

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

DOI: 10.1134/S086981391811002X

**ЭФФЕКТ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА TAAR5 СЛЕДОВЫХ АМИНОВ
КАК МОДЕЛЬ ШИЗОФРЕНИИ ПО ДАННЫМ
ЭЛЕКТРОКОРТИКОГРАФИИ КРЫС**

© Д. Р. Белов, З. С. Фесенко, А. М. Лакстыгал,
Р. Р. Гайнетдинов, С. Ф. Колодяжный

Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия
E-mail: dmbelov64@mail.ru

В хронических экспериментах на крысах оценивалось влияние на электрокортикографию (ЭКоГ) вещества α -NETA, агониста рецептора TAAR5 следовых аминов. Оценивались изменения спектральной мощности основных ритмов ЭКоГ и отдельно — пространственная синхронизация в гамма-диапазоне из-за роли гамма-колебаний в передаче информации между областями, предположительно страдающей при шизофрении. Взрослым самцам крыс линии Вистар вживлялись 6 низкоомных электродов в кору обоих полушарий двумя рядами по 3 с целью обследовать топографию всей коры. Проведено 20 опытов: в 10 опытах системно вводилась α -NETA, в 10 контрольных опытах — физраствор. Инъекция α -NETA вызывала повышение мощности в дельта-диапазоне 0—5 Гц и сцепленное с ним снижение мощности в диапазоне 5—10 Гц. Максимальные отличия были в первые 10 мин. После введения физраствора отличий не наступало. Рост медленных волн сопровождался снижением пространственной синхронизации гамма-колебаний между всеми 6 точками регистрации по сравнению с фоном до инъекции и по сравнению с контролем. Все эффекты были более выражены для передних зон коры. Предполагается, что α -NETA через влияние на TAAR5 изменяет дофаминовую передачу, что в свою очередь нарушает глутаматергическую передачу, приводя к дисфункции гамма-синхронизации, аналогично шизофрении.

Ключевые слова: следовые амины, α -NETA, TAAR5, гамма-ритм, шизофрения, электрокортикография.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 11. С. 1275—1290. 2018

D. R. Belov, Z. S. Fesenko, A. M. Lakstygol, R. R. Gainetdinov, S. F. Kolodyazhnyi. THE EFFECTS OF TAAR5 TRACE AMINES RECEPTOR AGONISTS AS A MODEL OF SCHIZOPHRENIA BASED ON ECoG DATA IN RATS. Saint Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia, e-mail: dmbelov64@mail.ru.

The effect of α -NETA, a TAAR5 trace amines receptor agonist, on ECoG was evaluated in chronic experiments in rats. Based of the role of gamma oscillations in the transmission of information between brain regions that is presumed to be affected by schizophrenia, the changes in the spatial synchronization in the gamma range, as well as the speciral power of the main ECoG

rhythms, were separately estimated. In order to examine the topography of the entire cortex, 6 low-resistance electrodes were implanted in two rows of 3 in the cortex of both hemispheres of Adult Wistar male rats. Twenty experiments were performed: in 10 experiments, α -NETA was systematically administered, the saline was administered in other 10. Injection of α -NETA caused an increase in the power in the delta range of 0—5 Hz, coupled with a power reduction in the range of 5—10 Hz. The maximum differences were observed in the first 10 minutes. No differences were observed after the saline injections. The described growth of slow waves was accompanied by the decrease in the spatial synchronization of fast gamma-oscillations between all 6 registration points in comparison with the background before the injection, and with control. All effects were more pronounced for the anterior cortical areas. We suggest that α -NETA through effect on TAAR5 influences the dopamine transmission, which in turn disrupts the glutamatergic transmission, resulting in the gamma-synchronization dysfunction.

Key words: trace amines, α -NETA, TAAR5, gamma-oscillation, schizophrenia.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 11. P. 1275—1290. 2018

Следовые амины (трейсмины) близки к обычным моноаминам и вместе с ними участвуют в регуляции движения, настроения, влечениях, но их функции мало изучены. Считается, что они модулируют классические моноамины. В 2001 г. был выявлен новый класс рецепторов к трейсминам — TAAR (Trace Amine-Associated Receptors). Всего обнаружено 9 рецепторов (TAAR1—TAAR9), из которых фармакология TAAR2, TAAR5 и TAAR6 пока неизвестна. Таким образом, это абсолютно новые и неизученные мишени для модулирования моноаминергических систем, в частности дофаминовой системы [32]. Исследование на животных механизмов такой модуляции и функций TAAR и связанных соединений в сочетании с методами электрофизиологии могут оказаться эффективными для оценки их ценности как лекарственных мишеней. Конкретно в данной работе речь идет о веществе α -NETA (2- α -(naphthoyl)-ethyltrimethylammonium iodide) в качестве медикаментозной модели шизофрении на крысах и о рецепторах TAAR5 как возможной лекарственной мишени при ее терапии.

Аномальные уровни следовых аминов выявлены у пациентов с дефицитом внимания, шизофренией, депрессией, болезнью Паркинсона [11]. Чаще всего дисфункции следовых аминов ассоциируются с шизофренией. В литературе о шизофрении сосуществуют глутаматная и дофаминовая гипотезы. Обе они имеют серьезные экспериментальные основания и, по-видимому, не являются взаимоисключающими [23]. Согласно дофаминовой теории, главную роль в патофизиологии шизофрении играет расстройство системы дофамина, включающее два основных компонента: гиперфункцию стриатума и функциональную недостаточность коры. Гиперстимуляция стриатальных рецепторов D2 лежит в основе положительных симптомов, а когнитивные нарушения и негативные симптомы гипотетически вызывает кортикальная гиподофаминергия [20]. Описанные нарушения баланса могут найти отражение в спектре основных ритмов ЭКоГ.

Кроме того, для шизофрении наиболее критичным является гамма-ритм из-за его роли в передаче информации между областями [48]. По Д. Хеббу дискретная, сильно связанная внутри группа активных нейронов («клеточный ансамбль»), представляет собой отдельную когнитивную единицу, и спайковая активность такой группы является базовой единицей нейронного кодирования. Внутренние механизмы регуляции этих ансамблей обеспечивают основу сложных потоковых когнитивных процессов (память, мышление, планирование и принятие решений). Важно также, что активация части ансамбля может воссоздать активность во всем ансамбле [13].

Открытие синхронизации гамма-волн между удаленными центрами заложило основу для концепции «связывания» (binding) или динамического взаимодействия между популяциями нейронов на больших расстояниях — внутри и между корковыми областями [46]. Согласно этой концепции, ритм в одном регионе при определенных условиях инициирует такой же ритм в другом регионе, что приводит к их взаимодействию и созданию единой системы. В настоящее время синхронизация активности удаленных участков мозга на гамма-частоте считается основным универсальным механизмом коммуникации нейронных сетей. Синхронизация создает те самые Хеббовские ансамбли, обеспечивающие разные психические процессы и их взаимодействие. Это объясняет изменения гамма-ритма при шизофрении, описанные во многих публикациях [29, 44]. Поэтому отдельное внимание уделено гамма-ритму ЭКоГ из-за описанной связи его с информационным сигналингом.

На основании изложенного была поставлена следующая цель работы:

Исследовать возможные изменения основных спонтанных ритмов ЭКоГ коры головного мозга и их характер под воздействием препарата « α -NETA», агониста рецептора следовых аминов TAAR5.

