45) = 2.73, p = 0.075, \eta_p^2 = 0.01$: СЭ больше во 2-м и 3-м кластерах по сравнению с 1-м (рис. 5 (а)). Для радости в разных блоках эксперимента не получено значимых эффектов, но на рис. 5 (б) видно, что во 2-м кластере СЭ для радости в блоке «отвращение-радость» превышает СЭ в блоках «гнев-радость» и «страх-радость».

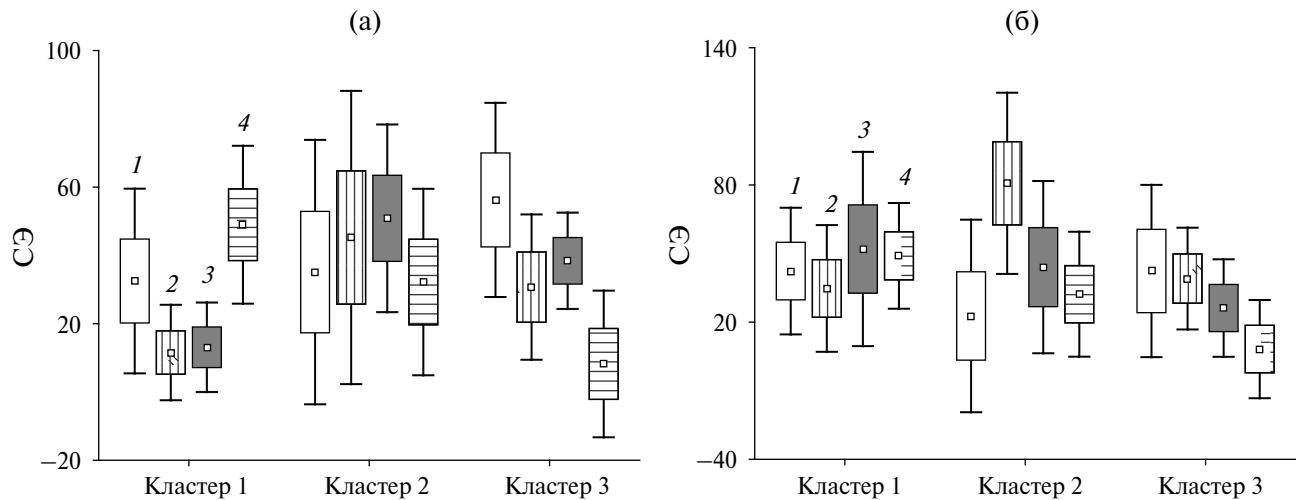


Рис. 5. Величины Струп-эффектов в четырех блоках эксперимента для испытуемых разных кластеров. (а) – значения Струп-эффектов для отрицательных эмоциональных выражений в разных блоках, (б) – значения Струп-эффектов для выражения радости в разных блоках. Цифрами обозначены блоки эксперимента: 1 – гнев-радость, 2 – отвращение-радость, 3 – страх-радость, 4 – определение пола. По вертикали – величина Струп-эффекта (мс). На бокс-плот-диаграммах точки – средние значения, границы боксов – ошибки среднего, вертикальные линии – доверительные 95%-е интервалы.

Fig. 5. Stroop effect values in four blocks of the experiment for subjects from different clusters. (a) – values of Stroop effects for three negative emotional expressions in different blocks, (b) – values of Stroop effects for expressing joy in different blocks. The numbers indicate the blocks of the experiment: 1 – anger-joy, 2 – disgust-joy, 3 – fear-joy, 4 – sex determination. Vertically – the value of the Stroop effect (ms). On box-plot diagrams, the points are the average values, the boundaries of the boxes are the errors of the average, the vertical lines are 95% confidence intervals.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Основные результаты, полученные с использованием психометрических методик и Струп-теста «эмоциональное лицо – слово», сводятся к следующему: (1) по данным кластерного анализа оценок опросника Вейна в группе здоровых девушек выделено три группы, различающиеся по уровню вегетативной дисфункции; (2) эти группы различались по выраженности Струп-интерференции, зарегистрированной в парадигме «эмоциональное лицо – слово», что говорит о межгрупповых различиях в степени смещения внимания и состоянии функции когнитивного контроля; (3) признаки смещения внимания максимально отчетливы в группе с более высоким уровнем вегетативной дисфункции; (4) для выявления межгрупповых различий наиболее эффективным был Струп-тест, в котором в качестве отрицательной эмоции использовано выражение отвращения.

Психовегетативные расстройства являются одной из актуальных проблем, представляющих интерес как для неврологов и психиатров, так и для терапевтов. А.М. Вайн рассматривал психовегетативный синдром как «полисистемное расстройство, возникшее в результате нарушения деятельности надсегментарных вегетативных структур», и считал, что «психовегетативный

синдром, как наиболее распространенная форма синдрома вегетативной дистонии, представляет собой сочетание психических расстройств с вегетативными нарушениями как постоянного, так и пароксизmalного характера» (Вегетативные расстройства: Клиника, диагностика, лечение. 2003). В соответствии с Международной классификацией болезней (МКБ-10) для обозначения данных нарушений наиболее часто используется термин «соматоформные расстройства» (СФР), под которыми понимают группу психогенных заболеваний, характеризующихся патологическими симптомами, напоминающими соматическое заболевание, но при этом не обнаруживается никаких морфологических проявлений патологии, хотя часто имеются неспецифические функциональные нарушения. В классификации Американской психиатрической ассоциации DSM-5 вместо термина СФР введен термин «расстройство соматической симптоматики» (somatic symptom disorder – SSD). Как нам представляется, это позволит в дальнейшем изложении сопоставлять наши результаты с представленными в мировой литературе результатами экспериментальных исследований пациентов с СФР и SSD.

В современной литературе, посвященной исследованиям смещения внимания и изменения функции когнитивного контроля с применением

Струп-теста, преобладают сведения о влиянии на выполнение этого теста уровня тревожности как в клинических группах, демонстрирующих различные формы тревожных расстройств, так и в неклинических популяциях, где уровень тревожности оценивался по самоотчету. Обширные сведения о характере смещения внимания и нарушения когнитивного контроля в этих группах подробно изложены в статьях с результатами мета-анализа (Bar-Haim et al., 2007; Joyal et al., 2019), а также во множестве экспериментальных исследований (Holmes et al., 2009; Chechko et al., 2013; Kalanithroff et al., 2016; Wu et al., 2021). Результаты исследований пациентов с нарушениями вегетативной сферы в литературе немногочисленны (Pollatos et al., 2011; Чутко с соавт., 2019; Huang et al., 2021). В работе Huang с соавторами (Huang et al., 2021) авторы, применяя методики Струп-теста «цветовое слово», «эмоциональное слово» и «эмоциональное лицо – слово», показали, что пациенты с SSD демонстрируют более высокий по сравнению со здоровым контролем уровень Струп-интерференции, а в вегетативной сфере (ЭКГ) – изменения мощности высокочастотной составляющей и возрастание вариабельности кардиоинтервалов RR. Авторы работы приходят к выводу, что по характеристикам выполнения Струп-теста и изменениям вегетативных показателей возможно дифференцировать пациентов с SSD и здоровых испытуемых.

Ранее в неклинической группе девушек с редкими вегетативными приступами по типу панических атак мы зарегистрировали и описали поведенческие и нейрофизиологические признаки усиленного внимания к эмоциональной мимике, в особенности сигнализирующей об угрозе – выражениям гнева и страха (Mikhailova et al., 2021). Настоящее исследование проведено на группе девушек, не предъявляющих жалоб на состояние здоровья и справляющихся с учебными и рабочими нагрузками, а признаки изменения вегетативной сферы были выявлены только при анкетировании. В результате кластерного анализа данных ответов на опросник Вейна было выделено три группы испытуемых (12, 13 и 24 человека), которые значимо различались между собой по выраженности признаков вегетативной дисфункции, по уровню депрессии, оценкам субшкалы соматических проявлений депрессии и уровню личностной и ситуативной тревожности. Испытуемые кластера 1 (12 человек) характеризовались самыми низкими (8.25 ± 1.46) оценками опросника Вейна, что позволяет обозначить эту группу как группу без признаков вегетативной дисфункции. Эти испытуемые также характеризовались отсутствием депрессивной симптоматики (8.75 ± 2.9) и более низкой по сравнению с кластерами 2 и 3 личностной и ситуативной тревожностью (46.58 ± 2.26 и 40.42 ± 2.33). Группа испытуемых,

относящихся к кластеру 2 (13 человек), отличалась самыми высокими баллами по опроснику Вейна (41.92 ± 2.07), а по сравнению с другими группами – более высоким уровнем депрессии (16.54 ± 3.24), высокой личностной и ситуативной тревожностью (53.62 ± 1.82 и 50.77 ± 2.49). Группа испытуемых кластера 3 (24 человека) характеризовалась более низкой по сравнению с кластером 2 выраженностю признаков вегетативной дисфункции (26.25 ± 0.68), достаточно высоким уровнем личностной и ситуативной тревожности (48.88 ± 1.29 и 41.88 ± 1.77) и значениями по шкале депрессии менее 10 (9.38 ± 1.1), что считается «отсутствием депрессивных симптомов». Средние по группам значения психометрических показателей и различия между группами приведены в таблице 1. Для удобства дальнейшего изложения обозначим группы, отличающиеся по уровню вегетативной дисфункции (ВД), как «отсутствие ВД», «умеренная ВД» и «выраженная ВД» (Вегетативные расстройства: Клиника, диагностика, лечение. 2003).

Анализ времени реакции показал, что независимо от группы испытуемых и блока эксперимента, которые отличались типом отрицательных эмоций (гнев-радость, отвращение-радость, страх-радость), ВР при неконгруэнтной паре лицо-слово больше, чем при конгруэнтной. Этот результат соответствует сведениям, приведенным в многочисленных литературных источниках (Bar-Haim et al., 2007; Holmes et al., 2009; Chechko et al., 2013; Kalanithroff et al., 2016; Joyal et al., 2019; Wu et al., 2021). Однако влияние конгруэнтности зависело как от группы испытуемых, так и от типа негативной эмоциональной мимики. Обнаруженное при дисперсионном анализе времени реакции взаимодействие Конгруэнтность × Кластер проявилось как более выраженные различия между конгруэнтной и неконгруэнтной парами лицо-слово в группах с умеренной и выраженной ВД по сравнению с группой с отсутствием ВД. В еще более четком виде межгрупповые различия проявляются при анализе значений Струп-эффекта: его величина выше при умеренной и выраженной ВД по сравнению с отсутствием ВД. То есть, признаки смещения внимания и нарушения нисходящего когнитивного контроля отчетливы у девушек с выраженным признаком ВД, что ассоциировалось у них с повышенной тревожностью и умеренным уровнем депрессии.

Этот результат можно сопоставить с данными, полученными Чутко с соавторами (Чутко с соавт., 2019). В исследовании на 46 пациентах с соматоформной дисфункцией вегетативной нервной системы эти авторы проводили количественную оценку нарушений внимания и импульсивности с помощью психофизиологического теста TOVA (The Test of Variables of Attention), позволяющего оценить количество пропусков значимых стимулов (ошибки невнимательности) и количество

ложных нажатий (ошибки импульсивности) по отношению к нормативным данным. У пациентов в исследуемой группе выявлено достоверное повышение показателей невнимательности и импульсивности по сравнению с нормативными данными. В небольшом числе исследований, проведенных на пациентах с SSD, обнаружено, что при выполнении задачи Струпа эта группа, как правило, уделяет больше внимания негативным сигналам и отличается от нормы плохой способностью управлять мешающей информацией (Rief, Broadbent, 2007; Huang et al., 2021).

Интересными представляются полученные в нашей работе данные о зависимости эффекта конгруэнтности в паре «эмоциональное лицо – слово» от характера отрицательной эмоции в паре. Наш эксперимент состоял из трех блоков эмоционального Струп-теста «эмоциональное лицо – слово» и контрольного блока определения пола. Блоки эмоционального Струп-теста различались по типу отрицательных эмоций (гнев, отвращение и страх). Как показал проведенный анализ, эффект конгруэнтности был отчетлив во всех экспериментальных блоках. Однако эффект группы мы наблюдали только в блоке «отвращение-радость». Для этой пары стимулов значимое взаимодействие Конгруэнтность × Кластер проявлялось как большее ВР при неконгруэнтной паре лицо-слово по сравнению с конгруэнтной в группах испытуемых с более высокими баллами по опроснику Вейна, то есть в группах с умеренной и выраженной степенью ВД. Это еще раз подчеркивает, что ВД ассоциируется с высокими значениями Струп-интерференции, что рассматривается как признак смещения внимания и изменения функции когнитивного контроля, следствием чего является плохая устойчивость к действию мешающей информации.

Для обсуждения этого результата интересно привлечь данные литературы об особенностях внимания и когнитивного контроля у пациентов с расстройством соматической симптоматики (SSD). Пациенты с SSD обычно имеют множественные соматические симптомы, вызывающие беспокойство и приводящие к значительным трудностям в повседневной жизни, снижению ее качества. Пациенты с SSD демонстрируют повышенное избирательное внимание к негативным сигналам, в том числе соматическим, недостаточность переключения внимания, предвзятость памяти при негативной интерпретации болезни и сильное опережающее беспокойство по темам, связанным со здоровьем (Lim, Kim, 2005; Rief, Broadbent, 2007). По данным исследования Huang с соавторами (Huang et al., 2021), SSD-пациенты по сравнению с пациентами с депрессией или тревожным расстройством демонстрировали более высокие показатели интерференции при

выполнении теста Струпа. Это, по мнению авторов, означает, что дефицит выполнения теста Струпа не является общей чертой для этих клинических групп, а SSD-группа отличается от пациентов с тревогой или депрессией большим Струп-эффектом. То есть наличие соматовегетативной симптоматики может быть одним из пусковых механизмов нарушения внимания и функции когнитивного контроля.

При анализе времени реакции и значений Струп-интерференции различия между выделенными группами-кластерами статистически значимы только в экспериментальном блоке «отвращение-радость». При этом значимое превышение ВР для неконгруэнтной пары лицо-слово по сравнению с конгруэнтной обнаружено только в группах с умеренной и выраженной ВД. Для показателя Струп-эффекта значимое влияние кластера также обнаружено в блоке «отвращение-радость», и по результатам post-hoc-сопоставлений Струп-эффект значимо больше при выраженной ВД по сравнению с испытуемыми с отсутствием ВД. То есть группы, включающие девушки с более высоким уровнем ВД, согласно этим результатам, демонстрируют высокую степень смещения внимания и ухудшение функции когнитивного контроля. Описания сходных нарушений, в том числе искажений восприятия, можно найти в литературе по соматоформным расстройствам. Например, Barsky и Borus (Barsky, Borus, 1995) описали излишне внимательное отношение к своим телесным ощущениям и ввели термин «соматосенсорная амплификация», которая рассматривается авторами как нарушение восприятия и когнитивных процессов.

Как было описано выше, именно в блоке «отвращение-радость» обнаружены значимые межгрупповые различия: как взаимодействие Конгруэнтность × Кластер при анализе ВР и как основной эффект Кластера при анализе Струп-эффекта. Девушки с умеренной и выраженной ВД продемонстрировали больший уровень Струп-интерференции по сравнению с группой отсутствия ВД.

Отвращение давно признано основной эмоцией (Darwin, 1872) и проявляется уже у новорожденных как реакция, связанная с избеганием болезней, и позже в жизни также с отвращением к некоторым идеям (Cisler et al., 2010; La Rosa, Mir, 2013). В обзоре Oaten с соавторами (Oaten et al., 2009) приводится анализ обширной литературы о роли эмоции отвращения как эволюционного механизма избегания заражения, болезней. Считается, что отвращение вызывают неживые и живые объекты или люди, обладающие определенными типами черт, которые ассоциируются с болезнью. Такое отвращение, напрямую связанное с болезнью, приобретается в детстве. Эмоция

отвращения, которая формируется позже в ходе развития, может быть вызвана не только возможностью непосредственного заражения, но и нарушением социальных норм, которые поддерживают предотвращение заболеваний, например мытье рук. Часто отвращение и страх объединяют как две эмоции, связанные с избеганием угрозы (Charash, McKay, 2009). Но отвращение и страх представляют разные биологические системы – «систему предотвращения заболеваний» (Oaten et al., 2009) и «систему самозащиты» (Neuberg et al., 2011). Эти эмоции могут вызывать различные физиологические реакции и когнитивные ответы, а именно: отвращение имеет тенденцию активировать парасимпатическую систему и подавлять действие, в то время как страх стимулирует симпатические пути и побуждает к борьбе или бегству (Ekman et al., 1983); отвращение провоцирует мгновенное сенсорное отторжение, тогда как страх быстро усиливает направленное внимание таким образом, чтобы обеспечить эффективное сенсорное восприятие (Vermeulen et al., 2009). На когнитивном уровне отвращение провоцирует мгновенное сенсорное отторжение (Rozin, Fallon, 1987), а страх, предположительно, вызывает немедленную реакцию «остановись, посмотри и послушай», чтобы ориентироваться в сенсорном восприятии (Gray, 1987). Важными представляются сведения о различиях нейрофизиологических коррелятов восприятия страха и отвращения (Krusenmark, Li, 2011). Авторы показали, что фоновые изображения страха (значимые стимулы показывали на фоне изображений, провоцирующих страх) увеличивали амплитуду раннего затылочного компонента P1 зрительного вызванного потенциала, демонстрируя активирующее действие страха на внимание, тогда как фоновое изображение отвращения снижало амплитуду P1, то есть имело тормозящее влияние, что сродни важной экологически значимой функции отвращения, заключающейся в минимизации контакта с заразными объектами, чтобы избежать заражения и болезней.

Рассматривая полученные нами результаты в контексте литературных сведений, можно сказать, что наличие вегетативной дисфункции ассоциируется с повышенным вниманием к эмоции отвращения как эмоции, сопровождающей экологически важное поведение «самозащиты», имеющее своей целью предотвращение заболеваний.

В заключение мы хотели бы подчеркнуть важность настоящей работы как исследования, проведенного на неклинической группе и выявившего особенности когнитивной деятельности в той группе молодежи, которая имеет нарушения в вегетативной сфере. Использование в экспериментальной парадигме Струп-теста нескольких типов эмоциональной лицевой экспрессии позволило показать, что эмоция отвращения более

эффективно, чем другие использованные нами эмоции, разделяет девушек с различным уровнем ВД. Причем группа с наиболее высокими баллами по опроснику Вейна (выраженная ВД) показала максимальный Струп-эффект, что позволяет рекомендовать этот тест как дополнительную процедуру при обследовании пациентов с ВД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В неклинической группе девушек с различной степенью вегетативной дисфункции (ВД), используя экспериментальную парадигму эмоционального Струп-теста «эмоциональное лицо – слово», исследовали поведенческие характеристики смещения внимания к незначимой словесной информации, что характеризует состояние системы нисходящего когнитивного контроля. Смещение внимания, количественно определяемое по величине Струп-эффекта, максимально при высокой степени ВД, что может рассматриваться как указание на влияние процессов надсегментарного уровня вегетативной нервной системы на когнитивную деятельность. Использование в эксперименте нескольких отрицательных эмоций (гнев, страх, отвращение) позволило показать, что признаки ВД в наибольшей степени ассоциируются с повышенным вниманием к эмоции отвращения как эмоции, сопровождающей экологически важное поведение «самозащиты», имеющее своей целью предотвращение заболеваний.

ВКЛАД АВТОРОВ

Елена Михайлова – формулирование гипотезы, постановка цели и задач исследования, анализ данных, написание и редактирование текста; Анастасия Кушнир – сбор данных, их первичный анализ и последующая статистическая обработка, написание текста, анализ мировой литературы по теме работы и формирование списка литературы; Наталья Герасименко – подготовка стимульного материала, создание дизайна эксперимента, сбор данных и их первичный анализ.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа поддержана средствами государственного бюджета по государственному заданию Министерства образования и науки Российской Федерации на 2022–2024 годы. Электрофизиологические исследования выполнены на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием для функционального картирования мозга на базе ИВНД и НФ РАН.

ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ

Исходные данные, подтверждающие выводы этой статьи, будут предоставлены авторами без неоправданных оговорок. Исследование проводилось в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 года и ее последующих обновлениях, и были одобрены местными биоэтическими комитетами Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН (Москва), протокол № 1 от 15 января 2020 г. Все участники представили добровольное письменное информированное согласие, подписанное ими, на публикацию любых потенциально идентифицируемых изображений или данных, включенных в эту статью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алипов Н.Н., Белякова-Бородина А.И., Гордеев С.А., Ковров Г.В., Порохов С.И., Присуха Н.С., Помазан И.А.** Исследование вегетативного статуса и эмоционально-личностной сферы студентов-медиков 2 курса. Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. 2015. 1: 38–43.
- Алипов Н.Н., Гордеев С.А., Присуха Н.С., Черемушкин Е.А., Петренко Н.Е., Ковров Г.В., Порохов С.И., Алипова В.Н., Сергеева О.В., Тверская М.С.** Психовегетативный профиль у студентов-медиков младших курсов: результаты трехлетнего исследования. Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. 2017. 12: 25–30.
- Вегетативные расстройства: Клиника, диагностика, лечение.** Ред. Вейн А.М. М.: Медицинская психология, 2003. 640 с.
- Гордеев С.А., Ковров Г.В., Порохов С.И., Катенко С.В.** Психофизиологические особенности пароксизимальных расстройств неэпилептической природы. Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова. 2014. 64 (1): 41–53.
- Чумко Л.С., Сурушкина С.Ю., Яковенко Е.А., Анисимова Т.И., Карповская Е.Б., Василенко В.В., Дицбурд М.Д., Волов М.Б.** Нарушения когнитивного контроля у пациентов с соматоформными расстройствами и их лечение. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2019. 119 (4): 32–37.
- Algom D., Chajut E.** Reclaiming the Stroop Effect back from control to input-driven attention and perception. Front. Psychol. 2019. 10: 1683.
- Banich M.T.** The Stroop Effect occurs at multiple points along a cascade of control: evidence from cognitive neuroscience approaches. Front. Psychol. 2019. 10: 2164.
- Bar-Haim Y., Lamy D., Pergamin L., Bakermans-Kranenburg M.J., van IJzendoorn M.H.** Threat-related attentional bias in anxious and nonanxious individuals: a meta-analytic study. Psychol. Bull. 2007. 133 (1): 1–24.
- Barkley R.A.** Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: Constructing a unifying theory of ADHD. Psychol. Bull. 1997. 121 (1): 65–94.
- Barsky A.J., Borus J.F.** Somatization and medicalization in the era of managed care. JAMA. 1995. 274 (24): 1931–1934.
- Beck A.T., Clark D.A.** An information processing model of anxiety: automatic and strategic processes. Behav. Res. Ther. 1997. 35 (1): 49–58.
- Beck A.T., Ward C.H., Mendelson M., Mock J., Erbaugh J.** An inventory for measuring depression. Arch. Gen. Psychiatry. 1961. 4: 561–571.
- Becker E.S., Rinck M., Margraf J., Roth W.T.** The emotional Stroop effect in anxiety disorders: general emotional or disorder specificity? J. Anxiety Disord. 2001. 15 (3): 147–159.
- Braem S., Bugg J.M., Schmidt J.R., Crump M.J.C., Weissman D.H., Notebaert W., Egner T.** Measuring adaptive control in conflict tasks. Trends Cogn. Sci. 2019. 23 (9): 769–783.
- Charash M., McKay D.** Disgust and Contamination Fear: Attention, Memory, and Judgment of Stimulus Situations. Int. J. Cogn. Ther. 2009. 2(1):53–59.
- Chechko N., Augustin M., Zvyagintsev M., Schneider F., Habel U., Kellermann T.** Brain circuitries involved in emotional interference task in major depression disorder. J. Affect. Disord. 2013. 149 (1–3): 136–145.
- Cisler J.M., Olatunji B.O., Feldner M.T., Forsyth J.P.** Emotion regulation and the anxiety disorders: An integrative review. J. Psychopathol. Behav. Assess. 2010. 32 (1): 68–82.
- Darwin C.** The expression of the emotions in man and animals. London: John Murray, 1872.
- Ekman P., Levenson R.W., Friesen W.V.** Autonomic nervous system activity distinguishes among emotions. Science. 1983. 221 (4616): 1208–1210.
- Eysenck M.W., Derakshan N., Santos R., Calvo M.G.** Anxiety and cognitive performance: attentional control theory. Emotion 2007. 7 (2): 336–353.
- Favre P., Polosan M., Pichat C., Bougerol T., Baciu M.** Cerebral correlates of abnormal emotion conflict processing in euthymic bipolar patients: A functional MRI study. PLoS One. 2015. 10 (8): e0134961.
- Gray J.A.** The psychology of fear and stress, 2nd ed. 1987.
- Henik A., Salo R.** Schizophrenia and the Stroop Effect. Behav. Cogn. Neurosci. Rev. 2004. 3 (1): 42–59.
- Holmes A., Nielsen M.K., Tipper S., Green S.** An electrophysiological investigation into the automaticity of emotional face processing in high versus low trait anxious individuals. Cogn. Affect. Behav. Neurosci. 2009. 9 (3): 323–334.
- Huang W.-L., Liao S.-C., Gau S.S.-F.** Association between Stroop tasks and heart rate variability features in patients with somatic symptom disorder. J. Psychiatr. Res. 2021. 136: 246–255.
- Iordan A.D., Dolcos S., Dolcos F.** Neural signatures of the response to emotional distraction: a review of evidence from brain imaging investigations. Front. Hum. Neurosci. 2013. 7: 200.

- Joyal M., Wensing T., Levasseur-Moreau J., Leblond J., T Sack A., Fecteau S.* Characterizing emotional Stroop interference in posttraumatic stress disorder, major depression and anxiety disorders: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2019. 14 (4): e0214998.
- Kalanthroff E., Henik A., Derakshan N., Usher M.* Anxiety, emotional distraction, and attentional control in the Stroop task. *Emotion* 2016. 16 (3): 293–300.
- Klein R.J., Liu T., Diehl D., Robinson M.D.* The personality-related implications of Stroop performance: Stress-contingent self-control in daily life. *J. Res. Pers.* 2017. 70: 156–165.
- Krusemark E.A., Li W.* Do all threats work the same way? Divergent effects of fear and disgust on sensory perception and attention. *J. Neurosci.* 2011. 31 (9): 3429–3434.
- Langner O., Dotsch R., Bijlstra G., Wigboldus D.H.J., Hawk S.T., van Knippenberg A.* Presentation and validation of the Radboud Faces Database. *Cogn. Emot.* 2010. 24 (8): 1377–1388.
- La Rosa A.O., Mir J.R.* On the relationships between disgust and morality: a critical review. *Psicothema* 2013. 25 (2): 222–226.
- Lim S.-L., Kim J.-H.* Cognitive processing of emotional information in depression, panic, and somatoform disorder. *J. Abnorm. Psychol.* 2005. 114 (1): 50–61.
- MacLeod C.M.* The Stroop task: The “gold standard” of attentional measures. *J. Exp. Psychol. Gen.* 1992. 121 (1): 12–14.
- Morel S., George N., Foucher A., Chammam M., Dubal S.* ERP evidence for an early emotional bias towards happy faces in trait anxiety. *Biol. Psychol.* 2014. 99: 183–192.
- Mikhailova E., Karpova V., Gerasimenko N., Gordeev S., Kushnir A.* Facial emotion perception in young female students with subsyndromal panic disorder. Behavioral and ERP study. *Biol. Psychol.* 2021. 162:108084.
- Neuberg S., Kenrick D., Schaller M.* Human Threat Management Systems: Self-Protection and Disease Avoidance. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2011. 35: 1042–1051.
- Nuño L., Gómez-Benito J., Carmona V.R., Pino O.* A systematic review of executive function and information processing speed in major depression disorder. *Brain Sci.* 2021. 11 (2).
- Oaten M., Stevenson R.J., Case T.I.* Disgust as a disease-avoidance mechanism. *Psychol. Bull.* 2009. 135 (2): 303–321.
- Parris B.A., Hasshim N., Wadsley M., Augustinova M., Ferrand L.* The loci of Stroop effects: a critical review of methods and evidence for levels of processing contributing to color-word Stroop effects and the implications for the loci of attentional selection. *Psychol. Res.* 2022. 86 (4): 1029–1053.
- Pollatos O., Herbert B.M., Wankner S., Dietel A., Wachsmuth C., Henningsen P., Sack M.* Autonomic imbalance is associated with reduced facial recognition in somatoform disorders. *J. Psychosom. Res.* 2011. 71 (4): 232–239.
- Rozin P., Fallon A.E.* A perspective on disgust. *Psychol. Rev.* 1987. 94 (1): 23–41.
- Rief W., Broadbent E.* Explaining medically unexplained symptoms—models and mechanisms. *Clin. Psychol. Rev.* 2007. 27 (7): 821–841.
- Schwartz K., Verhaeghen P.* ADHD and Stroop interference from age 9 to age 41 years: A meta-analysis of developmental effects. *Psychol. Med.* 2008. 38 (11): 1607–1616.
- Smolkov H.R., Wang K., Luciana M., Bjork J.M., Gonzalez R., Barch D.M., McGlade E.C., Kaiser R.H., Friedman N.P., Hewitt J.K., Banich M.T.* The Emotional Word-Emotional Face Stroop task in the ABCD study: Psychometric validation and associations with measures of cognition and psychopathology. *Dev. Cogn. Neurosci.* 2022. 53: 101054.
- Spielberger C.D., Gorsuch R.L., Lushene R., Vagg P.R., Jacobs G.A.* Manual for the State-Trait Anxiety Inventory. Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press, 1983.
- Spieler D.H., Balota D.A., Faust M.E.* Stroop performance in healthy younger and older adults and in individuals with dementia of the Alzheimer’s type. *J. Exp. Psychol. Hum. Percept. Perform.* 1996. 22 (2): 461–479.
- Stroop J.R.* Studies of interference in serial verbal reactions. *J. Exp. Psychol.* 1935. 18 (6): 643–662.
- Vermeulen N., Godefroid J., Mermilliod M.* Emotional modulation of attention: fear increases but disgust reduces the attentional blink. *PLoS One*. 2009. 4: e7924.
- Williams J.M.G., Watts F.N., MacLeod C., Mathews A.* Cognitive psychology and emotional disorders. 1988.
- Wu Y., Ma S., He X., Xiang S., Qi S.* Trait anxiety modulates the temporal dynamics of Stroop task switching: An ERP study. *Biol. Psychol.* 2021. 163: 108144.

ATTENTIONAL BIASES IN EMOTIONAL STROOP TEST IN GIRLS WITH VEGETATIVE DYSFUNCTION OF VARYING SEVERITY

E. S. Mikhailova^{a, #}, A. B. Kushnir^a, N. Yu. Gerasimenko^a

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia*
[#]*e-mail: mikhailovaes@gmail.com*

In a group of 49 young girls, the Stroop emotional task was used to study the effect of irrelevant information on attention bias and cognitive control of attention, depending on the severity

of autonomic dysfunction (severe, moderate, absence). The subjects performed the task of identifying facial expressions of anger, fear and disgust, which was difficult by superimposing on the faces of words – names of emotions, congruent or incongruent to the presented facial expression. The results showed that autonomic dysfunction worsens attention control, makes it difficult to suppress irrelevant verbal information, and leads to an attention bias, quantified by the Stroop effect value. The most pronounced Stroop effect was found in the group of young girls with severe autonomic dysfunction. Among the negative emotions used in the work, disgust turned out to be the most effective for identifying the relationship between autonomic dysfunction and attention bias.

Keywords: human, vision, attention, cognitive control, Stroop test, autonomic nervous system

ФИЗИОЛОГИЯ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ (КОГНИТИВНОЙ) ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА

УДК 159.91

ФМРТ-ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ НЕЙРОТИЗМА С ИНДИВИДУАЛЬНЫМИ РАЗЛИЧИЯМИ В АКТИВНОСТИ МОЗГА В ПРОЦЕССЕ СОЦИАЛЬНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

© 2024 г. Г. Г. Князев^{1,*}, А. Н. Савостьянов^{1, 2, 3}, А. В. Бочаров^{1, 2}, А. Е. Сапрыгин¹

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

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

*e-mail: knyazevgg@neuront.ru

Поступила в редакцию 24.04.2024 г.

После доработки 29.08.2024 г.

Принята к публикации 09.09.2024 г.

Социальные взаимодействия в контексте кооперации и конкуренции являются важнейшим видом активности людей, определяющим их благополучие и успех в жизни. Нейронные основы этой активности, а также роль связанных с личностью индивидуальных особенностей изучены недостаточно. В частности, в литературе отсутствуют данные о связи нейротизма с индивидуальными различиями в активности мозга в процессе кооперативных и конкурентных взаимодействий, и целью нашей работы было восполнение этого пробела. фМРТ-данные были записаны в ходе выполнения заданий в индивидуальном, кооперативном и конкурентном режимах, и их анализ осуществлялся методом межсубъектного анализа репрезентативного сходства. Результаты анализа показывают, что у предрасположенных к эмоциональной нестабильности людей социальные взаимодействия, как в контексте кооперации, так и в контексте конкуренции, связаны с большим напряжением, проявляющимся в активности центров социального мозга, регуляции эмоций и внимания. Это потенциально может приводить к накоплению последствий социального стресса и появлению симптомов отклонений психического здоровья.

