

ISSN 0044-4677

Том 74, Номер 2

Март – Апрель 2024



# ЖУРНАЛ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

*имени И.П. Павлова*



НАУКА  
— 1727 —

# СОДЕРЖАНИЕ

Том 74, номер 2, 2024

## Обзоры и теоретические статьи

Динамика нейровисцеральных взаимодействий в индивидуальном и филогенетическом развитии: анализ variability сердечного ритма <i>А. В. Бахчина, И. С. Созинова, Ю. И. Александров</i>	131
Поиск нейрофизиологических механизмов конфигурационного обучения <i>Б. В. Чернышев, В. Л. Ушаков, Л. А. Позняк</i>	150
<b>Физиологические механизмы поведения животных: восприятие внешних стимулов, двигательная активность, обучение и память</b>	
Сравнительный анализ активности возбуждающих и тормозных нейронов гиппокампа при извлечении ассоциативной обстановочной памяти <i>К. А. Торопова, О. И. Ивашкина, Н. С. Воробьева, К. В. Анохин</i>	167
Оценка сенсомоторного развития, поведенческих реакций и когнитивных функций потомства второго поколения крыс с гипергомоцистеинемией <i>О. В. Яковлева, В. В. Скрипникова, А. В. Яковлев, Г. Ф. Ситдикова</i>	179
Механизмы адаптации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы у самцов мышей под влиянием хронического стресса социальных поражений <i>А. А. Сапронова, Ю. А. Рябушкина, П. Э. Кисаретова, Н. П. Бондарь</i>	197
<b>Физиология высшей нервной (когнитивной) деятельности человека</b>	
Динамика синхронизации и десинхронизации ЭЭГ при выполнении реального и мысленного движения руки, направленного к видимой цели <i>М. Е. Курганская, М. Р. Исаев, П. Д. Бобров</i>	210
Удержание вербальной и невербальной серийной информации в рабочей памяти. Анализ функциональных и эффективных связей <i>А. В. Курганский, А. А. Корнеев, Д. И. Ломакин, Р. И. Мачинская</i>	223
Активность левой нижней лобной извилины и механизм детекции ошибок при реализации ложных действий в условиях различной монетарной выгоды <i>А. Д. Коротков, М. А. Желтякова, Р. С. Машарипов, М. Д. Дидур, Д. В. Чередниченко, М. В. Киреев</i>	244

# Contents

---

---

Vol. 74, No 2, 2024

---

---

## Reviews and theoretical articles

Neurovisceral interactions in individual and phylogenetic development  
*A. V. Bakhchina, I. S. Sozinova, Yu. I. Alexandrov* 131

Search for neurophysiological mechanisms of configurational learning  
*B. V. Chernyshev, V. L. Ushakov, L. A. Poznyak* 150

---

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

Comparative analysis of the excitatory and inhibitory hippocampal neurons activity during associative context memory retrieval  
*K. A. Toropova, O. I. Ivashkina, N. S. Vorobyeva, K. V. Anokhin* 167

Evaluation of sensomotor development, behavioral reactions and cognitive functions of the second generation of rats with hyperhomocysteinemia  
*O. V. Yakovleva, V. V. Skripnikova, A. V. Yakovlev, G. F. Sitdikova* 179

Mechanisms of adaptation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in male mice under chronic social defeat stress  
*A. A. Sapronova, Y. A. Ryabushkina, P. E. Kisaretova, N. P. Bondar* 197

---

## Physiology of behavior: perception, locomotion, learning and memory

Dynamics of EEG synchronization and desynchronization when performing real and imagined hand reaching  
*M. E. Kurgansky, M. R. Isaev, P. D. Bobrov* 210

Retention of verbal and nonverbal information in the working memory. An analysis of functional and effective connectivity  
*A. V. Kurgansky, A. A. Korneev, D. I. Lomakin, R. I. Machinskaya* 223

The activity of the left inferior frontal gyrus and the error detection brain mechanism during deception under conditions of different monetary benefit  
*A. D. Korotkov, M. A. Zheltyakova, R. S. Masharipov, M. D. Didour, D. V. Cherednichenko, M. V. Kireev* 244

---

---

УДК 612.821.6

## ДИНАМИКА НЕЙРОВИСЦЕРАЛЬНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ИНДИВИДУАЛЬНОМ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОМ РАЗВИТИИ: АНАЛИЗ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА

© 2024 г. А. В. Бахчина<sup>1,2,\*</sup>, И. С. Созинова<sup>1</sup>, Ю. И. Александров<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория психофизиологии им. В.Б. Швыркова, Институт психологии Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup>Кафедра психофизиологии, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

\*e-mail: nastya18-90@mail.ru

Поступила в редакцию 10.11.2023 г.

После доработки 19.11.2023 г.

Принята к публикации 01.12.2023 г.

В статье приведен обзор экспериментальных работ, исследующих характер нейровисцеральных взаимодействий через анализ variability сердечного ритма на разных этапах развития индивида и у представителей разных видов. Анализ variability сердечного ритма – это один из наиболее распространенных и доступных к использованию в эксперименте способов наблюдения и оценки аспектов нейровисцеральных (а именно нейрокардиальных) взаимодействий. Нестационарные, нелинейные компоненты в динамике RR-интервалов (временных промежутков между соседними ударами сердца) отражают процессы согласования активности сердца с изменениями в организации нейронной активности, обеспечивающими текущее соотношение индивида со средой. Математически эти аспекты динамики сердечного ритма выражаются в оценках сложности, нерегулярности, энтропии, непредсказуемости временной последовательности междударных интервалов. Описываемая таким образом динамика нейрокардиальных взаимодействий не одинаковая у разных видов и усложняется в филогенезе. Аналогично в индивидуальном развитии динамика сердечного ритма усложняется и отражает в том числе степень созревания некоторых нервных структур на разных этапах онтогенеза. Особенности динамики нейровисцеральных взаимодействий в индивидуальном и филогенетическом развитии рассмотрены нами в рамках системно-эволюционного подхода и интерпретированы в связи с изменениями структуры индивидуального опыта – характеристик набора функциональных систем, актуализируемых в поведении, а именно ростом дифференцированности соотношений индивида со средой.

**Ключевые слова:** нейровисцеральные взаимодействия, variability сердечного ритма, энтропия, онтогенез, филогенез, системно-эволюционный подход