Были сформулированы следующие конкретные задачи:

- 1) оценить изменения спектра мощности ЭКоГ крыс в хронических экспериментах под воздействием α -NETA;
- 2) оценить изменения пространственной синхронизации гамма-колебаний в ЭКоГ крыс при многоканальной регистрации;
- 3) оценить динамику и топографию наступающих изменений.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Во время содержания животные имели неограниченный доступ к корму и воде при 12-часовом цикле смены освещения. Опыты проводились в соответствии с директивой Евросоюза № 86—609.

Подготовка животных. Для хронических экспериментов использовались 5 аутбредных белых крыс линии Вистар. Выбирались самцы 3—4 месяцев, чтобы не соотносить результаты с физиологическим циклом самок, к тому же самцы более спокойны. До исследования они в течение недели ежедневно «приучались к рукам», чтобы взаимодействие не превращалось в тяжелый стресс для них самих и для экспериментатора. После этого исчезали или снижались проявления страха и агрессии, ускорялась адаптация животных к обстановке опыта. Однако ясно, что адаптация не могла быть полной (см. ниже), и это учитывалось при анализе данных.

В ходе хирургической операции происходило вживление 7 винтовых электродов, 6 активных и 1 индифферентный (рис. 1, А). Инъекции α -NETA, агониста рецептора TAAR5, проводились внутрибрюшинно (как и контрольные инъекции 0.9%-ного раствора NaCl), так как он проходит через гематоэнцефалический барьер [19]. На 5 животных было проведено в общей сложности 20 опытов (рис. 1, Б). Из них в 10 опытах делались инъекции α -NETA, а в 10 контрольных опытах — инъекции 0.9%-ного раствора NaCl. В 7 опытах была дозировка 5 мг/кг массы тела, в 3 опытах — 3 мг/кг.

Электроды и хирургия. Шесть низкоомных позолоченных винтовых электрода располагались на максимальных расстояниях друг от друга, чтобы по возможности описать топографию ЭКоГ всей доступной площади коры (рис. 1, А). Электроды вживлялись под общим наркозом, для анестезии ис-

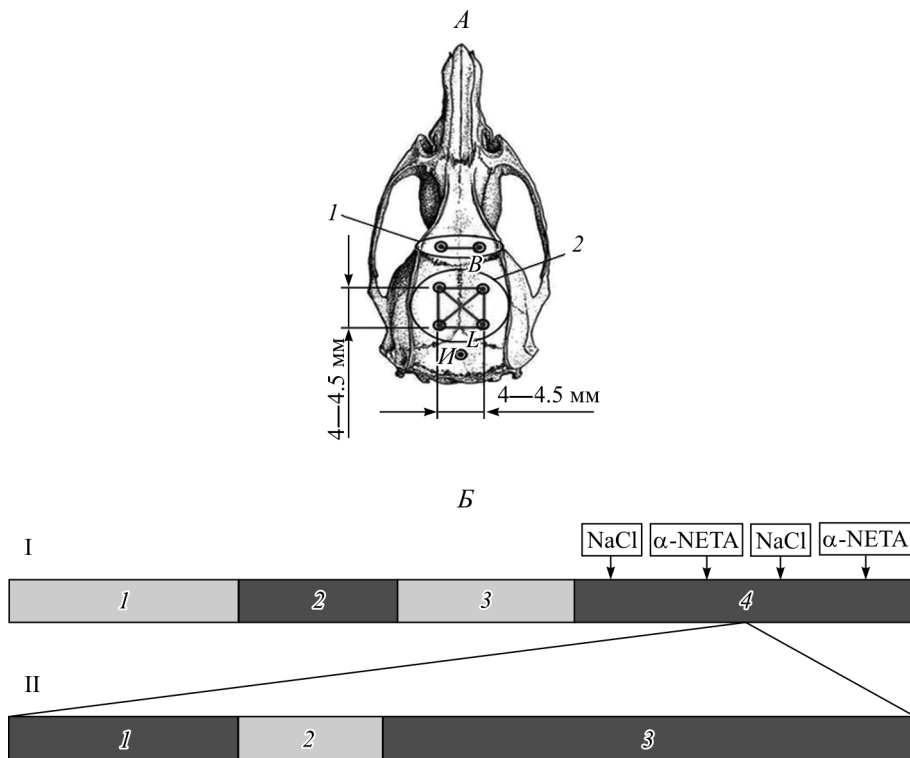


Рис. 1. Методика исследования.

A — расположение электродов и схема вычисления кросскорреляций ЭКоГ. 1 — передние зоны, 2 — задние зоны, *B* — брегма, *L* — лямбда, *И* — индифферент. *B* — организация исследований. I — дизайн серии опытов: 1 — приручение (7 дней), 2 — операция (1 день), 3 — восстановление (5—7 дней), 4 — опыты (7—30 дней). II — дизайн одного опыта: 1 — запись фоновой ЭКоГ (30 мин), 2 — инъекция (5—10 мин), 3 — запись ЭКоГ после инъекции (90 мин).

пользовался препаратом золетил (10 мг препарата на 100 г массы тела), разведенный в 1 мл 0.9%-ного раствора NaCl.

Винты имплантировались на минимальную глубину двумя рядами в оба полушария по 2 мм слева и справа от сагиттального шва. В каждом ряду располагались 3 электрода: 2 каудальнее «брегмы» (на 2 и 6 мм) и 1 роstralнее брегмы (на 2 мм). Таким образом, все межэлектродные интервалы были равны и составляли 4.0—4.5 мм в зависимости от размера черепа. Коммутировались 6 монополярных отведений относительно индифферентного электрода над мозжечком (2 мм каудальнее «лямбды»). Ниже по тексту нумерация электродов — слева направо и от передних к задним. Таким образом, они образуют 3 пары; нечетные номера — левые электроды в паре, четные — правые. Расположение в коре описанных 3 пар анатомически примерно соответствует префронтальной коре (вернее, ее аналогу у крыс), моторной коре конечностей и срединно-теменной ассоциативной коре.

Дизайн эксперимента. В течение 5—7 дней животные восстанавливались после операции. После этого на каждой крысе опыты ставились через день в течение 1—4 недель пока электродная конструкция с головы не отваливалась (рис. 1, *B*). При этом чередовали контрольные опыты с инъекцией физраствора и опыты с введением α-NETA. В первый опыт вводился физраствор, чтобы