Ключевые слова: социальные взаимодействия, кооперация, конкуренция, фМРТ, анализ сходства презентаций, многомерный анализ паттернов

DOI: 10.31857/S0044467724060061

ВВЕДЕНИЕ

Утверждение о том, что человек – существо социальное, стало своего рода клише. Действительно, хотя любой человек может находиться в одиночестве дома или вне его пределов, для большинства людей в большинстве обстоятельств социальное окружение является преобладающим видом окружения, с которым им приходится иметь дело. Поэтому взаимодействие и выстраивание отношений с другими людьми является важнейшим видом деятельности, определяющим благополучие и успех в жизни. Эволюционные теории утверждают, что необходимость поиска оптимального баланса между эгоистическими интересами и общественным благом была движущей силой эволюции человеческого мозга (Dunbar, 2003). Следуя этой логике, можно ожидать, что в мозге должны существовать достаточно развитые модули, лежащие в основе двух основных форм социальных взаимодействий: сотрудничества и конкуренции.

Одним из первых парадигмальных исследований нейронных основ сотрудничества и конкуренции в процессе конструктивной деятельности является работа Дисити с соавторами (Decety et al., 2004). В этом функциональном магнитно-резонансном (фМРТ) исследовании участники играли в компьютерную игру, в которой они должны были строить на экране монитора целевые паттерны либо в сотрудничестве, либо в конкуренции с другим человеком. Сотрудничество сопровождалось активацией медиальной орбитофронтальной коры (ОФК), участвующей в процессах, связанных с вознаграждением. Авторы интерпретируют этот эффект как свидетельство того, что сотрудничество является социально желательным видом социальных взаимодействий. Похожие данные получены в исследовании Полосан с соавторами (Polosan et al., 2011), в котором использовался вариант задачи Струпа. В работе Ли с соавторами (Lee et al., 2018) использовалась задача типа «Тетрис» в индивидуальном, кооперативном и соревновательном вариантах.

Активация дорсолатеральной и дорсомедиальной префронтальной коры (ПФК) наблюдалась как в кооперативном, так и в соревновательном, но не в индивидуальном контексте. Родс с соавторами (Rhoads et al., 2021) провели систематический поиск исследований, в которых участники принимали просоциальные решения, и выделили три кластера таких решений, которые они назвали сотрудничеством, справедливостью и альтруизмом. Метаанализ нейровизуализационных данных показал, что каждый тип просоциальных решений задействует разные нейронные системы. В частности, решения о сотрудничестве, в отличие от эгоистичных решений, были связаны с повышенной активацией большого числа областей, включая правую нижнюю лобную извилину, переднюю поясную кору (ППК),ентральный стриатум, островок, верхнюю височную извилину, предклинье и затылочные области. Метаанализ большого количества нейровизуализационных исследований в поисках нейронной основы кооперации, общей для всех модальностей, выявил правую височно-теменную связку (BTC), являющуюся ключевым центром системы теории разума (Prince, Brown, 2022).

Важно отметить, что в большинстве этих исследований использовался массовый одномерный статистический подход к анализу фМРТ-данных. Хотя этот подход позволил сделать множество открытий в области локализации функций мозга и продолжает оставаться наиболее распространенным методом, все большую популярность приобретают методы многомерного анализа паттернов (МАП), которые более чувствительны, чем традиционные методы, и во многих случаях позволяют выявить дифференциальные эффекты там, где последние не справляются (Tsoi et al., 2016). Эти новые методы не только более чувствительны, чем традиционные, но и основаны на радикально иной идеологии. Основное предположение традиционных методов заключается в том, что обработка стимула мозгом отражается в локализованных изменениях нейронной активности и значимыми считаются только те изменения, которые превышают заданный уровень и плотно упакованы в пространственные кластеры заданного размера (Worsley et al., 1996). Это предположение неявно подразумевает функциональную организацию мозга, в котором различные относительно небольшие области реализуют различные относительно узкие когнитивные функции. В отличие от этого, МАП не делает никаких предположений ни об уровне нейронной активации, ни о степени кластеризации этих активаций. Вместо этого предполагается, что содержание психического состояния, связанного с обработкой стимула, «закодировано» в пространственном паттерне нейронной активности и эти паттерны могут быть надежно обнаружены в данных нейровизуализации с помощью инструментов MVPA.

Некоторые многомерные методы, такие как анализ репрезентативного сходства (APC), позволяют выявить области мозга, участвующие в репрезентации психологических состояний, релевантных задаче (Kriegeskorte et al., 2008). Важным направлением развития APC является его применение к изучению индивидуальных различий в виде межсубъектного анализа репрезентативного сходства (MC-APC), который позволяет определить, как индивидуальные различия в реакциях мозга на ситуации связаны с индивидуальными различиями в поведенческих и личностных показателях (Chen et al., 2020; Finn et al., 2020; van Baar et al., 2019).

Действительно, хотя каждый человек может быть вовлечен в сотрудничество или конкуренцию, несомненно, существуют индивидуальные различия в этих типах поведения, которые могут быть связаны с личностными особенностями. Некоторым легче установить отношения сотрудничества, другие склонны к соперничеству. Более того, в силу той роли, которую социальные взаимодействия играют в жизни каждого человека, их успешность или неуспешность могут влиять на субъективное благополучие и психическое здоровье. Наибольшую угрозу для психического здоровья представляет повышенная чувствительность к негативным факторам окружения, которая в рамках пятифакторной модели личности отождествляется с нейротизмом (Goldberg, 1993; Lahey, 2009). Нейротизм, или эмоциональная нестабильность, не только является одним из наиболее заметных доменов личности высшего порядка в различных моделях личности, но и имеет большое значение для здравоохранения (Tackett, Lahey, 2015). Полногеномные исследования ассоциаций показывают его генетическую обусловленность (Kim et al., 2023), а метаанализы нейровизуализационных исследований показывают, что эта обусловленность связана с модуляцией активности мозга (Lin et al., 2023).

В литературе отсутствуют данные о связи нейротизма с индивидуальными различиями в активности мозга в процессе кооперативных и конкурентных взаимодействий, и целью нашей работы было восполнение этого пробела. В качестве экспериментальной парадигмы мы использовали модификацию задачи, описанной в (Decety et al., 2004). Анализ фМРТ-данных проводился как традиционными методами, так и с помощью МС-APC. Поскольку имеющиеся к настоящему времени данные об активности мозга в процессе кооперативных и конкурентных взаимодействий получены с помощью одномерных методов анализа, результаты которых часто не совпадают с результатами многомерных методов, мы не использовали априорные области интереса и проводили анализ с помощью так называемого проекционного метода, позволяющего проектировать весь объем мозга и выявить области, в которых индивидуальные различия в динамике

активности достоверно связаны с индивидуальными различиями в личностных показателях. Мы ожидали тем не менее, что эффекты нейротизма выявятся в структурах так называемого социального мозга, а также в центрах регуляции эмоций и внимания.

МЕТОДИКА

Описание выборки

Первоначально в исследовании приняли участие 40 человек. Впоследствии восемь участников были исключены из анализа из-за чрезмерных фМРТ-артефактов или невозможности пройти все четыре экспериментальные сессии, в результате чего осталось 32 участника (из них 16 женщин, средний возраст 23.5 года, SD = 5.3). Критериями исключения были серьезные медицинские заболевания, эпилепсия в анамнезе, злоупотребление психоактивными веществами или зависимость от них, а также все противопоказания к МРТ. Исследование соответствовало Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации и было одобрено этическим комитетом Института нейронаук и медицины. Все участники дали письменное информированное согласие на участие в эксперименте.

Стимулы и экспериментальная процедура

В качестве экспериментальной парадигмы мы использовали модификацию парадигмы, описанной в работе Дисити с соавторами (Decety et al., 2004), в которой испытуемые играли в компьютерную онлайн-игру. Игровое поле состояло из сетки 10 x 10. Над сеткой было представлено изображение целевой фигуры из 20 квадратов, форма которой варьировалась и не повторялась в ходе одного и того же эксперимента. Задача испытуемого состояла в том, чтобы построить эту фигуру на экране. Одна игра состояла из 20 попыток (т.е. по одной попытке на каждую клетку мишени). В начале каждой попытки в левой верхней части экрана появлялся квадрат, который участник должен был переместить в нужное место на игровом поле. Для перемещения квадрата использовались два джойстика с двумя кнопками на каждом. Одна кнопка перемещала квадрат на одну позицию влево (левый джойстик) или вправо (правый джойстик), а другая – вверх или вниз соответственно. На перемещение квадрата в каждой попытке давалось пять секунд. Если за это время испытуемый не успевал переместить квадрат в нужное место, то последний фиксировался там, где находился в данный момент. Если в течение 2 секунд никаких действий не предпринималось, квадрат также фиксировался. Между попытками вставлялся двухсекундный интервал. В условии сотрудничества игроки, работающие в паре, должны

были построить одну фигуру. В каждой попытке участник видел движение своего квадрата и квадрата партнера и пытался скоординировать свои действия с действиями партнера таким образом, чтобы поставить квадрат в одно и то же целевое место. В условиях соревнования участники должны были соревноваться с соперником в том, кто быстрее поставит квадрат в нужное место. Ход засчитывался только тому участнику, который первым положил квадрат. В качестве меры успешности использовалась степень завершенности фигуры (т.е. отношение количества заполненных клеток к количеству клеток в целевой фигуре) к концу игры. В одних экспериментах экспериментатор выступал в роли второго игрока, в других – другой испытуемый (оба участника всегда были одного пола и возраста). В сканере изображения игрового поля и стимулов предъявлялись с помощью прямоугольного проекционного экрана с зеркалом. Перед экспериментом испытуемых знакомили с предполагаемым партнером или соперником, который всегда был того же пола, что и испытуемый, и в качестве тренировки проводили по 20 проб каждого типа игры. Во время игры партнер/соперник находился в другом помещении. Для каждого участника эксперимент состоял из четырех сеансов сканирования, каждый из которых включал все три вида игры (индивидуальная, сотрудничество и соревнование), с двухминутным отдыхом между сеансами. Каждый вид игры включал 20 попыток по 5 секунд каждая с интервалом в 2 секунды. Задержка между началом предстоящего кадра фМРТ и началом предъявления стимула варьировалась случайным образом между интервалами 100 и 2350 мс. На рис. 1 представлен временной ход одного сеанса фМРТ. Каждая из четырех сессий состояла из трех экспериментальных условий (соревнование, индивидуальная игра и сотрудничество). Каждое условие начиналось с инструкции (10 с) и включало 20 испытаний, по 5 каждого, с межпробным интервалом 2 с. Каждая игра начиналась с демонстрации экрана, на котором были представлены игровое поле, фигура-мишень и инструкция по типу предстоящей игры (например, «в этой игре вы должны построить фигуру-мишень индивидуально» или «в сотрудничестве/соревновании с другим игроком»). Порядок видов игры в каждой сессии был псевдорандомизирован. Для выявления эффектов личностных переменных использовался опросник «Маркеры факторов большой пятерки» (Big Five Factor Markers), который ранее был нами переведен и адаптирован (Князев с соавт., 2010). В данном исследовании использовалась шкала нейротизма из этого опросника.

Запись и анализ фМРТ-данных

фМРТ-данные были получены с помощью последовательности EPI на сканере Philips Ingenia 7FN8GDI 3.0 T. Первые пять сканов в начале

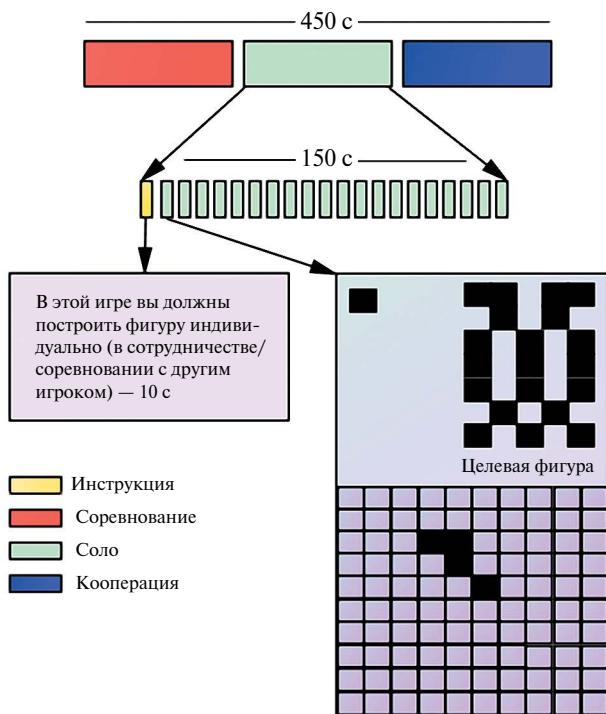


Рис. 1. Временной ход одного сеанса фМРТ. Каждая из четырех сессий состояла из трех экспериментальных условий (соревнование, индивидуальная игра и сотрудничество). Каждое условие начиналось с инструкции (10 с) и включало 20 проб, по 5 с каждая, с межпробным интервалом 2 с.

Fig. 1. Time course of one fMRI session. Each of the four sessions consisted of three experimental conditions (competition, solo, and cooperation). Each condition began with an instruction (10 s) and included 20 trials, 5 s each, with an inter-trial interval of 2 s.

каждого сеанса отбрасывались для обеспечения эффекта эквилибрации сканера ($TR = 2$ с, $TE = 35$ мс, $flip angle = 90^\circ$, $FOV = 100$, матрица 96×94 , 25 срезов толщиной 5 мм, без зазора). Т1-взвешенные структурные сканы высокого разрешения (1 мм) были получены с помощью последовательности 3D MP-GR ($TR = 7.8$ мс, $TE = 3.76$ мс, матрица 252×227).

Предварительная обработка проводилась с помощью инструментария SPM-12 и включала коррекцию времени получения каждого среза (slice-time correction), выравнивание (realignment) с помощью трансформации по принципу «жесткого тела» (rigid body transformation), корегистрацию и нормализацию к шаблону Монреальского неврологического института (MNI), повторный сэмплинг (resampling) до разрешения $2 \times 2 \times 2$ мм и сглаживание (full-width half-maximum, 4 мм). Мы проверяли параметры движения, и порог для качества изображений был установлен на уровне 2 мм для трех плоскостей трансляции. Все участники, которые превысили этот

порог движения, были исключены из последующего анализа (всего было исключено восемь участников из первоначальной выборки 40 испытуемых).

Поскольку методы многомерного анализа чувствительны к соотношению сигнал/шум (Dimsdale-Zucker, Ranganath, 2018), мы дополнительно обесшумливали данные с помощью программы GLMsingle, позволяющей точно измерять отдельные фМРТ-ответы (Prince et al., 2022). Для этого была построена матрица дизайна с отдельными регрессорами для каждого предъявления стимула (5 с от появления на экране стимула до окончания пробы) и шестью помеховыми регрессорами движения головы (x, y, z, крен, шаг и рысканье), и для каждого voxel'a была выбрана индивидуальная функция гемодинамического отклика из библиотеки функций-кандидатов. С помощью перекрестной валидации был получен набор шумовых регрессоров из не связанных с экспериментом voxel'ей, и, наконец, бета-коэффициенты были регуляризованы повоксельно с помощью гребневой регрессии (Prince et al., 2022). Полученные в результате трехмерные образы весовых бета-коэффициентов использовались в последующем анализе.

Одномерный GLM-анализ проводился с помощью пакета инструментов SPM-12. Обесшумленные бета-коэффициенты были усреднены по пробам и сессиям для каждого испытуемого отдельно, дополнительно сглажены (full-width half-maximum 8 mm) и использованы для анализа второго уровня, в котором выявлялся главный эффект фактора «Вид игры», а также эффект нейротизма. Оценки нейротизма вводились в регрессионную матрицу в качестве ковариата. Достоверность эффектов оценивалась при пороге на уровне voxel'ей $p < 0.001$ и на уровне кластеров $p < 0.05$, с FWE-поправкой на множественные сравнения.

МАП проводился с использованием инструментария CoSMoMVPA (<http://www.cosmotvpa.org/>) (Oosterhof et al., 2016) в среде Matlab. При проведении МС-АРС мы использовали проекторный метод для выявления областей мозга, в которых межсубъектное сходство во временной динамике нейронной активности коррелирует со сходством в ответах на вопросы шкалы нейротизма. У каждого испытуемого для каждого voxel'a объема мозга определялась сферическая окрестность, включающая 200 ближайших к нему voxel'ям, и путем усреднения сигнала по всем voxel'ям в этом объеме выделялась временная динамика активности в течение соответствующего вида игры (4 сессии \times 20 проб). Далее для каждого объема и каждой пары испытуемых рассчитывалось нейронное сходство как корреляция Пирсона между временной динамикой активности, и полученное значение приписывалось центральному voxel'ю проекторной сферы. Для личностной переменной матрица межсубъектного сходства рассчитывалась на основе корреляции

Спирмена между ответами на соответствующие пункты шкалы нейротизма (Finn et al., 2020). Степень похожести матрицы нейронного сходства каждого прожектора с матрицей сходства личностной переменной рассчитывалась по ранговой корреляции Спирмена между верхними треугольниками этих матриц. Результаты прожекторного анализа МС-АРС были протестированы на 1000 суррогатных наборов данных. В каждом из этих наборов были рассчитаны корреляции Спирмена между целевой матрицей межсубъектного сходства по шкале нейротизма и матрицей нейронного сходства каждого прожекторного объема после рандомизации строк и столбцов целевой матрицы. Эти данные использовались для проверки значимости выявленных корреляций (Smith, Nichols, 2009). Учитывались только положительные корреляции, а пороговыми считались значения $z > 2.24$ ($p_{\text{corr}} < 0.0125$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Поведенческие данные

На рис. 2 представлен скрипичный график, показывающий распределение баллов по шкале нейротизма в выборке. Среднее значение было 27.1 ($SD = 9.1$). В нормативной выборке (Князев с соавт., 2010) использовалась версия опросника, в которой каждая шкала была представлена 20 пунктами, и в выборке преобладали женщины (66%). Среднее значение по шкале нейротизма в этой выборке было 64.8. В версии, использованной в данной работе, каждая шкала представлена 10 пунктами и мужчины и женщины представлены в выборке поровну. При

пересчете нормативных данных с учетом этих факторов значение нейротизма в данной выборке не отличается от нормативного.

Анализ поведенческих данных методом ANOVA для повторных измерений с фактором типа игры (индивидуальная, кооперативная, соревновательная) и степенью завершенности фигуры к концу задания в качестве зависимой переменной показал значимый главный эффект типа игры ($F = 109.3$, $p < 0.001$). Степень завершенности фигуры была наибольшей при индивидуальном выполнении задания и наименьшей при соревновании. В условиях одиночной игры большинство участников смогли завершить фигуру за отведенное время во всех сессиях. В силу отсутствия заметной межиндивидуальной вариации поведенческих показателей в процессе индивидуальной игры она была исключена из последующего анализа.

Использование шкалы нейротизма в качестве ковариата в этом анализе не выявило достоверного эффекта. Аналогичный анализ с использованием в качестве зависимой переменной среднего времени завершения фигуры (в тех играх, где фигуру удалось завершить) также выявил значимый главный эффект типа игры ($F = 84.4$, $p < 0.001$). Время было наименьшим при конкуренции и наибольшим при кооперации. Использование шкалы нейротизма в качестве ковариата в этом случае выявило близкий к достоверности эффект ($p = 0.07$). Хотя испытуемым с высоким нейротизмом требовалось больше времени для завершения фигуры во всех видах игры, разница была наибольшей в условиях кооперации. Соответственно нейротизм коррелировал со временем, потребовавшимся для завершения целевой фигуры при кооперативной игре ($r = 0.41$, $p = 0.019$).

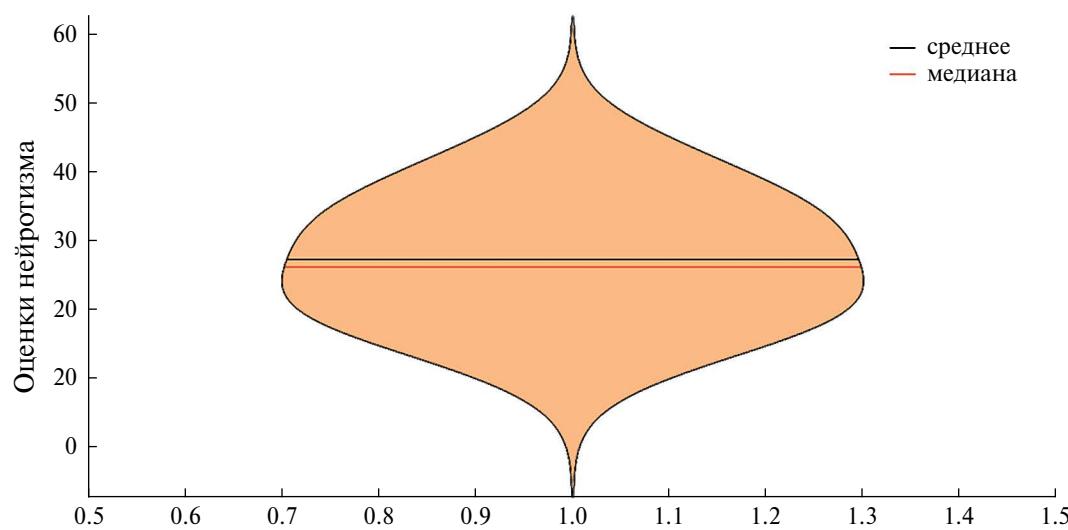


Рис. 2. Скрипичный график, показывающий распределение баллов по шкале нейротизма в выборке.
Fig. 2. Violin plot showing the distribution of neuroticism scores in the sample.

фМРТ-данные, одномерный GLM-анализ

Главный эффект фактора «Вид игры» был значим в кластере с центром в клиновидной коре ($x = 0, y = -78, z = 24$; KE = 1741; $P_{\text{FWE-CORR}} < 0.001$)

(рис. 3). Как показано на рис. 1 (б), в этом кластере наблюдается деактивация, минимальная в условиях одиничной игры и максимальная в условиях соревнования. Введение шкалы нейротизма в качестве ковариата не выявило достоверного эффекта

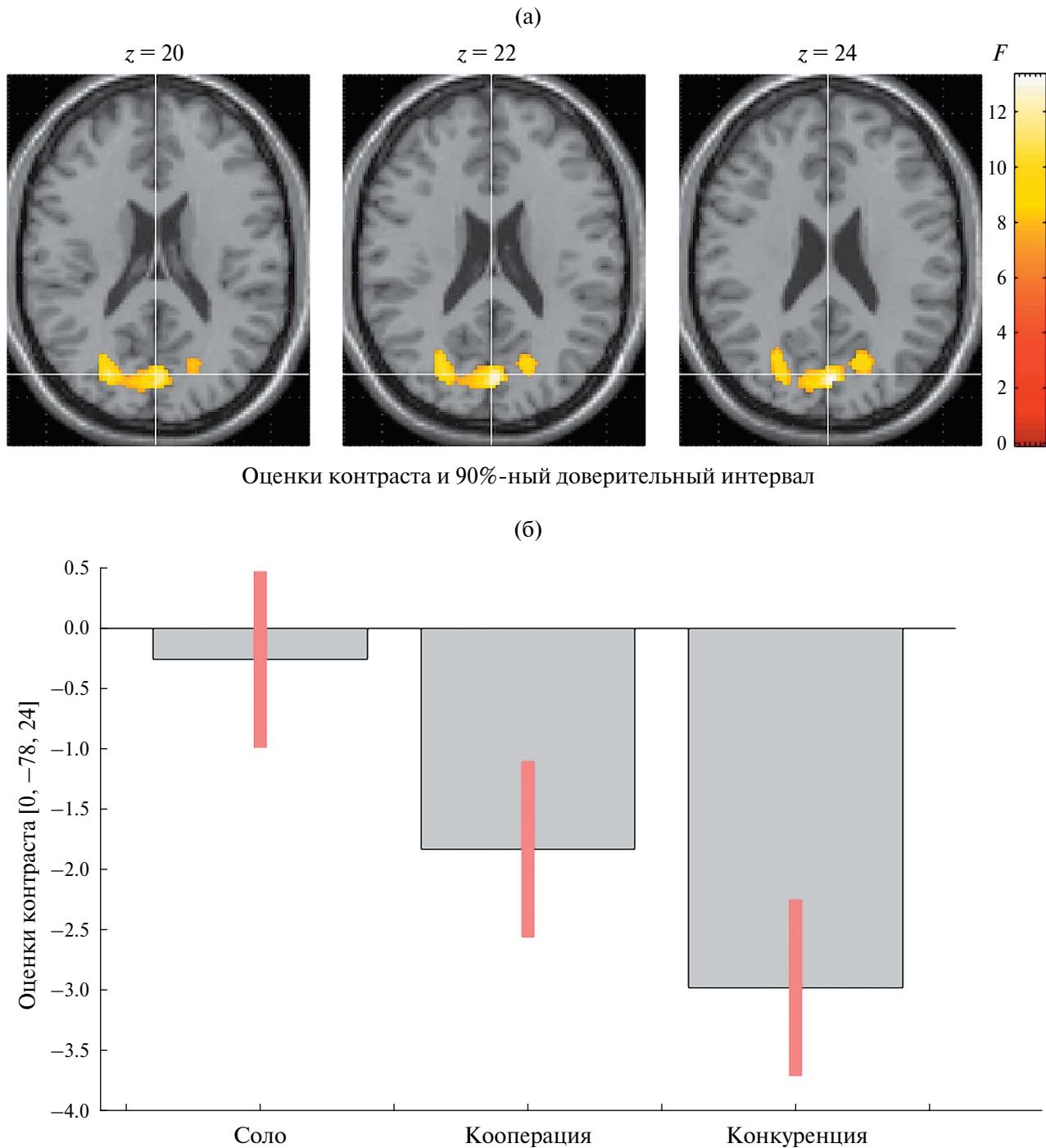


Рис. 3. Одномерный анализ фМРТ-данных. Главный эффект фактора «Вид игры». (а) – локализация значимого кластера. (б) – оценки контраста для трех уровней фактора.

Fig. 3. Univariate analysis of fMRI data. Main effect of the game type factor. (a) – localization of the significant cluster. (б) – contrast estimates for the three levels of the factor.

при использовании строгих порогов достоверности ($p < 0.001$ на уровне вoxelя и $p < 0.05$ на уровне кластера). При использовании более либерального порога на уровне voxelя ($p < 0.01$) нейротизм коррелировал с активацией левого островка при кооперативной игре ($x = -44, y = -24, z = 22, k = 1858, T = 3.35$, cluster $p = 0.013$, FWE-corrected).

Межсубъектный анализ сходства репрезентаций

В условиях конкуренции значимые корреляции между матрицами межсубъектного сходства временной динамики нейронной активности и межсубъектного сходства ответов на вопросы шкалы нейротизма выявлены в большом количестве областей мозга, включая переднюю и заднюю части поясной извилины, медиальную префронтальную кору, предклинье, правую среднюю и нижнюю лобные извилины, правую височно-теменную связку, а также области двигательной и зрительной коры (рис. 4). В условиях кооперации значимые корреляции с нейротизмом выявлены в ОФК, правой нижней и верхней лобных извилинах, а также в островке, веретенообразной извилине и правой средней височной извилине (рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ поведенческих данных показывает, что задание было понятно участникам и вполне выполнимо в одиночном режиме. Трудности с выполнением заданий в двух других условиях отражают

трудности координации с партнером или конкуренции с соперником. Последнее задание является наиболее сложным, о чем свидетельствует самый низкий средний процент выполнения. С другой стороны, в тех случаях, когда заданную фигуру удавалось построить до конца, это происходило быстрее всего в условиях конкуренции. Очевидно, что в этих условиях участники стремились работать как можно быстрее и совершали больше ошибок. Участники с высокими оценками по шкале нейротизма в целом работали медленнее, и, очевидно, наибольшую трудность для них представляла координация усилий с партнером в условиях кооперации, о чем говорит корреляция нейротизма со временем, потребовавшимся для завершения целевой фигуры при кооперативной игре.

Одномерный GLM-анализ выявил деактивацию в затылочной области коры, которая отсутствовала в условиях одиночной игры и была максимальной в условиях соревнования. Локализация кластера перекрывается с задним центром сети режима по умолчанию (DMN, Raichle et al., 2001). Задний центр DMN является наиболее активной областью мозга в состоянии покоя (Raichle, Snyder, 2007), и степень его деактивации во время выполнения задачи пропорциональна сложности задачи (McKiernan et al., 2006; Singh, Fawcett, 2008). Таким образом, полученные нами результаты GLM согласуются с поведенческими данными, показывающими, что для большинства участников сложность задачи возрастает от одиночного режима через кооперацию к соревновательному режиму. Для испытуемых с высоким уровнем нейротизма, однако,

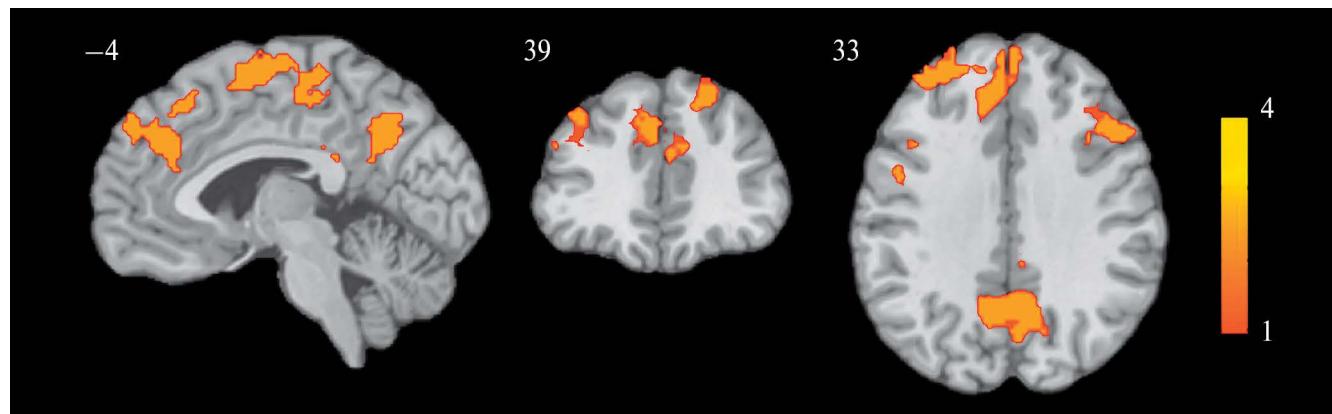


Рис. 4. Результаты прожекторного анализа репрезентативного сходства, показывающие области мозга, в которых межсубъектные корреляции временной динамики ответов во время конкурентной игры коррелировали с межсубъектным сходством ответов на вопросы шкалы нейротизма. Цветами обозначены значения z , полученные при сравнении истинных корреляций с нулевым распределением, рассчитанным по 1000 суррогатных наборов данных, при пороговом значении $z > 2.24$ ($p_{\text{corr}} < 0.0125$).

Fig. 4. Results of a searchlight representative similarity analysis showing brain regions in which inter-subject correlations of temporal dynamics of neural responses during competitive play correlated with inter-subject similarity of responses to items of the neuroticism scale. Colors indicate z values obtained by comparing the true correlations to the null distribution calculated from 1000 surrogate datasets, with a threshold value of $z > 2.24$ ($p_{\text{corr}} < 0.0125$).

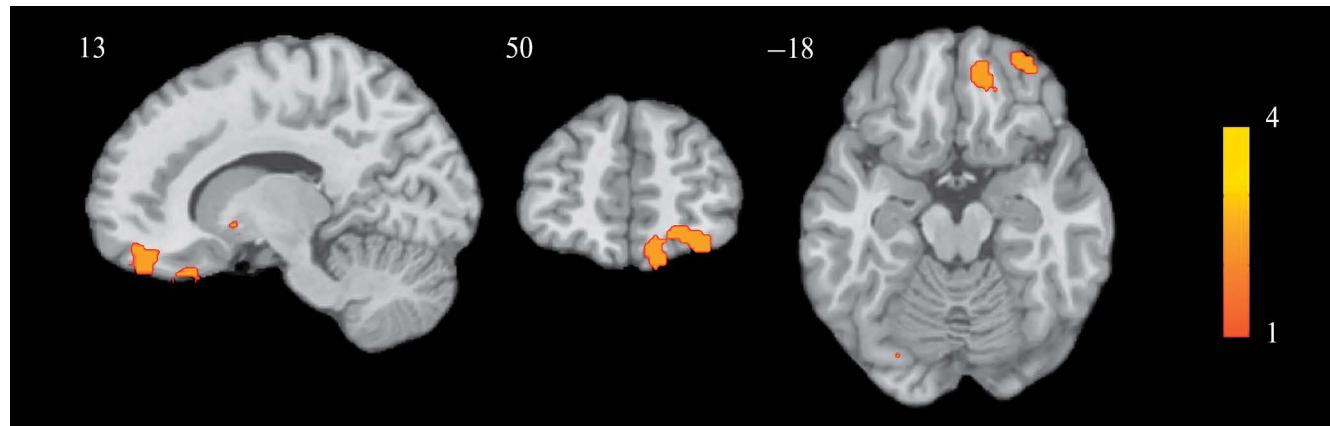


Рис. 5. Результаты прожекторного анализа репрезентативного сходства, показывающие области мозга, в которых межсубъектные корреляции временной динамики ответов во время кооперативной игры коррелировали с межсубъектным сходством ответов на вопросы шкалы нейротизма. Цветами обозначены значения z, полученные при сравнении истинных корреляций с нулевым распределением, рассчитанным по 1000 суррогатных наборов данных, при пороговом значении $z > 2.24$ ($p_{\text{corr}} < 0.0125$).