DOI: 10.31857/S0044467724020018

### ВВЕДЕНИЕ

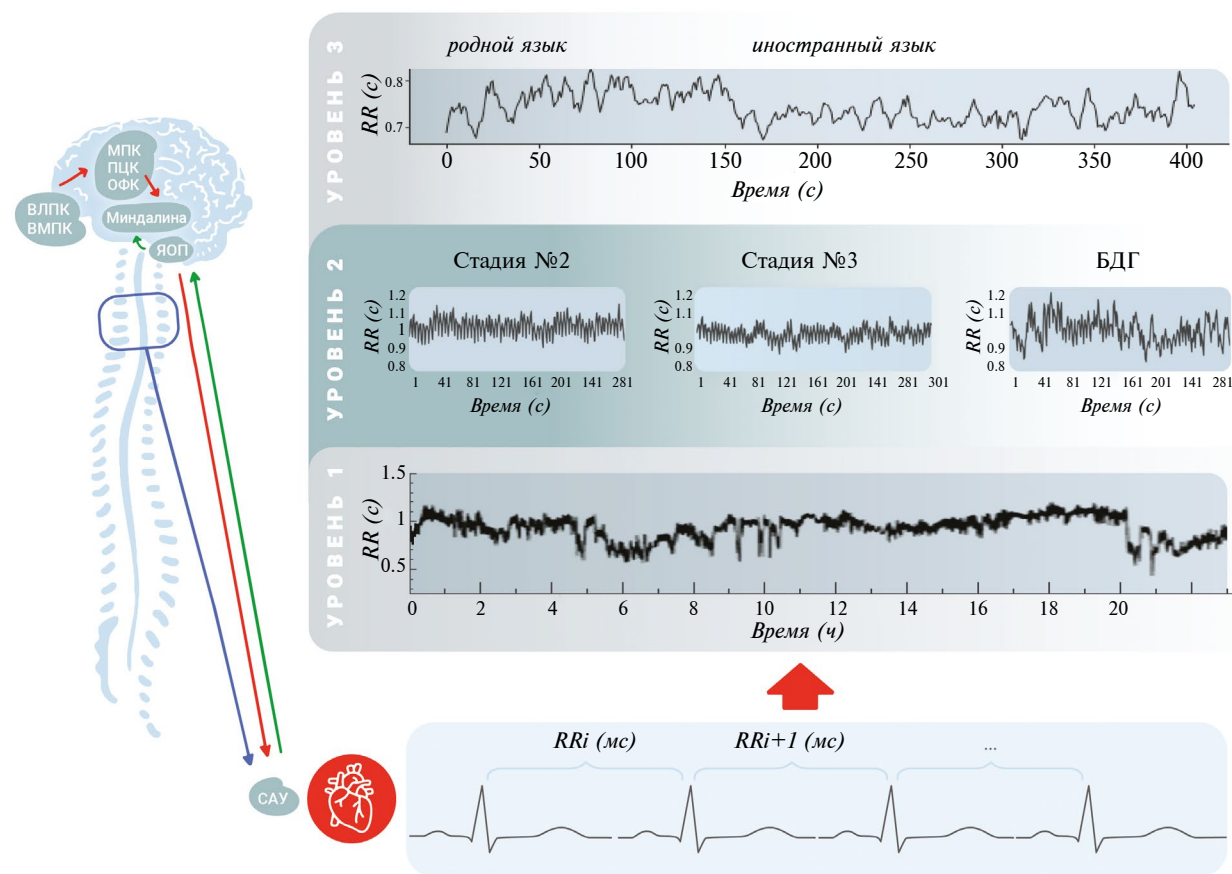
Вариability сердечного ритма (ВСР) – изменчивость временных интервалов между последовательными сердечными сокращениями (RR-интервалы, см. рис. 1) – рассматривается как один из наиболее доступных показателей, отражающих множественные физиологические процессы модуляции сердечного ритма, обеспечивающие адаптацию организма в текущих взаимодействиях со средой (Баевский и др., 2001; Баевский, 2004; Бахчина, 2018; Acharya et al., 2006 и др.). Физиологически формирование ВСР описывают через гуморальные факторы (адреналин, норадреналин, ацетилхолин, ангиотензин-2, калий, натрий и др.) и нейровисцеральные взаимодействия: активность симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы (ВНС) (Acharya et al., 2006). Такое описание является базовым в классической двух-

контурной модели регуляции сердечного ритма (Баевский и др., 2001) и концепции нейровисцеральной интеграции (Thayer, 2012) (см. рис. 1). В рамках данных моделей в процесс нейрогуморальной регуляции сердечного ритма вовлечен ряд центральных и периферических структур нервной системы, в том числе префронтальная и орбитофронтальная кора, поясная извилина, ядра таламуса и гипоталамуса, структуры ствола и др. (Winkelmann et al., 2017). Предполагается, что функциональные взаимосвязи между этими структурами объясняют нелинейную динамику сердечного ритма, связанную с поддержанием гомеостаза в связи с обеспечением поведения. Например, в периоды более энергозатратной активности происходит мобилизация ресурсов организма через вегетативные механизмы обеспечения текущей деятельности (Вейн, 2003). Это отражается в динамике сердечного ритма: увеличение частоты сердечных сокращений (ЧСС)

связывают с активацией симпатического отдела ВНС, и наоборот, замедление ЧСС связывают с увеличением активности парасимпатического отдела. Конечный результат зависит от их взаимодействия. Например, повышение ЧСС может наблюдаться при снижении активности вагуса без усиления симпатических модуляций. Таким образом, на фоне непрерывного действия гуморальных факторов регуляции сердечного ритма симпатическая и парасимпатическая ВНС согласованно модулируют автономную активность

сердца, обеспечивая ее соответствие состоянию и задачам целого организма.

Вышеописанные две модели рассматривают активность сердца вне поведенческого контекста, т.е. без учета особенностей вовлечения активности сердца в реализацию конкретного поведения. Гуморальная регуляция сердечного ритма описывается как более медленная с долгосрочными интракардиальными эффектами (Imbrogno et al., 2019). Вегетативная регуляция



**Рис. 1.** Примеры трех уровней рассмотрения активности сердца разной степени дифференцированности через анализ вариабельности сердечного ритма. Уровень 1 – суточная динамика сердечного ритма (Время (ч) – время суток, RR (с) – длительность RR-интервалов в с), уровень 2 – динамика сердечного ритма в разных стадиях сна (Стадия N2 – стадия медленного сна 2, Стадия N3 – стадия медленного сна 3, БДГ – стадия быстрых движений глаз, Время (с) – время в с, RR (с) – длительность RR-интервалов в с), уровень 3 – динамика сердечного ритма при реализации поведения разного возраста формирования (решении задач на родном и иностранном языке) (RR (с) – длительность RR-интервалов в с, Время (с) – время записи в с). Обозначения на сигнале ЭКГ: RRi (мс) – длительность текущего RR-интервала, RRi+1 – длительность следующего RR-интервала в мс. САУ – синоатриальный узел. Обозначения структур мозга: ЯОП – ядро одиночного пути, МПК – медиальная префронтальная кора, ПЦК – передняя цингулярная кора, ОФК – орбитофронтальная кора, ВЛПК – вентролатеральная префронтальная кора, ВМПК – вентромедиальная префронтальная кора.

**Fig. 1.** Examples of three levels of consideration of cardiac activity of varying degrees of differentiation through analysis of heart rate variability. Level 1 – daily dynamics of the heart rate, level 2 – dynamics of the heart rate in different stages of sleep, level 3 – dynamics of the heart rate during the implementation of behaviour acquired at different ages (tasks in native and foreign languages). САУ – the sinoatrial node, ЯОП – the nucleus tractus solitarius, МПК – the medial prefrontal cortex, ПЦК – the anterior cingulate cortex, ОФК – the orbitofrontal cortex, ВЛПК – the ventrolateral prefrontal cortex, ВМПК – the ventromedial prefrontal cortex.