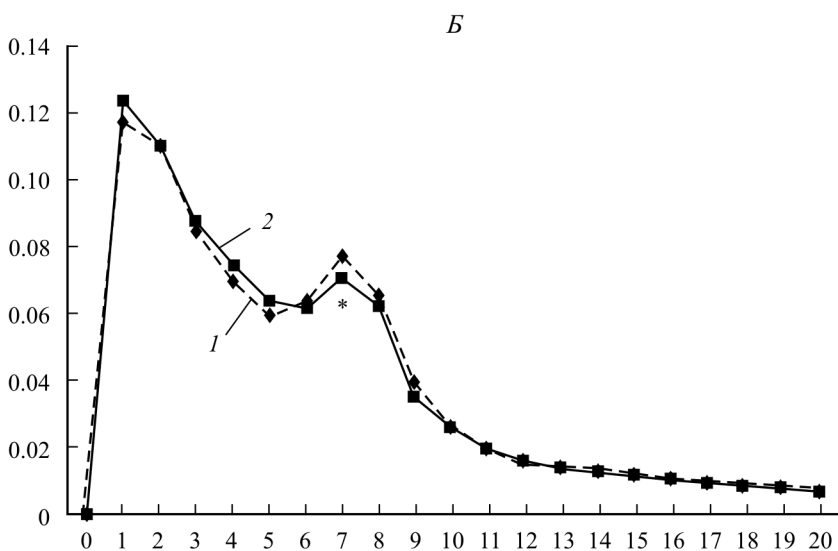
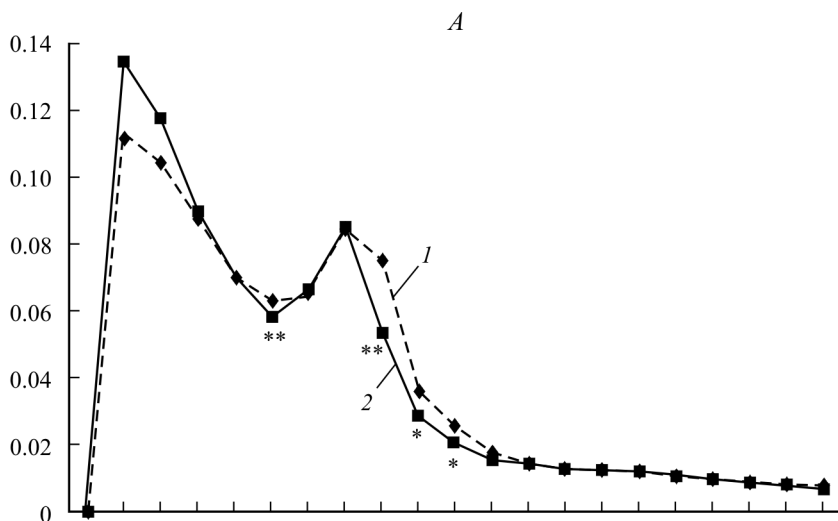


Рис. 2. Спектральный анализ ЭКГ.

А — среднегрупповые спектры передних зон до (1) и после (2) инъекции α -НЕТА. Звездочки — значимые изменения по критерию Вилкоксона. Б — то же до (1) и после (2) инъекции физиологического раствора. В — разностные спектральные кривые до и после инъекции α -НЕТА (1) и физраствора (2). Отрезки — 95%-ные доверительные интервалы для значимых изменений (отклонения от нуля по Т-критерию). Звездочки — значимые различия между кривыми. По горизонтали — частота в Гц, по вертикали — спектральная мощность в долях единицы.

определить специфичную для каждой особи динамику поведения и динамику электрофизиологических показателей в ходе опыта и чтобы минимизировать долговременное и (или) накопительное действие исследуемого вещества. До укола запись шла 30 мин (фон, адаптация к ситуации), после укола — еще полтора часа. Между блоками записи проходило от 5 до 10 минут (укол и повторное подключение проводов) (рис. 1, Б). К концу опыта животные иногда впадали в сон. Эти интервалы также анализировались. Любые изменения состояния, поведенческие паттерны и действия экспериментатора отмечались в

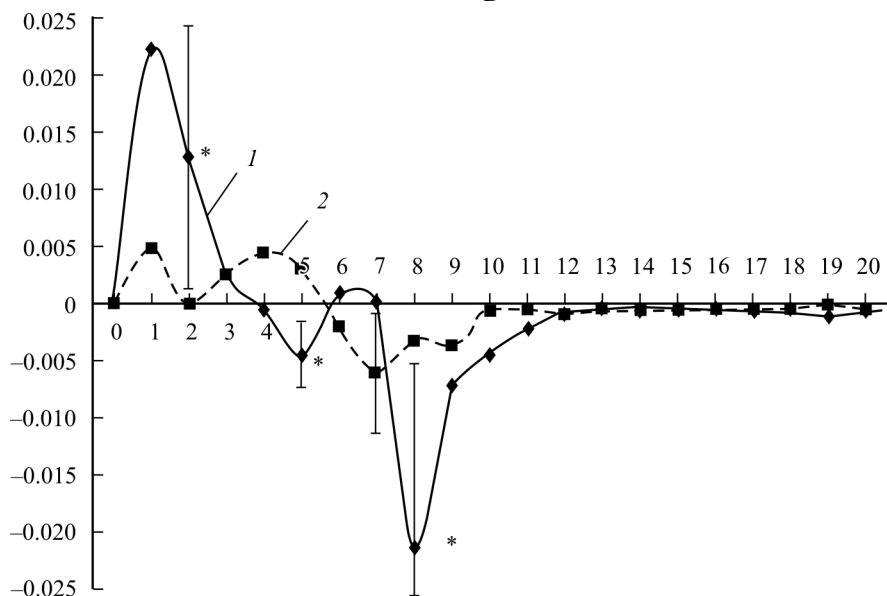


Рис. 2 (продолжение).

журнале, хронометрировались и учитывались при анализе данных, велась видеосъемка.

ЭКоГ регистрировалась с помощью универсального усилителя физиологических сигналов УФС-8 с импедансом входов 500 МОм. Запись велась в диапазоне 0.1—100 Гц с режекторным фильтром 50 Гц. Коэффициент взаимовлияния по каналам не более 0.01 %, коэффициент подавления синфазной помехи на частоте 50 Гц 96 дБ. Частота оцифровки составляла 2000 Гц.

Анализ данных. ЭКоГ анализировалась двумя методами — спектральным анализом и через оценку пространственной синхронизации между парами точек.

При спектральном анализе запись ЭКоГ сначала нарезалась на крупные фрагменты (минуты), которые затем сканировались коротким скользящим секундным отрезком, или «элементарным» отрезком. Число точек в элементарном отрезке являлось степенью двойки (2048, т. е. около 1 с) и было существенно меньшим, чем крупный фрагмент (1 мин). Для элементарных отрезков вычислялся спектр методом быстрого преобразования Фурье на каждом шаге смещения по крупному фрагменту. Смещение по фрагменту происходило с перекрытием элементарных отрезков на 2/3. Все вычисленные внутри минутного фрагмента спектральные плотности усреднялись, и усредненная плотность ассоциировалась с этим фрагментом. Показатель крупного фрагмента в свою очередь давал однократное измерение спектра ЭКоГ, т. е. одну точку (1 мин) на временном графике для всего опыта, длящегося 2 ч. Данные спектрального анализа усреднялись для интересующих интервалов времени (сравнение состояния до и после инъекции α -НЕТА или физраствора) (рис. 2, А).

Пространственная синхронизация биопотенциалов — это характеристика степени синхронности записей ЭКоГ каких-либо двух точек на выбранной эпохе (обычно 1—5 с). Терминологически «пространственную синхронизацию» часто путают с просто «синхронизацией». Последняя относится к одно-

му отведению и характеризует регулярность колебаний и их амплитуду. Для исследования гамма-ритма перед расчетом пространственной гамма-синхронизации ЭЖоГ пропусклась через фильтр Баттерворда, оставляя только колебания в диапазоне 30—50 Гц и подавляя остальные диапазоны.