Fig. 5. Results of a searchlight representative similarity analysis showing brain regions in which inter-subject correlations of temporal dynamics of neural responses during cooperative play correlated with inter-subject similarity of responses to items of the neuroticism scale. Colors indicate z values obtained by comparing the true correlations to the null distribution calculated from 1000 surrogate datasets, with a threshold value of $z > 2.24$ ($p_{\text{corr}} < 0.0125$).

координация усилий с партнером в условиях кооперации может представлять трудность. Об этом говорят не только рассмотренные выше поведенческие данные, но и выявленная в условиях кооперации корреляция нейротизма с активацией островка, который, как известно, является главным корковым центром, реагирующим на стресс (Holtmann et al., 2022).

Анализ межсубъектного сходства репрезентаций в условиях кооперации выявил связь нейротизма с динамикой активности мозга в центрах, связанных с регуляцией эмоций, включая островок, ОФК и правую среднюю височную извилину. Активацию ОФК в условиях кооперации связывают с тем, что этот вид взаимодействий является социально желательным (Decety et al., 2004). Хотя МС-АРС не позволяет судить о связи нейротизма с большей или меньшей активацией ОФК в условиях кооперации, он показывает, что индивидуальная вариация динамики этой активации связана с нейротизмом.

В условиях конкуренции нейротизм коррелировал с динамикой активности большого количества областей мозга, включая все основные центры DMN (передняя и задняя части поясной извилины, медиальная префронтальная кора, предклинье, височно-теменная связка), центры регуляции внимания (средняя и нижняя лобные извилины), а также области двигательной и зрительной коры. Можно думать, что этот набор включает большинство областей мозга, участвующих в выполнении задания. То, что индивидуальная вариация динамики активности всех этих областей связана с вариацией оценок нейротизма, показывает, что

предрасположенность к эмоциональной нестабильности в значительной степени определяет степень привлечения когнитивных ресурсов в условиях конкуренции.

В целом, проведенный нами анализ показывает, что у предрасположенных к эмоциональной нестабильности людей социальные взаимодействия, как в контексте кооперации, так и в контексте конкуренции, связанны с большим напряжением, проявляющимся в активности центров социального мозга, регуляции эмоций и внимания. Это потенциально может приводить к накоплению последствий социального стресса и появлению симптомов отклонений психического здоровья.

ВЫВОДЫ

1. Для индивидов с высоким уровнем нейротизма координация усилий с партнером в условиях кооперации может представлять трудность. Об этом говорят и поведенческие (корреляция нейротизма со временем завершения фигуры), и нейровизуализационные данные (связь нейротизма с динамикой активности мозга в центрах регуляции стресса и эмоций).

2. У индивидов с высоким нейротизмом в условиях конкуренции центры социального мозга, регуляции внимания, а также двигательной и зрительной коры задействованы в большей степени.

3. У предрасположенных к эмоциональной нестабильности людей социальные взаимодействия, как в контексте кооперации, так и в контексте

конкуренции, связанны с большим напряжением, проявляющимся в активности центров социального мозга, регуляции эмоций и внимания. Это потенциально может приводить к накоплению последствий социального стресса и появлению симптомов отклонений психического здоровья.

ИНФОРМАЦИЯ О ВКЛАДЕ КАЖДОГО АВТОРА

Г.Г. Князев – концепция общее руководство работой, анализ данных, написание черновика статьи; А.Н. Савостьянов – руководство сбором данных, обсуждение результатов исследования, редактирование текста статьи; А.В. Бочаров – участие в сборе данных, обсуждение результатов исследования, редактирование текста статьи; А.Е. Сапрыгин – участие в сборе данных, предварительный анализ данных, обсуждение результатов исследования, редактирование текста статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-15-00142).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарны Дмитриенко Надежде Васильевне за помощь в сборе данных.

УКАЗАНИЕ НА ОТСУТСТВИЕ ИЛИ НАЛИЧИЕ КОНФЛИКТА ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование соответствовало Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации и было одобрено этическим комитетом Института нейронаук и медицины (приказ № 133 от 17.06.2021). Все участники дали письменное информированное согласие на участие в эксперименте.

УКАЗАНИЕ НА ДОСТУПНОСТЬ ПЕРВИЧНЫХ ДАННЫХ

Данные могут быть предоставлены по обоснованному запросу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Князев Г.Г., Митрофанова Л.Г., Бочаров В.А.* Валидизация русской версии маркеров факторов большой пятерки из международного пула личностных вопросов Гольдберга. Психологический журнал. 2010. 31:100–110.
- Chen P.H.A., Jolly E., Cheong J.H., Chang L.J.* Intersubject representational similarity analysis reveals individual variations in affective experience when watching erotic movies. NeuroImage. 2020. 216:116851.
- Decety J., Jackson P.L., Sommerville J.A., Chaminade T., Meltzoff A.N.* The neural bases of cooperation and competition: an fMRI investigation. Neuroimage. 2004. 23:744–751.
- Dimsdale-Zucker H.R., Ranganath C.* Representational similarity analyses: a practical guide for functional MRI applications. In *Handbook of behavioral neuroscience* (Vol. 28, pp. 509–525). 2018. Elsevier.
- Dunbar R.I.M.* The social brain: mind, language, and society in evolutionary perspective. Annu. Rev. Anthropol. 2003. 32:163–181.
- Finn E.S., Glerean E., Khojandi A.Y., Nielson D., Molfese P.J., Handwerker D.A., Bandettini P.A.* Idiosynchrony: From shared responses to individual differences during naturalistic neuroimaging. NeuroImage. 2020. 215:116828.
- Goldberg L.R.* The development of markers for the Big-Five factor structure. Psychological Assessment. 1992. 4:26–42.
- Goldber L.R.* The structure of phenotypic personality traits. American Psychologist. 1993. 48:26.
- Holtmann O., Franz M., Moenig C., Tenberge J.G., Schloßmacher I., Ivanova I., Preul C., Schwindt W., Melzer N., Miltner W.H.R., Straube T.* Lateralized deficits in arousal processing after insula lesions: behavioral and autonomic evidence. Cortex. 2022. 148:168–179.
- Kim Y., Saunders G.R., Giannelis A., Willoughby E.A., DeYoung C.G., Lee J.J.* Genetic and neural bases of the neuroticism general factor. Biol. Psychol. 2023. 184:108692.
- Kriegeskorte N., Mur M., Bandettini P.* Representational similarity analysis – connecting the branches of systems neuroscience. Front. Syst. Neurosci. 2008. 2:4.
- Lahey B.B.* Public health significance of neuroticism. American Psychologist. 2009. 64:241.
- Lee M., Ahn H. S., Kwon S. K., Kim S. I.* Cooperative and competitive contextual effects on social cognitive and empathic neural responses. Frontiers in Human Neuroscience. 2018. 12:218.
- Lin J., Li L., Pan N., Liu X., Zhang X., Suo X., Kemp G.J., Wang S., Gong Q.* Neural correlates of neuroticism: a coordinate-based meta-analysis of resting-state functional brain imaging studies. Neurosci. Biobehav. Rev. 2023. 146:105055.
- McKiernan K.A., D'Angelo B.R., Kaufman J.N., Binder J.R.* Interrupting the ‘stream of consciousness’: an fMRI investigation. NeuroImage. 2006. 29:1185–1191.

- Oosterhof N.N., Connolly A.C., Haxby J.V. CoSMoMVPA: multi-modal multivariate pattern analysis of neuroimaging data in Matlab/GNU Octave. *Frontiers in neuroinformatics*. 2016. 10:27.
- Polosan M., Baciu M., Cousin E., Perrone M., Pichat C., Bougerol T. An fMRI study of the social competition in healthy subjects. *Brain and cognition*. 2011. 77: 401–411.
- Prince K., Brown S. Neural correlates of partnered interaction as revealed by cross-domain ALE meta-analysis. *Psychology & Neuroscience*. 2022. 15:1.
- Prince J.S., Charest I., Kurzawski J.W., Pyles J.A., Tarr M.J., Kay K.N. Improving the accuracy of single-trial fMRI response estimates using GLMsingle. *Elife*. 2022. 11:e77599.
- Raichle M.E., MacLeod A.M., Snyder A.Z., Powers W.J., Gusnard D.A., Shulman G.L. A default mode of brain function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001. 98:676–682.
- Raichle M.E., Snyder A.Z. A default mode of brain function: a brief history of an evolving idea. *Neuroimage*. 2007. 37:1083–1090.
- Rhoads S.A., Cutler J., Marsh A.A. A feature-based network analysis and fMRI meta-analysis reveal three distinct types of prosocial decisions. *Social cognitive and affective neuroscience*. 2021. 16:1214–1233.
- Singh K.D., Fawcett I.P. Transient and linearly graded deactivation of the human default-mode network by a visual detection task. *NeuroImage*. 2008. 41:100–112.
- Smith S.M., Nichols T.E. Threshold-free cluster enhancement: Addressing problems of smoothing, threshold dependence and localisation in cluster inference. *NeuroImage*. 2009. 44:83–98.
- Tackett J.L., Lahey B.B. Neuroticism. *The Oxford Handbook of the Five Factor Model*. Oxford Academic. 2015. 39–56.
- Tsoi L., Dungan J., Waytz A., Young L. Distinct neural patterns of social cognition for cooperation versus competition. *NeuroImage*. 2016. 137:86–96.
- van Baar J.M., Chang L.J., Sanfey A.G. The computational and neural substrates of moral strategies in social decision-making. *Nature communications*. 2019. 10:1483.
- Worsley K.J., Marrett S., Neelin P., Vandal A.C., Friston K.J., Evans A.C. A unified statistical approach for determining significant signals in images of cerebral activation. *Hum. Brain Mapp.* 1996. 4:58–73.

THE RELATIONSHIP OF NEUROTICISM TO INDIVIDUAL DIFFERENCES IN THE DYNAMICS OF BRAIN ACTIVITY DURING SOCIAL INTERACTIONS

G. G. Knyazev^{a, #}, A. N. Savostyanov^{a, b, c}, A. V. Bocharov^{a, b}, A. E. Saprigyn^a

^a*Federal State Budgetary Scientific Institution “Scientific Research Institute of Neurosciences and Medicine”, Novosibirsk, Russia*

^b*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

^c*Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, SB RAS Novosibirsk, Russia*
[#]*e-mail: knyazev@physiol.ru*

Social interactions in the context of cooperation and competition are the most important type of activity of people, determining their well-being and success in life. The neural bases of this activity, as well as the role of personality-related individual differences, are insufficiently studied. In particular, the literature lacks data on the relationship between neuroticism and individual differences in brain activity during cooperative and competitive interactions, and the aim of our work was to fill this gap. fMRI data were recorded during task performance in individual, cooperative, and competitive modes and analyzed using the inter-subject representative similarity analysis. The results indicate that in emotionally unstable individuals, social interactions, in both cooperative and competitive contexts, are associated with greater strain, manifested in the activity of social brain, emotion regulation, and attentional centers. This can potentially lead to the accumulation of the effects of social stress and the emergence of symptoms of mental health problems.

Keywords: social interactions, cooperation, competition, fMRI, representational similarity analysis, multivariate pattern analysis

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

УДК 616-092.9

ДЛИТЕЛЬНАЯ СОЦИАЛЬНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ УХУДШАЕТ ОБУЧЕНИЕ
В ЗАДАЧЕ ДВУСТОРОННЕГО АКТИВНОГО ИЗБЕГАНИЯ
У САМОК КРЫС

© 2024 г. Н. А. Крупина*, Н. Н. Хлебникова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

*e-mail: krupina-na@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.07.2024 г.

После доработки 20.08.2024 г.

Принята к публикации 09.09.2024 г.

Дефицит социальных контактов у социально живущих видов, включая людей, провоцирует развитие хронического стресса, приводящего к расстройствам в психоэмоциональной сфере, развитию нарушений когнитивных функций и др. Ранее мы показали, что нарушения пространственной памяти и пассивного избегания у крыс, подвергнутых многомесячной социальной изоляции (СИ) с раннего возраста, более выражены у самок по сравнению с самцами. Исследований на самках недостаточно. Целью настоящей работы были оценка обучения в тесте условного рефлекса активного избегания (УРАИ) в парадигме двустороннего избегания и проверка сохранности навыка у самок крыс, подвергнутых СИ, начинавшейся после отсаживания крысят от матери и продолжавшейся до 10 мес. Обучение крыс в teste УРАИ начинали после 6.5 мес СИ, когда уровень тревожности и выраженность груминга у них были ниже, чем у крыс, которых содержали в группах. Крысы, подвергнутые СИ, совершали меньше реакций избегания, но больше реакций избавления, а также реже достигали критерия обучения. Через 24 ч после обучения латентный период реакций избавления у изолированных крыс был повышен, а максимальное число реакций избегания подряд – снижено. Через 2 мес после обучения не выявлено различий в сохранности УРАИ между крысами, проживавшими в разных условиях содержания. После 10 мес СИ уровень кортикостерона в сыворотке крови крыс был ниже, чем у крыс контрольной группы. Полученные результаты свидетельствуют о худшем обучении и сохранении навыка через сутки после обучения в teste УРАИ у крыс под влиянием длительной СИ.

Ключевые слова: длительная социальная изоляция, самки крыс, двусторонний условный рефлекс активного избегания, тревожность, груминг, двигательная и исследовательская активность, болевая чувствительность в teste «Hot Plate», кортикостерон

DOI: 10.31857/S0044467724060076

Дефицит социальных контактов у социально живущих видов, включая людей, провоцирует развитие хронического стресса, приводящего к неблагоприятным последствиям для ЦНС – расстройствам в психоэмоциональной сфере (da Silva et al., 2024; Lapiz et al., 2003; Mumtaz et al., 2018; Santini et al., 2020), нарушениям коммуникабельности, смене и появлению неадаптивных стратегий преодоления (Ширенова и др., 2022а; Guo et al., 2024; Tanaka et al., 2019), усилинию восприимчивости к действию других стрессоров (Sailer et al., 2022). СИ провоцирует развитие нарушений когнитивных функций (Крупина, Ширенова, 2023), что проявляется нарушением способности к переключению внимания (McLean et al., 2008), дефектами ассоциативного обучения (Левшина и др., 2005;

Del Arco et al., 2004; Krupina et al., 2020) и привыкания (неассоциативного обучения) по показателям локомоторной активности и акустического стартл-ответа (Хлебникова и др. 2018; Weiss et al., 2004), пространственной памяти (Krupina et al., 2020), распознавания социального и нового объекта (Bianchi et al., 2006; Mumtaz et al., 2018). Однако нарушения привыкания (по локомоторной активности), пространственной памяти, а также распознавания нового объекта под влиянием СИ выявляются не всегда (Хлебникова и др. 2018; Broadfoot et al., 2023; Nikolaienko et al., 2023). Более того, СИ может приводить к улучшению показателей памяти при обучении в водном лабиринте Морриса и распознавании новых объектов (см. табл. 1 в обзоре (Крупина, Ширенова, 2023)).

Различные формы защитного поведения подвержены влиянию хронического стресса СИ (Zelikowsky et al., 2018) – это снижение контекстуальной обусловленности страхом, повышенная реактивность на электрошок, усиление фризинга в ответ на угрожающий ультразвуковой стимул и др. Ухудшение выработки условного рефлекса активного избегания (УРАИ) было показано у самцов крыс Wistar и у крыс Sprague-Dawley обоего пола после 1.5–2 мес СИ, которую начинали сразу после отсаживания от матери (Левшина и др., 2005; Viveros et al., 1990); отмечено (Viveros et al., 1990), что самки справлялись с решением задачи в тесте УРАИ лучше, чем самцы. В работах последних лет многие авторы отмечают недостаточность доклинических исследований на самках (Mauvais-Jarvis et al., 2017), и этот пробел требует восполнения.

Подростковый возраст – это период развития, связанный со значительными изменениями в ЦНС, приводящими под влиянием внешних и внутренних факторов к формированию того или иного типа реагирования на воздействия у взрослых особей, в основе чего лежат изменения чувствительности к стрессирующим стимулам и вознаграждению, во многом обусловленные нейропластическими изменениями (Dayananda et al., 2023; Walker et al., 2019). В последнее время влияние неблагоприятных воздействий в раннем возрасте связывают с включением трансгенерационных механизмов наследования (выделяют роль эпигенетики, митохондрий, некодирующих РНК) (Holuka et al., 2024), что определяет стойкость возникающих нарушений. К неблагоприятным стрессирующим факторам раннего возраста относится в том числе уязвимость перед социальными невзгодами, например СИ в сенситивный период развития (подростковый период у крыс) (Lapiz et al., 2003; Lukkes et al., 2009; Miskolczi et al., 2019).

В подавляющем большинстве исследований оценку когнитивных функций у грызунов проводили после СИ с ранним началом и длительностью не более 4 мес. В наших исследованиях на модели СИ, которая начиналась после отсаживания крысят от матери и продолжалась до 9 мес, нарушения пространственной памяти и пассивного избегания оказались более выражены у самок по сравнению с самцами (Krupina et al., 2020). По результатам оценок поведения и состояния ГГА-оси мы предположили развитие у самок крыс адаптивных изменений в течение длительной СИ (Ширенова и др., 2021; Ширенова и др., 2022a, 2022b). Однако до сих пор не известно, оказывает ли СИ, пролонгированная до многих месяцев, влияние на выработку навыка и сохранение УРАИ. Целью настоящей работы была оценка эффективности обучения и проверка сохранности навыка в teste УРАИ в парадигме двустороннего избегания у самок крыс, подвергнутых длительной СИ. Принимая во внимание то, что

тревога имеет решающее значение на этапе выработки двустороннего избегания (Fernández-Teruel, Tobeña, 2020; Vicens-Costa et al., 2011), а также то, что различия в болевой чувствительности и уровне кортикостерона в крови (Bernardi et al., 1986) могут оказывать влияние на обучение с болевым подкреплением, мы дополнительно оценивали у крыс уровень тревожности, болевую чувствительность, уровень кортикостерона в крови и вес надпочечников как одного из органов – маркеров стресса.

МЕТОДИКА

Работа выполнена на 58 самках крыс Wistar. Все процедуры на животных проводили под контролем Этического комитета ФГБНУ «НИИОПП». День рождения крысят считали нулевым постнатальным днем (ПНД). В ПНД1 определяли пол новорожденных крысят и для дальнейшей работы оставляли только детенышей женского пола. Крысят распределяли самкам для вскармливания таким образом, чтобы у каждой самки было по 5–6 крысят из разных пометов. В ПНД27, что соответствовало подростковому возрасту крысят (Lukkes et al., 2009; McCormick, Mathews, 2010; Green, McCormick, 2013), после первичной оценки двигательной активности их отсаживали от матерей, сохраняя состав групп. Болевую чувствительность оценивали в ПНД28. В ПНД31 животных распределили на контрольных («К») ($n = 30$) (групповое содержание по 5 особей в клетке размером 37.0 x 57.0 x 19.0 см) и социально изолированных («СИ») ($n = 28$) (одиночное содержание в клетке размером 36.5 x 20.5 x 14.0 см) таким образом, чтобы по исходным показателям поведения и болевой чувствительности, а также по весу группы «СИ» и «К» не различались.

В возрасте 3, 5.5, 8.5 и 10.5 мес у крыс оценивали болевую чувствительность, двигательную активность и уровень тревожности. Тесты следовали в указанном порядке, интервалы между ними составляли 1–3 дня.

Оценка болевой чувствительности. Определяли величину порогов болевых реакций (ПБР) крыс в teste «Hot Plate» ($t = 55.0 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$) («TSE Systems», Германия) по латентным периодам отдергивания передней, задней лапок и прыжка, независимо от того, завершался ли он выпрыгиванием. Если крыса не выпрыгивала из камеры в течение 30 с, тестирование прекращали.

Оценка двигательной (горизонтальной) активности. Тестирование в автоматизированном «Открытом поле» проводили в камерах из прозрачного материала размером 48 x 48 x 21 см (Opto-Varimex, «Columbus Instruments», США) при освещенности 17 люкс в течение 10 мин. Оценивали длину

пройденного пути (см) и привыкание (по снижению двигательной активности в динамике тестирования).

Оценка уровня тревожности. Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) проводили с использованием оборудования и программного обеспечения видеосистемы «VideoMot2» («TSE Systems», Германия). ПКЛ из черного пластика состоит из двух открытых (ОР, 43 x 14 см) и двух закрытых (ЗР, 43 x 14 x 22 см) рукавов, расположенных взаимно перпендикулярно друг к другу, с центральной площадкой 14 x 14 см (освещенность в центре 24 люкс). ПКЛ находился на высоте 70 см от пола. Рассчитывали предпочтение ОР как отношение длительности пребывания крысы в ОР к суммарной длительности пребывания в ОР и ЗР (Ari et al., 2019). Чем выше предпочтение ОР, тем менее тревожны крысы. Дополнительно оценивали суммарное время, проведенное в дистальных отделах обоих ОР лабиринта (Luedke et al., 2013). По числу и длительности вертикальных стоек и эпизодов груминга в ПКЛ судили соответственно об исследовательской активности (Ari et al., 2019) и стресс-индуцированном эмоциональном напряжении животных (Mu et al., 2020). Длительность тестирования составляла 5 мин.

Выработка и проверка сохранности условного рефлекса активного избегания (УРАИ). Выработку УРАИ с проверкой сохранения навыка спустя сутки проводили у крыс обеих групп начиная с возраста 7.5 мес (после 6.5 мес СИ в опытной группе), процесс обучения всех крыс в обеих группах занимал 4 недели. Обучение крыс в рабочие дни начинали в 10–11 часов утра и заканчивали не позже 15 часов дня. В каждый день обучения брали крыс из обеих групп. В один день и обучали крыс, и проверяли сохранность навыка у обученных в предыдущий день животных. По окончании выработки УРАИ и первой проверки его сохранности (через сутки) у всех крыс в возрасте 8.5 мес тестировали поведение. Дополнительно проводили проверку сохранности навыка у животных через 2 мес после обучения; этот временной интервал выдерживали для каждого животного. Тестирование поведения проводили по окончании этой проверки у всех крыс в возрасте 10.5 мес.

Навык вырабатывали с использованием парадигмы двустороннего избегания аверсивного воздействия в челночной камере с решетчатым металлическим полом, которая была разделена на два отсека перегородкой с отверстием (Multi Conditioning System, TSE, Германия). Тестирование сохранности памяти проводили через 24 ч и через 2 мес после обучения. Все этапы эксперимента проводили на фоне белого шума 60 дБ при освещенности 127 люкс; камера находилась в звукоизолирующем коробе. После 5 мин адаптации, в течение которых крыса могла свободно исследовать камеру, подавали условный сигнал, представлявший собой сочетание светового (белый свет,

480 люкс) и звукового (2000 Гц, 67 дБ) сигналов. Условный сигнал без аверсивного подкрепления подавали в течение 10 с. Если в течение этого времени крыса не переходила в другой отсек, на пол камеры без задержки подавали переменный ток (0.5 мА, 1 Гц) (безусловный аверсивный сигнал) в течение 8 с. При переходе крысы в другой отсек камеры до истечения 8 с ток отключали. Действие условного сигнала прекращали вместе с отключением тока. Максимальная продолжительность одной попытки составляла 18 с. Попытки следовали с 20-секундными интервалами. Сессия обучения для всех крыс состояла из 100 попыток, длительность сессии обучения составляла около часа. Активным избеганием считали переход крысы в другой отсек камеры после подачи условного сигнала, но до начала действия электрического тока. Переход во время действия безусловного сигнала считали реакцией избавления. Критерием обучения считали 6 реакций избегания подряд. Сохранность памяти оценивали по той же схеме, но число попыток сокращали до 50. Длительность сессии при проверке сохранности навыка составляла около получаса. Оценивали число реакций и латентный период реакций избегания и избавления при переходе в безопасный отсек камеры, число реакций без ответа, число переходов в период адаптации и в межсигнальные периоды, а также максимальное число реакций избегания, следующих подряд, и число раз достижения критерия обучения на этапах обучения и проверки сохранности навыка.

Определение уровня кортикостерона (КОРТ) в сыворотке крови и веса надпочечников. Анализ данных показателей проводили только у части крыс в каждой группе. Из обеих групп крысы были выбраны для анализа случайным образом, без учета их поведенческих характеристик. Таким образом были сформированы малые выборки (группа «К», n = 9; группа «СИ», n = 8). Для того чтобы определить, насколько поведение животных в этих малых выборках отражало выявленные изменения в поведении животных в больших группах, проводили дополнительное межгрупповое сравнение крыс из малых выборок в возрасте 10.5 мес по тем же показателям: весу, двигательной активности, уровню тревожности, выраженности груминга, уровню исследовательской активности, болевой чувствительности, а также сохранности УРАИ через 2 мес после обучения. В возрасте 11 мес животных выводили из эксперимента путем декапитации с использованием гильотины; у крыс из малых выборок немедленно собирали образцы крови из туловища в вакуумные пробирки с активатором свертывания (SiO_2) и разделительным гелем (Sanamedical, Россия). Сыворотку получали путем центрифugирования (2000 g, 15 мин, Eppendorf Centrifuge 5702R), помещали аликовты каждой пробы в отдельные пробирки и хранили при температуре -80°C .

Твердофазный иммуноферментный анализ проводили с помощью набора ELISA (DRG Instruments GmbH, Германия) по инструкции производителя. Данные считывали с помощью микропланшетного ридера для иммуноферментных анализов Immunochem-2100 (High Technology, Inc., USA) и строили 4-параметровую логистическую кривую с использованием ресурса Myassays.com для экстраполяции данных. Уровни КОРТ выражали в нг/мл.

Сразу после декапитации животного выделяли и взвешивали надпочечники, рассчитывали их относительный вес в мг/кг веса крысы.

Статистическую обработку данных проводили по алгоритмам программы «STATISTICA 13.0.5.17». В случае, если гипотезу о нормальном характере распределения данных не отвергали, использовали параметрический дисперсионный анализ Two Way ANOVA с или без повторных измерений с последующим апостериорным анализом по тесту LSD Fisher (в таких случаях данные представлены в виде $M \pm m$). Оценивали влияние факторов: «Содержание» (градации: «К»; «СИ»), «Возраст» (градации: 1; 3; 5.5; 8.5 и 10.5 мес), «Минуты» (градации: 1–10 минута, оценка привыкания). Если гипотезу о нормальном характере распределения данных отвергали, применяли непараметрический непарный критерий Манна – Уитни либо непараметрический Kruskall – Wallis ANOVA с последующим множественным сравнением средних рангов; в таких случаях данные представлены в виде медианы с первым и третьим квартилями – Me (Q1; Q3). Частоту встречаемости признака оценивали с помощью двухстороннего точного метода Фишера (ТМФ). Принятый уровень значимости составлял 5%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Выявлено влияние фактора «Возраст» на вес крыс: $F(4, 270) = 811.9, p < 0.001$. Вес крыс в обеих группах исходно не различался и нарастал до возраста 8.5 мес (вес в группах «СИ» и «К» соответственно, в возрасте 1 мес: 67.9 ± 1.7 г и 64.8 ± 1.7 г; в возрасте 3 мес: 245.1 ± 4.2 г и 248.8 ± 4.5 г; в возрасте 5.5 мес: 288.0 ± 7.5 г и 288.1 ± 6.6 г; в возрасте 8.5 мес.: 317.9 ± 6.6 г и 318.9 ± 6.1 г; в возрасте 10.5 мес: 325.8 ± 7.0 г и 322.0 ± 7.1 г). Динамика нарастания в группах «СИ» и «К» не различалась. Взаимодействия факторов «Возраст» х «Содержание», а также влияния фактора «Содержание» не обнаружено.

Двигательная (горизонтальная) активность

Выявлено взаимодействие факторов «Содержание» х «Возраст»: ($F(4, 277) = 2.820, p = 0.025$). В возрасте 5.5 мес двигательная активность крыс «СИ» была выше, чем у крыс «К» (рис. 1), что

свидетельствовало о развитии гиперактивного фенотипа после 4.5 мес СИ. У самок группы «К» повышение двигательной активности относительно ее величины в возрасте 1 мес было статистически значимым на двух сроках обследования – в возрасте крыс 3 и 8.5 мес, а у самок группы «СИ» увеличение двигательной активности относительно исходного уровня отмечалось в возрасте крыс 3 мес и 5.5 мес (в последнем сравнении выявлен тренд: $p = 0.052$).

Обнаружено влияние фактора «Возраст» на двигательную активность ($F(4, 277) = 8.693, p < 0.001$): ее величина была максимальной у крыс в возрасте 3 мес (по сравнению с возрастом крыс 1, 5.5 и 10.5 мес – $p < 0.001$; по сравнению с возрастом 8.5 мес – $p = 0.051$). Фактор «Минуты» также оказывал влияние на двигательную активность ($F(9, 2493) = 284.833, p < 0.001$): отмечали постепенное статистически значимое снижение двигательной активности по мере тестирования. Выявлено взаимодействие факторов «Минуты» х «Возраст»: в возрасте 3 мес поминутная двигательная активность крыс в большинстве случаев превышала таковую на других сроках обследования. Взаимодействие факторов «Минуты» х «Содержание», а также «Минуты» х «Содержание» х «Возраст» не выявлено,

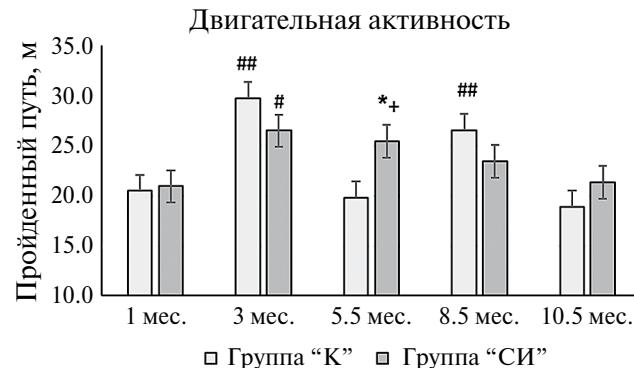


Рис. 1. Двигательная активность крыс в динамике обследования. По горизонтальной оси указан возраст животных. По вертикальной оси – пройденный путь (м) в сумме за 10 мин тестирования в автоматизированном teste «открытого поля». Светлые столбики – группа «К», темные столбики – группа «СИ». * – $p < 0.020$ по сравнению с крысами группы «К» в том же возрасте; ** – $p < 0.001$; # – $p < 0.020$; + – $p = 0.052$ по сравнению со значением в возрасте 1 мес в той же группе (TWO WAY ANOVA, post hoc LSD-критерий).

Fig. 1. Rat locomotor activity during the examination's dynamics. The horizontal axis shows rats' age. The vertical axis shows distance covered (m) in 10 min of observation in the automated Open Field test. Light columns – group “K”, dark columns – group “СИ”. * $p < 0.020$ compared with rats of group “K” of the same age; ** $p < 0.001$; # $p < 0.020$; + $p = 0.052$ compared with the same group at age one month (TWO WAY ANOVA, post hoc LSD test).

что свидетельствует об отсутствии различий в привыкании по данному показателю между крысами «СИ» и «К» на всех сроках обследования.

Уровень тревожности

В teste ПКЛ у крыс группы «СИ» по сравнению с крысами группы «К» в возрасте 3 мес выявлено меньшее предпочтение ОР и меньшее время выхода в дистальные отделы ОР, а в возрасте 8.5 мес, напротив, отмечено более высокое предпочтение ОР и большее время выхода в дистальные отделы ОР (табл. 1). Также после 7.5 мес СИ выявлено увеличение доли крыс, выходивших в дистальные отделы ОР, по сравнению с группой «К»: соответственно 85.7% и 44.8% ($p = 0.002$, ТМФ). Данные свидетельствуют о повышенном уровне тревожности у крыс после 2 мес СИ и сниженном уровне тревожности после 7.5 мес СИ по сравнению с уровнем тревожности у крыс контрольной группы.

Вертикальная активность крыс группы «СИ» на протяжении всего обследования в ПКЛ статистически значимо не отличалась от активности крыс в группе «К» (см. табл. 1). Выраженность груминга как по числу эпизодов, так и по его общей длительности у крыс группы «СИ» в возрасте 8.5 мес была снижена в сравнении с крысами группы «К» (см. табл. 1).

Внутригрупповое сравнение у крыс группы «К» выявило снижение предпочтения ОР [Kruskal – Wallis test: $H (3, N = 113) = 29.343, p < 0.001$] и времени выхода в дистальные отделы ОР [Kruskal-Wallis test: $H (3, N = 113) = 27.676, p < 0.001$], начиная с возраста 5.5 мес, тогда как у крыс группы «СИ» статистически значимых изменений величины данных показателей в динамике обследования не было выявлено [соответственно Kruskal-Wallis test: $H (3, N=108) = 6.265, p = 0.100$ и $H (3, N = 108) = 6.396, p = 0.094$] (см. табл. 1). Результаты свидетельствуют о повышении уровня тревожности с возрастом у крыс группы «К», но не у крыс группы «СИ».