сердечного ритма рассматривается как более быстрый процесс с собственными специализированными центрами в ЦНС: ядра блуждающего нерва, двойное ядро X черепного нерва, интермедиалатеральные столбы 5, 6 верхних грудных и 1, 2 нижних шейных сегментов спинного мозга (Шишко, 2009). Можно предполагать, что нейронные группы, принадлежащие к упомянутым структурам, будучи не вариативны в своем составе, могут быть вариативны в своей активности – в зависимости от того, с каким составом нейронов поведенческой специализации происходит текущее взаимодействие – согласование активности. Так, с позиции теории функциональных систем (ФС) (см. (Анохин, 1973, 1975)), клетки разных органов тела, в том числе и сердца, вовлекаются в единые общеорганизменные ФС обеспечения поведения. Так, П.К. Анохин пишет о дыхании: “Любой из эффекторных компонентов как условной пищевой, так и всякой другой реакции, как бы много ни было этих компонентов, не является отдельным и независимым от характера общей реакции. Все компоненты условной пищевой реакции проявляются в таком составе и в такой степени, как это характерно для специфического обеспечения именно пищевой реакции. Иначе говоря, дыхательный компонент пищевой условной реакции это не “вообще дыхание”, а такое дыхание, которое по своему объему, ритму и напряжению приспособлено к характеру и интенсивности именно целостной пищевой реакции. Наоборот, тот же самый дыхательный компонент, входящий в состав эффекторного комплекса другой целостной условной реакции, например оборонительной, будет выражен иным образом, но также в полном соответствии с биологическим характером данной реакции. Дыхательный компонент всегда обеспечивает реакцию животного энергетически (интенсивность окислительных процессов). То же самое можно сказать и в отношении к другим многочисленным компонентам условной реакции, например сердечно-сосудистым” (Анохин, 1968, с. 307). В данном отрывке предполагается, что дыхание в одном поведении (например, оборонительном), отличается от дыхания в другом поведении (например, пищедобывательном). Подобным образом, как мы показывали в предыдущих работах (см. обзор в (Bakhchina et al., 2018)), активность сердца включается в реализацию разных форм поведения, направленных на достижение разных результатов. Таким образом, можно утверждать существование некоторой степени специфичности в активности висцеральных компонентов реализуемых ФС по отношению к конкретному

поведению. Поэтому представляется важным изучение разрешающих возможностей этой специфичности (то есть насколько точно может быть определено конкретное поведение) и в каких параметрах активности сердца она выражается. Такая модель описания динамики сердечного ритма, предложенная в рамках основанного на теории ФС системно-эволюционного подхода ((Швырков, 2006); см. также в (Alexandrov, 2022; Александров, 2021)), рассматривает динамику сердечного ритма в связи с характеристиками поведенческого континуума индивида (Бахчина, 2022). В рамках системно-эволюционного подхода разработано представление об общеорганизменных ФС, в которых согласуется активность нейронов и соматических клеток других тканей (в том числе сердца). Это согласование, устанавливаемое в актах научения, в процессе которых осуществляется, в частности, “пригонка ... вегетативного компонента к задаче” формируемого поведения (Анохин, 1968, с. 361), и обеспечивает эффективное достижение полезных приспособительных результатов в целостном взаимодействии индивида со средой.

В теории функциональных систем научение рассматривается как процесс системогенеза (Швырков, 1978; Судаков, 1979), включающий с позиций системно-эволюционного подхода формирование новых элементов опыта (ФС) за счет селекции и специализации нейронов, репрезентирующих новые поведенческие акты (Швырков, 2006; Александров, 2009). Развитие тогда – это процесс дифференциации структуры индивидуального опыта: усложнения и детализации соотношений организма со средой, расширения диапазона, разнообразия ФС, доступных для реализации в поведении (Александров, 1989; Александров, 2009).

В основном обзоры, включающие результаты экспериментального анализа динамики ВСР в развитии, рассматривают специфику физиологии и экологии вида, исключая анализ поведенческой сложности. Аналогично, рассмотрение ВСР в онтогенезе обычно ставит задачей определение возрастных физиологических факторов, влияющих на изменения ВСР. С позиций системно-эволюционного подхода рассмотрение аспектов описания ВСР в развитии индивида необходимо для проверки гипотезы об отражении системной организации поведения в активности сердца в связи с динамикой активности нервной системы. На основе сформулированных в системно-эволюционном подходе положений

можно ожидать, что динамика сердечного ритма будет все более разнообразной и изменчивой с возрастом, так как в процессе индивидуального развития взаимодействие организма со средой становится все более дифференцированным за счет приобретения новых элементов индивидуального опыта. Аналогичное изменение динамики сердечного ритма можно ожидать и в филогенетическом ряду, так как растет количество специализаций клеток организма, связываемое с нарастанием сложности поведения (Bonner, 1988), а значит, в том числе разнообразие компонентов, с активностью которых будет согласована активность сердца в системной организации поведения индивида. Тогда ВСП можно будет определить не просто как результат воздействия разного рода регуляторных факторов, а как активный процесс согласования ритма сердца с нейронным компонентом ФС поведенческих актов и другими висцеральными процессами: дыханием, пищеварением и пр.

С целью проверки сформулированных предположений в данной работе проведен анализ экспериментальных исследований, в которых проводится оценка параметров ВСП сравнительно у разных видов (в филогенетическом развитии) и у человека в онтогенетическом развитии.

*Аспекты описания активности сердца через характеристики variability сердечного ритма*

Для оценки ВСП используют широкий спектр математических инструментов, применяемых к анализу временных рядов. Принято выделять три группы методов: методы временной области (статистические показатели распределения RR-интервалов в последовательности), спектральный анализ (показатели мощности плотности спектра колебаний RR-интервалов в последовательности в разных диапазонах частот), методы области нелинейной динамики (параметры нерегулярности, непредсказуемости и комплексности последовательности RR-интервалов). Стоит отметить, что исторически эти подходы в оценке ВСП были включены в исследовательскую практику в таком же порядке, поэтому можно выделить ряд особенностей интерпретации параметров трех групп в связи с экспериментальными парадигмами, в которых они использовались и развивались (Бахчина, 2022).

Упомянутая во введении концепция нейровисцеральной интеграции на данный момент

преобразована в концепцию уровней нейровисцеральной интеграции (Smith et al., 2017). Авторы концепции выделяют восемь уровней: 1) интракардиальная регуляция, 2) сердечно-сосудистая регуляция, 3) межорганная координация, 4) координация с двигательной активностью и эндокринными процессами, 5) координация с сенсорными процессами, 6) регуляция в соответствии с общим соматическим состоянием, 7) координация с когнитивными процессами, 8) координация с текущей целенаправленной поведенческой активностью. Данная концепция имеет ряд ограничений. Во-первых, в основном авторы оперируют результатами работ, в которых ВСП сопоставляется с данными функциональной магнитно-резонансной томографии мозга (фМРТ), а процедура фМРТ сама по себе уже является специфическим контекстом, не типичным для реализации поведения человеком. Для характеристики ВСП используется по большей части только показатель мощности высокочастотных колебаний в спектре RR-интервалов (HF), то есть в математическом аппарате не предлагается способов анализа конкретного уровня из предложенных. Кроме того, выделение уровней регуляции не имеет строго обоснованного единого критерия (что в целом рассматривается как значительный недостаток при формулировке разного рода уровневых представлений; см., например, в (Александров, 1989)), предполагающего качественные изменения в динамике ВСП. Если первые 5 уровней разделяются по анатомо-функциональному критерию, то 6, 7 и 8-й уровни, имеющие единую нейрофизиологию, разделены без указания обоснований. Фактически предложенные 8 уровней являются перечислением тех общеорганизменных процессов, аспекты которых коррелируют с динамикой ВСП.

Если в качестве критерия использовать разделение математических показателей (то есть способов описания) ВСП на три группы, то можно выделить следующие уровни рассмотрения нервно-кардиальной координации.