Пространственная синхронизация оценивалась между всеми 6 отведениями по принципу «каждое с каждым» по традиционному критерию — кросс-корреляции, т. е. по коэффициенту линейной корреляции Пирсона между оцифровками с размерностью от -1 до $+1$. Реально он варьирует от 0.1 до 0.9. Важно, что по своему «физическому смыслу» пространственная гамма-синхронизация близка к концепции связывания (см. выше). Кроме того, данный показатель — также простой индикатор активации отдельных областей или всей коры, не зависящий от частоты и амплитуды ритмики [4]. Отклонения пространственной синхронизации ЭЭГ при шизофрении были обнаружены еще пионером этого метода М. Н. Ливановым [2, 3]. Этот показатель отличается от нормы при депрессиях [27], при гиперактивности и дефиците внимания [1], при черепно-мозговых травмах [24], а также при разных стадиях сна [5].

Кросскорреляции спонтанной ЭЖоГ вычислялись на последовательных эпохах анализа 1 с и объединялись в 10-минутные индексы пространственной синхронизации для оценки динамики по ходу опыта. Для сравнения отдельных областей коры рассчитывались региональные индексы пространственной синхронизации путем усреднения всевозможных кросскорреляций в пределах выбранного участка коры.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На одной крысе удавалось провести в среднем четыре опыта. Общим в поведении животных был явный стресс в начале опыта при подключении кабеля к разьему и в первые минуты записи. Как правило, крысы беспокойно сновали по камере, крутились, вставали на задние лапы, игнорировали еду и т. п. Постепенно они успокаивались — переставали метаться, садились или ложились, могли начать есть или заснуть на какое-то время. В зависимости от индивидуальной тревожности начальный стресс был больше или меньше, а успокоение происходило быстрее или медленнее, причем индивидуальный «график» поведения повторялся в каждом опыте с этим животным. Следует отметить, что успокоение отчасти происходило уже на первых фоновых 30 мин до инъекции. Затем следовало отключение кабеля, сама инъекция и повторное подключение. Все это вновь стрессировало крыс, и успокоение начиналось заново. Сходная картина была как в контрольных опытах, так и в опытах с α -NETA. Статистически это подтверждается соответствующей динамикой пространственной гамма-синхронизации (см. ниже).

Таким образом, получасовой фоновый отрезок, очевидно, не был однородным с точки зрения состояния животного, как и полуторачасовой основной отрезок. Очевидно, что после инъекции было сочетанное воздействие самого препарата и стресса от инъекции как таковой, и эти факторы требуется разделить. Отметим, что нечто подобное ожидалось изначально и именно для этого, собственно, и нужны контрольные опыты. Возник вопрос, какой именно участок записи считать «фоновым», а какой «результатом воздействия препарата» для сравнения с «фоновым». Мы разделили весь опыт на 10-минутные отрезки с соответствующими индексами, чтобы проследить динамику. При этом за настоящий «фон» брался последний 10-минутный участок перед инъ-

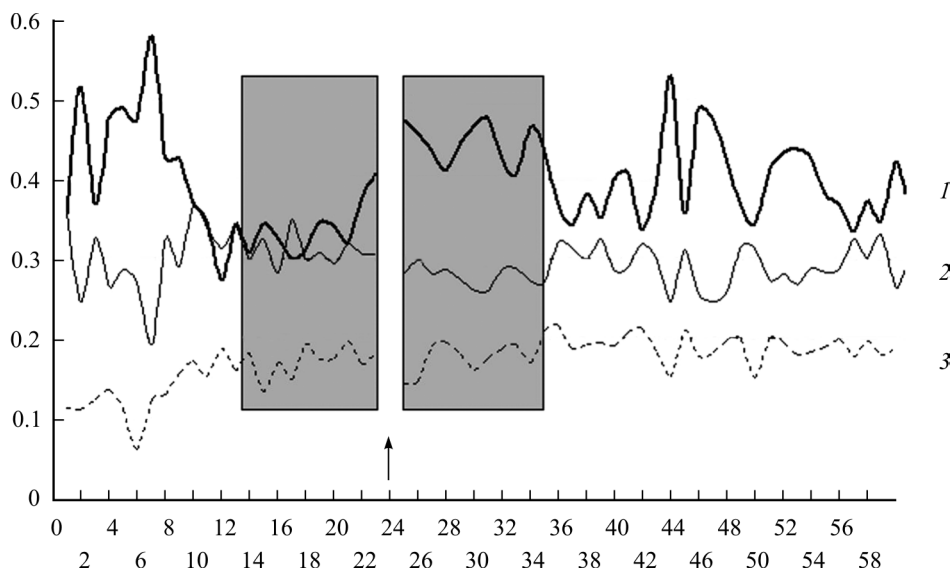


Рис. 3. Пример динамики по ходу опыта минутных индексов дельта-ритма 0—5 Гц (1), альфа-ритма 5—10 Гц (2) и гамма-ритма 30—50 Гц (3).

По вертикали — спектральная мощность в долях единицы. Стрелка — момент инъекции. Серые прямоугольники — сравниваемые 10-минутные интервалы.

екцией, когда воздействие обоих факторов минимально — успокоение от первого стресса уже отчасти наступило, а инъекции еще не было.

Получасовые записи ЭКоГ до инъекции и полуторачасовые записи после инъекции целиком просматривались, и вручную визуально блокировались все артефакты. Затем происходила программная обработка двумя методами — спектральным анализом и методом пространственной синхронизации.

Данные спектрального анализа. У всех животных во всех опытах спектр мощности ЭКоГ был сходным. Имелись выраженные пики на частотах 1—2 и 7—8 Гц во всех отведениях (рис. 2, А, Б). Правее 12 Гц спектральная кривая опускалась ниже 2% и далее плавно снижалась до нуля в районе 50 Гц без явных пиков.

Вся динамика спектра по ходу опыта фактически сводилась к выраженности двух указанных диапазонов, условно названных нами «дельта» и «альфа». Спектральная мощность этих основных ритмов у всех животных варьировала по ходу опыта в широких пределах (как на примере рис. 3), причем минутные индексы мощности в альфа- и дельта-диапазонах менялись противоположным образом. Их графики фактически всегда «перевернуты» друг относительно друга, а соответствующие коэффициенты корреляции отрицательные и высокосignификантные — для всех крыс и всех опытов. Для случая, представленного на рис. 3, корреляция между дельта- и альфа-ритмами -0.71 ($p < 0.01$). Мощность гамма-ритма в диапазоне 30—50 Гц с ними либо не коррелировала, либо давала корреляции разных знаков от опыта к опыту.

Главным фактором изменчивости спектра было состояние сна, в который животные иногда впадали под конец опыта, когда привыкали к обстановке и успокаивались. Дельта-активность при этом резко повышалась (что ожидаемо для сна), альфа-активность синхронно снижалась, а при пробуждении — наоборот. Из-за этого вначале не удавалось проследить никакой другой зако-

номерности, кроме описанной отрицательной корреляции «альфа» и «дельта». Это еще одна причина, по которой решили сопоставить 10-минутный интервал непосредственно перед инъекцией («истинный фон» — см. выше) и такой же интервал после укола, пока животные еще не успевали заснуть. Обнаружилось, что мощность дельта-ритма 1 и 2 Гц от инъекции α -NETA, подобно сонному состоянию, значимо возрастает по сравнению с фоном, а мощность тета-ритма (5 Гц) и в альфа-полосе (8, 9 и 10 Гц) снижается, оценка по критерию Вилкоксона (рис. 2, А). Чем сильнее под влиянием α -NETA росла дельта-активность в данном опыте, тем сильнее снижалась альфа-активность, т. е. в серии из 10 опытов с α -NETA тоже имела место отрицательная корреляция между диапазонами ($p < 0.01$). При введении физраствора динамика гораздо меньше (рис. 2, Б), что подтверждают «разностные» спектры (рис. 2, В). Здесь приведены спектры двух передних отведений, которые оказались более информативными. При усреднении по всем отведениям наблюдалась аналогичная картина, но дисперсия выше, и значимого уровня достигло только падение альфа-активности ($p < 0.05$).