Возрастная динамика снижения вертикальной активности была схожа в группах «К» и «СИ». С возраста 8.5 мес у крыс обеих групп отмечали снижение числа стоек [Kruskal – Wallis test, группы «К» и «СИ» соответственно: $H (3, N = 113) = 24.413, p < 0.001$; $H (3, N = 108) = 38.315, p = < 0.001$], а в возрасте 10.5 мес – снижение длительности вертикальной активности [Kruskal – Wallis test, группы «К» и «СИ» соответственно: $H (3, N = 113) = 18.613, p < 0.001$; $H (3, N = 108) = 25.017, p < 0.001$].

Изменения выраженности груминга у крыс в группе «К» были отмечены в возрасте 10.5 мес [Kruskal – Wallis test, число эпизодов: $H (3, N = 113) = 9.221, p = 0.027$; длительность груминга: $H (3, N = 113) = 13.147, p = 0.004$]:

Таблица 1. Показатели поведения в teste «Преподнятый крестообразный лабиринт» у крыс, которых содержали в условиях длительной изоляции («СИ»), и крыс контрольной группы («К»)
Table 1. Indicators of the behavior in the Elevated Plus Maze Test in rats kept in prolonged social isolation (СИ) compared with rats kept in groups (К)

| Возраст крыс | Показатели | | | | | |
|--------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| | Предпочтение ОР (% времени) | Время в дистальных отделах ОР (с) | Число стоек | Длительность стоек (с) | Число эпизодов груминга | Длительность груминга (с) |
| 3 мес. | 26.45 (13.3; 37.9) (n = 30) | 17.4 (6.2; 22.4)** (n = 29) | 25.1 (8.7; 31.3) (n = 30) | 11.4 (3.3; 21.5)* (n = 29) | 11.0 (8.0; 14.0) (n = 30) | 29.4 (16.0; 36.4) (n = 30) |
| 5.5 мес. | 9.0 (0.3; 21.5)**# (n = 25) | 12.7 (4.8; 22.2) (n = 25) | 4.5 (0; 13.2)**# (n = 25) | 9.0 (0; 20.5) (n = 25) | 10.0 (8.0; 14.0) (n = 25) | 34.0 (20.5; 45.4) (n = 25) |
| 8.5 мес. | 4.1 (0; 10.9)**# (n = 29) | 19.4 (7.6; 35.7)** (n = 28) | 0 (0; 5.3)**# (n = 29) | 13.1 (6.0; 37.5)** (n = 28) | 7.0 (5.0; 10.0)**# (n = 29) | 8.0 (5; 9)**# (n = 28) |
| 10.5 мес. | 3.8 (0; 14.8)**# (n = 29) | 7.15 (0.5; 21.5) (n = 26) | 0 (0; 12.1)**# (n = 29) | 3.2 (0; 13.7) (n = 26) | 6.0 (3.0; 7.0)**# (n = 29) | 4.5 (2.0; 6.0)**# (n = 26) |

Примечание. Данные приведены в виде медианы с первым и третьим квартилями; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; + $p < 0.07$ по сравнению с величиной показателя в группе «К» в соответствующем возрасте (тест Манна – Уитни); # $p < 0.001$; # $p < 0.05$ по сравнению со значением в возрасте 3 мес. в той же группе (Kruskal – Wallis test со множественным сравнением средних рангов); п – число крыс в группе.

Note: The data are presented as Median with the first and third quartiles; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; + $p < 0.07$ compared with the rats in group “K” at the corresponding age (Mann – Whitney test); # $p < 0.001$; # $p < 0.05$ compared with rats of the same group at the age of 3 months (Kruska – Wallis test with multiple comparisons of mean ranks); n is the number of rats in the group.

число эпизодов груминга было меньше, чем в возрасте 5.5 мес, а длительность груминга — меньше, чем в возрасте 8.5 мес (эти различия в табл. 1 не показаны). У крыс группы «СИ» статистически значимые изменения в выраженности груминга в динамике обследования не были выявлены [Kruska — Wallis test, число эпизодов груминга и длительность груминга соответственно: $H(3, N = 108) = 7.064, p = 0.070$ и $H(3, N = 108) = 5.042, p = 0.169$].

Болевая чувствительность

Влияния фактора «Содержание» ни на один из использованных показателей болевой чувствительности не выявлено (табл. 2). Фактор «Возраст» оказывал влияние только на ПБР прыжка: ($F(4.224) = 8.698, p < 0.001$). С возрастом ПБР прыжка снижались. Взаимодействия факторов «Возраст» х «Содержание» ни по одному из показателей болевой чувствительности не выявлено. Однако внутригрупповая динамика ПБР прыжка была различна: у крыс группы «К» величина ПБР прыжка снижалась относительно исходного уровня (в возрасте 1 мес), начиная с возраста 5.5 мес, тогда как у крыс группы «СИ» такое снижение было обнаружено только в возрасте 10.5 мес. Таким образом, снижение величины ПБР, связанное с повышением болевой чувствительности с возрастом, у самок крыс группы «СИ» происходило медленнее, чем у крыс, находившихся на групповом содержании.

УРАИ

На этапе обучения самки группы «СИ» совершили меньше реакций избегания и больше реакций избавления по сравнению с группой «Контроль» (рис. 2 а, 2 б). Латентный период реакций избегания и избавления в группах не различался (рис. 2 в, 2 г). При проверке памяти через 24 ч после обучения число реакций избегания и избавления, а также латентный период реакций избегания в группах «СИ» и «К» не различались, однако латентный период реакций избавления у крыс группы «СИ» был статистически значимо больше, чем в группе «К». Через 2 мес после обучения различий между группами ни по числу избеганий/избавлений, ни по латентному периоду этих реакций выявлено не было.

На этапе обучения доля крыс, не достигших критерия обучения, в группе «СИ» составила 53.6% (15 из 28 крыс), а в группе «К» — 26.7% (8 из 30 крыс) ($p = 0.059$; ТМФ). Из крыс, достигших критерия обучения, крысы группы «СИ» достигали критерия меньшее число раз и демонстрировали тенденцию к снижению максимального числа избеганий подряд в сравнении с крысами группы «К» (табл. 3). Различие в числе попыток до достижения критерия также не было статистически значимым, хотя просматривалось увеличение показателя у крыс группы «СИ».

При проверке сохранности памяти через 24 ч после обучения крысы, достигшие критерия обучения, которых содержали в условиях СИ, демонстрировали снижение максимального числа избеганий подряд в сравнении с крысами группы

Таблица 2. Пороги болевых реакций (ПБР) в тесте «Hot Plate» у крыс, которых содержали в условиях длительной социальной изоляции («СИ»), в сравнении с крысами, которых содержали в группах («К»)
Table 2. Pain thresholds (ПБР) in the Hot Plate test in rats kept in prolonged social isolation (СИ) compared with rats kept in groups (К)

| Возраст крыс | Показатели, ПБР (с) | | | | | |
|--------------|----------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|------------------------|------------------------|
| | Облизывание передней лапки | | Облизывание задней лапки | | Прыжок | |
| | Самки «К» | Самки «СИ» | Самки «К» | Самки «СИ» | Самки «К» | Самки «СИ» |
| 1 мес | 11.2±1.4 (21) | 12.8±1.3 (n = 24) | 14.2±1.3 (n = 13) | 13.3±1.3 (n = 13) | 18.3±1.9 (n = 16) | 15.6±2.0 (n = 12) |
| 3 мес | 11.1±1.0 (n = 19) | 12.6±1.2 (n = 22) | 12.2±1.2 (n = 21) | 13.7±1.2 (n = 24) | 15.0±1.4 (n = 26) | 15.7±1.4 (n = 25) |
| 5.5 мес | 12.0±1.4 (n = 9) | 14.4±1.8 (n = 10) | 10.5±0.8 (n = 14) | 10.6±1.1 (n = 11) | 8.6±1.2 ## (n = 24) | 11.5±1.6 (n = 23) |
| 8.5 мес | 13.7±2.9 (n = 7) | 14.1±1.5 (n = 10) | 11.4±0.9 (n = 8) | 13.5±1.5 (n = 13) | 13.0±1.2 # (n = 29) | 14.8±1.4 (n = 25) |
| 10.5 мес | 12.5±1.3 (n = 6) | 10.4±1.3 (n = 6) | 11.6±1.4 (n = 10) | 10.9±0.8 (n = 10) | 9.8±1.8 ## (n = 28) | 8.6±1.2 ## (n = 26) |

Примечание. Данные приведены в виде $M \pm SEM$; ## $p < 0.001$; # $p < 0.030$ по сравнению с величиной ПБР прыжка у крыс в возрасте 1 мес. в соответствующей группе (LSD Fisher тест после Two Way ANOVA); n — число крыс в группе.

Note. Data are presented as $M \pm SEM$; ## $p < 0.001$; # $p < 0.030$ compared with the rat pain threshold' values of jumping at the age of 1 month in the corresponding group (Two Way ANOVA followed by LSD Fisher test); n is the number of rats in the group.

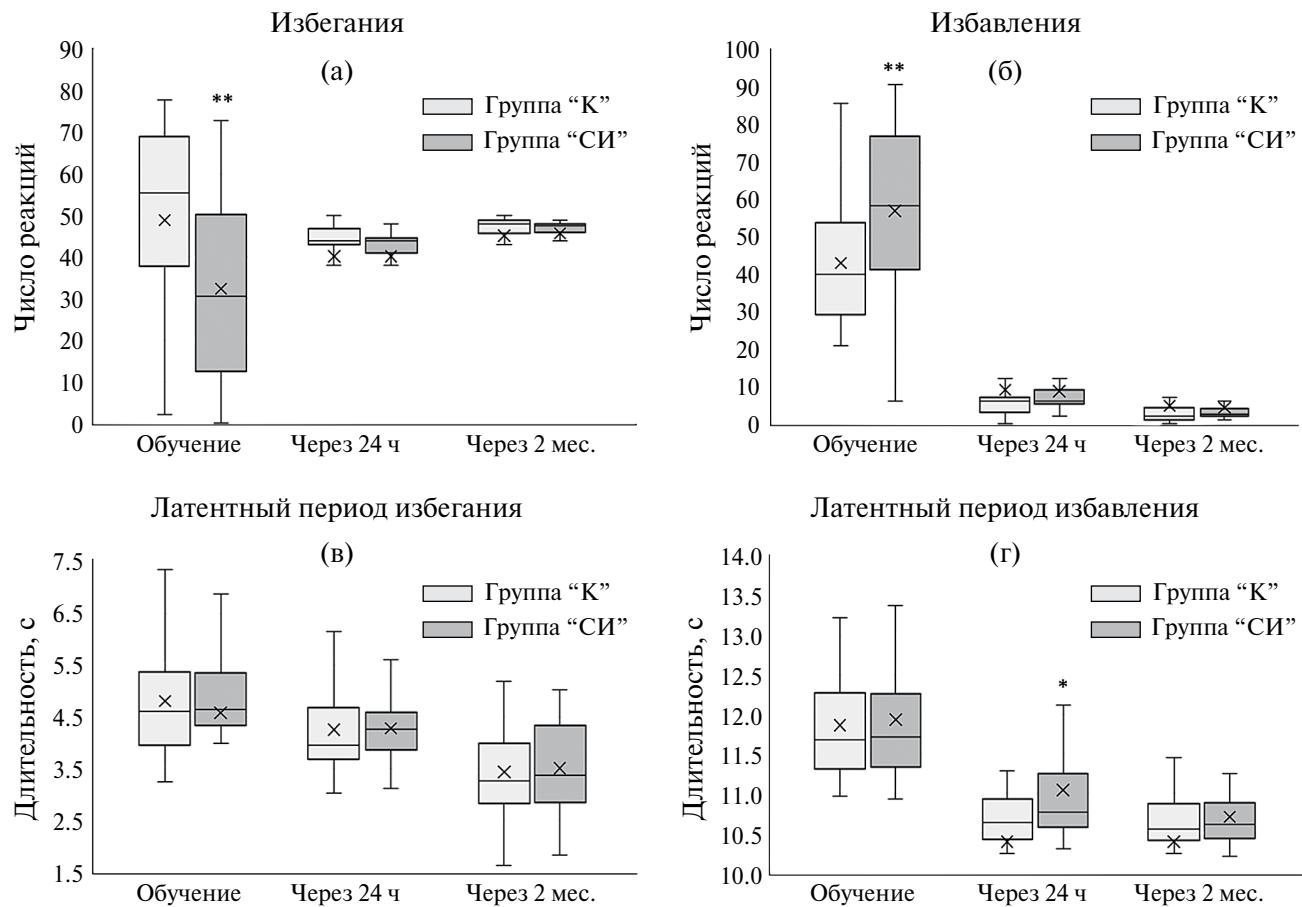


Рис. 2. Показатели поведения крыс при выработке и проверке навыка в тесте УРАИ. (а) – число реакций избегания; (б) – число реакций избавления; (в) – латентный период реакций избегания, с; (г) – латентный период реакций избавления, с; «К» – контроль, крысы, которых содержали в группах; «СИ» – крысы, которых содержали в социальной изоляции. Светлые столбики – группа «К», темные столбики – группа «СИ». По горизонтальной оси – этапы в задаче двустороннего условного активного избегания: обучение, проверка памяти через 24 ч и через 2 мес. На этапе выработки навыка (обучение) крысам были предъявлены 100 попыток, на этапах проверки памяти (тестирование) – по 50 попыток. ** – $p < 0.01$; * – $p < 0.05$ по сравнению с крысами группы «К» (критерий Манна – Уитни). На диаграмме размаха: высота блока – интерквартильный размах (25%–75%), низ блока – Q1 (первый квартиль), верх блока – Q3 (третий квартиль), медиана обозначена поперечной чертой, \times – среднее арифметическое по выборке, вертикальные линии («усы») – минимальное и максимальное значения выборки. Выбросы на рисунке не показаны.

Fig. 2. Indicators of the behavior of rats during the acquisition and retention in the Active Avoidance test. (a) – number of avoidance responses, (b) – number of escape responses, (v) – latency to avoid, (r) – latency to escape; “K” – control, rats kept in groups; “СИ” – rats kept in social isolation. Light columns – group “K”, dark columns – group “СИ”. The horizontal axis shows the stages in the two-way active avoidance conditioning task: acquisition, retention after 24 hours and after 2 months. At the acquisition stage (training), rats were presented with 100 trials, and at the retention stages (testing) – 50 trials. ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$ compared with rats of group “K” (Mann-Whitney test). In the box and whiskers plot: box height, interquartile range (25%–75%); bottom of the box, Q1 (first quartile); top of the box, Q3 (third quartile), median is marked with the transverse line, Q2 (second quartile); \times – arithmetic mean for the sample, vertical lines (“whiskers”) – minimum and maximum sample values. The outliers are not shown in the plot.

«К» (см. табл. 3). Через 2 мес после обучения межгрупповых различий ни по одному из вышеуказанных показателей не наблюдали.

Таким образом, крысы, проживавшие в условиях СИ, демонстрировали выраженное ухудшение обучения и некоторые признаки нарушения сохранения памяти через сутки, но не через 2 мес после обучения.

Ни в период обучения, ни при проверке сохранности навыка не было выявлено межгрупповых различий в числе переходов из одного отсека камеры в другой в период адаптации и в межсигнальные интервалы, а также в числе попыток, не завершившихся переходом в другой отсек камеры (во всех случаях $p > 0.05$; тест Манна – Уитни).

Таблица 3. Характеристики выработки и сохранения навыка в teste УРАИ у крыс, которых содержали в условиях длительной социальной изоляции («СИ»), в сравнении с крысами, которых содержали в группах («К»)

Table 3. Characteristics of acquisition and retention in the Active Avoidance test in rats kept in prolonged social isolation (СИ) compared with rats kept in groups (K)

| Возраст крыс | Показатели, ПБР (с) | | | | | |
|----------------------------|---|--------------------------------|---|-----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| | Сколько раз достигнут критерий научения | | Число попыток до достижения критерия научения | | Максимальное число избеганий подряд | |
| | Самки «К» | Самки «СИ» | Самки «К» | Самки «СИ» | Самки «К» | Самки «СИ» |
| Обучение | 4.0 (2.0; 5.0) (n = 22) | 2.0 (1.0; 3.0)* (n = 13) | 40.5 (33.0; 47.0) (n = 22) | 53.0 (42.0; 73.0)+ (n = 13) | 16.0 (11.0; 21.0) (n = 22) | 10.0 (8.0; 16.0)+ (n = 13) |
| Через 24 ч после обучения | 2.0 (2.0; 3.0) (n = 26) | 2.0 (1.0; 3.0) (n = 25) | 5.5 (2.0; 8.0) (n = 26) | 8.0 (2.0; 10.0) (n = 25) | 27.0 (19.0; 32.0) (n = 26) | 19.0 (14.0; 24.0)* (n = 25) |
| Через 2 мес после обучения | 2.0 (1.0; 2.0) (n = 29) | 2.0 (1.0; 3.0) (n = 28) | 2.0 (1.0; 6.0) (n = 29) | 1.5 (0; 3.5) (n = 28) | 36.0 (27.0; 44.0) (n = 29) | 32.0 (24.5; 38.5) (n = 28) |

Примечание. Данные приведены в виде Me (Q1; Q3); **p < 0.001; *p < 0.020; +p = 0.079 по сравнению с величиной показателя в группе «К» (тест Манна – Уитни); n – число крыс, достигших критерия научения. На этапе обучения крысам было предъявлено 100 попыток, на этапах проверки памяти – по 50 попыток.

Note. The data are presented as Me (Q1; Q3); **p < 0.001; *p < 0.020; +p = 0.079 compared with the rats in group “K” (Mann – Whitney test); n is the number of rats that reached the learning criterion. At the acquisition stage (training), rats were presented with 100 trials, and at the retention stages (testing) – 50 trials.

Показатели поведения, уровень кортикостерона в сыворотке крови и вес надпочечников у крыс в малых выборках

Крысы в малых выборках из групп «СИ» и «К» в возрасте 10.5 мес не различались по весу, двигательной активности, уровню тревожности (по предпочтению ОР и времени в дистальных отделах ОР в ПКЛ), выраженности груминга (по числу эпизодов и их суммарной длительности), уровню исследовательской активности (по числу и длительности стоек в ПКЛ). Однако, так же как в полных группах (для сравнения см. табл. 1), отмечена тенденция к сниженному числу стоек у крыс «СИ» ($p = 0.074$, критерий Манна – Уитни). Не обнаружено межгрупповых различий в болевой чувствительности ни по одному из использованных показателей.

На этапах обучения и проверки сохранности навыка при сравнении малых выборок не выявлено статистически значимых межгрупповых различий. Однако у самок группы «СИ» при выработке навыка УРАИ число реакций избегания было меньше, чем у крыс группы «К» [соответственно 36 (15.5; 45.5) и 52 (31; 59)] ($p = 0.139$, здесь и далее критерий Манна – Уитни), а число реакций избавления – больше [55 (43; 70) и 40 (34; 58)] ($p = 0.481$) (для сравнения с полными группами см. рис. 2). Крысы, которых содержали в изоляции, реже достигали

критерия научения, чем крысы контрольной группы [2 (1; 2) и 3 (2; 5)] ($p = 0.117$) (для сравнения см. табл. 3). Через 24 ч после обучения выявлена тенденция к увеличению латентного периода реакций избавления у крыс группы «СИ» по сравнению с крысами контрольной группы [10.8 (10.7; 11.4) с в сравнении с 10.6 (10.5; 10.7) с] ($p = 0.074$), максимальное число избеганий подряд у крыс группы «СИ» также было меньше [17 (14; 27) в сравнении с 26 (19; 31)] ($p = 0.142$). Очевидно, отсутствие статистически значимых межгрупповых различий обусловлено малыми объемами выборок, но при сравнении малых выборок «СИ» и «К» направленность изменений у крыс группы «СИ» была такой же, как при сравнении полных групп, что дает возможность говорить о репрезентативности малых выборок.

В выборах малого объема у крыс группы «СИ» после 10 мес изоляции уровень КОРТ в сыворотке крови был ниже, чем у крыс группы «К»: соответственно 723.71 (590.74; 875.31) и 1168.17 (911.45; 1365.26) нг/мл (критерий Манна – Уитни, $p = 0.036$). Вес надпочечников у крыс группы «СИ» статистически значимо не отличался от значений в контрольной группе (группы «СИ» и «К» соответственно: 0.13 (0.12; 0.14) и 0.12 (0.11; 0.13) мг / г веса тела, критерий Манна – Уитни, $p = 0.114$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящем исследовании основным установленным фактом является нарушение УРАИ у самок крыс, подвергнутых длительной СИ, которое было выявлено на этапе обучения: при выработке навыка крысы группы «СИ» совершили меньше реакций избегания, но больше реакций избавления по сравнению с крысами группы «К», а также реже достигали критерия научения (см. рис. 2, табл. 3). Это нарушение обучения обнаружено в контексте сопровождающих его оценок поведения.

По итогам тестирования поведения по окончании выработки и первичной проверки навыка у всех крыс в возрасте 8.5 мес мы установили, что в этом возрасте крысы группы «СИ» не отличались от крыс группы «К» ни по весу, ни по двигательной активности (см. рис. 1), ни по числу вертикальных стоек в ПКЛ (см. табл. 1), ни по болевой чувствительности (см. табл. 2), то есть эти параметры не могли повлиять на различие в эффективности обучения крыс в группах «СИ» и «К». Однако отличия по уровню тревожности были выявлены: у крыс группы «СИ» в период выработки УРАИ отмечено большее предпочтение ОР и времени, проведенного в дистальных отделах ОР, по сравнению с крысами группы «К». Данные свидетельствуют о том, что в возрасте 8.5 мес крысы группы «СИ» были менее тревожны, чем контрольные животные. Кроме того, в этом возрасте у крыс группы «СИ» была снижена выраженность реакций груминга (см. табл. 1). Несмотря на то что груминг считается чувствительным показателем переживания тревожности, а его увеличение часто связывают с попыткой снижения возбуждения от переживания стрессирующих анксиогенных воздействий (Moyaho et al., 2002; Zhang et al., 2019; Mu et al., 2020), груминг все же не является надежным маркером тревожности, как показано при 5-минутном тестировании в ПКЛ (Estanislau et al., 2011). Тем не менее в нашем исследовании сниженный уровень тревожности у самок крыс в сравнении с контрольными значениями после 7.5 мес СИ, с одновременным уменьшением у них выраженности груминга, можно с осторожностью рассматривать как свидетельство меньшего эмоционального напряжения при помещении животных в стрессогенную ситуацию в teste ПКЛ. Отметим, что на раннем сроке обследования самки крыс после двух мес СИ по показателям поведения в ОР лабиринта были более тревожны, чем контрольные животные (см. табл. 1). Повышение уровня тревожности после нескольких недель СИ согласуется с данными Hellemans et al. (2004) (самцы крыс Long Evans), Dimonte et al., (2023) (самцы крыс Wistar) и наших предыдущих исследований (Хлебникова и др., 2018) (самцы крыс Wistar), что в совокупности с данными настоящего исследования позволяет

говорить о сходном характере изменения уровня тревожности в ответ на стресс СИ у крыс обоего пола. Подробное обсуждение изменений уровня тревожности у крыс в первые месяцы СИ проведено в нашей недавней работе (Ширенова и др., 2022). В настоящем исследовании при длительности СИ 4.5 и 9.5 мес мы не увидели различий в уровне тревожности у крыс групп «СИ» и «К». Однако, проводя межгрупповые сравнения уровня тревожности, надо учитывать и характер внутригрупповых изменений. У крыс, находившихся на групповом содержании, уровень тревожности, если судить по снижению предпочтения ОР и времени в дистальных отделах ОР в teste ПКЛ, начиная с возраста 5.5 мес повышался, тогда как у крыс, которых содержали поодиночке, такого повышения тревожности не наблюдали (см. табл. 1). Это, по-видимому, нашло отражение в межгрупповых различиях по данному показателю на разных этапах обследования. Однако вопрос о том, связаны ли отличия возрастной динамики уровня тревожности у крыс группы «СИ» с процессами их адаптации/дезадаптации к условиям проживания, и если да, то какова эта связь, остается открытым.

По полученным данным в нашей работе, выработка навыка и проверка его сохранности через сутки после обучения у крыс группы «СИ» ассоциированы со сниженным по сравнению с контрольными значениями уровнем тревожности и, вероятно, меньшим эмоциональным напряжением. Известно, что крысы Римской линии, выведенные по признаку низкого уровня избегания при решении задачи двустороннего избегания, были более тревожны, чем крысы той же линии, выведенные по признаку высокого уровня избегания (Escorihuela et al., 1999). Они также проявляли большую эмоциональность, демонстрируя более частый груминг (Ferré et al., 1995). С учетом этих данных можно было бы ожидать, что крысы «СИ», менее тревожные и менее эмоциональные по сравнению с крысами контрольной группы, должны обучаться лучше, чем контрольные крысы. Однако мы, напротив, выявили ухудшение обучения у самок группы «СИ». Интересно, что Римские крысы с высоким уровнем избегания реагировали на 24-недельный стресс СИ развитием целого ряда нарушений в психофизиологическом состоянии: по результатам тестирования после 14 недель СИ эти крысы с высоким уровнем избегания (и исходно более низким уровнем тревожности и меньшей эмоциональностью) развивали локомоторную гиперактивность, демонстрировали повышенную тревожность, нарушения в обучении и сохранности памяти, дефицит предстимульного торможения, что свидетельствовало о развитии у них типичного изоляционного синдрома, который обычно наблюдается у крыс после 8–12 недель СИ (Sánchez-González et al., 2020). Авторы

предположили, что при длительном содержании в условиях СИ у животных включаются какие-то компенсаторные механизмы, пока не известные.

В настоящем исследовании в динамике наблюдения повышение уровня тревожности у крыс относительно контрольных значений было выявлено после 8 недель СИ (в возрасте 3 мес), признаки гиперактивного фенотипа отмечены у тех же крыс после 18 недель СИ (в возрасте 5,5 мес), тогда как нарушения обучения в тесте УРАИ, которые мы оценивали у крыс только после 26–30 недель СИ (в возрасте 7,5–8,5 мес), не сопровождались изменениями двигательной активности и повышением уровня тревожности. Напротив, в этом возрасте крысы группы «СИ», как сказано выше, были менее тревожны, чем контрольные крысы. В настоящем исследовании мы оценивали выработку УРАИ только на позднем сроке социальной изоляции и не можем сопоставить по времени эффективность выработки навыка с повышенным уровнем тревожности или развитием гиперактивности. Однако нельзя не отметить то, что нарушения в психоэмоциональном поведении и обучении, характерные для изоляционного синдрома, не были синхронны по времени наблюдения. В совокупности эти результаты дают основание говорить о гетерохронном развитии симптомов изоляционного синдрома у самок крыс, подвергнутых многомесячной СИ. Нет сомнений в том, что значительные психоэмоциональные нарушения, в первую очередь изменения уровня тревожности, могут модулировать эффективность обучения в задаче двустороннего избегания, как показано, например, в работе de Oliveira с соавт. (de Oliveira et al., 2016): у крыс линий Wistar и Sprague-Dawley худшее обучение в тесте УРАИ было ассоциировано с более низким уровнем тревожности, что не противоречит результатам настоящей работы. Однако, на наш взгляд, психоэмоциональные нарушения как таковые не являются ведущими в определении результатов обучения при действии психосоциального стресса СИ, что подтверждается и данными других исследователей (Moragrega et al., 2005). Мы полагаем, что определяющим фактором может быть сформированный изоляционный синдром, что находит отражение в нарушениях целого ряда механизмов, прямо связанных с обучением. Например, в случае действия неконтролируемого стресса СИ на эффективность обучения могут оказывать влияние нарушения чувствительности к вознаграждению (Hofford, 2021), изменения регуляции и экспрессии BDNF в структурах мозга, опосредующего развитие пластических изменений в гиппокампе (Ширенова и др., 2021; Pisu et al., 2011; Saad et al., 2023), изменения активности нейронов в базолатеральной миндалине с нарушением функционирования окружающих ГАМКергических нейронов (Vazquez-Sanroman et al., 2021),

нарушения функционирования холинергических (Moragrega et al., 2005; Myslivecek, 2021), моноаминергических (Lapiz et al., 2003; Shirenova et al., 2023), пептидергических систем мозга (Hadad-Ophir et al., 2017) и др.

Оценки выработки УРАИ у грызунов, подвергнутых стрессу СИ, разнятся. В экспериментах после типичной по длительности СИ (около двух мес) выявлено ухудшение обучения (Левшина и др., 2005; Viveros et al., 1990), что согласуется с данными настоящего исследования, несмотря на значительное различие в длительности СИ. Однако есть и противоположные оценки. Например, у самцов мышей NMRI, которых содержали в условиях СИ в течение 30 дней, число избеганий было больше, чем у мышей, проживавших в группах (Moragrega et al., 2005). В последнем примере обучение в тесте УРАИ оценивали у грызунов другого вида – мышей линии, для которой характерен иммунодефицит (бестимусные животные), что может оказывать влияние на обучение, так как известно, что иммунная система подвержена влиянию стрессирующих событий (Deak et al., 2015). Предполагается, что худшее обучение крыс линии Wistar по сравнению с крысами Sprague-Dawley в тесте УРАИ может быть связано с более высокой активностью иммунной системы у крыс Wistar, которая определяет сильную реакцию на стрессирующий стимул, в случае УРАИ – удар электрическим током (de Oliveira et al., 2016). Таким образом, в настоящем исследовании худшее обучение в тесте УРАИ у крыс Wistar группы «СИ» может косвенно свидетельствовать о более выраженной активации у них иммунного ответа по сравнению с крысами, проживавшими в группах.

Заслуживает внимания тот факт, что у крыс разных линий, прошедших обучение в тесте УРАИ, независимо от эффективности выработки навыка, исследователи обнаружили снижение уровня КОРТ в плазме крови по сравнению с крысами, не прошедшими обучение, что позволило им связать влияние самих тренировок с изменением уровня КОРТ, приводящим к гипокортицизму (de Oliveira et al., 2016). В работе Ohta и соавт. (Ohta et al., 1999) показано, что уровень АКТГ в плазме крови после выработки УРАИ выше у крыс с высоким уровнем избегания. В настоящем исследовании снижение уровня КОРТ в сыворотке было обнаружено у хуже обучавшихся крыс группы «СИ», что, в совокупности с данными об отсутствии разницы в весе надпочечников с крысами контрольной группы, позволяет предполагать большую чувствительность к стрессу болевого подкрепления во время выработки навыка у самок крыс под влиянием длительной СИ. Принимая во внимание то, что болевая чувствительность крыс групп «СИ» и «К» в сроки выработки и проверки сохранности навыка в тесте «Hot Plate» (тепловой раздражитель)

не различалась, можно думать о существовании межгрупповых различий к действию болевого раздражителя другой модальности, например к болевому подкреплению электрическим током (эти измерения в настоящем исследовании не проводили), или о более высокой чувствительности крыс группы «СИ» к стрессогенной ситуации при выработке УРАИ. Предположение о том, что высокий уровень стрессогенности самой обстановки теста УРАИ осложняет принятие верного решения в большей степени для крыс, выросших в условиях СИ, было высказано в работе Левшиной и др. (2005).

При проверке памяти через сутки после выработки навыка мы не выявили межгрупповых различий в числе реакций избегания и избавления, однако нам удалось обнаружить повышенные значения латентного периода реакций избавления и уменьшение максимального числа избеганий подряд у крыс группы «СИ». В совокупности эти данные позволили нам предполагать худшую сохранность выработанного навыка двустороннего избегания у крыс, проживавших в условиях СИ, при ее проверке в уже знакомой животным, менее стрессогенной обстановке.

К возможному объяснению нарушений памяти, наблюдавшихся через сутки после обучения у крыс группы «СИ», можно привлечь развивающуюся концепцию Павловской сенситизаций, заключающуюся в том, что такая сенситизация – это прежде всего ассоциативный эффект (Domjan, Fanselow, 2024). Стимулы, которые не ассоциируются с условным раздражителем, не вызывают повышенной реактивности, которая активируется условным стимулом. Павловская сенситизация может отличаться от обычной сенситизации по диапазону ее реактивности, которую можно выявить в пробах с различными стимулами, включая безусловное подкрепление. Активация режима реагирования увеличивает вероятность определенных реакций. То есть способы реагирования на условный стимул включают не только ожидаемую ответную реакцию (в случае УРАИ – избегание/избавление), но и повышенную реактивность на определенные стимулы, связанные с условным сигналом, а кондиционирование позволяет условному сигналу изменять обработку сенсорных или афферентных входных сигналов. В контексте сказанного худшие характеристики условных реакций у крыс группы «СИ» через сутки после обучения можно связать в том числе с их пониженной реактивностью, например на связанные с условным сигналом обстановочные стимулы, что вызвано нарушениями обработки сенсорных/афферентных сигналов.