Статистические показатели более чувствительны к стохастическим процессам в динамике ВСП. Поэтому они более информативны по отношению к смене базовых состояний индивида (сон, бодрствование, норма, патология и пр.) и менее специфичны в отношении аспектов поведения. К ним можно отнести описание интракардиальных процессов, которые включают свойства кардиомиоцитов (внутриклеточная регуляция вероятности формирования потенциала действия на мембране) и особенности взаи-

модействия их с внутрисердечными ганглиями (Campos et al., 2018).

Спектральные показатели более чувствительны к периодическим составляющим в динамике ВСР и исторически разрабатывались для характеристики автономной регуляции сердечного ритма (со стороны вегетативной нервной системы). Поэтому к ним можно отнести автономные парасимпатические процессы – тонические текущие изменения – и симпатические процессы – быстрые экстренные активации. Спектральные показатели наиболее информативны по отношению к смене функциональных состояний субъекта (фазы сна, стадии стресса, смены позы в двигательном акте и пр.), но менее специфичны в отношении аспектов поведения (von Borell et al., 2007). К этому уровню рассмотрения относится также и феномен дыхательной аритмии (у млекопитающих) или сердечно-дыхательного синхронизма (у рыб), которым приписывается роль оптимизации газообмена в процессе дыхания (Taylor et al., 2014). Дыхательные модуляции сердечного ритма последовательно формируются у человека в гестационном периоде, приобретая свою оформленность в периодическую структуру в 5–6-летнем возрасте (Гудков и др., 2013).

Показатели нелинейной динамики сердечного ритма по своей математической сути более чувствительны к нестационарным компонентам в последовательности и отражают ее комплексность, непредсказуемость, что хорошо подходит для анализа переходных процессов. Они оказываются более специфичны (чем статистические и спектральные показатели) к аспектам поведения (смене актов в поведенческом континууме, возрасту формирования реализуемого поведения и пр.), однако могут отражать и сильные изменения состояния: стресс, сонливость и др. Поэтому к ним можно отнести поведенческий уровень рассмотрения, который включает нейровисцеральные взаимодействия, обеспечивающие согласованность сердечного ритма с нейронными группами, активность которых сменяется в соответствии с реализуемым поведением для достижения полезных приспособительных результатов (по описанной выше теории ФС) (Bakhchina et al., 2018).

Таким образом, с помощью ВСР можно проводить анализ разных аспектов включения сердца в общеорганизменную организацию: интракардиального, физиологического (вегетативная

регуляция в соответствии с колебаниями артериального давления, дыхания, теплообмена и пр.) и поведенческого (нестационарные адаптационные модуляции). Выделяемые уровни рассмотрения координации отражаются в динамике временного ряда и наблюдаются на разных временных масштабах последовательности RR-интервалов.

Параметры из области нелинейной динамики, а именно энтропийные, фрактальные и корреляционные оценки сложности временных рядов, в приложении к анализу ВСР в большей степени отражают поведенческие аспекты изменений активности сердца и поэтому представляют больший интерес. Однако эти показатели требуют более длительных непрерывных последовательностей RR-интервалов для расчета и потому менее применимы в исследовательской практике. В данной работе анализ публикаций проведен по исследованиям, использующим любой из трех описанных подходов.

#### *Филогенетическая динамика параметров активности сердца*

До того, как в филогенезе сердце сформировалось как отдельный орган сердечно-сосудистой системы, существовали его предшественники, выполняющие сходные роли. Например, у многих низших животных (немертины) наблюдается активная перистальтика сосудов и антеградное (от центра к периферии) продвижение крови при отсутствии сердца (Титов, 2010). Формирование сердечно-сосудистой системы и появление ритма связывают с формированием выделительной и гуморальной систем. До появления центрального насоса в филогенезе долгое время были некоторые предшественники сосудов и просто сосуды, в том числе каналы для выведения катаболитов. В основе этого лежала гуморальная регуляция. Позже в ходе дальнейшего филогенеза над этой организацией сформировались нервно-гуморальная и вегетативная регуляция. Таким образом, в организмах с развитой сердечно-сосудистой системой наблюдается как центральная регуляция гомеостаза организма с помощью вегетативной иннервации, так и локальная регуляция активности задающих ритм клеток с помощью определенных медиаторов – гуморальных факторов (Титов, 2010).

В процессе эволюции структура сердца изменялась от сокращения части сосудистой трубки у низших организмов до формирования четырех



изолированных камер и двух кругов кровообращения. В филогенезе вначале наблюдается открытый незамкнутый тип кровеносной системы, затем появился закрытый тип. Формирование закрытой сосудистой системы связывают с появлением истинной полости организма. В это же время появляется желудок как отдельный орган, плевра легких (Hartenstein, Mandal, 2006). Предполагается, что объединение клеток в органы происходило по их функциональной и морфологической схожести с помощью гуморальной регуляции (Титов, 2010).

У насекомых сосуды содержат гемолимфу и, сокращаясь, обеспечивают ее ток. Считается, что сократительные клетки сосудов являются предшественниками сердца. На основе молекулярных и эмбриологических данных Hartenstein и Mandal показали, что клетки сосудов и гемоциты происходят от одного предшественника — гемангиобластов. Они тесно взаимодействуют с нефроцитами — клетками, которые относятся к выделительной системе (Hartenstein, Mandal, 2006). На основе данных о предшественниках сердца как отдельного органа сердечно-сосудистой системы, а также данных о синхронизации работы некоторых органов и частей сосудистой системы у представителей современных видов с оформленным сердцем появилась теория “периферических сердец” — системы органов, которые до появления отдельной сердечной мышцы обеспечивали кровоток в организме и с появлением сердца продолжают частично участвовать в этом процессе. Поэтому отражение их активности можно наблюдать и в изменениях ВСП (Титов, 2010).

Появление сердца как отдельного органа тесно связано с эволюцией дыхательной системы. Впервые сердце как отдельный орган появляется у рыб, на этой же стадии происходит переход от диффузного дыхания к жаберному, то есть оформляются отдельные органы дыхания. На основе обширного пласта экспериментальных данных исследователи сделали вывод о том, что дыхательная активность вносит наибольший вклад в регуляцию сердечного ритма, что обеспечивается парасимпатической нервной системой, которая является частью автономной нервной системы (наряду со второй ее частью — симпатической нервной системой).

Традиционно парасимпатическую регуляцию сердечного ритма связывают с тормозящими действиями, в то время как симпатическая

нервная регуляция изменяет активность сердца, ускоряя сердцебиения. Однако существуют данные о том, что у циклостом, эласмобранхов и двоякодышащих отсутствует непосредственно симпатическая иннервация (Taylor et al., 2014). При этом у миногов (представителей циклостом) стимуляция вагуса сопровождалась не тормозящим, а возбуждающим действием на сердце, действуя не на мускариновые холинорецепторы, как у большинства других видов, а на никотиновые холинорецепторы (Augustinsson et al., 1956 цит. по Taylor et al., 2014).