Таким образом, спектральный анализ ЭКоГ показал воздействие, как таковое, препарата α -NETA на мозг крыс. Однако спектр не подтвердил интересующую нас реактивность гамма-ритма.

Данные пространственной синхронизации гамма-ритма. Пространственная синхронизация гамма-колебаний оказалась в этом отношении более информативной, чем спектральная гамма-мощность. Последняя, очевидно, подвержена многим погрешностям при низкой амплитуде соответствующего диапазона. Кросскорреляция же не зависит от амплитуды волн. Кроме того, синхронность колебаний ЭКоГ вообще и гамма-волн в частности больше соответствует информационному обмену между зонами, предположительно страдающему при шизофрении.

Для обеих категорий опытов (с α -NETA и с физраствором) был обнаружен устойчивый тренд гамма-синхронизации на снижение, прерываемый процедурой инъекции, что сочетается с описанным успокоением животных (рис. 4, верхняя панель). Уровень гамма-синхронизации передних отведений в конце фонового блока записи достоверно снижался по сравнению с началом блока (см. левее стрелки). То же самое происходило и после инъекции на протяжении основного блока (правее стрелки), причем это относится и к опытам с α -NETA, и к контрольным опытам — во всех случаях $p < 0.01$. Речь идет о снижении в последние 10 мин каждого блока по сравнению с первыми 10 мин. Для всех остальных отведений, кроме передних, наблюдалась та же динамика на снижение, но менее выраженная, как и с данными спектра.

Далее основные и контрольные опыты сравнивались для выяснения специфического воздействия именно α -NETA (рис. 4, нижняя панель). После объединения всех данных «до инъекции» (0.5 ч) и всех данных «после инъекции» (1.5 ч) между ними обнаружили отличия. Наблюдалось снижение пространственной гамма-синхронизации после инъекции α -NETA в передних ($p < 0.01$), в задних зонах ($p < 0.05$) и в сумме всех зон ($p < 0.01$) по сравнению с получасом до инъекции (рис. 4, на нижней панели слева — столбики 1, 2 и 3 соответственно). После введения физраствора отличий от фона нигде не наступало (нижняя панель — справа). При этом в отличие от спектра для гамма-синхронизации были различия не только с фоном до инъекции, но и с контролем ($p < 0.05$).

Из коротких 10-минутных индексов максимальные различия препарата от контроля также были в первые 10 мин после инъекции ($p < 0.05$). В контроль-

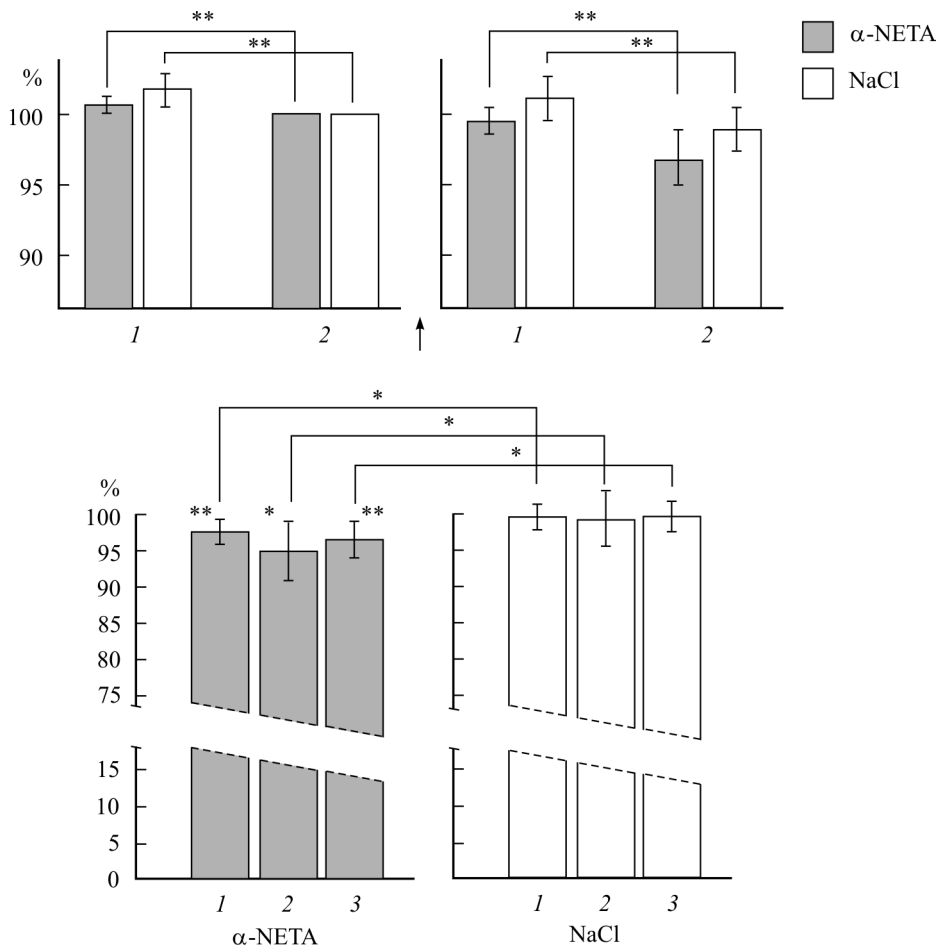


Рис. 4. Изменения пространственной синхронизации гамма-ритма.

По вертикали — процент от исходной гамма-синхронизации. Верхняя панель: изменения при успокоении животных по критерию Вилкоксона. 1 — первые 10 мин; 2 — последние 10 мин каждого блока. Стрелка — момент инъекции. Нижняя панель: изменения по сравнению с фоном до инъекции (100 %); 1 — передние зоны; 2 — задние зоны; 3 — все зоны. *, ** Значимость отличий (слева — по критерию Вилкоксона, сверху — по критерию Манна—Уитни).

ных опытах показатели росли, а после α -NETA не изменялись (задние зоны) или даже снижались (передние зоны), т. е. имела место разнонаправленная динамика. Можно предположить, что в контрольных опытах стресс от укола вновь приводил животное в «исходное состояние», а α -NETA каким-то образом нивелировал этот стресс. Далее в течение 1.5 ч оба графика параллельно снижались в соответствии с успокоением животного, но различия сохранялись: на каждом 10-минутном отрезке под воздействием α -NETA гамма-синхронизация была ниже, чем под воздействием физраствора (рис. 5). Примерно в половине случаев эта разница значима ($p < 0.05$).