В заключение необходимо отметить, что настоящее исследование, несмотря на то что оно восполняет недостаток работ по изучению влияния

социальной изоляции на самках, имеет ограничения, так как нарушения в задаче двустороннего активного избегания по объективным причинам не были параллельно проанализированы у самцов. Кроме того, был оценен только один нейроэндокринный показатель стресса – уровень гормона КОРТ в сыворотке крови – и только у части животных. Мы полагаем, что необходимо продолжить исследования в этом направлении, чтобы выяснить, изменяется ли стресс-реактивность и стрессоустойчивость при длительной социальной изоляции, а также понять, какие механизмы определяют развитие адаптационных процессов в этих условиях.

ВЫВОДЫ

1. Длительная социальная изоляция, начинавшаяся после отсаживания крысят от матери и продолжавшаяся до 10 мес, нарушила обучение в teste условного рефлекса активного избегания (УРАИ) в парадигме двустороннего избегания у животных в возрасте 7.5–8.5 мес, что проявлялось увеличением у них числа реакций избавления, уменьшением числа реакций избегания, а также снижением частоты достижения критерия научения по сравнению с крысами, которых содержали в группах.

2. В возрасте 8.5 мес крысы, которых содержали в социальной изоляции, были менее тревожны и демонстрировали менее выраженный груминг в teste «Приподнятый крестообразный лабиринт» по сравнению с крысами, которых содержали в группах, но не отличались от них по двигательной и исследовательской активности.

3. Через 24 ч после обучения у крыс, которых содержали в условиях социальной изоляции, латентный период реакций избавления был повышен, а максимальное число реакций избегания подряд – снижено, что свидетельствовало о худшем сохранении у них навыка по сравнению с крысами, которые проживали в группах.

4. Через 2 мес после обучения не выявлено различий в сохранности УРАИ между крысами, проживавшими в разных условиях содержания; после 10 мес СИ уровень кортикостерона в сыворотке крови крыс был ниже, чем у крыс контрольной группы.

5. У крыс, которых содержали в социальной изоляции, в возрасте 3 мес уровень тревожности был выше, чем у крыс, которых содержали в группах, а в возрасте 5.5 мес у крыс, проживавших в социальной изоляции, были выявлены признаки гиперактивного фенотипа. На протяжении всего исследования не было выявлено межгрупповых различий по показателям веса и болевой чувствительности в teste «Hot Plate».

ВКЛАД АВТОРОВ

Н.А. Крупина – концепция и руководство работой, проведение экспериментов; подготовка текста и редактирование текста статьи, интерпретация и обсуждение результатов исследования; Н.Н. Хлебникова – проведение экспериментов, подготовка текста и иллюстраций, обсуждение результатов исследования.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации на 2022–2024 годы (№ НИОКР: 122022200349-9).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность В.М. Комкову за техническую поддержку в проведении исследований.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ПРАВИЛ БИОЭТИКИ

Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей. Протокол исследования одобрен локальным Этическим комитетом ФГБНУ «НИИОПП» (протокол №1 от 02.02.2021 и №3 от 07.05.2024).

ПЕРВИЧНЫЕ ДАННЫЕ

Доступны по запросу у авторов исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Крупина Н.А., Ширенова С.Д. Нарушения когнитивных функций при длительной социальной изоляции: результаты исследований на людях и экспериментов на животных. Успехи физиол. наук. 2023. 54 (4): 18–35.

Левшина И.П., Пасикова Н.В., Шуйкин Н.Н. Выработка условных реакций избегания и морфометрические

характеристики сенсомоторной коры крыс, социально депривированных в раннем онтогенезе. Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова. 2005. 55 (4): 558–566.

Хлебникова Н.Н., Медведева Ю.С., Крупина Н.А. Ранняя социальная изоляция, вызывающая эмоционально-мотивационные нарушения у крыс, сопровождается дефицитом кратковременного привыкания, но не влияет на пространственную память. Журн. высш. нервн. деят. 2018. 68 (5): 647–662.

Ширенова С.Д., Хлебникова Н.Н., Крупина Н.А. Длительная социальная изоляция приводит к снижению экспрессии предшественника BDNF и пролилэндопептидазы в структурах мозга крыс. Биохимия. 2021. 86(6): 857 – 870.

Ширенова С.Д., Хлебникова Н.Н., Крупина Н.А. Изменения социальности и предпочтения социальной новизны у самок крыс в условиях пролонгированной социальной изоляции. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2022а. 72 (4): 520–542.

Ширенова С.Д., Хлебникова Н.Н., Крупина Н.А. Экспрессия рецепторов глюкокортикоидов и интерлейкинов IL-1 β и IL-6 в структурах мозга крыс, подвергнутых длительной социальной изоляции: половые различия. Патогенез. 2022б. 3: 147–148.

Ari C., D'Agostino D.P., Diamond D.M., Kindy M., Park C., Kovács Z. Elevated Plus Maze test combined with video tracking software to investigate the anxiolytic effect of exogenous ketogenic supplements. J. Vis. Exp. 2019. 143: e58396.

Bernardi M., Genedani S., Bertolini A. Behavioral activity and active avoidance learning and retention in rats neonatally exposed to painful stimuli. Physiol Behav. 1986. 36 (3): 553–555.

Bianchi M., Fone K.F.C., Azmi N., Heidbreder C.A., Hagan J.J., Marsden C.A. Isolation rearing induces recognition memory deficits accompanied by cytoskeletal alterations in rat hippocampus. Eur. J. Neurosci. 2006. 24(10): 2894–2902.

Broadfoot C.K., Lenell C., Kelm-Nelson C.A., Ciucci M.R. Effects of social isolation on 50-kHz ultrasonic vocalizations, affective state, cognition, and neurotransmitter concentrations in the ventral tegmental and locus coeruleus of adult rats. Behav. Brain Res. 2023. 437: 1141–1157.

da Silva R.P.B., Pinheiro I.L., da Silva R.K.B., Moretti E.C., de Oliveira Neto O.B., Ferraz-Pereira K., Galindo L.C.M. Social isolation and post-weaning environmental enrichment effects on rat emotional behavior and serotonergic system. Int. J. Dev. Neurosci. 2024. 84 (4): 265–280.

Dayananda K.K., Ahmed S., Wang D., Polis B., Islam R., Kaffman A. Early life stress impairs synaptic pruning in the developing hippocampus. Brain Behav. Immun. 2023. 107: 16–31.

de Oliveira C.C., Gouveia F.V., de Castro M.C., Kuroki M.A., Dos Santos L.C., Fonoff E.T., Teixeira M.J., Otoch J.P.,

- Martinez R.C.* A window on the study of aversive instrumental learning: Strains, performance, neuroendocrine, and immunologic systems. *Front. Behav. Neurosci.* 2016. 10: 162.
- Deak T., Quinn M., Cidlowski J.A., Victoria N.C., Murphy A.Z., Sheridan J.F.* Neuroimmune mechanisms of stress: sex differences, developmental plasticity, and implications for pharmacotherapy of stress related disease. *Stress.* 2015. 18: 367–380.
- Del Arco A., Zhu S.W., Terasmaa A., Mohammed A.H., Fuxe K.* Hyperactivity to novelty induced by social isolation is not correlated with changes in D2 receptor function and binding in striatum // *Psychopharmacol.* 2004. 171: 148.
- Dimonte S., Sikora V., Bove M., Morgese M.G., Tucci P., Schiavone S., Trabace L.* Social isolation from early life induces anxiety-like behaviors in adult rats: Relation to neuroendocrine and neurochemical dysfunctions. *Biomed. Pharmacother.* 2023. 158: 114181.
- Domjan M., Fanselow M.S.* Pavlovian or associative sensitization and its biological significance. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2024. 1: 105790.
- Escorihuela R.M., Fernández-Teruel A., Gil L., Aguilera R., Tobeña A., Driscoll P.* Inbred Roman high- and low-avoidance rats: differences in anxiety, novelty-seeking, and shuttlebox behaviors. *Physiol. Behav.* 1999. 167 (1): 19–26.
- Estanislau C., Ramos A.C., Ferraresi P.D., Costa N.F., de Carvalho H.M.C.P., Batistela S.* Individual differences in the elevated plus-maze and the forced swim test. *Behav. Processes.* 2011. 86: 46–51.
- Fernández-Teruel A., Tobeña A.* Revisiting the role of anxiety in the initial acquisition of two-way active avoidance: pharmacological, behavioural and neuroanatomical convergence. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2020. 118: 739–758.
- Ferré P., Fernández-Teruel A., Escorihuela R.M., Driscoll P., Corda M.G., Giorgi O., Tobeña A.* Behavior of the Roman/Verh high- and low-avoidance rat lines in anxiety tests: relationship with defecation and self-grooming. *Physiol. Behav.* 1995. 58: 1209–1213.
- Green M.R., McCormick C.M.* Effects of stressors in adolescence on learning and memory in rodent models. *Horm. Behav.* 2013. 64 (2): 364–379.
- Guo B., Xi K., Mao H., Ren K., Xiao H., Hartley N.D., Zhang Y., Kang J., Liu Y., Xie Y., Zhou Y., Zhu Y., Zhang X., Fu Z., Chen J.F., Hu H., Wang W., Wu S.* CB1R dysfunction of inhibitory synapses in the ACC drives chronic social isolation stress-induced social impairments in male mice. *Neuron.* 2024. 112(3):441–457.
- Hadad-Ophir O., Ardi Z., Brande-Eilat N., Kehat O., Anunu R., Richter-Levin G.* Exposure to prolonged controllable or uncontrollable stress affects GABAergic function in sub-regions of the hippocampus and the amygdala. *Neurobiol. Learn. Mem.* 2017. 138: 271–280.
- Hellemans K.G., Benge L.C., Olmstead M.C.* Adolescent enrichment partially reverses the social isolation syndrome. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 2004. 150 (2): 103–115.
- Hofford R.S.* Isolation drives reward-seeking in rats. *Lab. Animal.* 2021. 50(5), 125–126.
- Holuka C., Grova N., Charalambous E. G., Le Cleac'H J., Turner J.D., Mposhi A.* Transgenerational impacts of early life adversity: from health determinants, implications to epigenetic consequences. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2024. 164: 105785.
- Krupina N.A., Shirenova S.D., Khlebnikova N.N.* Prolonged social isolation, started early in life, impairs cognitive abilities in rats depending on sex. *Brain Sci.* 2020. 10: 799.
- Lapiz M.D.S., Fulford A., Muchimapura S., Mason R., Parker T., Marsden C. A.* Influence of postweaning social isolation in the rat on brain development, conditioned behavior, and neurotransmission. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2003. 33: 13–29.
- Luedke A.C., Boucher P.O., Niel L., Holmes M.M.* Altered anxiety and defensive behaviors in Bax knockout mice. *Behav. Brain Res.* 2013. 239: 115–120.
- Lukkes J.L., Watt M.J., Lowry C.A., Forster G.L.* Consequences of post-weaning social isolation on anxiety behavior and related neural circuits in rodents. *Front. Behav. Neurosci.* 2009. 3: 18.
- Mauvais-Jarvis F., Arnold A.P., Reue K.* A Guide for the design of pre-clinical studies on sex differences in metabolism. *Cell. Metab.* 2017. 25(6): 1216–1230.
- McCormick C.M., Mathews I.Z.* Adolescent development, hypothalamic-pituitary-adrenal function, and programming of adult learning and memory. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2010. 34(5): 756–765.
- McLean S., Grayson B., Harris M., Protheroe C., Woolley, M., Neill J.* Isolation rearing impairs novel object recognition and attentional set shifting performance in female rats. *J. Psychopharmacol.* 2008. 24 (1): 57.
- Miskolczi C., Halász J., Mikics É.* Changes in neuroplasticity following early-life social adversities: the possible role of brain-derived neurotrophic factor. *Pediatr. Res.* 2019. 85(2): 225–233.
- Moragrega I., Carmen Carrasco M., Redolat R.* Effects of housing and nicotine on shuttle-box avoidance in male NMRI mice. *Behav. Brain. Res.* 2005. 164 (2): 178–187.
- Moyaho A., Valencia J.* Grooming and yawning trace adjustment to unfamiliar environments in laboratory Sprague-Dawley rats (*Rattus norvegicus*). *J. Comp. Psychology.* 2002. 116: 263–269.
- Mu M.D., Geng H.Y., Rong K.L., Peng R.C., Wang S.T., Geng L.T., Qian Z.M., Yung W.H., Ke Y.* A limbic circuitry involved in emotional stress-induced grooming. *Nat. Commun.* 2020.11(1): 2261.
- Mumtaz F., Khan M.I., Zubair M., Dehpour A.R.* Neurobiology and consequences of social isolation stress in animal model – A comprehensive review. *Biomed. Pharmacother.* 2018. 105: 1205.

- Myslivecek J.* Social Isolation: How can the effects on the cholinergic system be isolated? *Front. Pharmacol.* 2021. 12: 716460.
- Nikolaienko O., Klymenko M., Isaeva E.* Consequences of adolescent social isolation on behavior and synaptic plasticity in the dorsal and ventral hippocampus in male Wistar rats. *Neurol. Res.* 2023. 45(12): 1152–1160.
- Ohta R., Shirota M., Adachi T., Tohei A., Taya K.* Plasma ACTH levels during early, two-way avoidance acquisition in high- and low-avoidance rats (Hatano strains). *Behav. Genet.* 1999. 29 (2): 137–144.
- Pisu M.G., Dore R., Mostallino M.C., Mameli R., Cadeddu R., Secci P.P., Serra M.* Down-regulation of hippocampal BDNF and Arc associated with improvement in aversive spatial memory performance in socially isolated rats. *Behav. Brain. Res.* 2011. 222(1): 73–80.
- Saad N., Raviv D., Mizrachi Zer-Aviv T., Akirav I.* Cannabidiol modulates emotional function and brain-derived neurotrophic factor expression in middle-aged female rats exposed to social isolation. *Int. J. Mol. Sci.* 2023. 24 (20): 15492.
- Sailer L.L., Patel P.P., Park A.H., Moon J., Hana-dari-Levy A., Ophir A.G.* Synergistic consequences of early-life social isolation and chronic stress impact coping and neural mechanisms underlying male prairie vole susceptibility and resilience. *Front. Behav. Neurosci.* 2022. 16: 931549.
- Sánchez-González A., Oliveras I., Río-Álamos C., Pi-ludu M.A., Gerbolés C., Tapias-Espinosa C., Tobeña A., Aznar S., Fernández-Teruel A.* Dissociation between schizophrenia-relevant behavioral profiles and volumetric brain measures after long-lasting social isolation in Roman rats. *Neurosci. Res.* 2020. 155: 43–55.
- Santini Z.I., Jose P.E., Cornwell E.Y., Koyanagi A., Nielsen L., Hinrichsen C., Meilstrup C., Madsen K.R.* Social disconnectedness, perceived isolation, and symptoms of depression and anxiety among older Americans (NSHAP): a longitudinal mediation analysis. *Lancet Public Health.* 2020. 5: 62–70.
- Shirenova S.D., Khlebnikova N.N., Narkevich V.B., Kudrin V.S., Krupina N.A.* Nine-month-long social isolation changes the levels of monoamines in the brain structures of rats: a comparative study of neurochemistry and behavior. *Neurochem. Res.* 2023. 48(6): 1755–1774.
- Tanaka K., Osako Y., Takahashi K., Hidaka C., Tomita K., Yuri K.* Effects of post-weaning social isolation on social behaviors and oxytocinergic activity in male and female rats. *Heliyon.* 2019. 5(5): e01646.
- Vazquez-Sanroman D.B., Arlington Wilson G., Bardo M.T.* Effects of social isolation on perineuronal nets in the amygdala following a reward omission task in female rats. *Mol. Neurobiol.* 2021. 58 (1):348–361.
- Viveros M.P., Hernandez R., Gallego A.* Effects of social isolation and crowding upon active-avoidance performance in the rat. *Animal Learn. Behav.* 1990. 18(1): 90.
- Walker D.M., Cunningham A.M., Gregory J.K., Nestler E.J.* Long-term behavioral effects of post-weaning social isolation in males and females. *Front. Behav. Neurosci.* 2019. 13: 66.
- Weiss I.C., Pryce C.R., Jongen-Rêlo A.L., Nanz-Bahr N.I., Feldon J.* Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behav. Brain Res.* 2004. 152(2): 279–295.
- Zelikowsky M., Hui M., Karigo T., Choe A., Yang B., Blanca M.R., Beadle K., Gradinaru V., Deverman B.E., Anderson D.J.* The neuropeptide Tac2 controls a distributed brain state induced by chronic social isolation stress. *Cell.* 2018. 173(5): 1265–1279.e19.
- Zhang C., Kalueff A.V., Song C.* Minocycline ameliorates anxiety-related self-grooming behaviors and alters hippocampal neuroinflammation, GABA and serum cholesterol levels in female Sprague-Dawley rats subjected to chronic unpredictable mild stress. *Behav. Brain Res.* 2019. 363: 109–117.

LONG-TERM SOCIAL ISOLATION IMPAIRS LEARNING IN A TWO-WAY ACTIVE AVOIDANCE TASK IN FEMALE RATS

N. A. Krupina[#], N. N. Khlebnikova

Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia
[#]*e-mail: krupina-na@yandex.ru*

In socially living species, including humans, social contacts' deficit provokes chronic stress development, leading to disorders in the psychoemotional sphere, cognitive impairment, etc. Previously, we showed that spatial memory and passive avoidance impairments in rats exposed to months-long social isolation (SI) from an early age are more pronounced in females compared to males. There is lack research on females. This study aimed to evaluate learning in the two-way avoidance paradigm using the conditioned active avoidance reflex (CAAR) test and to assess skill retention in female rats exposed to SI, which started after the pups were taken from their dams and lasted for up to ten months. After 6.5 months of SI, rats were trained in the CAAR test when their anxiety level and grooming expression were lower than in rats housed in groups. Rats exposed to SI

performed fewer avoidance but more escape responses and were less likely to achieve the learning criterion. In isolated rats compared to control rats, the escape latency was heightened, and the maximum number of avoidance reactions in a row was less after 24 hours after training. After 2 months after training, no differences in CAAR retention were revealed between rats kept in different housing conditions. After 10 months of SI, rat blood serum corticosterone levels were lower than in rats in the control group. The findings show worse learning and skill retention one day following training in the CAAR test in rats under the influence of long-term SI.

Keywords: long-term social isolation, female rats, two-way conditioned active avoidance reflex, anxiety, grooming, locomotor and exploratory activity, pain sensitivity in the “Hot Plate” test, corticosterone

МЕТОДИКА

УДК 612.822

ХРОНИЧЕСКАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ МОРФОЛОГИИ ДЕНДРИТНЫХ ШИПИКОВ У ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ ГИБРИДНОЙ ЛИНИИ 5XFAD-М, ЯВЛЯЮЩИХСЯ МОДЕЛЬЮ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

© 2024 г. А. Е. Матухно^{1,*}, П. В. Ткачева¹, В. Б. Войнов¹, Л. В. Лысенко²,
Е. В. Евсюкова¹, А. О. Тайсаева¹, И. Б. Безпрозванный^{1,3}

¹Научно-исследовательский технологический центр нейротехнологий Южного федерального университета,
Ростов-на-Дону, Россия

²Физический факультет Южного федерального университета, Ростов-на-Дону, Россия

³Лаборатория молекулярной нейродегенерации,

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: aematuhno@sedu.ru

Поступила в редакцию 11.03.2024 г.

После доработки 25.07.2024 г.

Принята к публикации 09.09.2024 г.

Болезнь Альцгеймера (БА) является хроническим нейродегенеративным заболеванием с поражением нейронных структур в разных областях головного мозга, включая утрату синапсов. Причины деструктивных изменений и гибели нейронов изучены недостаточно. Механизмы утраты синапсов неопределенны. При развитии БА происходят структурные и функциональные изменения в синапсах, которые взаимосвязаны с морфологией постсинаптических образований – дендритных шипиков. В работе описана технология хронической визуализации дендритных шипиков у трансгенных животных с помощью методов мультифотонной флуоресцентной микроскопии. Были использованы гибридные животные (5xFAD-М) с экспрессией зеленого флуоресцентного белка и моделью БА. Приведенные в работе методические решения позволили выявить многодневную динамику плотности дендритных шипиков, а также отследить преобразование их морфологических типов в течение длительного периода наблюдений.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, дендритные шипики, 5xFAD-М, хроническая визуализация, мультифотонная микроскопия.

DOI: 10.31857/S0044467724060084

Болезнь Альцгеймера (БА) – это прогрессирующее в течение многих лет нейродегенеративное заболевание головного мозга, которое сопровождается развитием слабоумия (деменции) на фоне деструктивных изменений мозга (Soria Lopez et al., 2019). Семейная форма БА с ранним началом (~5% всех случаев заболевания, развивается от 40 до 65 лет) характеризуется аутосомно-домinantным типом наследования мутаций в генах: *APP*, *PSEN1* и *PSEN2* (Leger, Massoud, 2013; Стефанова, Колесова, 2016). Сporадическая форма БА (~95% случаев заболевания, развивается после 65 лет) является результатом синергетического действия генетических факторов и факторов риска, одним из которых является возраст (Татарникова и др., 2015; Shao et al., 2017).

Современные методы лечения направлены на облегчение симптомов и не обеспечивают

купирование или замедление патогенеза болезни, включая дальнейшую потерю нейронов (Литвиненко и др., 2019; Bezprozvanny, 2022; Dahl et al., 2023). Исходя из существующих гипотез о механизмах развития БА, обсуждаются вопросы новых мультимодальных стратегий терапии (Bezprozvanny, Mattson, 2008; Bezprozvanny, 2009; Leger, Massoud, 2013; Татарникова и др., 2015; Левин, Васенина, 2016; Selkoe, Hardy, 2016; Holtzman et al., 2016; Cline et al., 2018; Walker, 2018; Литвиненко и др., 2019; Soria Lopez et al., 2019; Bezprozvanny, 2022; Olfati et al., 2022; Dahl et al., 2023). Высказываются предположения о том, что центральным фактором патогенеза БА может быть потеря синаптической пластичности и самих синапсов, однако причины утраты синаптических структур остаются неопределенными (Spire et al., 2005; Nelson et al., 2012;

Boros et al., 2017; Cline et al., 2018; Subramanian et al., 2020; Meftah, Gan, 2023).

Морфология дендритных шипиков играет важную роль в регуляции синаптической функции и взаимосвязана с механизмами синаптической пластичности, обуславливающими процессы обучения и памяти (Yuste et al., 2000; Попов и др. 2003; Tan, Waxman, 2015). В научном сообществе активно проводятся исследования дендритных шипиков с помощью разных средств микроскопии: на фиксированных срезах мозга с различным уровнем пространственного разрешения, от световой (включая широкопольную флуоресцентную), конфокальной лазерной сканирующей и заканчивая ультраструктурными исследованиями с использованием электронной микроскопии (Попов и др., 2003; Schooten et al., 2014). При появлении средств мультифотонной микроскопии появилась возможность исследований на живом организме (*in vivo*) в сильно рассеивающей ткани головного мозга на значительной (несколько сотен микрометров) глубине. Для мультифотонной визуализации используются животные с экспрессированными флуоресцентными белками в нейронах с помощью вирусной трансдукции генов с возможностью регистрации кальциевых сигналов (Lowery et al., 2009; Mittmann et al., 2011; Son et al., 2024) или генетическими манипуляциями у трансгенных животных (Holtmaat et al., 2005; Shao et al., 2021).

Многочисленные модели болезни Альцгеймера, реализованные с помощью трансгенных животных, играют ключевую роль в исследованиях механизмов развития заболевания и в поиске эффективных средств терапии. В литературных источниках приводятся исследования морфологии дендритных шипиков на модели 5xFAD методами конфокальной микроскопии на фиксированных срезах мозга (Ilina, Linkova, 2023). Прижизненных исследований динамики образования/утраты дендритных шипиков на 5xFAD-модели БА у трансгенных животных с экспрессией флуоресцентных белков в нейронах мозга мы в литературе на момент написания статьи не нашли.

Целью своей работы мы определили выявление многодневной динамики плотности дендритных шипиков и преобразования их морфологических типов на животной модели БА с помощью средств мультифотонной микроскопии.

Достижение поставленной цели потребовало реализации задач: (1) выведение гибридов трансгенных животных 5xFAD-M, у которых экспрессированы флуоресцентные белки (линия M-Line) и имеются мутации трансгенов, характерных для БА, на примере мышевой модели 5xFAD, что позволяет выполнить прижизненную визуализацию морфологии синаптических образований (дендритных шипиков) без травматической инъекции вирусов в мозг для флуоресцентного маркирования

нейронов; (2) разработка технологии хронической визуализации нейронных структур мозга с помощью средств мультифотонной флуоресцентной микроскопии. Такие технологии могут быть использованы для исследований патогенеза нейродегенеративных заболеваний и аprobации перспективных средств терапии.

Описанная в данной работе технология много-дневной хронической визуализации нейронных структур мозга позволила выявить динамику процессов образования/утраты дендритных шипиков, преобразование их морфологических типов у здоровых мышей с экспрессией GFP и у животных 5xFAD-M.

МЕТОДИКА

Животные. Мыши линии M-Line (Tg (Thy1-EGFP) MJrs/J, C57BL/6J background, Stock No: 007788) и линии 5xFAD (B6SJL-Tg (APPSwFILon, PSEN1 * M146L * L286V) 6799Vas/Mmjax, Stock No:34840-JAX) были разработаны в Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA) и переданы в НИТЦ нейротехнологий ЮФУ из Лаборатории молекулярной нейродегенерации СПбПУ им. Петра Великого. Животных содержали в условиях 12/12-часового цикла «свет/темнота» при постоянной температуре ($23 \pm 1^\circ\text{C}$). Животные имели свободный доступ к пище (полнорационный экспандированный комбикуром) и очищенной воде.

Получение гибридов. Выведение гибридов 5xFAD-M продиктовано необходимостью получения мышей, у которых экспрессированы флуоресцентные белки (GFP), что позволяет выполнить прижизненную визуализацию морфологии синаптических образований на моделях БА без окрашивания тканей мозга или инъекции аденоассоциированных вирусов.

Получение гибридной линии 5xFAD-M осуществляли по аналогии с (Ilina, Linkova, 2023). Для этого скрещивали гемизиготную самку линии M-Line и гемизиготного самца линии 5xFAD. В первом поколении полученного потомства (F1 на рис. 1 (а)) животные имели разные трансгены: с тремя трансгенами APP, PSEN1 и Thy1-EGFP (5xFAD-M), только с трансгеном Thy1-EGFP (M-Line), только с трансгенами APP, PSEN1 (5xFAD) и дикий тип (WT). Из полученного потомства гемизиготную самку линии M-Line скрещивали с гибридным самцом 5xFAD-M. Потомство второго поколения (F2) включало трансгены APP, PSEN1 и Thy1-EGFP (5xFAD-M) и Thy1-EGFP (M-Line). Мыши M-Line и 5xFAD-M второго поколения (две группы) были использованы для хронического анализа морфологии синаптических образований.

Мы не скрещивали между собой гибриды 5xFAD-M, так как линия 5xFAD при своих мутациях

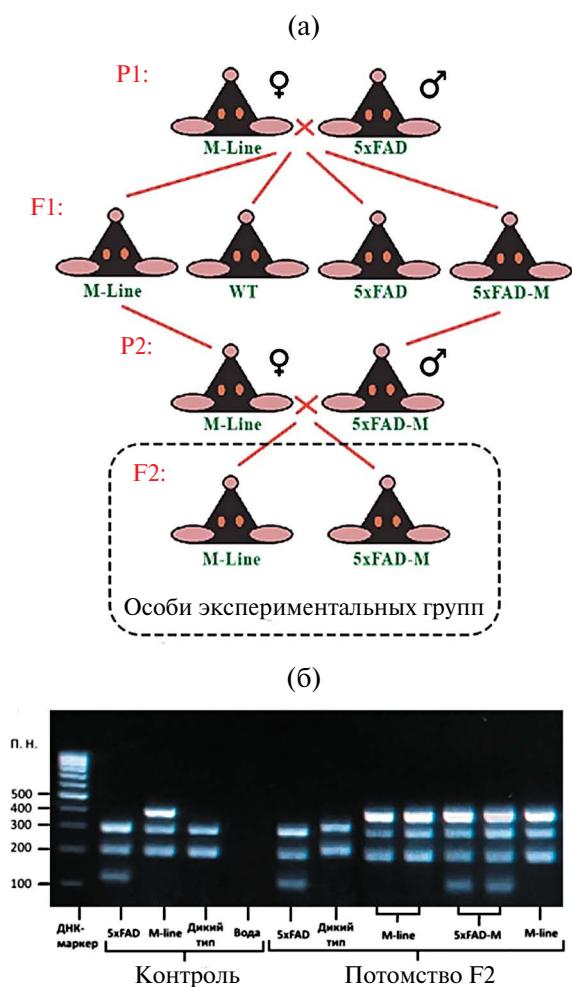


Рис. 1. Выведение трансгенных мышей линии M-Line и 5xFAD-M. (а) – схема выведения. (б) – результаты ПЦР-анализа потомства при скрещивании мышей двух линий.

Fig. 1. Breeding of M-Line and 5xFAD-M transgenic mice. (a) scheme. (b) – the results of PCR analysis of offspring.

склонна к возрастной потере слуха, дегенерации сетчатки и другим генетическим заболеваниям, которые мы старались минимизировать.

Генотипирование мышей. Генотипирование мышей осуществляли стандартными процедурами ПЦР-анализа с помощью детекции продуктов амплификации гель-электрофорограммой. Для генотипирования отбирали молодых мышей в возрасте от 10 дней до трех недель. Выделение генома ДНК проводили из кончика хвоста. Для определения трансгенов использовали праймеры: для Thy1-EGFP (прямой тип – ACA GAC ACA CAC CCA GGA CA, обратный – CGG TGG TGC AGA TGA ACT T); для 5xFAD-трансгенов (общий – ACC CCC ATG TCA GAG TTC CT, обратный – CGG

GCC TCT TCG CTA TTA C); внутренний положительный контроль (прямой – CTA GGC CAC AGA ATT GAA AGA TCT, обратный – GTA GGT GGA AAT TCT AGC ATC ATC C); дикий тип (обратный – TAT ACA ACC TTG GGG GAT GG).

В результате ПЦР-анализа потомства при скрещивании двух линий мышей было установлено, что удалось успешно получить мышей-гибридов 5xFAD-M (рис. 1 (б)). У мышей гибридной линии 5xFAD-M определяли 4 типа фрагментов ДНК: 1) фрагмент ДНК длиной 129 пар нуклеотидов (п. н.) – трансгенность 5xFAD; 2) фрагмент ДНК длиной 216 п. н. – образец дикого типа 5xFAD; 3) фрагмент ДНК длиной 415 п. н. – трансгенность Thy1-GFP-M; 4) фрагмент ДНК длиной 324 п. н. – образец дикого типа Thy1-GFP-M.

Анализ фиксированных (10%-й формалин с помощью интракардиальной перфузии) неокрашенных срезов мозга генотипированных 5xFAD-M-мышей с использованием мультифотонной микроскопии подтвердил формирование амилоидных бляшек в коре и гиппокампе в возрасте 4.5 месяцев и более, что является ключевой гистопатологической особенностью БА. На рис. 2 (б) наличие амилоидных бляшек у животного 5xFAD-M (самец, возраст 11 месяцев) обозначено красными стрелками и окружностями в области глубоких слоев коры (Кор) и гиппокампа (Гп). Формирование амилоидных бляшек в коре и гиппокампе в указанном возрасте согласуется с данными Oblak и соавт. (Oblak et al., 2021) и Bader и соавт. (Bader et al., 2023), полученными на животных линии 5xFAD. У мышей линии M-Line подобных аномалий не обнаружено (рис. 2 (а)).

Наркоз и хирургические процедуры. Для хронической визуализации морфологических структур мозга были использованы взрослые самцы возрастом 6 месяцев весом от 25 до 35 г. Операцию с имплантацией оптически прозрачного крациального окна проводили под газовым наркозом (изофлуран 1.5–2%). Местная анестезия – лидокаин подкожно (0.1 мл). Во время операции температуру тела поддерживали в пределах $37.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. Проведение хирургической операции осуществляли с помощью стереомикроскопа Leica M50 (увеличение до 40X). Координаты крациального отверстия диаметром 3 мм над соматосенсорной областью коры определяли с помощью окуляр-микрометра с центром 1.1 мм каудально от брегмы и 2.5 мм латерально от сагиттального шва. Трепанационное отверстие закрывали с помощью покровного стекла толщиной 0.17 мм (Gerhard Menzel), закрепляя его стоматологическим светоотверждаемым полимером. Для фиксации животного под объективом лазерного сканирующего микроскопа на голове закрепляли головодержатель в виде прямоугольной стальной пластины с отверстием для оптически прозрачного крациального окна.