Основным нервом парасимпатической нервной системы является блуждающий нерв (вагус). Поливагусная теория (Porges, 2007) основывается на его значении в эволюции живых существ и иннервации им сердечной деятельности. Базовым положением поливагусной теории является тезис о том, что активность блуждающего нерва лежит в основе социального поведения, обуславливая ключевые паттерны поведения, такие как “бежать или сражаться”. В рамках поливагусной теории описываются этапы становления автономной нервной системы, в частности блуждающего нерва, в филогенезе (Porges, Kolacz, 2018). В течение первого филогенетического этапа у позвоночных животных формировался дорсальный комплекс блуждающего нерва (начало эфферентных путей и конец афферентных) в области ствола головного мозга. В ходе развития позвоночных развивалась спинномозговая симпатическая нервная система. Авторы полагают, что на третьем этапе с появлением млекопитающих произошла миграция некоторых из клеток блуждающего нерва из дорсального ядра блуждающего нерва в *ambiguus nucleus* (двойное ядро). Возбуждение клеток в этом ядре связывают с активностью поперечнополосатых мышц лица. В соответствии с этими представлениями объясняется взаимодействие между подсистемами автономной нервной системы: система социального взаимодействия, связанная с миелинизированным блуждающим нервом и опосредованная клетками двойного ядра (*ambiguous nucleus*); система мобилизации, действие которой обусловлено активностью симпатической системы; и система иммобилизации, связанная с активностью немиелинизированной части блуждающего нерва и опосредованная спинным моторным ядром блуждающего нерва (Porges, 2007; Rispoli et al., 2018).

В исследованиях филогенетической истории формирования парасимпатической и сим-

патической регуляции сердца для большинства животных с развитой автономной нервной системой показано преобладание роли парасимпатической нервной системы в регуляции сердечного ритма (Taylor et al., 2014), что выражается в том числе в наличии синусовой аритмии, и большого вклада высокочастотной компоненты в мощности спектра ВСР. Признаки синусовой аритмии были выявлены у змей. Эксперименты с селективной вегетативной блокадой выявили 55%-ную долю холинергически регулируемого тонуса сердца и 37%-ную – адренергически регулируемого. В ходе восстановления после операции вживления сердечного электрода было обнаружено, что большой вклад в ВСР змей вносит синусовая аритмия, гомологичная синусовой аритмии млекопитающих. Спектральный анализ мощности ВСР выявил пик на той же частоте, что и вентиляция легких (Sanchez et al., 2019). Подобную синусовую аритмию обнаружили и у ящериц (Duran et al., 2020).

Таким образом, в филогенезе ритмические процессы регуляции жизнедеятельности организма, поддерживающие постоянство гомеостаза, изначально организовывались гуморальными факторами – гормонами. Позже они дифференцируются в отдельные системы (дыхательная, выделительная, сердечно-сосудистая и др.), и “над” гуморальной регуляцией формируется нервно-гуморальная, в том числе посредством эфферентных и афферентных путей автономной нервной системы. Адаптация и регуляция сердечного ритма к динамике жизнедеятельности организма автономной нервной системой обеспечивались через симпатический и/или парасимпатический компоненты. Ритмическая активация симпатических нервов учащает сердцебиение, а парасимпатическая активация, наоборот, приводит к урежению сердцебиения, однако такие представления о механизме ритмогенеза не могут объяснить весь спектр адаптивных изменений сердечного ритма в целостном организме, наблюдаемых в поведении (Покровский, 2006). У всех позвоночных преобладающий вклад в ВСР вносит именно парасимпатическая нервная система, тогда как симпатическая нервная система у некоторых таксонов отсутствует вовсе.

Таким образом, в исследованиях в области сравнительной физиологии полное описание характеристик ВСР для разных видов отсутствует и является перспективным направлением для дальнейших исследований. Как правило, срав-

нивают только значения ЧСС и его изменения при селективных адreno- и холиноблокадах. Однако на основе имеющихся данных можно утверждать, что в большинстве случаев у животных в динамике ВСР мы наблюдаем 1-й и 2-й уровни описания координации активности сердца, то есть интракардиальные и автономные (в том числе гуморальные) аспекты регуляции. Однако наличие некоторых работ, которые используют ВСР для дифференциации эмоциональных аспектов поведения домашних (Zupan et al., 2016) и сельскохозяйственных (Frondelius et al., 2015; Borell et al., 2007) животных (млекопитающих) по спектральным показателям и индексам нелинейной динамики, позволяет утверждать, что такие описания активности сердца у них возможно использовать для исследования психофизиологической организации поведения.

#### *Онтогенетическая динамика параметров активности сердца*

У людей блуждающий нерв, связанный с парасимпатической иннервацией сердца, начинает формироваться в третьем триместре гестации (Mangone et al., 2020). Так как считается, что одна из задач парасимпатической системы состоит в согласовании действий дыхательной и кровеносной системы, то развивается она уже ближе к эпизодам попыток самостоятельного дыхания плода. При этом в третьем триместре (между 24 и 38 неделями) созревания плода более пятидесяти процентов изменений в ВСР описывают повышением амплитуды флуктуаций и повышением сложности (измеренной по мультимасштабной энтропии [multiscale entropy]) динамики сердечного ритма (Hoyer et al., 2019). Развитие интегративной вегетативной регуляции плода связано с увеличением связей разных во временных масштабах показателей сердечного ритма (Wallwitz et al., 2012; Gieraltowski et al., 2015). Иными словами, по разным компонентам ВСР наблюдается усиление нейрокардиальных взаимодействий в процессе созревания плода (Hoyer et al., 2019).

Динамика ВСР в первые дни после рождения отражает многочисленные адаптационные перестройки организма, в том числе к разного рода факторам родового стресса (гипоксия, переохлаждение и пр.). Сразу после рождения (первые 4 дня) у здоровых младенцев наблюдается кратный рост ВСР по всем показателям, в том числе показателям графика Пуанкаре, которые оценивают хаотические компоненты в последовательности (Lehotska et al., 2007). Этому периоду онто-

генеза соответствует повышенный уровень гибели нейронов коры больших полушарий и высокий уровень экспрессии *c-fos*, что рассматривается как непосредственное нейрофизиологическое отражение системогенетических процессов, модифицирующих структуру индивидуального опыта (Сварник и др., 2001). Javorka с соавт. (Javorka et al., 2017) на основе анализа параметров ВСР у новорожденных делают заключения о зрелости не только органов сердечно-сосудистой системы, но и нервных структур. Большая ВСР характерна для нормально сформированных (зрелых) ЦНС и ВНС. Также показана связь между более низкими значениями ЧСС на фоне более высокой ВСР в первые дни жизни с более эффективным решением сенсорных и моторных задач в раннем детстве (1–2 года).

В течение первых лет жизни происходит снижение ЧСС, которое связывают с увеличением влияния парасимпатической нервной системы (Seals, Esler, 2000). Общая ВСР (TP) (Mangone et al., 2020) и конкретно соотношение мощностей низко- и высокочастотных компонент ВСР (LF/HF) растут (Галеев и др., 2002; Kazuma et al., 2002; Massin, Von Bernuth, 1997). В младенчестве происходит переход от преобладания симпатической нервной системы в регуляции сердечного ритма к преобладанию парасимпатической нервной системы, что связывают с процессами миелинизации блуждающего нерва (Mangone et al., 2020). По другим данным, в пятилетнем возрасте только половина детей из наблюдаемой выборки имели преобладающий вклад парасимпатической нервной системы в ВСР. Дети “парасимпатического типа” обладают большим уровнем адаптационных резервов организма (Догадкина, 2008). Отметим, что, хотя показатели LF (низкочастотный компонент спектра ВСР) и LF/HF в классической интерпретации рассматриваются как показатели выраженности вклада симпатической нервной системы в регуляцию сердечного ритма, в последнее время такое представление уточняется (см., например, Vilman, 2013).