При анализе нефильрованной ЭКГ, включающей весь ритмический спектр, все описанные различия между условиями с α -NETA и с физраствором исчезают. Как и в случае со спектром, дисперсия для передних зон меньше, чем для остальных областей, различия невелики, но более регулярны. Та-

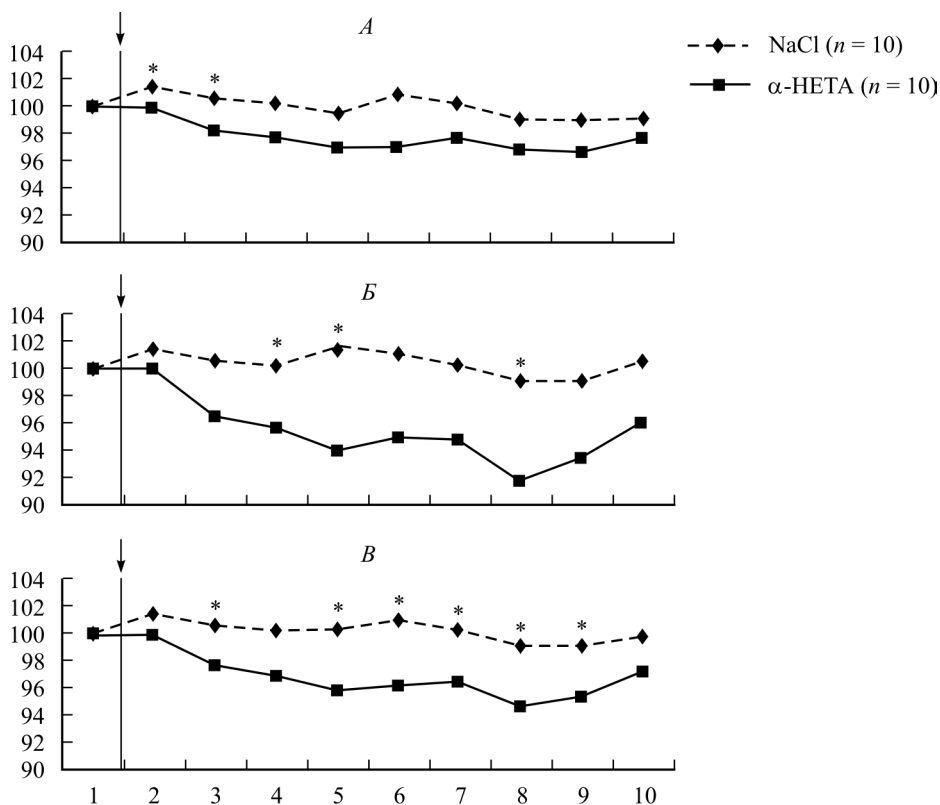


Рис. 5. Динамика 10-минутных индексов пространственной синхронизации гамма-ритма после инъекции.

По вертикали — процент от исходной гамма-синхронизации, по горизонтали — 10-минутные индексы показателя. Стрелка — момент инъекции; А — передние зоны; Б — задние зоны; В — все зоны. * $p < 0.05$ по критерию Манна—Уитни.

ким образом, по совокупности данных спектрального анализа и пространственной синхронизации складывается впечатление, что передние области коры являются более реактивными на исследуемый препарат по сравнению с остальными областями.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Поскольку система связей и нейромедиаторов чрезвычайно сложна, понять механизм наблюдаемого воздействия α -NETA очень трудно. Изменение спектра в сторону медленных колебаний дельта-диапазона (рис. 2) подобное сну свидетельствует о снижении общего тонуса коры. Сразу после инъекции α -NETA крысы хотя и не спят, но действительно выглядят заторможенными — находятся в состоянии «гроги».

Для объяснения следует обратиться к функциям трейсаминов, которые имитирует α -NETA. Они влияют как нейромодуляторы на постсинаптическую чувствительность к обычным моноаминам. Также их можно рассматривать в качестве котрансмиттеров в дофамин-, серотонин- и норадреналинергической системах [12]. По данным фармскрининга на культуре клеток

НЕК293Т, препарат α -NETA через рецептор TAAR5 специфически влияет на дофаминовую передачу, предположительно усиливая ее. Поэтому выявленные у пациентов с шизофренией аномальные уровни трейсаминов говорят за дофаминовую концепцию шизофрении [11, 36]. В своей классической форме она как раз постулирует гиперактивность дофаминергической передачи через D2-рецепторы в стриатуме [6, 20, 47]. Нарушения при шизофрении в целом хорошо описываются двумя компонентами: гиперфункцией стриатума и функциональной недостаточностью коры. Подкорковая дофаминовая гиперстимуляция D2-рецепторов дает положительные симптомы. Описаны пациенты с позитивной симптоматикой и увеличенным внеклеточным дофамином, который, по мнению авторов, вызван повышенной фазической активностью дофаминергических нейронов [6].

Проблема негативных симптомов и когнитивных дефицитов более сложна. К ним, возможно, приводит кортикальная гиподофаминергия из-за дисрегуляции со стороны других систем [20, 47]. Выявленное нами «замедление» спектра под влиянием α -NETA сопровождалось снижением пространственной синхронизации гамма-волн. Это снижение даже количественно сцеплено с ростом мощности на дельта-частоте 3 Гц (коэффициент корреляции -0.69 , $p < 0.05$). Все это действительно указывает на какое-то снижение функций коры. В генерацию гамма-ритма вовлечены пирамидные нейроны и ГАМКергические интернейроны [15, 25, 42], т. е. он генерируется сетями, работающими на глутамате и ГАМК. Однако, если препарат α -NETA действует преимущественно через дофамин, то на глутаматную и/или ГАМК-систему может влиять лишь опосредованно. В литературе есть консенсус, что любые изменения функции ГАМК и/или глутаматергического входа интернейронов будут влиять на гамма-ритм [10, 14, 39, 41, 42]. В этом и следует искать объяснение. Нарушения гамма-ритма у пациентов с шизофренией говорят в пользу глутаматной гипотезы шизофрении, и есть много данных, что ГАМКергические интернейроны коры и гиппокампа влияют на шизофрению [10, 18, 30]. У пациентов показаны дефициты по NMDA и ГАМК и одновременно — отклонения от нормы в гамма-диапазоне [21, 39]. В префронтальной коре у них снижен синтез связанных с ГАМК веществ в парвальбуминовых интернейронах [18]. Снижение ГАМК- и NMDA-функций блокаторами вызывает симптомы шизофрении у животных и человека и изменения гамма-активности [35].

Следует отметить, что знак отклонений гамма-ритма при шизофрении неясен. По большинству источников гамма-мощность при патологии снижена [28, 31, 33, 48], но может и расти [22, 25], или же осторожно говорят о «нарушениях» гамма-ритма [15]. В таких работах часто речь идет не о фоновом уровне, а о реактивности гамма-ритма на функциональные и фармакологические тестирующие воздействия, которая может быть пониженной [31] или повышенной [22]. Иногда она увеличена на слабые воздействия и недостаточна на сильные, что говорит об истощении системы.

В отношении пространственной синхронизации гамма-волн (или «фазовой синхронизации») в литературе разночтений нет. Она всегда снижается при патологиях, что говорит о дефиците временной координации распределенной нейронной активности, т. е. о расстройстве кортико-кортикальных взаимодействий, лежащем в основе когнитивных дефицитов [17, 28, 34, 43, 44]. В нашем случае под воздействием α -NETA пространственная гамма-синхронизация тоже снижается (рис. 4, 5).