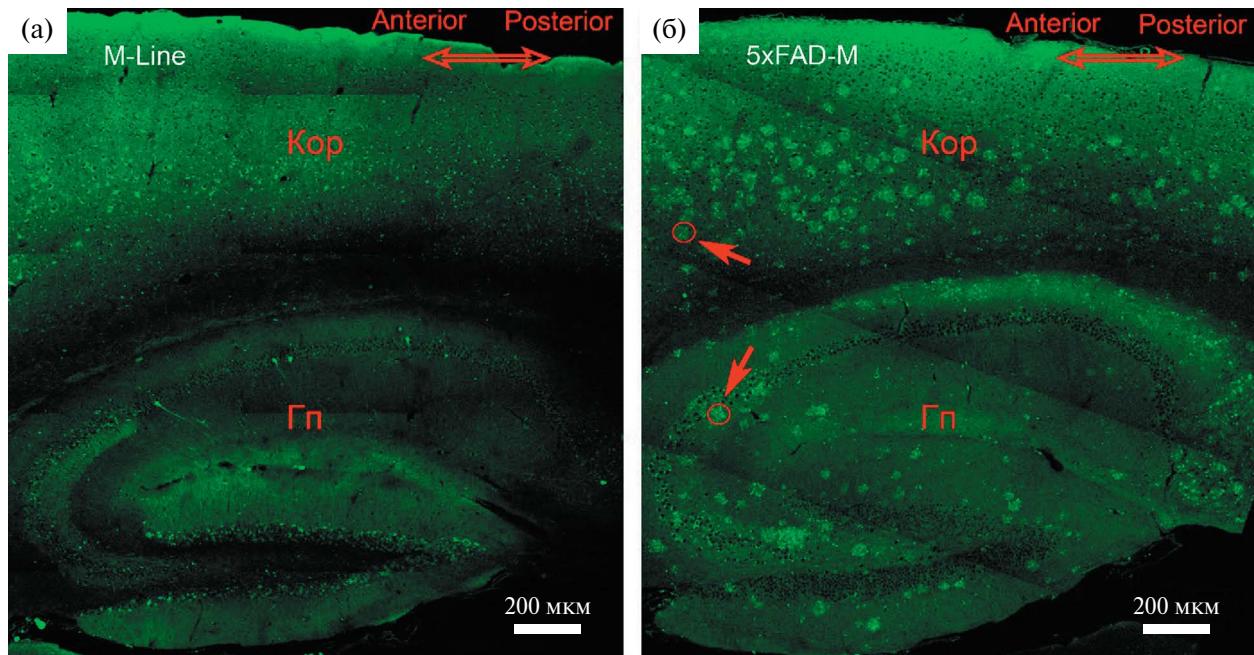


Рис. 2. «Сшитые» изображения фиксированных неокрашенных срезов мозга (сагиттальная плоскость сечения) генотипированных мышей линии M-Line (а) и 5xFAD-M (б), полученные с высоким разрешением (0.59×0.59 мкм/пиксель) при последовательном сканировании на большой площади в мультифотонном режиме. Антериорное и постериорное направления указаны соответствующими стрелками и подписями (Anterior, Posterior). Область коры мозга обозначена надписью «Кор», гиппокампа – «Гп». На рисунке (б) отдельные амилоидные бляшки обозначены красными стрелками, диаметр окружности составляет ≈ 35 мкм.

Fig. 2. “Stitched” images of formalin-fixed unpainted brain slices (sagittal cross-section) of genotyped mice: M-Line – (a) and 5xFAD-M – (b). Images were obtained by sequential scanning over a large area with a resolution of 0.59×0.59 microns/pixel in multiphoton scanning mode. The anterior and posterior directions are indicated by the corresponding arrows (Anterior, Posterior). The area of the cerebral cortex is marked with the inscription “Kop”, the hippocampus – “Гп”. In Figure (b), individual amyloid plaques are indicated by red arrows, the diameter of the circle is ≈ 35 microns.

После операции животное отсаживали в отдельную клетку. Послеоперационный уход осуществляли под наблюдением ветеринарного врача с применением ненаркотических анальгетиков (анальгин 0.01 мг/г) и противовоспалительных препаратов (дексаметазон 0.02 мг/г).

Оборудование и хроническая визуализация. Хроническую (*in vivo*) визуализацию морфологии шипиков апикальных дендритов пирамидных нейронов на уровне I–III слоев коры мозга (на глубину 50–300 мкм от поверхности) проводили в мультифотонном режиме с помощью лазерного сканирующего микроскопа LSM 880 NLO (Carl Zeiss), оснащенного 20-кратным объективом (W Plan-Apochromat 20x/1.0 DIC D = 0.17 M27 VIS-IR). Флуоресцентный белок GFP возбуждали с помощью фемтосекундного лазера Chameleon Discovery (Coherent) на длине волны 910 нм. Эмиссию света регистрировали в диапазоне 505–577 нм. Последовательное получение изображений (слоев) на различных глубинах фокальной плоскости в дорсовентральном направлении (формирование z-стека) осуществляли с 50%-м перекрытием для каждого последующего шага. Толщина одного

слоя составляла 0.63 мкм. Каждый z-стек включал от 15 до 44 слоев, что соответствовало толщине аксиального сканирования от 8.836 до 27.138 мкм. Каждый слой регистрировали как «8-битное» изображение с разрешением 1024×1024 пикселей, что соответствовало площади сканирования 31.49×31.49 мкм² (0.03×0.03 мкм/пиксель).

Перед сеансом хронической визуализации животных иммобилизовали с помощью легкого (0.5–0.7%) изофлуранового наркоза. Под объективом микроскопа животных размещали в стереотаксическом станке MAG-2 (Narishige) с возможностью изменения угла поворота головы в трехмерном пространстве для перпендикулярной ориентации относительно системы сканирования. Перемещение под объективом осуществляли с помощью моторизованного предметного стола ZDeck HZ101PM (Prior Scientific), интегрированного с LSM 880 NLO.

При многодневной визуализации одних и тех же фрагментов дендритов формировали для каждого фрагмента соответствующий z-стек на текущий день визуализации. Поиск фрагментов дендритов и их идентификацию по характерным

морфологическим признакам осуществляли с помощью многоуровневого последовательного (несколько итераций) увеличения объектов, находящихся в зоне сканирования. Начальную интересующую область сканирования устанавливали по характерным очертаниям кровеносных сосудов мозга в режиме отраженного света в диапазоне видимого глазом человека (подсветка светодиодами). Затем в результате экспресс-сканирования в мультифтонном режиме с последовательным увеличением зоны визуализации выявляли интересующие фрагменты апикальных дендритов. При однозначной идентификации фрагментов выполняли z-сканирование по дорсовентральной оси (z-стек) в автоматическом режиме с заданными параметрами.

Согласно данным литературы, кратковременное использование изофлурана (4–6 часов) увеличивает образование филоподиевидных дендритных шипиков, не оказывая влияния на остальные типы. При этом эффект изофлурана является обратимым в течение суток после наркотизации животных (Yang et al., 2011) и не вызывает долговременных нейропатологических изменений (Lin et al., 2012; Tong et al., 2019). В нашем исследовании длительность наркотизации (0.5–0.7%-й изофлуран для иммобилизации животного под объективом микроскопа) при выполнении одного сеанса визуализации не превышала 1.5 часов, что позволяет исключить влияние наркоза на динамику изменения числа и типов шипиков.

Обработка изображений и анализ данных. Обработку полученных изображений (корректировка контраста/яркости, подавление шума), анализ морфологии дендритных фрагментов на полученных z-стеках осуществляли с помощью программного обеспечения ZEN Black edition и ZEN Blue Edition 2.6. (Carl Zeiss).

Экспериментальная работа была выполнена с использованием 3 мышей линии M-Line и 3 мышей 5xFAD-M (возраст 6.0–6.5 мес, вес 25–30 г). В ходе экспериментальной работы с животными были проанализированы всего 64 идентифицированных дендритных фрагмента, наблюдавшихся в течение 21 дня (у линии M-Line: 15 мышь_1 + 7 мышь_2 + 7 мышь_3, итого 29; и у гибридов 5xFAD-M: 11 мышь_4 + 13 мышь_5 + 11 мышь_6, итого 35). У всех вовлеченных в эксперименты животных для анализа использовали одни и те же дендритные фрагменты, которые смогли найти, идентифицировать и визуализировать в течение указанного периода. Общая длина изученных фрагментов составляет 2027 мкм. На всех дендритных фрагментах оценивали плотность синаптических шипиков (количество шипиков/длина фрагмента мкм) по каждому животному в разные дни визуализации.

Был выполнен анализ количества шипиков по их морфологическим типам в течение 21 дня

наблюдения на всех 64 идентифицированных нейронных фрагментах у мышей M-Line и 5xFAD-M. В разных научных работах дендритные шипики по морфологическим признакам разделяют на несколько (от 2 до 5) типов (Jones, Powell, 1969; Попов и др., 2003; Rochefort, Konnerth, 2012; Chidambaram et al., 2019; Bell et al., 2019). Мы в своей работе определили 4 относительно простых морфологических типа: 1) филоподиевидные шипики, длина которых значительно превышает их диаметр; 2) пеньковые, длина и диаметр которых соразмерны; 3) тонкие, имеющие длинную или короткую «ножку» с головкой большего диаметра; и 4) грибовидные – две головки на одной ножке (рис. 5 (а)). Рассчитывали процентное соотношение 4 типов дендритных шипиков по всем идентифицированным дендритным фрагментам у мышей M-Line (в количестве 29) и 5xFAD-M (35), наблюдавшихся в течение 21 дня.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Нами были использованы гибриды трансгенных мышей 5xFAD-M, полученные при скрещивании линии M-Line с экспрессий GFP и мышиной модели БА – линии 5xFAD. У мышей линии M-Line с трансгеном Thy1-EGFP специфический промоутер Thy1 обуславливает экспрессию GFP избирательно в нейронах головного мозга (примерно 10% нейронов), включая корковые структуры (Vidal et al., 1990; Moehars et al., 1996; Laperchia et al., 2013). Линия 5xFAD является ускоренной моделью БА и включает избыточную экспрессию генов APP и PSEN1, содержащих 5 семейных мутаций БА (APP KM670/671NL (Swedish), APP I716V (Florida), APP V717I (London), PSEN1 M146L, PSEN1 L286V).

В ходе многодневной хронической визуализации нейронных структур мозга у животных из экспериментальной группы M-Line и 5xFAD-M, после имплантации животным оптически прозрачного краиального окна, выявлена устойчивая (на весь период работы с животными – 21 день и более) экспрессия GFP-белка в отдельных нейронах соматосенсорной коры головного мозга.

На рис. 3 приведены данные, демонстрирующие многодневную визуализацию дендритных шипиков, являющихся постсинаптическим образованием, на одном и том же фрагменте дендрита на примере трансгенной мыши линии M-Line. Многодневный доступ к поиску и идентификации выбранного фрагмента дендрита через прозрачное краиальное окно (рис. 3 (б)) осуществлялся благодаря исключению дополнительных процедур инъекционного (болюсного) введения в мозг флуоресцентных красителей или аденоовирусов, экспрессирующих GFP, что

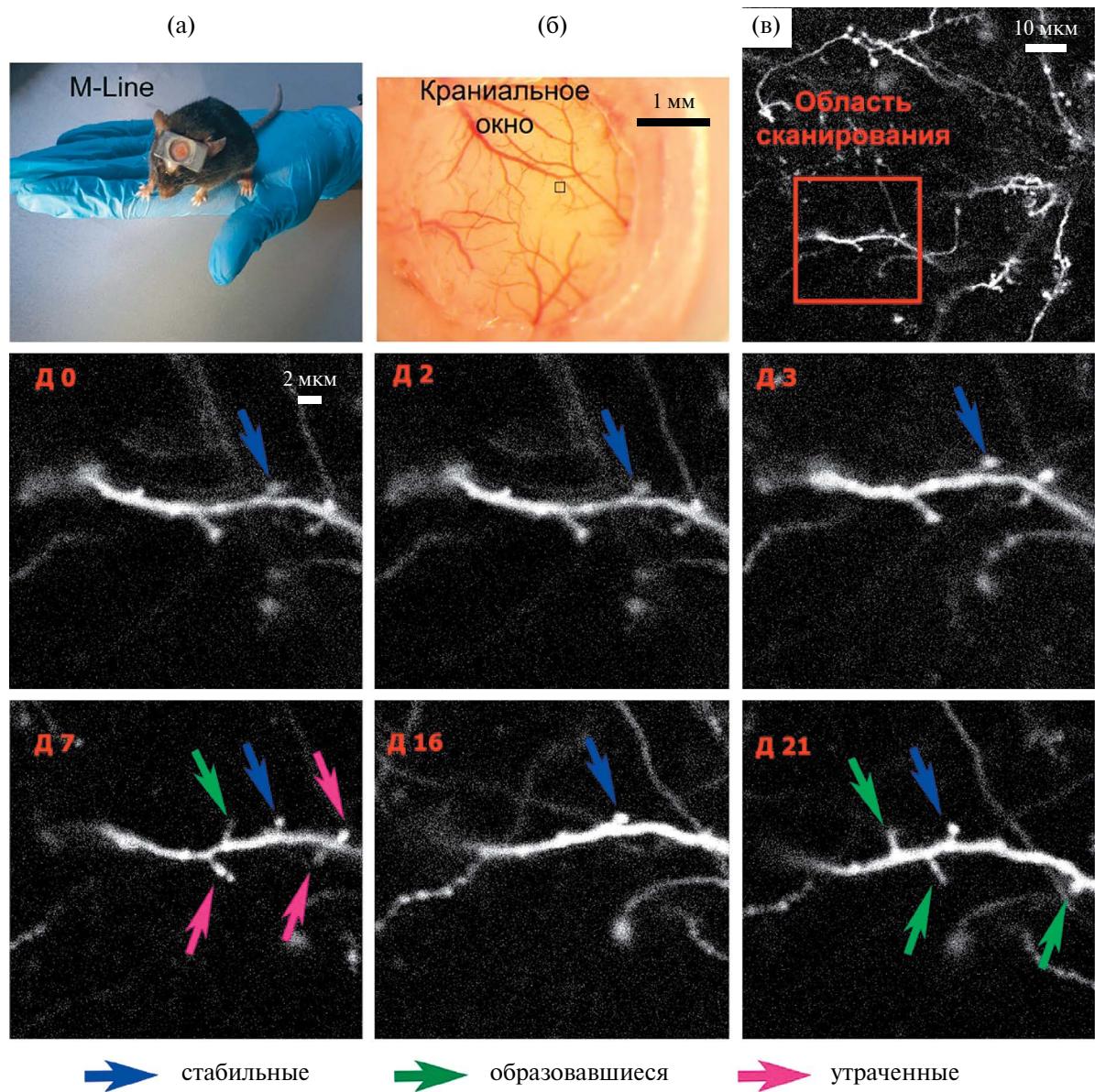


Рис. 3. Изменения дендритных шипиков в течение длительного периода хронической визуализации фрагмента апикального дендрита нейрона соматической коры трансгенной мыши линии M-Line. (а) – мышь с имплантированным краинальным окном. (б) – оптически прозрачное краинальное окно. (в) – область многодневного хронического сканирования. D0 – D21 – фрагмент исследуемого дендрита в разные дни визуализации (D0 соответствует дню имплантации). В верхнем правом углу размерная шкала с обозначением длины на изображениях (б), (в) и D0. Стрелками обозначены процессы синаптогенеза согласно цветовой кодировке (синий – стабильные, зеленый – образовавшиеся, розовый – утраченные).

Fig. 3. Changes in the quantitative composition of dendritic spines during a long period of chronic visualization of an apical dendrite fragment of a neuron in the somatosensory cortex (M-Line mouse). (a) – a mouse with an implanted cranial window. (б) – optically transparent cranial window. (в) – the area of a multi-day chronic scanning. D0 – D21 is a fragment of the dendrite under study on different days of visualization (D0 corresponds to the day of implantation). In the upper right corner of the image there is a dimensional scale with the length designation (б), (в) and D0. The arrows indicate the processes of synaptogenesis (formation/loss), according to the color coding (blue – stable, green – formed, pink – lost).

сопровождается, как правило, нарушением структур мозга и воспалительными процессами с сопутствующими микрорвотечениями.

Сложной, нетривиальной задачей является поиск и идентификация заданных фрагментов дендритов нейронов коры мозга. Ее решение

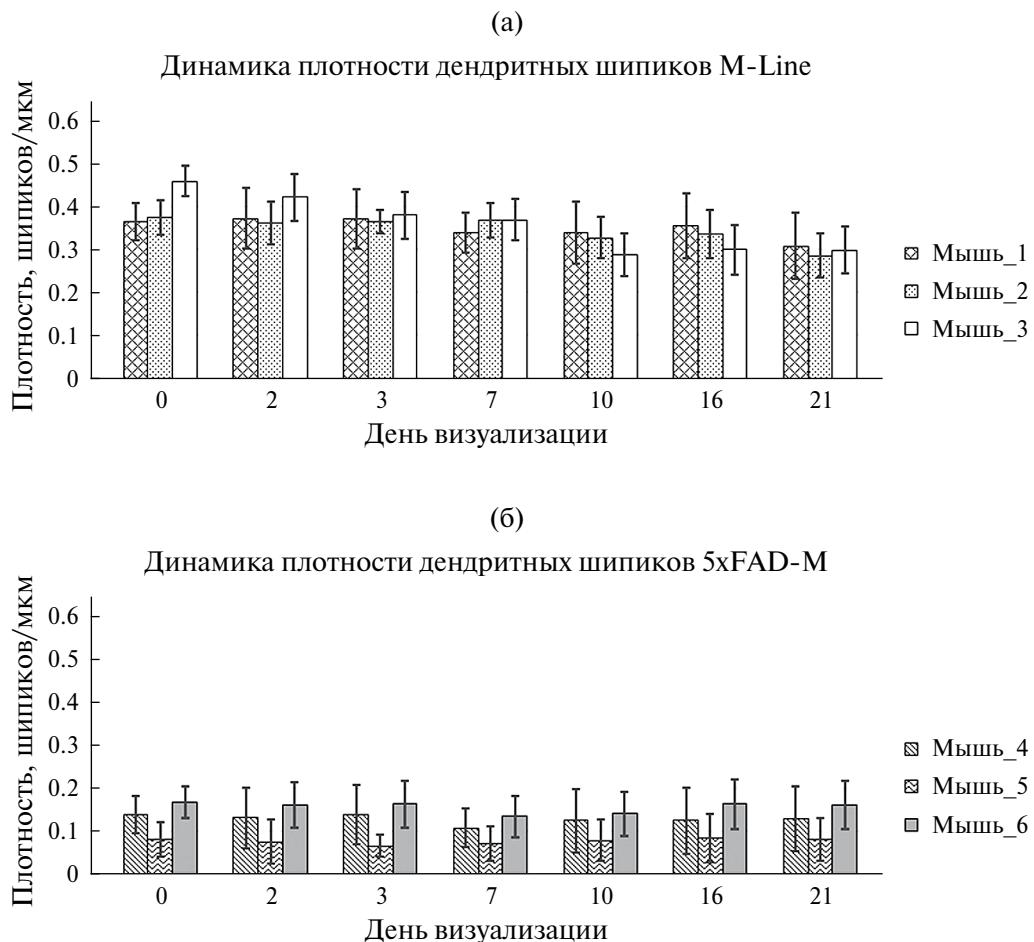


Рис. 4. Динамика плотности (средние значения) дендритных шипиков у мышей линии M-Line (а) и 5xFAD-M (б) в течение 21 дня наблюдений.

Fig. 4. Density dynamics (average values) of dendritic spines in M-Line (a) and 5xFAD-M (b) mice during 21 days of visualization.

достигается путем многоуровневого последовательного (3–4 итерации) увеличения зоны сканирования с топологической привязкой к индивидуальному расположению кровеносных сосудов мозга (см. разд. «Оборудование и хроническая визуализация»). На рис. 3 (в) представлены заключительные процедуры последовательного увеличения зоны сканирования. Изображения Д0 – Д21 демонстрируют идентифицированные фрагменты одного и того же дендрита в разные дни наблюдения. Д0 соответствует дню операционной подготовки животного с имплантацией краиального окна. На данных рисунках можно рассмотреть динамичные процессы образования новых дендритных шипиков (обозначены зелеными стрелками), утраты ранее образованных (розовые стрелки). Есть также стабильные шипики (синие стрелки), которые сохраняются на весь период наблюдения.

Таким образом, достигнутые нами успехи согласуются с научными исследованиями (Holtmaat et al., 2005; Laperchia et al., 2013; Merlini et al., 2019), в которых использовали трансгенных (Thy1-) животных с экспрессией GFP или желтого флуоресцентного пептида (YFP) в популяциях нейронов для многодневных *in vivo* исследований субклеточных структур мозга (дендритные шипики) с помощью двухфотонной флуоресцентной микроскопии. Laperchia и соавт. (Laperchia et al., 2013) отмечают, что Thy1-GFP-трансгенные мыши представляет собой перспективную животную модель для изучения широкого спектра явлений, таких как ремоделирование дендритных синаптических структур после обучения/опыта, нейровоспаление и лазерная диссекция.

Плотность синаптических шипиков у мышей с БА (5xFAD-M) более чем в два раза меньше, чем у контрольной группы (M-Line), на весь период

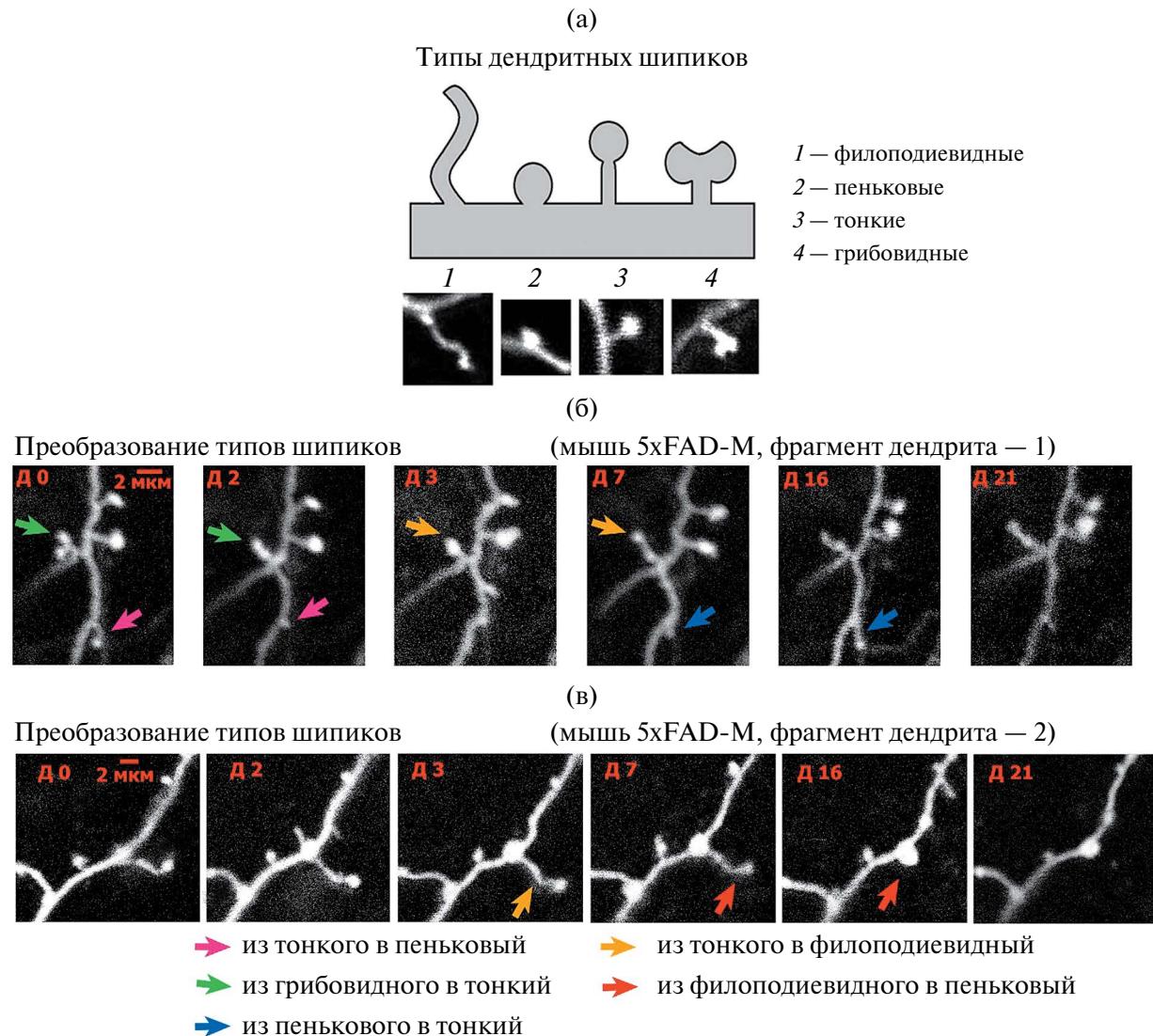


Рис. 5. Преобразование типов дендритных шипиков на примере мышей линии 5xFAD-M. (а) – типы дендритных шипиков. (б), (в) – преобразование типов шипиков. Стрелками обозначено преобразование из одного типа в другой, согласно цветовой кодировке (розовый – из тонкого в пеньковый, зеленый – из грибовидного в тонкий, оранжевый – из тонкого в филоподиевидный, синий – из пенькового в тонкий, красный – из филоподиевидного в пеньковый).

Fig. 5. Transformation of dendritic spike types in 5xFAD-M mice. (a) – dendritic spike types. (b), (v) – transformation of spike types. The arrows indicate the conversion from one type to another, according to the color coding (pink – from thin to stubby, green – from mushroom to thin, orange – from thin to filopodia, blue – from stubby to thin, red – from filopodia to stubby).

визуализации. Плотность дендритных шипиков на весь период наблюдений у мышей M-Line представлена на рис. 4 (а), у 5xFAD-M – на рис. 4 (б).

Возможность использования технологии многодневной хронической визуализации нейронных структур мозга с помощью методов мультифотонной флуоресцентной микроскопии позволила выявить интересные факты преобразования типов дендритных шипиков из одного в другой (рис. 5 б, в). На этом рисунке представлены два разных фрагмента дендритов на примере мыши 5xFAD-M,

наблюдаемых в течение 21 дня (Д0-Д21). Шкала, соответствующая 2 мкм, приведена в верхнем правом углу на Д0. Преобразование типов дендритных шипиков обозначено стрелками согласно цветовой кодировке: розовый – из тонкого в пеньковый; зеленый – из грибовидного в тонкий; синий – из пенькового в тонкий; желтый – из тонкого в филоподиевидный; красный – из филоподиевидного в пеньковый. Важно отметить, что некоторые дендритные шипики последовательно в течение нескольких дней наблюдения преобразуются как

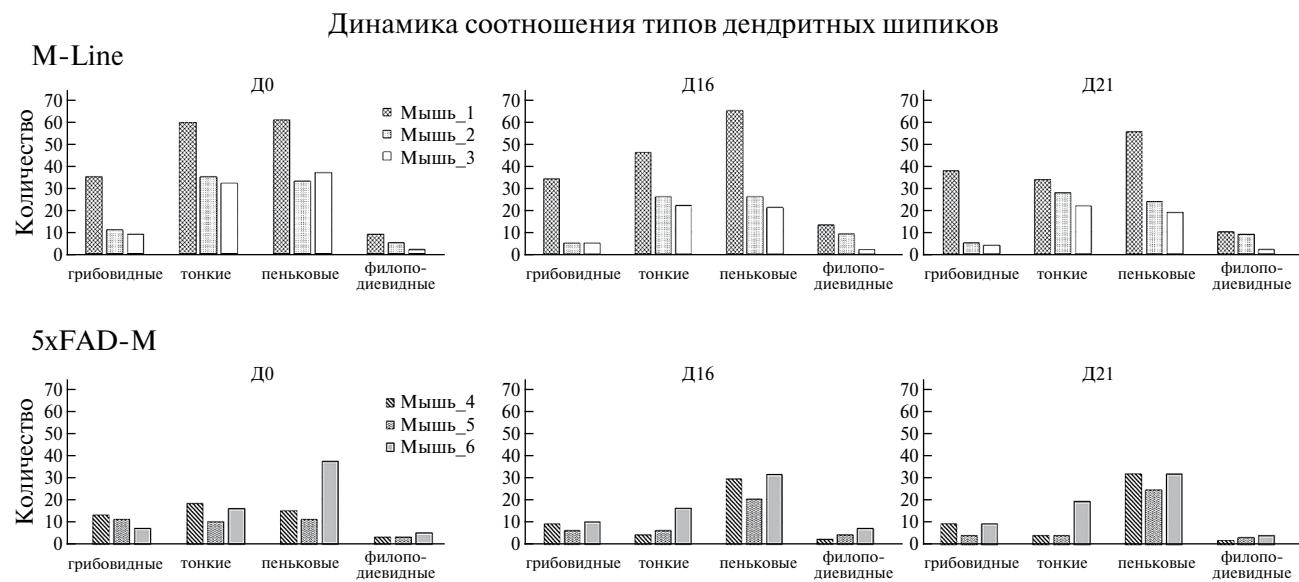


Рис. 6. Динамика соотношения типов дендритных шипиков у мышей линий M-Line и 5xFAD-M в разные дни (Д0, Д16 и Д21) наблюдений.

Fig. 6. Dynamics of the ratio of dendritic spine types in M-Line and 5xFAD-M mice on different days (D0, D16 and D21) of visualization.

минимум в 3 морфологических типа: грибовидный – тонкий – филоподиевидный (зеленые, желтые стрелки на рис. 5 (б)) и тонкий – филоподиевидный – пеньковый (желтые, красные стрелки на рис. 5 (в)). Возможно, что на этом рисунке представлены три разных модели преобразования или развития шипиков.

Динамика преобразования морфологических типов дендритных шипиков, выявленная у мышей M-Line и 5xFAD-M, представлена на рис. 6. На этом рисунке отражено количество дендритных шипиков по разным морфологическим типам (4 группы: грибовидные, тонкие, пеньковые и филоподиевидные) для каждого животного (соответствующая окраска / штриховка данных) в разные дни наблюдения (Д0, Д16 и Д21). Из представленных данных видно, что у мышей M-Line и 5xFAD-M количественный состав морфологических типов дендритных шипиков меняется в течение всего периода наблюдений. Однако стоит отметить, что у животных 5xFAD-M количество пеньковых шипиков заметно увеличивается к 21-му дню наблюдений по сравнению с другими типами шипиков.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Дендритные шипики (их морфология и плотность) играют важнейшую функциональную роль в синаптической пластичности и, следовательно, в процессах обучения и памяти (Grutzendler et al.,

2002; Попов и др., 2003; Rochefort, Konnerth, 2012; Lu, Zuo, 2017; Chidambaram et al., 2019; Bell et al., 2019). При развитии болезни Альцгеймера нейронные структуры в разных областях головного мозга подвергаются обширной дегенерации, включая утрату синапсов (дендритных шипиков) и значительную потерю нейронов (Spires et al., 2005; Oakley et al., 2006; Devi, Ohno, 2010; Jawhar et al., 2012; Kalinin et al., 2012; Eimer, Vassar, 2013; Forner et al., 2021). Потеря синапсов представляется особенно актуальной, поскольку она тесно коррелирует со степенью когнитивных нарушений (Spires et al., 2005; Eimer, Vassar, 2013; Boros et al., 2017). БА все чаще рассматривается как нейродегенеративное заболевание, при котором нарушения функционирования синапсов и/или их утрата являются ключевым компонентом патогенеза (Meftah, Gan, 2023). В работе Subramanian et al. (2020), опирающейся на исследования, реализованные методами *in vivo* мультифотонной микроскопии на разных мышиных моделях БА, отмечается, что потеря синапсов (в частности, дендритных шипиков) может быть спровоцирована как внеклеточными факторами (отложением бета-амилоида (β А), трансформацией функций микроглии), так и внутриклеточными (накоплением β А, нарушением функций тау-белка с образованием скоплений в виде клубков, повышением уровня кальция).

Известно, что у мышей 5xFAD интранейрональный β А начинает накапливаться уже в возрасте 1.5 месяцев (Amram, Frenkel, 2017). Формирование

внеклеточных патогенных β A бляшек начинается в возрасте 2–4 месяцев. Сначала бляшки появляются в глубоких слоях коры головного мозга, а у взрослых мышей (9–12 месяцев) бляшки заполняют большую часть коры и гиппокампа. Временные рамки появления амилоидных бляшек позволяют предположить, что некоторые бляшки могут образовываться из интранейрональных агрегатов β A. Появление амилоидных бляшек сопровождается стойким микроглиозом и воспалительными процессами (Oakley et al., 2006; Jawhar et al., 2012; Forner et al., 2021). У взрослых мышей (9–12 мес) наблюдается снижение уровня синаптических маркеров (синаптофизин, синтаксин), что свидетельствует о частичной утрате синапсов, а также нейрональная потеря, в частности норадренергических и холинергических нейронов (Oakley et al., 2006; Devi, Ohno, 2010; Jawhar et al., 2012; Kalinin et al., 2012; Forner et al., 2021). Когнитивный дефицит (cognitive deficits) у этих трансгенных мышей развивается в возрасте 4–5 месяцев (Oakley et al., 2006; Avrahami et al., 2013).