В результате проведенного сравнительного анализа показателей ВСР у детей (до 15 лет) и у молодых людей (от 15 до 40 лет) выявлено, что наблюдаемое с возрастом увеличение ВСР проявляется только в стандартном отклонении сердечного ритма и спектральных показателях, в то время как различий в сложности сердечного ритма (по энтропийным показателям) между этими возрастными группами обнаружено не было (Pikkujamsa et al., 1999). Далее, сравнительный

анализ групп молодых людей (от 15 до 40 лет), людей среднего возраста (от 40 до 60 лет) и людей старшего возраста (старше 60 лет) указывает на снижение ВСР, в том числе показателей сложности. Однако в другом исследовании при сравнении детей (от 5 до 15 лет) и молодых людей (от 15 до 30 лет) показан обратный эффект – увеличение сложности динамики сердечного ритма (рассчитываемой по аппроксимированной энтропии), при этом стандартное отклонение уменьшается, а далее оба показателя имеют тенденцию к снижению по мере увеличения возраста (до 70 лет) (Acharya et al., 2004). Такое разнообразие эмпирических феноменов может быть связано с особенностями организации исследований по регистрации сердечного ритма. В первом случае запись сердечного ритма проводилась в течение 24 ч с использованием Холтеровского мониторирования, для анализа использовались длинные последовательности (от 1 до 2 ч), при этом никак не регистрировалась двигательная и поведенческая активность участников. Во втором случае запись проводили в состоянии покоя (сидя, с закрытыми глазами) 5 мин. Отсутствие разности в сложности сердечного ритма между детьми и молодыми людьми в первом случае может объясняться тем, что дети за период 1–2 ч чаще изменяют свою поведенческую активность, а вместе с тем растет и нерегулярность, и, соответственно, сложность динамики сердечного ритма. Так, например, Ноуег с соавт. подчеркивает важность учета контекста поведения при поиске корреляций показателей сердечного ритма с гестационным возрастом плода (Ноуег et al., 2013). В частности, положительная корреляция возраста с ВСР (по показателям SDNN, RMSSD и мультимасштабной энтропии) больше выражена в состоянии покоя, а не при активных движениях плода. Также в этой работе демонстрируются положительные корреляции между сложностью динамики сердечного ритма (по показателям мультимасштабной энтропии) и сложностью поведенческих паттернов, регистрируемых у плода. Это еще раз подчеркивает важность учета поведенческого контекста в исследованиях развития нейровисцеральных взаимодействий. Подробнее обзор исследований, выполняющих сравнение ВСР у индивидов на разных этапах онтогенеза, представлен в табл. 1.

Таким образом, по имеющимся в литературе на данный момент данным, можно отметить, что возрастная динамика сложности сердечного ритма имеет колоколообразную форму с максимумом в период от 20 до 40 лет. Это показано в ряде

**Таблица 1.** Сравнительные исследования ВСП у индивидов на разных этапах онтогенеза  
**Table 1.** Comparative studies of HRV between individuals at different stages of ontogenesis

Источник	Сравниваемые возрасты	Задача / условие	Показатели ВСП	Динамика
Yum et al., 1997	20–24 недели (1), 25–26 недель (2), 29–30 недель (3), 37–38 недель (4), 39–40 недель (5), 41–42 недели (6)	Сравнивали показатели плодов разного гестационного возраста за периоды покоя и движения	ApEn	ApEn в покое: 1 < 6, 2 < 6 ApEn в движении: 1 < 3, 3 > 4, 3 > 5
Bar-Haim et al., 2000	4 мес (1) 9 мес (2) 14 мес (3) 24 мес (4) 48 мес (5)	Дети лежали, отвлекаемые визуальными стимулами, либо сидели на коленях у матери. Измерение проводилось в течение 2 ч	Mean_RR, HF	Mean_RR: 1 < 2, 2 < 3, 3 < 4, 4 < 5 HF: 2 < 3, 3 < 4, 4 < 5.
Bobkowski et al., 2017	3–6 (1), 7–12 (2), 13–18 лет (3)	Суточный мониторинг	Mean_RR, SDNN, ULF, VLF, LF, HF, LF/HF, SD1, SD2	Mean_RR: 1 < 2, 2 < 3, 1 < 3 SDNN: 1 < 3, 2 < 3 ULF: 1 < 3, 2 < 3 VLF: 1 < 3, 2 < 3 LF: 1 < 3 LF/HF: 1 < 3, 2 < 3 SD2: 1 < 3, 2 < 3
Gasior et al., 2015	6–7 (1), 8–9 (2), 10–11(3), 12–13 лет (4)	6-мин регистрация в покое лежа	HR, SDNN, RMSSD, pNN50, TP, VLF, LF, HF	HR: 1 < 3, 1 < 4
Pikkujämsä et al., 1999	1–15 (1), 16–40 (2), 40–60 (3), 60–84 лет (4)	24-часовой мониторинг в клинике	Mean_RR, SDNN, ULF, VLF, LF, HF, ApEn, a1, a2	Mean_RR: 1 < 2, 1 < 3, 1 < 4 SDNN: 1 < 2, 1 < 3, 4 < 2, 4 < 3 ULF: 2 > 1, 2 > 3, 2 > 4, 4 < 1, 4 < 2, 4 < 3 VLF: 2 > 1, 2 > 3, 2 > 4, 4 < 1, 4 < 2, 4 < 3 LF: 2 > 1, 2 > 3, 2 > 4, 4 < 1, 4 < 2, 4 < 3 HF: 3 < 1, 3 < 2, 4 < 1, 4 < 2, 4 < 3 ApEn: 1 > 3, 2 > 3, 1 > 4, 2 > 4, 3 > 4 a1: 1 < 3, 1 < 4 a2: 1 < 3, 2 < 3, 1 > 4, 2 < 4, 3 < 4
Бойцов и др., 2002	18–35 (1) 35–48 (2) 48–65 лет (3)	Суточный мониторинг	SDNN, RMSSD, pNN50, TP, LF, HF, VLF, LF/HF	SDNN: 1 > 2, 2 > 3 RMSSD: 1 > 2, 2 > 3 pNN50: 1 > 2, 2 > 3 TP: 1 > 2, 2 > 3 LF: 1 > 2, 2 > 3 HF: 1 > 2, 2 > 3 VLF: 1 > 2 LF/HF: 1 < 2, 2 > 3
Srinivasan et al., 2002	6–11 (1), 20–30 (2), 60–70 лет (3)	10 мин лежа на спине, 2 мин после быстрого подъема на ноги (ортостатическая проба)	HR, LF, HF, LF/ HF, LFn, HFn	На спине: HR: 1 > 2, 1 > 3 LF: 1 < 2, 2 > 3 HF: 1 < 2, 2 > 3 Изменения после подъема: HF: 2 < 3 LF/HF: 1 > 3, 2 > 3 LFn: 1 < 3, 2 < 3 HFn: 2 > 3

Продолжение табл. 1.