Глутаматные проекции от коры активируют огромное число нигростриальных дофаминовых проекций и прямо активируют сам стриатум. Дофамин преимущественно оказывает тормозное воздействие на стриатум, что снижает

ет его выход, а также (что важно для нашего случая) влияет на глутаматный вход к стриатуму от коры. В итоге через цепь «инверторов» может усилиться передача в кору через таламус. Если она становится чрезмерной, возможны ощущения смятения, замешательства и психоза при шизофрении. Таким образом, чрезмерная передача через таламус может быть вызвана увеличением дофаминовой, либо уменьшением глутаматной активности, которые обе вовлекаются в патогенез [6, 7, 16]. Из-за описанного опосредованного нарушения глутаматной передачи может измениться гамма-активность и синхронизация, что и наблюдается в нашей работе.

Полученные результаты подтверждают, что обе гипотезы правильны, и между глутаматной и дофаминовой системой есть сопряжение в области стриатума. В литературе описана такая интегрированная модель шизофрении [7, 23]. Она выводит положительные симптомы из дисфункции пресинаптической части дофаминергической системы, а негативные и когнитивные симптомы — из аномалий глутаматергической системы. По-видимому, они не являются взаимоисключающими [23].

С шизофренией обычно ассоциируется тест на преимпульсное ингибирование (prepulse inhibition, PPI), которое считается мерой сенсорного гейтинга (sensory gating, SG). Оба эти параметра, а также негативность рассогласования (mismatch negativity, MMN) отражают селективность восприятия и рефлекторное внимание, которые нарушаются при шизофрении. В аналогичных хронических исследованиях на бодрствующих крысах было показано, что системное введение α -NETA снижает индекс сенсорного гейтинга за счет уменьшения компонента N40 [9], но увеличивает амплитуду негативности рассогласования [8]. По мнению авторов, это указывает на роль следовых аминов и TAAR5 в дозировании сенсорной информации.

Осталось обсудить наибольшую реактивность передних зон коры. Все указывает, что у человека и приматов критическое значение при когнитивных патологиях имеет префронтальная кора и ее связи, в том числе при шизофрении [38, 40]. Помимо анатомии это связано и с локализацией дофаминовых проекций в префронтальной коре. У крыс настоящая префронтальная кора, по-видимому, отсутствует, однако признается, что ее функции выполняют передние зоны коры, в частности связанные с медиодорзальным ядром таламуса [26, 37, 45]. Можно предположить, что этим объясняется повышенная чувствительность передних областей к α -NETA.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружено увеличение спектральной мощности в дельта-диапазоне 1—2 Гц и уменьшение в альфа-диапазоне 5—10 Гц на интервале 10 мин после введения препарата α -NETA по сравнению с интервалом 10 мин перед инъекцией.

Обнаружено уменьшение пространственной синхронизации гамма-колебаний 30—50 Гц на интервале полтора часа после введения препарата α -NETA по сравнению с фоном до инъекции и по сравнению с контролем. При анализе ЭЖоГ всех диапазонов без фильтрации данная закономерность отсутствует.

Общая тенденция динамики во всех опытах состоит в постепенном снижении показателей пространственной синхронизации к концу опыта. Воздействие α -NETA дает дополнительное снижение по сравнению с контролем.

По совокупности всех данных наиболее реактивными на воздействие препарата α -NETA являются передние зоны коры.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ для реализации научных программ организаций № 14-50-00069.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] *Кануников И. Е., Ламкин П. Э., Белов Д. Р.* Показатели пространственной синхронизации ЭЭГ у школьников 10—12 лет в норме и при трудностях обучения. *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова* 85(3): 360—371. 1999. [*Kanunikov I. E., Lamkin P. E., Belov D. R.* Indicators of EEG spatial synchronization in schoolchildren 10—12 years old in normal and with learning difficulties. *Russ. J. Physiol.* 85 (3): 360—371. 1999. (In Russ.)].
- [2] *Ливанов М. Н.* Пространственная синхронизация биопотенциалов головного мозга. М. Наука. 1973. [*Livanov M. N.* Prostranstvennaya sinhronizaciya biopotencialov golovnogo mozga [Spatial synchronization of brain biopotentials]. Moscow. Nauka. 1973].
- [3] *Ливанов М. Н., Свидерская Н. Е.* Психологические аспекты феномена пространственной синхронизации потенциалов. *Психол. журн.* 5(5): 71—83. 1984. [*Livanov M. N., Sviderskaya N. E.* Psychological aspects of the phenomenon of potentials spatial synchronization. *Psychol. J.* 5(5): 71—83. 1984. (In Russ.)]
- [4] *Свидерская Н. Е.* Синхронная электрическая активность мозга и психические процессы. М. Наука. 1987. [*Sviderskaya N. E.* Sinhronnaya aktivnost mozga i psihisheskie processi [Synchronous electrical activity of the brain and mental processes]. Moscow. Nauka. 1987].
- [5] *Шеповальников А. Н., Цицерошин М. Н., Зайцева Л. Г., Гальперина Е. И.* Особенности системного взаимодействия разных областей коры левого и правого полушарий мозга в различных стадиях сна у человека. *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* 98(10): 1228—1241. 2012. [*Shepovalnikov A. N., Tsitseroshin M. N., Zaitseva L. G., Galperina E. I.* Features of systemic interaction of different cortex areas of the left and right brain hemispheres in different sleep stages in humans. *Russ. J. Physiol.* 98(10): 1228—1241. 2012. (In Russ.)].
- [6] *Abi-Dargham A., Rodenhiser J., Printz D., Zea-Ponce Y., Gil R., Kegeles L. S., Weiss R., Cooper T. B., Mann J. J., Van Heertum R. L., Gorman J. M., Laruelle M.* Increased baseline occupancy of D2-receptors by dopamine in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 97(14): 8104—8109. 2000.
- [7] *Abi-Dargham A., Guillin O.* Integrating the neurobiology of schizophrenia. Vol. 78 (*Internat. Rev. Neurobiol.*). San Diego. 2007.
- [8] *Aleksandrov A. A., Knyazeva V. M., Volnova A. B., Dmitrieva E. S., Korenkova O., Espinoza S., Gerasimov A., Gainetdinov R. R.* Identification of TAAR5 agonist activity of alpha-NETA and its effect on mismatch negativity amplitude in awake rats. *Neurotoxicity Res.* 2018 May 1. doi: 10.1007/s12640-018-9902-6.
- [9] *Aleksandrov A. A., Dmitrieva E. S., Volnova A. B., Knyazeva V. M., Gerasimov A. S., Gainetdinov R. R.* TAAR5 receptor agonist affects sensory gating in rats. *Neurosci. Lett.* 666(14): 144—147. 2018.
- [10] *Benes F. M., Lim B., Matzilevich D., Walsh J. P., Subburaju S., Minns M.* Regulation of the GABA cell phenotype in hippocampus of schizophrenics and bipolars. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104: 10 164—10 169. 2007.
- [11] *Borowsky B., Adham N., Jones K. A. et al.* Trace amines: identification of a family of mammalian G protein-coupled receptors. *Sci. Proc. Natl. Acad. USA.* 98: 8966—8971. 2001.
- [12] *Burchett S. A., Hicks T. P.* The mysterious trace amines: Protean neuromodulators of synaptic transmission in mammalian brain. *Prog. Neurobiol.* 79(5—6): 223—246. 2006.
- [13] *Buzsáki G.* Neural syntax: Cell assemblies, synapse ensembles, and readers. *Neuron.* 68(3): 362—385. 2010.
- [14] *Buzsáki G., Wang X.-J.* Mechanisms of gamma oscillations. *Annu. Rev. Neurosci.* 35: 203—225. 2012.
- [15] *Cardin J. A., Carlren M., Meletis K., Knoblich U., Zhang F., Deisseroth K., Tsai L. H., Moore C. I.* Driving fast-spiking cells induces gamma rhythm and controls sensory responses. *Nature.* 459(7247): 663—667. 2009.
- [16] *Gainetdinov R. R., Mohn A. R., Caron M. G.* Genetic animal models: focus on schizophrenia. *Trends Neurosci.* 24(9): 527—533. 2001.