Важно отметить, что, по нашим данным, утрата синапсов (дendритных шипиков) наблюдается уже в возрасте 6–6.5 месяцев (рис. 4). Этот факт согласуется с данными Ilina, Linkova (2023), которые отмечают значительное уменьшение dendритных шипиков у мышей 5xFAD-M в возрасте 4–5 месяцев.

Размеры dendритных шипиков имеют огромное значение, поскольку внутриклеточная среда этих постсинаптических образований включает основные органеллы (гладкий ретикулум, микротрубочки, полирибосомы, постсинаптическое уплотнение, шипиковый аппарат, эндосомы). Указанные внутриклеточные структуры обеспечивают активную доставку от сомы нейрона и/или синтез на месте белков, необходимых для постоянного обновления мембранных хеморецепторов и ионных каналов в процессе синаптической передачи сигналов (Попов и др., 2003; Rochefort, Konnerth, 2012 Chidambaram et al., 2019; Bell et al., 2019). Существующие данные свидетельствуют о том, что каждый dendритный шипик функционирует как частично автономный компартмент, который в дополнение к транссинаптической передаче сигналов, за счет функциональных перестроек (лабильности), играет важнейшую роль в модуляции силы синаптической связи. Способность шипиков модулировать входящие пресинаптические сигналы обуславливает синаптическую пластичность, которая является механизмом реализации памяти и обучения.

В процессе формирования памяти происходит либо образование новых шипиков, либо структурное/функциональное изменение существующих (Chidambaram et al., 2019). Таким образом, dendритные шипики можно рассматривать как анатомическую структуру хранения памяти.

Взаимосвязь между морфологией шипиков и пластичностью активно обсуждается, однако принято считать, что тонкие и филоподиевидные относятся к лабильным, а более крупные пеньковые и грибовидные являются более функционально активными, которые остаются морфологически устойчивыми, возможно, на протяжении всей взрослой жизни животного (Grutzendler et al., 2002; Holtmaat et al., 2005; Lu, Zuo, 2017). Высказываются предположения о том, что кратковременная память обусловлена образованием и развитием новых шипиков из-за их повышенной лабильности и способности к деструкции (утрате) при отсутствии пресинаптической стимуляции; долговременная – за счет более функционально активных шипиков при созревании и стабилизации ранее образованных (увеличение размеров головок при уменьшении общей длины, уменьшение лабильности) (Chidambaram et al., 2019).

Особую роль определяют филоподиевидным структурам, которая заключается в образовании новых шипиков. Считается, что филоподиевидные выросты, богатые актином, образуются на поверхности dendритов с целью поиска пресинаптических контактов с последующим формированием, в конечном итоге, новых тонких шипиков (Попов и др., 2003; Majewska et al., 2006; Chidambaram et al., 2019). То есть «филоподии» являются промежуточным звеном в формировании новых dendritных шипиков.

Однако, согласно нашим наблюдениям, тонкие шипики могут преобразовываться в филоподиевидные (рис. 5 (б), (в)), а также может происходить утрата филоподиевидного выроста на месте локализации пенькового шипика (рис. 5 (в)). Это может свидетельствовать о более сложных функциях «филоподий», которые еще предстоит выяснить.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поскольку молекулярные механизмы образования синапсов, формирования синаптической пластичности и роль dendритных шипиков остаются предметом дискуссий, нейротехнологии для хронической *in vivo* визуализации нейронных структур мозга с помощью средств флуоресцентной микроскопии, на наш взгляд, являются актуальными. Идентификация морфологических признаков нейродегенеративных заболеваний с помощью такого рода технологий должна в перспективе способствовать более глубокому пониманию механизмов патогенеза заболеваний, улучшению дифференциальной диагностики патологий и созданию принципиально новых эффективных средств терапии.

Весьма перспективным направлением для развития настоящего исследования, способным существенно улучшить качество технологий многодневной хронической визуализации нейронных структур

мозга, является разработка математических средств и программных продуктов цифровой обработки изображений с возможностями трехмерной реконструкции флуоресцирующих объектов на разной глубине фокальной плоскости с целью создания автоматической системы детекции дендритных шипиков и классификации их морфологических типов.

ВЫВОДЫ

- Получены гибриды 5xFAD-М трансгенных животных, сочетающих в себе экспрессию флуоресцентных белков в корковых нейронах мозга с моделью нейродегенеративной болезни Альцгеймера. Использование мышей линии 5xFAD-М исключает необходимость инфицирования аденоассоциированными вирусами для трансфекции генов, экспрессирующих флуоресцентные белки в мозге животных, что является важным преимуществом при изучении динамики дендритных шипиков на фоне развития нейродегенеративных процессов.

- Разработана технология хронической визуализации дендритных шипиков нейронов 2/3-го слоя коры мозга, позволяющая не менее трех недель визуализировать нейронные структуры с помощью двухфотонной микроскопии. Использование данной технологии позволило отследить многодневную динамику плотности дендритных шипиков у «здоровых» мышей и с БА, а также выявить интересные факты преобразования морфологических типов шипиков в течение длительного периода наблюдений.

ИНФОРМАЦИЯ О ВКЛАДЕ КАЖДОГО АВТОРА (AUTHOR CONTRIBUTIONS)

А.Е. Матухно – написание текста и редактирование, проведение экспериментов, обработка и анализ данных, обсуждение результатов исследования; П.В. Ткачева – проведение экспериментов, обработка и анализ экспериментальных данных; В.Б. Войнов – редактирование текста статьи, обсуждение результатов исследования; Л.В. Лысенко – редактирование текста статьи, обсуждение результатов исследования, администрирование проекта; Е.В. Евсюкова – проведение экспериментов; А.О. Тайсаева – проведение экспериментов; И.Б. Безпрозванный – концепция и руководство работой, привлечение финансирования, редактирование текста.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ РАБОТЫ (FUNDING)

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Южного

федерального университета «Приоритет 2030»; проект СП01/S4_0708Приоритет_08.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ (CONFLICTS OF INTEREST)

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ (COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS)

Все экспериментальные процедуры и уход за животными были заранее одобрены Комитетом по этике Южного федерального университета (дата 28.04.2022 / № 4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Левин О.С., Васенина Е.Е. 25 лет амилоидной гипотезе происхождения болезни Альцгеймера: достижения, неудачи и новые перспективы. Журнал неврологии и психиатрии. 2016. 6 (2): 3–9.
- Литвиненко И.В., Емелин А.Ю., Лобзин В.Ю., Колмакова К.А., Наумов К.М., Лупанов И.А., Киливаева Г.А., Ализаде М.Р. Амилоидная гипотеза болезни Альцгеймера: прошлое и настоящее, надежды и разочарования. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2019. 11 (3): 4–10.
- Попов В.И., Медведев Н.И., Рогачевский В.В., Игнатьев Д.А., Стьюарт М.Г., Фесенко Е.Е. Трехмерная организация синапсов и астроглии в гиппокампе крыс и сусликов: новые структурно-функциональные парадигмы работы синапса. Биофизика. 2003. 48 (2): 289–308.
- Стефанова Н.А., Колосова Н.Г. Эволюция представлений о патогенезе болезни Альцгеймера. Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 16. Биология. 2016. № 1. С. 6–13.
- Татарникова О.Г., Орлов М.А., Бобкова Н.В. Бета-амилоид и тау-белок: структура, взаимодействие и прионоподобные свойства. Успехи биологической химии. 2015. 55: 351–390.
- Amram S., Frenkel D. Chapter 3 – Animal Models of Alzheimer’s Disease. Neuroprotection in Alzheimer’s Disease. Academic Press. 2017. 31–58 pp.
- Avrahami L., Farfara D., Shaham-Kol M., Vassar R., Frenkel D., Eldar-Finkelman H. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 ameliorates beta-amyloid pathology and restores lysosomal acidification and mammalian target of rapamycin activity in the Alzheimer disease mouse model: in vivo and in vitro studies. J. Biol. Chem. 2013. 288 (2): 1295–1306.
- Bader A.S., Gnädig M.U., Fricke M., Büschgens L., Berger L.J., Klafki H.W., Meyer T., Jahn O., Weggen S., Wirths O. Brain Region-Specific Differences in

- Amyloid- β Plaque Composition in 5XFAD Mice. *Life (Basel)*. 2023;13 (4): 1053.
- Bell M., Bartol T., Sejnowski T., Rangamani P.* Dendritic spine geometry and spine apparatus organization govern the spatiotemporal dynamics of calcium. *J Gen Physiol*. 2019; 151 (8): 1017–1034.
- Bezprozvanny I.* Alzheimer's disease e Where do we go from here? *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2022; 633: 72–76.
- Bezprozvanny I.* Calcium signaling and neurodegenerative diseases. *Trends Mol Med*. 2009; 15 (3): 89–100.
- Bezprozvanny I., Mattson M.P.* Neuronal calcium mishandling and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci*. 2008; 31:454–463.
- Boros B.D., Greathouse K.M., Gentry E.G., Curtis K.A., Birchall E.L., Gearing M., Herskowitz J.H.* Dendritic spines provide cognitive resilience against Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 2017; 82(4): 602–614.
- Chidambaram S.B., Rathipriya A.G., Bolla S.R., Bhat A., Ray B., Mahalakshmi A.M., Manivasagam T., Thenmozhi A.J., Essa M.M., Guillemin G.J., Chandra R., Sakharakar M.K.* Dendritic spines: Revisiting the physiological role. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019; 8 (92): 161–193.
- Cline E.N., Bicca M.A., Viola K.L., Klein W.L.* The amyloid-oligomer hypothesis: Beginning of the third decade. *J Alzheimers Dis*. 2018; 64 (1): 567–610.
- Dahl R., Moore A.C., Knight C., Mauger C., Zhang H., Schiltz G.E., Koss W.A., Bezprozvanny I.* Positive Allosteric Modulator of SERCA Pump NDC-1173 Exerts Beneficial Effects in Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(13): 11057.
- Devi L., Ohno M.* Phospho-eIF2alpha level is important for determining abilities of BACE1 reduction to rescue cholinergic neurodegeneration and memory defects in 5XFAD. *PLoS One*. 2010; 5(9): e12974.
- Eimer W.A., Vassar R.* Neuron loss in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease correlates with intraneuronal A β 42 accumulation and Caspase-3 activation. *Molecular Neurodegeneration*. 2013; 8: 2–12.
- Forner S., Kawauchi S., Balderrama-Gutierrez G., Kramár E.A., Matheos D.P., Phan J., Javonillo D.I., Tran K.M., Hingco E., da Cunha C., Rezaie N., Alcantara J.A., Baglietto-Vargas D., Jansen C., Neumann J., Wood M.A., MacGregor G.R., Mortazavi A., Tanner A.J., LaFerla F.M., Green K.N.* Systematic phenotyping and characterization of the 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Sci Data*. 2021; 8 (1): 270.
- Grutzendler J., Kasthuri N., Gan W.-B.* Long-term dendritic spine stability in the adult cortex. *Nature*. 2002; 420: 812–816.
- Holtmaat A.J., Trachtenberg J.T., Wilbrecht L., Shepherd G.M., Zhang X., Knott G.W., Svoboda K.* Transient and persistent dendritic spines in the neocortex in vivo. *Neuron*. 2005; 45 (2): 279–91.
- Holtzman D.M., Carrillo M.C., Hendrix J.A., Bain L.J., Catafau A.M., Gault L.M., Goedert M., Mandelkow E., Mandelkow E.M., Miller D.S., Ostrowitzki S., Polydoro M., Smith S., Wittmann M., Hutton M.* Tau: From research to clinical development. *Alzheimers Dement*. 2016; 12(10):1033–1039.
- Ilina A., Linkova N. A.* Transgenic 5xFAD-M Line of Mice for Dendritic Spine Morphology Analysis in Alzheimer's Disease. *Brain Sci*. 2023; 13(2):307.
- Jawhar S., Trawicka A., Jenneckens C., Bayer T.A., Wirths O.* Motor deficits, neuron loss, and reduced anxiety coinciding with axonal degeneration and intraneuronal Abeta aggregation in the 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol*. 2012; 196: e129–140.
- Jones E.G., Powell T.P.* Morphological variations in the dendritic spines of the neocortex. *J Cell Sci*. 1969; 5(2): 509–29.
- Kalinin S., Polak P., Lin S.* The noradrenaline precursor L-DOPS reduces pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol*. 2012; 33(8): 1651–1663.
- Laperchia C., Allegra Mascaro A.L., Sacconi L., Andrioli A., Mattè A., De Franceschi L., Grassi-Zucconi G., Bentivoglio M., Buffelli M., Pavone F.S.* Two-photon microscopy imaging of thy1GFP-M transgenic mice: a novel animal model to investigate brain dendritic cell subsets in vivo. *PLoS One*. 2013; 8 (2): e56144.
- Leger G.C., Massoud F.* Novel disease-modifying therapeutics for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Review of Clinical Pharmacology*. 2013; 6 (4): 423–442.
- Lin D., Cao L., Wang Z., Li J., Washington J.M., Zuo Z.* Lidocaine attenuates cognitive impairment after isoflurane anesthesia in old rats. *Behav Brain Res*. 2012; 228(2): 319–327.
- Lowery R.L., Zhang Y., Kelly E.A., Lamantia C.E., Harvey B.K., Majewska A.K.* Rapid, long-term labeling of cells in the developing and adult rodent visual cortex using double-stranded adeno-associated viral vectors. *Dev Neurobiol*. 2009; 69 (10): 674–688.
- Lu J., Zuo Y.* Clustered structural and functional plasticity of dendritic spines, *Brain Research Bulletin*. 2017; 129: 18–22.
- Majewska A.K., Newton J.R., Sur M.* Remodeling of synaptic structure in sensory cortical areas in vivo. *J. Neurosci*. 2006; 26: 3021–3029.
- Meftah S., Gan J.* Alzheimer's disease as a synaptopathy: Evidence for dysfunction of synapses during disease progression. *Front Synaptic Neurosci*. 2023; 15:1129036.
- Merlini M., Rafalski V.A., Rios Coronado P.E., Gill T.M., Ellisman M., Muthukumar G., Subramanian K.S., Ryu J.K., Syme C.A., Davalos D., Seeley W.W., Mucke L., Nelson R.B., Akassoglou K.* Fibrinogen Induces Microglia-Mediated Spine Elimination and Cognitive Impairment in an Alzheimer's Disease Model. *Neuron*. 2019; 101 (6): 1099–1108.
- Mittmann W., Wallace D.J., Czubayko U., Herb J.T., Schaefer A.T., Looger L.L., Denk W., Kerr J.N.* Two-photon calcium imaging of evoked activity from

- L5 somatosensory neurons *in vivo*. *Nat Neurosci*. 2011. 14 (8): 1089–1093.
- Moechars D., Lorent K., De Strooper B., Dewachter I.* Van Leuven F. Expression in brain of amyloid precursor protein mutated in the alpha-secretase site causes disturbed behavior, neuronal degeneration and premature death in transgenic mice. *EMBO*. 1996. 15: 1265–1274.
- Nelson P.T., Alafuzoff I., Bigio E.H., Bouras C., Braak H., Cairns N.J., Castellani R.J., Crain B.J., Davies P., Del Tredici K., Duyckaerts C., Frosch M.P., Haroutunian V., Hof P.R., Hulette C.M., Hyman B.T., Iwatsubo T., Jellinger K.A., Jicha G.A., Kovari E., Kukull W.A., Leverenz J.B., Love S., Mackenzie I.R., Mann D.M., Masliah E., McKee A.C., Montine T.J., Morris J.C., Schneider J.A., Sonnen J.A., Thal D.R., Trojanowski J.Q., Troncoso J.C., Wisniewski T., Wolz J.R., Beach T.G.* Correlation of Alzheimer disease neuropathologic changes with cognitive status: a review of the literature. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2012. 71 (5): 362–381.
- Oakley H., Cole S.L., Logan S., Maus E., Shao P., Craft J., Guillozet-Bongaarts A., Ohno M., Disterhoft J., Van Eldik L., Berry R., Vassar R.* Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. *J Neurosci*. 2006. 26 (40): 10129–10140.
- Oblak A.L., Lin P.B., Kotredes K.P., Pandey R.S., Garceau D., Williams H.M., Uyar A., O'Rourke R., O'Rourke S., Ingraham C., Bednarczyk D., Bellanger M., Cope Z.A., Little G.J., Williams S.G., Ash C., Bleckert A., Ragan T., Logsdon B.A., Mangravite L.M., Sukhoff Rizzo S.J., Territo P.R., Carter G.W., Howell G.R., Sasner M., Lamb B.T.* Comprehensive Evaluation of the 5XFAD Mouse Model for Preclinical Testing Applications: A MODEL-AD Study. *Front Aging Neurosci*. 2021. 13:713726.
- Olfati N., Shoeibi A., Litvan I.* Clinical Spectrum of Tauopathies. *Front Neurol*. 2022. 13: 944806.
- Rochefort N.L., Konnerth A.* Dendritic spines: from structure to *in vivo* function. *EMBO Rep*. 2012. 13 (8): 699–708.
- Schouten M., De Luca G.M., Alastrue González D.K., de Jong B.E., Timmermans W., Xiong H., Krugers H., Manders E.M., Fitzsimons C.P.* Imaging dendritic spines of rat primary hippocampal neurons using structured illumination microscopy. *J Vis Exp*. 2014. 87: 51276.
- Selkoe D.J., Hardy J.* The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol. Med*. 2016. 8 (6): 595–608.
- Shao L.X., Liao C., Gregg I., Davoudian P.A., Savalia N.K., Delagrange K., Kwan A.C.* Psilocybin induces rapid and persistent growth of dendritic spines in frontal cortex *in vivo*. *Neuron*. 2021. 109(16): 2535–2544.e4.
- Shao W., Peng D., Wang X.* Genetics of Alzheimer's disease: From pathogenesis to clinical usage. *J. Clin. Neurosci*. 2017. 45: 1–8.
- Son S., Nagahama K., Lee J., Jung K., Kwak C., Kim J., Noh Y.W., Kim E., Lee S., Kwon H.B., Heo W.D.* Real-time visualization of structural dynamics of synapses in live cells *in vivo*. *Nat Methods*. 2024. 21 (2): 353–360.
- Soria Lopez J.A., González H.M., Léger G.C.* Alzheimer's disease. *Handbook of Clinical Neurology*. 2019. 167(3rd series). pp. 231–255.
- Spires T.L., Meyer-Lindemann M., Stern E.A., McLean P.J., Skoch J., Nguyen P.T., Bacskai B.J., Hyman B.T.* Dendritic Spine Abnormalities in Amyloid Precursor Protein Transgenic Mice Demonstrated by Gene Transfer and Intravital Multiphoton Microscopy. *Journal of Neuroscience*. 2005. 25 (31): 7278–7287.
- Subramanian J., Savage J.C., Tremblay M.-È.* Synaptic Loss in Alzheimer's Disease: Mechanistic Insights Provided by Two-Photon *in vivo* Imaging of Transgenic Mouse Models. *Front. Cell. Neurosci*. 2020. V. 14. Article: 592607.
- Tan A.M., Waxman S.G.* Dendritic spine dysgenesis in neuropathic pain. *Neurosci Lett*. 2015. 601:54–60.
- Tong D., Godale C.M., Kadakia F.K., Gu Z., Danzer C.S.K., Alghamdi A., Zhao P., Loepke A.W., Danzer S.C.* Immature murine hippocampal neurones do not develop long-term structural changes after a single isoflurane exposure. *Br J Anaesth*. 2019. 123 (6): 818–826.
- Vidal M., Morris R., Grosfeld F., Spanopoulou E.* Tissue-specific control elements of the Ty-1 gene. *EMBO J*. 1990. 9: 833–840.
- Walker L.C.* Prion-like mechanisms in Alzheimer disease. *Handb Clin Neurol*. 2018. 153: 303–319.
- Yang G., Chang P.C., Bekker A., Blanck T.J., Gan W.B.* Transient effects of anesthetics on dendritic spines and filopodia in the living mouse cortex. *Anesthesiology*. 2011. 115 (4): 718–726.
- Yuste R., Majewska A., Holthoff K.* From form to function: calcium compartmentalization in dendritic spines. *Nat Neurosci*. 2000. 3 (7): 653–659.

CHRONIC IMAGING OF DENDRITIC SPINE MORPHOLOGY IN 5XFAD-M HYBRID LINE MICE OF ALZHEIMER'S DISEASE MODEL

A. E. Matukhno^a, P. V. Tkacheva^a, V. B. Voinov^a, L. V. Lysenko^b, E.V. Evsyukova^a,
A.O. Taisaeva^a, I. B. Bezprozvanny^{a,c}

^a*Research Center for Neurotechnology, Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia*

^b*Department of Physics, Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia*

^c*Laboratory of Molecular Neurodegeneration, Peter the Great Saint Petersburg State Polytechnic University,
Saint Petersburg, Russia*

Alzheimer's disease (AD) is a chronic neurodegenerative disorder of neural structures in different areas of the brain. Loss of synapses is a key stage in the development of AD and it precedes significant loss of neurons. However, the mechanisms of synapse loss are uncertain. Structural and functional changes in synapses are interrelated with the morphology of postsynaptic formations – dendritic spines. This paper describes the implementation of the technology of chronic imaging of dendritic spines in transgenic animals using the methods of multiphoton fluorescence microscopy. Mice of the 5xFAD-M hybrid line were used. 5xFAD-M was derived by crossing transgenic mice with expressions of green fluorescent protein GFP in individual neurons of the brain (M-Line) and a mouse model of AD (5xFAD line). Methodological achievements revealed the multi-day dynamics of the density of dendritic spines in M-Line and 5xFAD-M mice. Transformations of morphological types of spikes were revealed during a long period of observations.

Keywords: Alzheimer's disease, dendritic spines, 5xFAD-M, chronic imaging, multiphoton microscopy

МЕТОДИКА

УДК 575:591.513.5

КОГНИТИВНЫЙ ТЕСТ НА «НЕИСЧЕЗАЕМОСТЬ». МОДИФИЦИРОВАННЫЙ ВАРИАНТ ДЛЯ КРЫС

© 2024 г. А. Г. Королев^{1, 2, *}, П. Д. Огурцов¹, А. Н. Иноземцев¹, И. И. Полетаева¹

¹Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²РУДН им. П. Лумумбы, Медицинский институт, Москва, Россия

*e-mail: korolevpost@gmail.com

Поступила в редакцию 07.07.2024 г.

После доработки 09.09.2024 г.

Принята к публикации 09.09.2024 г.

Дается описание разработанной экспериментальной установки, позволяющей оценивать решения крысами теста на постоянство объекта (*object permanence*, по Ж. Пиаже), что является проявлением способности животных к оперированию одним из простейших эмпирических законов «неисчезаемости» (по Крушинскому), т.е. способности к решению элементарной логической задачи. Помещенное в ярко освещенную часть камеры животное может убежать через лаз в комфортное темное отделение, но после первых попыток лаз закрывают разными способами, и для выполнения теста животному необходимо преодолеть препятствие, оперируя правилом «неисчезаемости». Выполнение теста не требует предварительного обучения, и он аналогичен тесту на «неисчезаемость», использующемуся в экспериментах с мышами. Проведено тестирование крыс пяти разных генетических групп – крысы аутбредных линий Вистар и Лонг-Эванс, крысы инбредной линии Крушинского-Молодкиной (КМ) (с предрасположенностью к аудиогенной эпилепсии), производной от КМ линии «0» (без аудиогенной эпилепсии) и крысы инбредной линии SHR со спонтанной артериальной гипертензией. Проведенные предварительные эксперименты (выполнявшиеся с каждым животным в пределах одного опытного дня) выявили межлинейные различия в решении теста с превосходством показателей крыс линии SHR. Использование данного теста возможно в нейрофизиологических и фармакологических исследованиях поведения крыс.

Ключевые слова: когнитивные способности животных, тест на «неисчезаемость», экспериментальная установка, линии крыс

DOI: 10.31857/S0044467724060099

Изучение когнитивных способностей животных является актуальной задачей современной нейробиологии и представляет интерес для фундаментальных и прикладных исследований. Следует, однако, отметить, что под термином «когнитивные способности» очень часто понимаются обучение сложным навыкам и память (см. Pickens, Holland, 2004; Иноземцев, Королев, 2023). В то же время в настоящем сообщении оценивается успешность/неуспешность решения элементарной логической задачи, или оперирование простейшими эмпирическими законами (по Л.В. Крушинскому, 2014). Предметом настоящей статьи является описание экспериментальной установки для тестирования у лабораторных крыс способности понимать правило «неисчезаемости» («*object permanence*» по Ж. Пиаже, Zucca et al., 2007), которое является одним из простейших эмпирических законов: «Предмет, который только что воспринимался, но в данный момент не виден, продолжает существовать и его можно отыскать». Экспериментальную установку для тестирования этой

способности впервые использовали в экспериментах на мышах (Galsworthy et al., 2005), и она получила название «puzzle-box». Предложенный этими авторами тест базируется на оборонительной мотивации. Животное, помещенное в освещенную часть камеры, стремится избежать яркого света и спрятаться в более комфортном, темном отделении экспериментальной установки через лаз, который (в экспериментах на мышах) углублен в пол светлой части камеры. Аналогичного опыта (т.е. тренировки навыка попадания в темный отсек) у животного нет. Очевидно, что выполнение такой реакции при открытом лазе аналогично тесту «светло-темная камера», однако в последующих предъявлениях теста лаз маскируют. В экспериментах на мышах такую маскировку осуществляют, присыпая лаз стружкой вровень с полом или закрывая его легкой пробкой (которую мышь может вынуть зубами или отодвинуть) (Galsworthy et al., 2002, 2005; Ben Abdallah et al., 2011; Регерелькина, Полетаева, 2022). В экспериментах на крысах такой тест ранее не применялся.

МЕТОДИКА

Экспериментальные животные. Тестирували крыс-самцов пяти генетических групп в возрасте 5 мес. Работа выполнена на крысах следующих линий: аутбредная линия Вистар ($n = 12$), аутбредная линия Лонг-Эванс ($n = 11$), инбредная линия Крушинского – Молодкиной (КМ, $n = 12$) (с генетически детерминированной аудиогенной эпилепсией, АЭ), линия, выведенная на основе гибридов F2 (КМ x Вистар) и селектированная на отсутствие АЭ (линия «0», $n = 12$), и инбредная линия SHR со спонтанной гипертензией ($n = 8$). Крыс содержали по 4 особи в клетке (46 x 30 x 16 см) со свободным доступом к корму и воде и 12-часовым циклом свет – темнота (7.00–19.00). Эксперименты выполнены в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU.

Описание экспериментальной установки. Тест получил название «тест на поиск скрытого входа в укрытие» (ПСВУ). Конфигурация установки запатентована в качестве полезной модели (Королев и др., 2023).

Установка (рис. 1) выполнена из непрозрачного пластика и состоит из стартового открытого ярко-освещенного (400 лк) отсека ($63 \times 45 \times 28$ см) и меньшего по размеру ($33 \times 23 \times 30$ см) темного (1–2 лк) отсека. В освещенном отсеке у стенки, отделяющей его от темного отсека, в полу имеется «лаз» квадратной формы ($9 \times 9 \times 15$ см), ведущий в темный отсек. Через него крыса может перейти в комфортный темный отсек. Лаз может оставаться открытый, а может быть замаскирован рядом способов. Его присыпают стружкой бровень с полом, закрывают губкой, воронкой либо легкой «пластиной» с небольшими выступами, препятствующими ее быстрому извлечению из лаза животным.

Процедура теста. За сутки до начала эксперимента крыс помещали на 5 мин в светлую, ярко освещенную часть камеры для привыкания к новой установке. В день эксперимента крысу помещали в светлую часть камеры около стенки, дальней от лаза, и давали дважды перейти в темный отсек через открытый лаз. Животное пребывало в темноте 30 сек, затем его пересаживали в чистую клетку. Последующее предъявление теста (помещение в светлый отсек) проводили через 60 сек. Таким образом, интервал между попытками составлял примерно 90 сек. В следующих 4 предъявлениях теста лаз закрывали в следующей последовательности: засыпали стружкой, вставляли в лаз губку, воронку или накрывали лаз «пластиной». На решение предъявлений теста со стружкой и с губкой крысе отводили 180 сек, на решение предъявлений с воронкой и с «пластиной» – 240 сек. В случае, если животное не решало задачу, его время записывали как 180 или 240 сек соответственно. После каждого предъявления установку

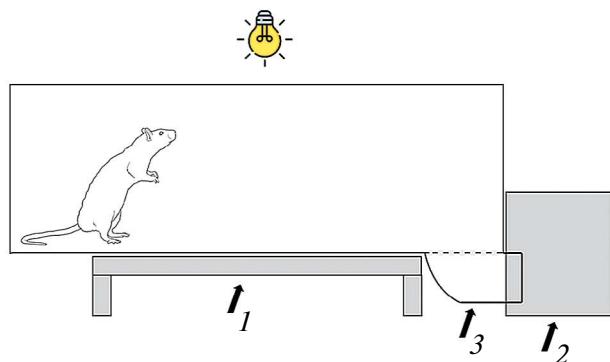


Рис. 1. Экспериментальная установка для проведения теста на «поиск скрытого входа в укрытие» (ПСВУ). 1 – стартовая камера, светлый отсек ($63 \times 45 \times 28$ см), 2 – темный отсек ($33 \times 23 \times 20$ см), 3 – лаз для перехода в темный отсек ($9 \times 9 \times 15$ см).

Fig. 1. Experimental box for the test “the search of hidden passage into the shelter” (SHPS). 1 – the brightly lit part of the box for start ($63 \times 45 \times 28$ cm), 2 – the dark part of the box ($33 \times 23 \times 20$ cm), 3 – the underpass for entering the dark part of the box ($9 \times 9 \times 15$ cm).

протирали спиртом. В ходе опыта отмечали латентный период (ЛП) перехода в темный отсек.

Статистическая обработка. Полученные данные обрабатывали в программе GraphPad Prism 9.4.1 (GraphPad Software Inc., США). Значимость различия долей крыс, решивших задачу в тесте, рассчитывали по ф-критерию Фишера для оценки различий альтернативных долей (Лакин, 1990). Попарные сравнения по данному критерию проводили для теста с крысами Вистар (отмечено * на графиках), а также для сравнения крыс КМ и «0» (отмечено V и ***). При анализе ЛП перехода в темноту межгрупповые различия выявляли однофакторным ANOVA с post hoc тестом по Тьюки. Отдельно сравнивали между собой все группы «попарно» с «группирующей переменной» «линия крыс», а зависимой – время решения задачи. Различия считали значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты решения теста показали наличие межлинейных различий как в доле животных (рис. 2), решивших его разные предъявления, так и в ЛП решений (рис. 3). Наиболее успешными в решении всех предложенных задач оказались крысы линии SHR, у которых была максимальная доля (100%) решений первых трех задач. У крыс этой линии была и самая большая доля особей (75%), которые решили наиболее сложный этап теста – с «пластиной». Крысы остальных групп решали тест на его разных этапах примерно на одном уровне, хотя у крыс КМ доля успешных решений

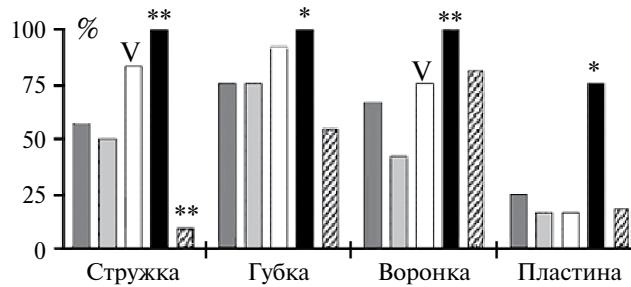


Рис. 2. Доли крыс пяти генетических групп (ось ординат, %), решивших последовательные предъявления теста ПСВУ. Темно-серые столбики – Вистар, светло-серые – линия «0», белые – КМ, черные – SHR, штриховка – Лонг-Эванс. * ** – значимо отличается от показателей крыс Вистар, $p < 0.05$ и $p < 0.01$ соответственно, *** – значимо отличается от показателей крыс «0», $p < 0.001$, V – значимо отличается от показателей крыс «0», $p < 0.05$ (критерий ф Фишера для оценки разности альтернативных долей).

Fig. 2. The proportions of rats from five strains (ordinate, %), which solved the subsequent trials of SHPS test. Dark grey columns – Wistar, light grey – strain “0”, white – KM, black – SHR, striped – Long-Evans. * ** – significantly different from Wistar rats scores, $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively, *** – significantly different from scores of “0” strain, $p < 0.001$, V – significantly different from scores of “0” (Fisher φ criterion for differences of alternative proportions).

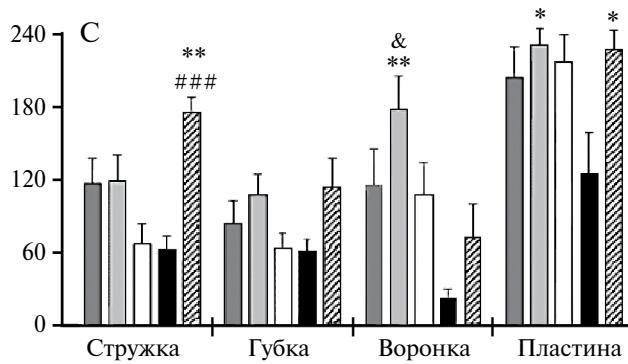


Рис. 3. Время (ЛП) (ось ординат с, средн. \pm ош.ср) перехода в темный отсек крыс 5 генетических групп при последовательных предъявлениях теста ПСВУ. Обозначения – как на рис. 2. *** – значимо отличается от показателя KM, $p < 0.001$, *, ** – значимо от показателя крыс SHR, $p < 0.05$, $p < 0.01$ соответственно, & – показатель значимо отличается от такого у Лонг-Эванс, $p < 0.01$ (однофакторный ANOVA с post hoc тестом по Тьюки).