Источник	Сравниваемые возрасты	Задача / условие	Показатели ВСП	Динамика
Zhang, 2007	10–20 (1), 20–30 (2), 30–40 (3), 40–50 (4), 50–60 (5), 60–70 (6), 70–80 (7), 80 и старше лет (80)	Фоновая ВСП (зарегистрированная в покое в разных исследованиях за последние 4 года, аппаратура идентичная)	Mean_RR, SDNN, RMSSD, TP, VLF, LF, HF, LF/HF, LFn, HFn	Mean_RR↑ SDNN↓ TP↓ VLF↓ LF↓ HF↓ (нелинейная связь с возрастом, значимость не представлена: 2 < 3, 4 < 5, 6 < 7, 7 < 8)
Acharya et al., 2004	10 ± 5 (1) 25 ± 10 (2) 40 ± 15 (3) 60 ± 5 лет (4)	Регистрация в положениях сидя и лежа	SDNN, SDDSD, RMSSD, pNN50, Triangle index, TiNN, ULF, VLF, LF, HF, LF/HF, ApEn, LLE (Largest Lyapunov Exponent), αs, αl, SD1/SD2	SDNN: 1 > 2, 2 > 3, 3 < 4 SDDSD: 1 > 2, 2 > 3, 3 < 4 RMSSD: 1 > 2, 2 > 3, 3 < 4 pNN50: 1 < 2, 2 > 3, 3 < 4 Triangle index: 1 > 2, 2 > 3, 3 < 4 TiNN: 1 < 2, 2 < 3, 3 > 4 LF/HF: 1 > 2, 2 > 3, 3 < 4 ApEn: 1 < 2, 2 > 3, 3 > 4 LLE: 1 > 2, 2 > 3, 3 > 4 αs: 1 > 2, 2 > 3, 3 < 4 αl: 1 > 2, 2 > 3, 3 < 4
Yeragani et al., 1997	11.1 ± 2.1 (1), 35.4 ± 10.4 лет (2)	24-часовой мониторинг	Mean_RR, TP, FD, ULF, VLF, LF, HF, LF/HF	Mean_RR: 1 > 2 TP: 1 > 2 FD: 1 > 2 ULF: 1 > 2 VLF: 1 > 2 LF: 1 > 2 HF: 1 > 2 LF/HF: 1 < 2
Коркушко и др., 1999	20–30 (1), 60–74 лет (2)	Суточный мониторинг	TP, LF, HF, VLF, LF/HF	TP: 1 > 2 LF: 1 > 2 HF: 1 > 2 VLF: 1 > 2
Choi et al., 2006	23–54 года	3-минутный покой	LF, HF, LF/HF	LF↓ HF↓
Jensen-Urstad et al., 1992	20–69 лет	24-часовой мониторинг	HR, SDNN, SDANN, SDNN-i, RMSSD, pNN50, TP, VLF, LF, HF, LF/HF	SDNN-i↓ RMSSD↓ pNN50↓ TP↓ VLF↓ LF↓ HF↓
Abhishekh et al., 2013	16–60 лет	5-минутный период покоя лежа на спине	SDNN, RMSSD, TP, HF, LF, HFn, LFn, LF/HF	SDNN↓ RMSSD↓ TP↓ HFn↓ LFn↑ LF/HF↑

Окончание табл. 1.

Источник	Сравниваемые возрасты	Задача / условие	Показатели ВСП	Динамика
Amano et al., 2006	18–19 (1), 20–29 (2), 30–39 (3), 40–49 (4), 50–59 (5), 60–69 (6), 70–79 лет (7)	10-минутная регистрация покоя в положении сидя	SDNN, RMSSD, pNN50, TP, HF, LF, HFn, LFn, LF/HF, энтропия Шэннона	SDNN: 1 > 5, 1 > 6, 1 > 7 RMSSD: 1 > 4, 1 > 5, 1 > 6, 1 > 7 pNN50: 1 > 4, 1 > 5, 1 > 6, 1 > 7 TP: 1 > 4, 1 > 5, 1 > 6, 1 > 7 HF: 1 > 2, 1 > 3, 1 > 4, 1 > 5, 1 > 6, 1 > 7 LF: 1 < 2 HFn: 1 > 2, 1 > 3 LFn: 1 < 2, 1 < 3 LF/HF: 1 < 2 энтропия Шэннона ↓: 3 < 1
Liao et al., 1995	45–54 (1), 55–64 лет (2)	2-минутная регистрация в покое в положении лежа	LF, HF, HF / LF	LF: 1 > 2 HF: 1 > 2
Reardon, Malik, 1996	40–102; 40–69 (1), 70–102 лет (2)	24-часовой мониторинг	Triangle index, RMSSD	Triangle index ↓: 1 > 2

*Примечание.* Знаками > и < указаны только достоверные различия по показателям ВСП между сравниваемыми возрастными группами при  $p < 0.05$ . Стрелки вниз и вверх обозначают отрицательную (↓) или положительную (↑) корреляционную связь указанного показателя ВСП с возрастом при  $p < 0.05$ . В таблице рассматривались только исследования с участием испытуемых без диагностированных сердечно-сосудистых нарушений. Расшифровка приведенных в таблице обозначений показателей ВСП дана в табл. 2.

*Note.* Signs > and < indicate only significant differences in HRV parameters between the compared age groups with  $p < 0.05$ . Arrows pointing downwards and upwards denote negative (↓) or positive (↑) correlation of the specified HRV parameter with age at  $p < 0.05$ . Only studies involving subjects without diagnosed cardiovascular disorders were considered in the table. The description of the HRV parameters abbreviations provided in the table is given in Table 2.

**Таблица 2.** Показатели ВСП, используемые в сравнительных исследованиях индивидов на разных этапах онтогенеза; математическое значение, интерпретация, ограничение

**Table 2.** Indices of HRV commonly used in comparative studies of individuals at different stages of ontogenesis including mathematical values, interpretation, and limitations

Параметр ВСП Математическое описание	Интерпретация и ограничения
<b>Mean_RR</b> Среднее арифметическое величин всех интервалов RR во время измерения <b>HR</b> Средняя частота сердечных сокращений в период измерения.	Могут служить показателями общей сердечной активности и уровня релаксации. Сравнение Mean_RR между различными группами требует нормального распределения последовательности RR-интервалов
<b>TiNN</b> Временной интервал между текущим и следующим сердечным сокращением	Является простым показателем временной изменчивости ВСП, который может использоваться для оценки активности вагусного нерва и параболической модуляции сердечного ритма
<b>SDNN (SDNNi)</b> Стандартное отклонение всех нормальных RR-интервалов за весь период анализа ритмограммы	Расчеты показателя требуют нормального распределения последовательности RR-интервалов
<b>RMSSD</b> $RMSSD = \sqrt{(1 / (N - 1)) * \sum (RR_{i+1} - RR_i)^2}$ где: – N — общее количество RR-интервалов, – RR <sub>i</sub> — i-й RR-интервал, – RR <sub>i+1</sub> — следующий после i-го RR интервал	Индекс зависит от длительности записи и среднего значения RR-интервалов в последовательности
<b>pNN50</b> Представляет собой процент всех последовательных интервалов RR, разница между которыми превышает 50 мс	Высокая чувствительность к шумам и артефактам

Продолжение табл. 2.