- [17] Gallinat J., Winterer G., Herrmann C. S., Senkowski D. Reduced oscillatory gamma-band responses in unmedicated schizophrenic patients indicate impaired frontal network processing. *Clin. Neurophysiol.* 115: 1863—1874. 2004.
- [18] Gonzalez-Burgos G., Lewis D. A. GABA neurons and the mechanisms of network oscillations: implications for understanding cortical dysfunction in schizophrenia. *Schizophr Bull.* 34: 944—961. 2008.
- [19] Graham K. L., Zhang J. V., Lewen S., Burck T. M., Dang T., Zondilova M., Sobel R. A., Butcher E. C., Zabel B. A. A Novel CMKLR1 Small Molecule Antagonist Suppresses CNS Autoimmune Inflammatory Disease. *PLoS ONE.* 9(12): e112925. 2014.
- [20] Guillin O., Abi-Dargham A., Laruelle M. Neurobiology of dopamine in schizophrenia. *Int. Rev. Neurobiol.* 78: 1—39. 2007.
- [21] Halberstadt A. L. The phencyclidine-glutamate model of schizophrenia. *Clin. Neuropharmacol.* 18: 237—249. 1995.
- [22] Hong L. E., Summerfelt A., McMahon R., Adami H., Francis G., Elliott A., Buchanan R. W., Thaker I. K. Evoked gamma band synchronization and the liability for schizophrenia. *Schizophr. Res.* 70: 293—302. 2004.
- [23] Howes O., McCutcheon R., Stone J. Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update for the 21st century. *J. Psychopharmacol.* 29(2): 97—115. 2015.
- [24] Klimash A. V., Tsitseroshin M. N., Shepovalnikov A. N., Zajceva L. G., Kondakov E. N., Borovikova V. N. Disorders of the spatiotemporal organization of the brain's bioelectrical activity in patients with different depressions of consciousness after severe head injury. *Human Physiology.* 36(5): 535—549. 2010.
- [25] Kocsis B. Differential role of NR2A and NR2B subunits in N-methyl-D-aspartate Receptor antagonist-induced aberrant cortical gamma oscillations. *Biol. Psychiatry.* 71: 987—995. 2012.
- [26] Kolb B. Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review. *Brain Res.* 320(1): 65—98. 1984.
- [27] Kutsenko D. O., Ivonin A. A., Shuvaev V. T., Lisyanskaya N. G., Nozdrachev A. D. Spatial structure of EEG in depression patients with co-occurring anxiety disorders. *Human Physiol.* 41(1): 34—38. 2015.
- [28] Kwon J. S., O'Donnell B. F., Wallenstein G. V., Greene R. W., Hirayasu Y., Nestor P. G., Hasselmo M. E., Potts G. F., Shenton M. E., McCarley R. W. Gamma frequency-range abnormalities to auditory stimulation in schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry.* 56: 1001—1005. 1999.
- [29] Lewis D. A., Hashimoto T., Volk D. W. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nature Rev.* 6 (4): 312—324. 2005.
- [30] Lewis D. A., Curley A. A., Glausier J. R., Volk D. W. Special Issue: Neuropsychiatric disorders cortical parvalbumin interneurons and cognitive dysfunction in schizophrenia. *Trends Neurosci.* 35(1): 57—67. 2012.
- [31] Light G. A., Hsu J. L., Hsieh M. H., Meyer-Gomes K., Sprock J., Swerdlow N. R., Braff D. L. Gamma band oscillations reveal neural network cortical coherence dysfunction in schizophrenia patients. *Biol. Psychiatry.* 60: 1231—1240. 2006.
- [32] Lindemann L., Hoener M. C. A renaissance in trace amines inspired by a novel GPCR family. *TiPS.* 25: 274—281. 2005.
- [33] Lodge D. J., Grace A. A. Gestational methylazoxymethanol acetate administration: a developmental disruption model of schizophrenia. *Behav. Brain Res.* 204: 306—312. 2009.
- [34] O'Donnell B. F., Hetrick W. P., Vohs J. L., Krishnan G. P., Carroll C. A., Shekhar A. Neural synchronization deficits to auditory stimulation in bipolar disorder. *Neuroreport.* 15: 1369—1372. 2004.
- [35] Phillips K. G., Cotel M. C., McCarthy A. P., Edgar D. M., Tricklebank M., O'Neill M. J., Jones M. W., Wafford K. A. Differential effects of NMDA antagonists on high frequency and gamma EEG oscillations in a neurodevelopmental model of schizophrenia. *Neuropharmacology.* 62: 1359—1370. 2012.
- [36] Premont R. T., Gainetdinov R. R., Caron M. G. Following the trace of elusive amines. *PNAS.* 98(17): 9474—9475. 2001.
- [37] Preuss T. M. Do rats have prefrontal cortex? The rose-woolsey-akert program reconsidered. *J. Cogn. Neurosci.* 1995 Winter. 7(1): 1—24. 1995.

- [38] Sakurai T., Gamo N. J., Hikida T., Kim S. H., Murai T., Tomoda T., Sawa A. Converging models of schizophrenia — Network alterations of prefrontal cortex underlying cognitive impairments. *Progr. Neurobiol.* 134: 178—201. 2015.
- [39] Schin Y.-W., O'Donnell B. F., Youn S., Kwon J. S. Gamma oscillation in schizophrenia. *Psychiatry Investig.* 8: 288—296. 2011.
- [40] Simen A. A., DiLeone R., Arnsten A. Primate models of schizophrenia: future possibilities. *Genetic Models Schizophrenia.* 179: 117—125. 2009.
- [41] Sohal V. S., Zhang F., Yizhar O., Deisseroth K. Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature.* 459: 698—702. 2009.
- [42] Traub R. D. Fast oscillations. *Scholarpedia.* 1(12): 1764. 2006.
- [43] Uhlhaas P. J., Singer W. Neural synchrony in brain disorders: relevance for cognitive dysfunctions and pathophysiology. *Neuron.* 52(1): 155—168. 2006.
- [44] Uhlhaas P. J., Singer W. Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. *Nature Rev. Neurosci.* 11(2): 100—113. 2010.
- [45] Uylings H. B., Groenewegen H. J., Kolb B. Do rats have a prefrontal cortex? *Behav. Brain Res.* 146(1—2): 3—17. 2003.
- [46] Von der Malsburg C. Binding in models of perception and brain function. *Curr. Opin. Neurobiol.* 5: 520—526. 1995.
- [47] Weinberger D. R., Harrison P. J. Dopamine and schizophrenia. *Rds Abi-Dargham A., Grace A. Schizophrenia.* Published Online: 2011.
- [48] Williams S., Boksa P. Gamma oscillations and schizophrenia. *J. Psychiatry Neurosci.* 35(2): 75—77. 2010.

Поступила 05.07.2018
После доработки 10.09.2018
Принята к публикации 19.11.2018