Fig. 3. Time (latencies) (ordinate, s, mean \pm st.err) of rat transition into the dark part of the box for subsequent trials of SHPS test for five rat strains. Designations, as in fig. 2. *** – significantly different from KM strain scores, $p < 0.001$, *, ** – significantly different from SHR scores, $p < 0.05$, $p < 0.01$, respectively, & – significantly different from Long-Evans scores, $p < 0.01$ (1 fact/ ANOVA, post hoc Tukey test).

в целом была несколько выше, чем у Вистар и «0». У крыс Лонг-Эванс доля решения этапа теста, когда лаз был засыпан стружкой, оказалась парадоксально низкой (9%), т.е. такой же, как при предъявлении теста с лазом, закрытым «пластиной». Для выяснения причины такой особенности крыс этой линии требуются дополнительные эксперименты.

Быстрота (ЛП) решения последовательных предъявлений теста представлена на рис. 3. Тест с лазом, замаскированным стружкой, все крысы решали в целом одинаково быстро, кроме крыс Лонг-Эванс (их ЛП приближался к 180 с). ЛП предъявления с лазом, закрытым губкой, был примерно одинаковым во всех 5 группах. Предъявление с воронкой быстрее всех решали крысы SHR, а медленнее всех – крысы линии «0». Крысы КМ, Вистар и Лонг-Эванс решали эту фазу теста примерно одинаково быстро. Среднее время решения последнего предъявления (лаз закрыт пластиной) значимо различалось только при сравнении крыс Вистар и Лонг-Эванс с SHR.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, предъявление теста ПСВУ крысам разных генетических групп позволило выявить межгрупповые различия как в долях животных, которые решили разные предъявления теста, так и в быстроте (ЛП) таких решений. Более высокие показатели решения теста крысами линии SHR (со спонтанной гипертензией) частично согласуются с их более высокой моторной возбудимостью (Hendley, Wessel, 1985; Rosenwasser et al., 1993; Fasmer, Johansen, 2016; Tchekalarova et al., 2023) и импульсивностью (Hand et al., 2009). В то же время в ряде работ с использованием крыс линии SHR (это общепризнанная модель заболевания ADHD человека) отмечались их отличия от нормотензивных крыс Вистар-Киото и аутбредной линии Вистар по показателям условно-рефлекторного инструментального обучения, причем различия в разных работах имели разный «знак» (Hand et al., 2009, 2010; Silic et al., 2023).

Данные, полученные при первом тестировании новой установки для крыс, позволяющей оценивать способность этих животных оперировать эмпирическим законом – правилом «неисчезаемости», имеют, разумеется, предварительный характер. В то же время эти данные свидетельствуют о принципиальной важности проведения подобного рода тестирования при оценке, например, эффектов фармакологических агентов – в частности, препаратов ноотропного ряда.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показатели теста ПСВУ для крыс обнаружили ряд различий в его выполнении при сравнении

поведения крыс разных генетических групп. Это свидетельствует о том, что использование данной экспериментальной методики, описание которой дано в статье, может дать новую информацию о способности к решению элементарной логической задачи, которая основана на улавливании животным правила «неисчезаемости».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.Г.К. – конструирование установки, разработка схемы эксперимента, проведение тестов, обработка данных написание статьи. П.Д.О. – проведение тестов, обработка данных. А.Н.И. – разработка схемы эксперимента, редактирование текста. И.И.П. – идея работы, написание статьи.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ №121032500080-8.

СОБЛЮДЕНИЕ БИОЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Работа соответствует требованиям Директивы Европарламента о защите животных, используемых в научных целях (Directive 2010/63/EU, 22 September 2010). Заявка «Условия содержания животных» подтверждена Комиссией по биоэтике МГУ 30.10.2018.

ДОСТУПНОСТЬ ПЕРВИЧНЫХ ДАННЫХ

korolevpost@gmail.com

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Крушинский Л.В. Биологические основы рассудочной деятельности: Эволюционный и физиолого-генетический аспекты поведения.
Королев А.Г., Иноземцев А.Н., Полетаева И.И. Устройство для исследования поведения лабораторных крыс: пат. 2023132329/14(071447) РФ, 08.12.2023.
Лакин Г.Ф. Биометрия. М. Высшая школа, 1990.

- Иноземцев А.Н., Королев А.Г.* Инструментальное оборонительное поведение: подходы и методы исследования. Учебное пособие. М.: Москва, 2023. 200c.
- Ben Abdallah N.M.-B., Fuss J., Trusel M., Michael J., Galsworthy M.J., Bobbin K., Colacicco G., Robert M.J., Deacon R.M.J., Riva M.A., Christoph Kellendonk C., Sprengel R., Lipp H.-P., Gass P.* The puzzle box as a simple and efficient behavioral test for exploring impairments of general cognition and executive functions in mouse models of schizophrenia. *Experim. Neurol.*, 2011, v. 227: 42–52.
- Fasmer O.B., Johansen E.B.* Patterns of motor activity in spontaneously hypertensive rats compared to Wistar Kyoto rats. *Behav Brain Funct.* 2016. 12(1): 32. doi: 10.1186/s12993-016-0117-9.
- Galsworthy M.J., Paya-Cano J.L., Monleon S., Plomin R.* Evidence for general cognitive ability (g) in heterogeneous stock mice and an analysis of potential confounds. *Genes Brain Behav.* 2002. 1 (1): 88–95.
- Galsworthy M.J., Paya-Cano J.L., Liu L., Monleon S., Gregoryan G., Fernandes C., Schalkwyk L.C., Plomin R.* Assessing reliability, heritability and general cognitive ability in a battery of cognitive tasks for laboratory mice. *Behav. Genet.* 2005, 35(5): 675–692. doi: 10.1007/s10519-005-3423-9.
- Pickens C.L., Holland P.C.* Conditioning and cognition. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2004. 28: 651–661.
- Hand D.J., Fox A.T., Reilly M.P.* Differential effects of d-amphetamine on impulsive choice in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Behav Pharm.* 2009. 20(5–6): 549–553. doi: 10.1097/FBP.0b013e3283305ee1
- Hand D.J., Fox A.T., Reilly M.P.* Response acquisition with signaled delayed reinforcement in a rodent model of ADHD. *Behav Brain Res.* 2010. 213(2): 155–160. doi: 10.1016/j.bbr.2010.04.043.
- Hendley E.D., Wessel D.J., Atwater D.G., Gellis J., Whitehorn D., Low W.C.* Age, sex and strain differences in activity and habituation in SHR and WKY rats. *Physiol Behav.* 1985. 34(3): 379–383. doi: 10.1016/0031-9384(85)90199-4
- Perepelkina O.V., Poletaeva I.I.* Selection of Mice for Object Permanence Cognitive Task Solution. *Neurol Int.* 2022. 14(3): 696–706. doi: 10.3390/neurolint14030058. PMID: 36135993
- Rosenwasser A.M., Plante L.* Circadian activity rhythms in SHR and WKY rats: strain differences and effects of clonidine. *Physiol Behav.* 1993. 53(1): 23–29. doi: 10.1016/0031-9384(93)90006-2.
- Silic B., Aggarwal M., Liyanagama K., Tripp G., Wickens JR.* Conditioned approach behavior of SHR and SD rats during Pavlovian conditioning. *Behav. Brain Res.* 2023. 443:114348. doi: 10.1016/j.bbr.2023.114348
- Zucca P., Milos N., Vallortigara G.* Piagetian object permanence and its development in Eurasian jays (*Garrulus glandarius*). *Anim. Cogn.* 2007. 10: 243–258.

“OBJECT PERMANENCE” TEST FOR RATS. FIRST EXPERIMENTS

A. G. Korolev^{a, b, #}, P. D. Ogourtsov^a, A. N. Inozemtsev^a, I. I. Poletaeva^a

^aBiology Department, Moscow State University, Moscow, Russia

^bP. Lumumba RUPF, Medical Institute, Moscow, Russia

#e-mail: korolevpost@gmail.com

The description of the developed experimental set, permitting to evaluate rats solution of the “object permanence” test (be J. Piaget), which reflects animal capacity to operate one of the most simple empirical rules (by Krushinsky), i.e. capacity to solve elementary logic task. An animal, being placed in the brightly lit part of the box, is eager to run into the dark one via underpass, although after the first attempts the underpass was hidden by several means, and now an animal can solve the task overcoming the obstacle in case it operates the object permanence rule. The test solution does not require the previous learning, and it is similar to the test used in mice experiments. The test was applied in experiments with rats of five genetic groups – outbred Wistar and Long-Evans rats, rats of inbred audiogenic-prone Krushinsky – Molodkina (KM) strain, the strain derived from KM rats, selected for audiogenic non-proneness and inbred SHR strain with spontaneous arterial hypertension. The preliminary experiments (performed with an animal during one experimental day) revealed interstrain differences with the test solution prevalence in SHR strain. This test could be used in pharmacological and neurophysiological experiments with rats.

Keywords: animal cognitive ability, object permanence test, experimental setup, rat strains

ИНФОРМАЦИЯ

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ ТОМ 74, 2024

| | | |
|---|---|-----|
| <i>Suchkov D.S., Shumkova V.V., Situdikova V.R., Silaeva V.M., Logashkin A.E., Mamleev A.R., Popova Y.V., Sharipzyanova L.S., Minlebaev M.G.</i> AVRAWRA – application for video raw record acquisition for neuroimaging and videoregistration research | 3 | 369 |
| <i>Zakharova E.I., Storozheva Z.I., Proshin A.T., Monakov M. Yu., Dudchenko A.M.</i> Hypoxic preconditioning in rats with low and high prepulse inhibition of acoustic startle is implemented through topographically different sensory inputs. Working hypothesis | 3 | 336 |
| <i>Балабан П.М., Бородинова А.А.</i> Память и время | 6 | 657 |
| <i>Бахчина А.В., Созинова И.С., Александров Ю.И.</i> Динамика нейровисцеральных взаимодействий в индивидуальном и филогенетическом развитии: анализ вариабельности сердечного ритма | 2 | 131 |
| <i>Боброва Е.В., Решетникова В.В., Гришин А.А., Вершинина Е.А., Богачева И.Н., Щербакова Н.А., Исаев М.Р., Бобров П.Д., Герасименко Ю.П.</i> Активность мышц нижних конечностей в условиях управления нейроинтерфейсом. Нейроинтерфейс, основанный на воображении ходьбы | 5 | 591 |
| <i>Бочаров А.В., Савостьянов А.Н., Сапрыгин А.Е., Таможников С.С., Рудыч П.Д., Лебедкин Д.А., Милахина Н.С., Меркулова Е.А., Князев Г.Г.</i> ЭЭГ корреляты узнавания себя в морфизированных изображениях | 4 | 450 |
| <i>Бражник Е.С., Мысин И.Е., Новиков Н.И.</i> Локальные полевые потенциалы и активность нейронов в моторных сетях при леводопа-индуцированной дискинезии на модели болезни Паркинсона | 5 | 606 |
| <i>Вихрова Н.Б., Калаева Д.Б., Баталов А.И., Пронин И.Н.</i> Фенотипическая и генетическая гетерогенность глиобластом, сопоставление параметров МРТ и ПЭТ/КТ с молекулярно-генетическими характеристиками опухоли | 1 | 48 |
| <i>Галкин М.В., Вихрова Н.Б., Голанов А.В., Данилов Г.В., Струнина Ю.В.</i> ПЭТ/КТ с ¹¹ C-метионином при менингиомах | 1 | 60 |
| <i>Горбачевский А.В., Кичерова О.А., Рейхерт Л.И.</i> Глимфатическая система, сон, нейродегенерация | 3 | 269 |
| <i>Дзариева Ф.М., Шамадыкова Д.В., Случанко О.В., Павлова С.А., Фаб Л.В., Рябова А.В., Пантелейев Д.Ю., Копылов А.М., Усачев Д.Ю., Головин А.В., Павлова Г.В.</i> Специфичность аптомеров U2 и GOL1 к EGFR – позитивным клеткам глиобластомы человека <i>in vitro</i> | 1 | 85 |
| <i>Добрушина О.Р.</i> Современные нейронаучные концепции и психотерапия: возможности интеграции | 1 | 3 |
| <i>Дыденкова Е.А., Жукова Е.В., Хайрулина Г.М., Скороходов И.В., Майорова Л.А., Портнова Г.В.</i> Влияние типа игровых массажных движений на восприятие тактильной стимуляции у детей: ЭЭГ исследование | 4 | 396 |
| <i>Жемчужников А.Д., Карташов С.И., Козлов С.О., Орлов В.А., Пойда А.А., Захарова Н.В., Бравве Л.В., Мамедова Г.Ш., Кайдан М.А.</i> Поиск наиболее информативных регионов для бинарной классификации шизофрении по данным фМРТ состояния покоя на основе метода выделения функционально однородных регионов | 4 | 412 |
| <i>Зайченко М.И., Сидорина В.В., Григорьян Г.А.</i> Влияние обогащенной среды на обучение и память в водном лабиринте Морриса у крыс с острым и хроническим провоспалительным стрессом | 5 | 621 |
| <i>Иванов Б.М., Антипова О.М., Слиман Я.А., Самойленкова Н.С., Пронин И.Н., Павлова Г.В., Копылов А.М.</i> Использование анти-EGFR аптомерной конструкции GR20hh для регулируемой доставки доксорубицина в клетки глиобластомы | 1 | 100 |
| <i>Кичигина В.Ф., Попова И.Ю., Шубина Л.В.</i> О механизмах патогенеза болезни Альцгеймера: особая роль переднебазального мозга | 5 | 538 |
| <i>Князев Г.Г., Савостьянов А.Н., Бочаров А.В., Сапрыгин А.Е.</i> Связь нейротизма с индивидуальными различиями в динамике активности мозга в процессе социальных взаимодействий | 6 | 717 |
| <i>Кожухов С.А., Салтыков К.А., Бондарь И.В.</i> Зависимость амплитудных и фазовых характеристик вазомоторных колебаний от условий зрительной стимуляции и длительности проведения эксперимента | 4 | 496 |

| | | | |
|--|--|---|-----|
| <i>Колесникова В.А., Митина А.К., Рябова А.В., Фаб Л.В., Пронин И.Н., Павлова Г.В.</i> | Антипролиферативный эффект L1CAM-специфичных аптомеров в клеточных культурах глиобластомы человека | 1 | 109 |
| <i>Кондашевская М.В., Артемьева К.А., Александрина В.В.</i> | Центральные нейробиологические механизмы стрессоустойчивости при посттравматическом стрессовом состоянии | 5 | 565 |
| <i>Королов А.Г., Огурцов П.Д., Иноземцев А.Н., Полетаева И.И.</i> | Когнитивный тест на «неисчезаемость». Модифицированный вариант для крыс | 6 | 756 |
| <i>Коротков А.Д., Желтакова М.А., Машарипов Р.С., Диудур М.Д., Чередниченко Д.В., Киреев М.В.</i> | Активность левой нижней лобной извилины и механизм детекции ошибок при реализации ложных действий в условиях различной монетарной выгоды | 2 | 244 |
| <i>Косырькова А.В., Горяйнов С.А., Баталов А.И., Афандиев Р.М., Семин К.С., Захарова Н.Е., Огурцова А.А., Данилов Г.В., Аристов А.А., Охлопков В.А., Кравчук А.Д., Пронин И.Н.</i> | Анализ применения флуоресцентной микроскопии в хирургии новообразований, расположенных вблизи моторных зон головного мозга | 1 | 69 |
| <i>Крупина Н.А., Хлебникова Н.Н.</i> | Длительная социальная изоляция ухудшает обучение в задаче двустороннего активного избегания у самок крыс | 6 | 727 |
| <i>Кудряшова И.В.</i> | Роль деполимеризации актина в изменении тормозных влияний на долговременную потенциацию возбуждающих синапсов гиппокампа крыс | 6 | 667 |
| <i>Курганская М.Е., Исаев М.Р., Бобров П.Д.</i> | Динамика синхронизации и десинхронизации ЭЭГ при выполнении реального и мысленного движения руки, направленного к видимой цели | 2 | 210 |
| <i>Курганский А.В., Корнеев А.А., Ломакин Д.И., Мачинская Р.И.</i> | Удержание вербальной и невербальной серийной информации в рабочей памяти. Анализ функциональных и эффективных связей | 2 | 223 |
| <i>Ларионова Е.В., Гарах Ж.В., Лущекина Е.А.</i> | Правый – значит правильный? Влияние типа моторного ответа на поведенческие и электрофизиологические показатели при выполнении задачи орфографического решения | 4 | 461 |
| <i>Манаенков А.Е., Лигун Н.В., Свешников Д.С., Якунина Е.Б., Торшин В.И., Дорохов В.Б.</i> | Паттерны межполушарных взаимодействий при пробуждении от коротких эпизодов дневного сна | 3 | 285 |
| <i>Матухно А.Е., Ткачева П.В., Войнов В.Б., Лысенко Л.В., Евсюкова Е.В., Тайсаева А.О., Безпрозванный И.Б.</i> | Хроническая визуализация морфологии дендритных шипиков у трансгенных мышей гибридной линии 5XFAD-M, являющихся моделью болезни Альцгеймера | 6 | 742 |
| <i>Михайлова Е.С., Кушнир А.Б., Герасименко Н.Ю.</i> | Смещение внимания в парадигме эмоционального Струп-теста у девушек с вегетативной дисфункцией различной выраженности | 6 | 701 |
| <i>Мухамедшина И.А., Харламова А.В.</i> | Влияет ли длительный отбор по реакциям на человека на особенности процесса принятия решения у лисиц при обучении? | 3 | 324 |
| <i>Мысин И.Е., Васильев А.О., Дубровин С.В., Скороход С.Н.</i> | Представление пространственной информации в поле CA1 | 5 | 517 |
| <i>Находкин С.С., Барашков Н.А., Казанцева А.В., Пищенкова В.Г., Никанорова А.А., Хуснутдинова Э.К., Малых С.Б., Федорова С.А.</i> | Анализ ассоциаций черт темперамента и характера личности с уровнем кортизола в сыворотке крови мужчин Саха (якутов) с учетом перенесенного в детстве стресса | 4 | 426 |
| <i>Павлова И.В., Брошиецкая Н.Д.</i> | Влияние содержания крыс в условиях повышенной скученности на тревожность и условно-рефлекторный страх | 3 | 353 |
| <i>Паликов В.А., Павлов Н.Б., Исмаилова А.М., Амирзов Р.Р., Дьяченко И.А., Бороздина Н.А., Бервинова А.В., Логунов А.Т., Мурашев А.Н., Баранов В.М.</i> | Интервальное ингаляционное применение кислородно-гелиевой смеси устраняет последствия церебральной артериальной воздушной эмболии у крыс | 5 | 632 |
| <i>Перепелкина О.В., Полетаева И.И.</i> | Межлинейные различия в когнитивных способностях лабораторной мыши (элементарная логическая задача, внимание, память) | 4 | 486 |
| <i>Приводнова Е.Ю., Вольф Н.В.</i> | Эффект полиморфизма STIN2VNTR гена транспортера серотонина на фоновую ЭЭГ у пожилых испытуемых зависит от интеллектуальной среды профессиональной деятельности | 4 | 437 |
| <i>Пюрвеев С.С., Лебедев А.А., Сизов В.В., Бычков Е.Р., Мухин В.Н., Надбитова Н.Д., Дробленков А.В., Шабанов П.Д.</i> | Социальная изоляция вызывает аддиктивное поведение, увеличивая выброс дофамина в прилежащем ядре в ответ на стимуляцию зоны положительного подкрепления | 4 | 471 |

| | | |
|--|---|-----|
| <i>Ревицин А.В., Павлова Г.В.</i> Участие субвентрикулярной зоны мозга в развитии глиомы головного мозга | 1 | 26 |
| <i>Ревицин А.В., Павлова Г.В., Шкарабо А.Н.</i> Проблемы и перспективы восстановления зрительного нерва | 1 | 36 |
| <i>Сапронова А.А., Рябушкина Ю.А., Кисаретова П.Э., Бондарь Н.П.</i> Механизмы адаптации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы у самцов мышей под влиянием хронического стресса социальных поражений | 2 | 197 |
| <i>Словенко Е.Д., Сысоева О.В.</i> Выявление нейрофизиологических маркеров обработки интрацептивных сигналов с помощью метода связанных с событиями потенциалов | 3 | 297 |
| <i>Смирнов И.В., Малышев А.Ю.</i> Гетеросинаптическая пластичность: один термин, обозначающий разные феномены | 6 | 643 |
| <i>Торопова К.А., Ивашина О.И., Воробьева Н.С., Анохин К.В.</i> Сравнительный анализ активности возбуждающих и тормозных нейронов гиппокампа при извлечении ассоциативной обстановочной памяти | 2 | 167 |
| <i>Тюрина А.Н., Баталов А.И., Захарова Н.Е., Фадеева Л.М., Калаева Д.Б., Пронин И.Н.</i> Неинвазивное определение мутаций гена IDH-1 глиом головного мозга на основе метода протонной МР-спектроскопии | 1 | 77 |
| <i>Чернышев Б.В., Ушаков В.Л., Позняк Л.А.</i> Поиск нейрофизиологических механизмов конфигурационного обучения | 2 | 150 |
| <i>Шамадыкова Д.В., Павлова Г.В.</i> Фундаментальные исследования и практическое использование нейропротекторных свойств GDNF при нейродегенеративных нарушениях | 6 | 687 |
| <i>Шарова Е.В., Кулева А.Ю., Струнина Ю.В., Ярец М.Ю., Галкин М.В., Смирнов А.С., Кротковая О.А.</i> Влияние радиотерапии на коннективность сети управляющих функций фМРТ у пациентов с латерализованным поражением медиобазальных отделов височной доли | 1 | 14 |
| <i>Шестopalова Л.Б., Петровская Е.А.</i> Вызванные потенциалы на движение звуковых стимулов при межушных различиях по интенсивности | 3 | 311 |
| <i>Шульская М.В., Сломинский П.А., Шадрина М.И., Алиева А.Х.</i> Роль отдельных структурных и функциональных элементов миелина при болезни Паркинсона | 3 | 259 |
| <i>Яковлева О.В., Скрипникова В.В., Яковлев А.В., Ситдикова Г.Ф.</i> Оценка сенсомоторного развития, поведенческих реакций и когнитивных функций потомства второго поколения крыс с гипергомоцистенией | 2 | 179 |
| <i>Яценко М.В., Брак И.В., Артеменко Е.Д.</i> Обзор опыта использования потенциалов, связанных с событием, в исследованиях имплицитного компонента когнитивных искажений | 4 | 385 |

ИНФОРМАЦИЯ

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

«Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова» публикует экспериментальные, теоретические и обзорные статьи по нейрофизиологии и патофизиологии высшей нервной деятельности человека и животных на русском и английском языках, ранее нигде не опубликованные.

В журнале имеются разделы: краткие сообщения; обзоры и теоретические статьи; физиология высшей нервной (когнитивной) деятельности человека; физиологические механизмы поведения животных (восприятие внешних стимулов, двигательная активность, обучение и память); экспериментальная патология высшей нервной деятельности; нейробиофотоника и нейрогенетика; клеточная нейрофизиология; нейрофилософия; методика; дискуссионные статьи; история исследования ВНД.

К обзорным статьям предъявляются следующие требования:

1) у авторов должны быть собственные работы по теме обзора;

2) список цитированной литературы должен включать работы, опубликованные по данной теме в течение последних 5 лет;

3) обзор не должен быть дословным цитированием кусков ранее опубликованных работ, в нем должен быть критический разбор цитируемых материалов и своя концепция, свое видение проблемы, побудившее авторов написать данный обзор.

В рубрике журнала «Краткие сообщения» публикуются короткие (до 10 страниц, включая список литературы и рисунки) статьи приоритетного характера; после положительной оценки двумя рецензентами и утверждения главным редактором и редколлегией журнала эти статьи будут иметь преимущество по срокам опубликования.

По решению редколлегии журнала статьи, не имеющие цитирования (из истории науки; хроника; рецензии; информация), размещаются только на сайте журнала.

ПРЕДСТАВЛЕНИЕ РУКОПИСЕЙ

Редакция принимает на рассмотрение рукописи, присланные по электронной почте на адреса редакции: zhvnd@yahoo.com, zhvndpavlov@gmail.com.

При первичном представлении следует предоставить электронную версию статьи, таблиц и рисунков к ней (при наличии), а также следующие сопроводительные документы: направление от института и заключение экспертной комиссии,

договор о передаче авторского права. Первая страница статьи должна быть завизирована руководителем лаборатории, отдела или кафедры учреждения, в котором была выполнена работа.

Авторы могут назвать четырех потенциальных рецензентов статьи (ФИО, место работы, контактный телефон и e-mail). Редакция оставляет за собой право обратиться к указанным или иным рецензентам.

В случае необходимости внести изменения в статью в соответствии с замечаниями рецензентов и требованиями редакции автор должен вернуть статью в течение двух месяцев, иначе статья считается поступившей вновь. К переработанной рукописи авторам необходимо приложить письмо с описанием сделанных исправлений и содержащее ответы на каждое замечание рецензента.

ОФОРМЛЕНИЕ РУКОПИСЕЙ

1. Объем рукописей

Краткие сообщения – не должны превышать 10 страниц текста, включая резюме на русском и английском языках и список литературы, до 3 рисунков и таблиц.

Экспериментальные работы – до 30 страниц текста, включая резюме на русском и английском языках, список литературы, до 6 рисунков и таблиц.

Обзорные и теоретические статьи – до 60 страниц текста, включая резюме на русском и английском языках, список литературы, до 3 рисунков и таблиц.

2. Текст

Заглавие должно быть максимально кратким, информативным и не включать сокращений.

Текст печатается через полтора интервала; верхнее, нижнее и левое поля должны быть не менее 2.5 см. Шрифт Times New Roman 14, нумерация страниц дается вверху, в центре. Начало статьи оформляется по образцу: УДК (индекс уникальной десятичной классификации) в левом верхнем углу страницы, название статьи, авторы (инициалы перед фамилией), полное название учреждений, в которых выполнялась работа, адрес электронной почты, дата поступления, дата доработки и дата принятия к публикации (приводятся после окончательного принятия статьи). Например:

УДК 612.821.6

НАЗВАНИЕ СТАТЬИ

© 2024 г. А. А. Иванов*, А. Б. Петров

Кафедра физиологии, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*e-mail:

Поступила в редакцию (дата)

После доработки (дата)

Принята к публикации (дата)

Далее следует краткая аннотация (не более 1/2 страницы) и ключевые слова (не более 10). Аннотация и ключевые слова на английском языке ставится в конце текста, после списка литературы. Не рекомендуется вводить в аннотацию нестандартные аббревиатуры и ссылки на литературу.

В начале статьи следует привести обоснование и четко сформулировать задачу работы, затем выделить разделы: МЕТОДИКА (где следует указать, кто и руководствуясь какими правилами утвердил протоколы работы с животными, наличие оснований для работы на человеке), РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ, ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ и ЗАКЛЮЧЕНИЕ или ВЫВОДЫ.

В статьях, публикуемых ЖВНД, обязательна статистическая обработка полученных результатов. В разделе МЕТОДИКА должно присутствовать описание статистических методов, а также должен быть указан статистический пакет, применяющийся при обработке результатов, и номер его версии.

Далее следует указать отдельными абзацами:

Информация о вкладе каждого автора

Источник финансирования работы

Благодарности (при наличии)

Указание на отсутствие или наличие конфликта интересов

Соблюдение этических стандартов (разрешение этической комиссии учреждения с номером и датой; указание на наличие информированного согласия от пациентов)

Указание на доступность первичных данных.

3. Список литературы

Список литературы должен начинаться с новой страницы и включать только опубликованные работы, процитированные в тексте. Ссылки на работы в тексте в соответствии со списком даются в круглых скобках (Фамилия, год). Например, (Иванов, 1987), (Иванов, Петров, 1993), три и более трех авторов (Иванов и др., 1995), (Roger et al., 1985).

В список литературы следует включать работы в алфавитном порядке, сначала на русском языке, затем на иностранных языках. Следует привести фамилии всех авторов, название статьи, название журнала, год, том, первую и последнюю страницы; или название книги, город, издательство, год, число страниц. Список идет без нумерации.

Например:

Иванов И.М., Петров П.П. Векторное кодирование и нейронные карты. Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова. 1993. 43 (5): 102–110.

Симонов П.В. Мотивированный мозг. М.: Наука, 1987. 269 с.

Olds J. Mechanisms of instrumental conditioning. EEG a. Clin. Neurophysiol. 1963. 24: 219–225.

Roger D. Operant control of evoked potentials. Self-regulation of the Brain and Behavior. Ed. Elbert T.H. Berlin: Springer-Verlag, 1984. 180–195 pp.

Если статья была опубликована в нашем журнале, а затем переведена и опубликована в «Neuroscience and Behavioral Physiology», цитировать ее следует по первой публикации в «Журнале высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова».

Цитировать Журнал высшей нервной деятельности в статьях на английском языке нужно следующим образом:

Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. 2000. V.50. № 3. P. 25-30.

Важные требования

1) не менее 50% цитируемой в статье литературы должно быть новой, то есть опубликованной за 5 последние лет (за исключением особых случаев, согласованных с редакцией); 2) самоцитирование (ссылки на работы авторов и соавторов статьи) не должно превышать 15%.

4. Таблицы

Таблицы следует приводить в тех случаях, когда данные не могут быть приведены в тексте. Каждая таблица оформляется на отдельной странице и имеет свой заголовок. Заголовок таблицы дается на русском и английском языках. Колонки в таблице должны быть озаглавлены. Необходимо стремиться к максимальной краткости заголовков колонок. Повторение одних и тех же данных в тексте, в таблицах или на рисунках не до путается. Таблицы принимаются только в формате Word (doc, docx).

5. Иллюстрации

Форматы файлов: tif, jpg.

Рисунок должен обладать высоким реальным разрешением: не ниже 300 dpi для полутонаовых иллюстраций; не ниже 600 dpi для штриховых и смешанных (полутонаовых/штриховых) иллюстраций. Линии рисунков должны быть толщиной не менее 3 пунктов (point). Следует избегать чрезмерно мелких обозначений (букв, цифр, значков и т.д.).

Рисунки даются в виде отдельных графических файлов. Название каждого файла должно содержать порядковый номер рисунка в настоящей статье (например: «1_Схема.Ш»).

В тексте статьи, на полях должно быть указано, где именно следует поместить рисунок.

На рисунках рекомендуется размер букв и цифр 9 пунктов, шрифт Arial.

Рисунки не должны содержать подрисуночные подписи.

Подрисуночные подписи (максимально краткие) даются на русском и английском языках на отдельных листах и должны содержать информацию обо всех рисунках, на которые есть ссылки в статье: номер рисунка (в порядке упоминания в тексте), его название, все надписи, расположенные на рисунке, а также расшифровку всех обозначений, использованных на рисунке.

Цветные иллюстрации публикуются бесплатно для авторов в том случае, если они будут размещены только в электронной версии статьи, а в печатной версии журнала они будут в черно-белом исполнении. При этом авторы должны иметь в виду, что в печатной версии с черно-белыми рисунками сохраняются подрисуночные подписи из цветной электронной версии, поэтому следует избегать указаний на цвет в подрисуночных подписях. Авторам необходимо подбирать цвета таким образом, чтобы при черно-белой печати не утратилась информативность. Цветные линии графиков желательно размечать обозначениями, цифрами или спецсимволами или делать различающиеся типы линий для каждого цвета. Цветные области на иллюстрациях желательно размечать различающимися обозначениями или спецсимволами, а не одинаковыми символами разных цветов. Если цветовое разделение областей находится примерно в одном цветовом тоне, то желательно

проводить тонкую линию границы между ними. При большом количестве цветных областей в схожих цветовых тонах желательно дополнительно обозначить области символами или штриховкой. Все надписи и обозначения желательно делать не цветными, а черными или белыми, в зависимости от цвета подложки.

Подготовленные рисунки желательно распечатать и убедиться, что они хорошо выглядят в напечатанном виде. Все элементы рисунка должны быть хорошо видны на распечатке, фон должен быть чистым, надписи и цифры должны быть четкими.

Если рисунок был опубликован ранее, необходимо письменное разрешение от владельца права на его публикацию.

6. Формулы

Формулы должны быть оформлены только в MathType.

7. Дополнительные материалы

Ссылка на наличие дополнительных материалов при их наличии. Дополнительные материалы публикуются только в электронной версии журнала на сайте журнала <https://jvnd.ru/supplemental-materials/>. Подробнее с правилами оформления можно ознакомиться на сайте журнала <https://jvnd.ru/index.php>. Статьи, оформленные не по правилам, не рассматриваются.