Параметр ВСП Математическое описание	Интерпретация и ограничения
<b>SDANN</b> Стандартное отклонение средних RR-интервалов в рассматриваемых 5-минутных сегментах записи	Расчеты показателя требуют длительных записей: более 5 мин
<b>TP</b> Общая мощность спектра ритмограммы. Она представляет сумму всей вариационной мощности спектра для частот до 0.4 (0.6) Гц	Спектральный анализ требует длительных записей: от 100 с для LF и HF и более 600 с – для VLF и ULF. Существуют разные подходы для расчета спектра неравномерно дискретизированных временных рядов, сравнение результатов между которыми затруднено. Для анализа необходимо использовать только стационарные последовательности. Уровень и соотношение частотных диапазонов спектра ВСП различается у представителей разных видов. У некоторых видов отсутствует дыхательная аритмия и HF-компонент менее выражен. Уровень и соотношение частотных диапазонов спектра ВСП зависит от возраста. В детском и подростковом возрасте спектр ВСП не имеет четкой структуры с явно выраженными максимумами в VLF-, LF- и HF-диапазонах, поэтому границы определения этих диапазонов могут отличаться
<b>ULF</b> Мощность спектра ритмограммы в диапазоне ультранизких частот. Колебания ULF относятся к частотам ниже 0.003 Гц	
<b>VLF</b> Мощность спектра ритмограммы в диапазоне очень низких частот. Колебания VLF относятся к частотам между 0.0033 и 0.04 Гц	
<b>LF</b> Мощность спектра ритмограммы в диапазоне низких частот. Колебания LF относятся к частотам между 0.04 и 0.15 Гц	
<b>LFn</b> Значение, нормализованное на общую мощность спектра	
<b>HF</b> Мощность спектра ритмограммы в диапазоне высоких частот. Колебания HF относятся к частотам между 0.15 и 0.4 (0.6) Гц	
<b>HFn</b> Значение, нормализованное на общую мощность спектра	
<b>LF/HF</b> Это соотношение между мощностью низкой частоты (LF) и мощностью высокой частоты (HF)	Используется как показатель баланса между симпатической и парасимпатической нервной активностью
<b>SD1</b> Стандартное отклонение относительно линии идентичности ( $y = x$ ) на диаграмме Poincaré	Высокая чувствительность к шумам, артефактам и нарушениям ритма
<b>SD2</b> Стандартное отклонение вдоль линии идентичности ( $y = x$ ) на диаграмме Poincaré	Высокая чувствительность к шумам, артефактам и нарушениям ритма
<b>SD1/SD2</b>	Представляет собой меру относительного вклада короткосрочных и долгосрочных модуляций в организации ВСП
<b>a1, a2</b> Главные экспоненты Ляпунова. Наибольшие положительные экспоненты Ляпунова описывают наиболее быстрое расхождение траекторий в фазовом пространстве	Малые значения главных экспонентов Ляпунова указывают на более предсказуемую динамику сердечного ритма. Требует длительных записей для анализа: от 1000 значений
<b>as</b> Средний экспонент Ляпунова. Он представляет собой среднее значение всех локальных экспонентов Ляпунова и описывает общую скорость расходимости или сближения траекторий в фазовом пространстве	Требует длительных записей для анализа: от 1000 значений
<b>al (LLE)</b> Локальный экспонент Ляпунова. Он описывает скорость расходимости или сближения траекторий вблизи определенной точки в фазовом пространстве	Требует длительных записей для анализа: от 1000 значений

Окончание табл. 2.

<b>DFA</b> Detrended Fluctuation Analysis описывает зависимость между изменчивостью ритма и временным масштабом. Более высокое значение $\alpha$ указывает на более сложную и коррелированную изменчивость ВСП	Оценивает фрактальные свойства ряда и его самоподобие. Требуется длительных записей для анализа: от 1000 значений
Параметр ВСП Математическое описание	Интерпретация и ограничения
<b>Triangle index</b> Оценивает количество треугольников, образованных в трехмерном фазовом пространстве, построенном на основе интервалов между сердечными сокращениями	Более высокое значение индекса указывает на более сложную и непредсказуемую динамику сердечного ритма. Индекс может быть чувствительным к артефактам и шумам в записи сердечного ритма
<b>ApEn</b> (аппроксимированная энтропия) Является показателем сложности и непредсказуемости временных рядов RR-интервалов и рассчитывается по формуле: $ApEn(m, r) = \phi(m+1) - \phi(m)$ , где $m$ – длина шаблона (pattern length), $r$ – фактор сходства (similarity factor), $\phi(m)$ – оценка условной энтропии (conditional entropy)	Оценивает степень случайности или регулярности в ритме сердца. Значения зависят от длительности записи
<b>энтропия Шеннона</b> Является мерой неопределенности или информационного содержания во временном ряду и рассчитывается по формуле: $H = -\sum(p(i) * \log_2(p(i)))$ , где $p(i)$ – вероятность появления значения $i$ во временном ряду	Оценивает степень равномерности и разнообразия значений в ритме сердца. Значения зависят от длительности записи

исследований. Снижение же сложности сердечного ритма с возрастом после 20–40 лет может с позиций системно-эволюционного подхода объясняться особыми изменениями в системной организации поведения. А именно, все большее преобладание с возрастом изменений межсистемных связей в структуре индивидуального опыта, нежели формирование новых элементов (Горкин, 2017). Таким образом, оценить ВСП в разных возрастных группах в “одном и том же” поведении пока является сложной задачей, на которую стоит обратить внимание в дальнейших исследованиях.

Стоит подчеркнуть, что при рассмотрении особенностей динамики сердечного ритма на более поздних этапах онтогенеза важно также учитывать и возможные возрастные морфологические изменения: увеличение вероятности наличия и выраженности сердечно-сосудистых нарушений, которые, как правило, сопровождаются снижением ВСП. Хотя в исследованиях возрастной динамики ВСП всегда отслеживается факт отсутствия сердечно-сосудистых заболеваний, не исключены случаи наличия синдромов на донологической, не диагностируемой стадии.

В ходе эмбриогенеза у человека первой начинается созревание симпатической нервной си-

стема. Блуждающий нерв формируется только в третьем триместре развития плода, при этом окончательная его миелинизация завершается уже после рождения (к 5–6 годам). В первые годы жизни ребенка преобладающее влияние на активность сердца оказывает симпатическая (“мобилизующая”) нервная система, вероятно, из-за происходящих активных перестроек в организме, необходимых для развития индивида, затем происходит переход к преобладающей парасимпатической нервной системе. Относительно нестационарных компонент в динамике сердечного ритма можно наблюдать, что от рождения до среднего возраста ВСП, оцениваемая по показателям нелинейной динамики, растет.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как было упомянуто выше и аргументировано нами ранее (см., например, (Александров, 1989, 2006, 2009; Александров и др., 2022; Швырков, 2006)), реализация конкретного поведенческого акта обеспечивается актуализацией набора ФС в их взаимодействии. ФС как элемент структуры индивидуального опыта фиксируется группой специализированных нейронов и других клеток организма. При этом при обеспечении актов, направленных на достижение разных целей, актуализируется разный набор ФС.



Можно предположить, что активность сердца, которая согласуется с активностью группы нейронов, входящих в состав общеорганизменных ФС, обеспечивающих тот или иной акт, зависит от цели поведения. Поэтому параметры ВСП могут отражать динамику процесса согласования и базовые характеристики системной организации реализуемого поведения.

В настоящее время все больше исследователей считают, что сердце не является просто помпой, качающей кровь в организме (Титов, 2010; Покровский, 2006). При этом отмечают именно двунаправленные взаимодействия: не только регуляцию сердечной активности мозгом, но и афферентные сигналы от сердца в мозг и связанные с ними изменения его активности (Ernst, 2017). Это соответствует принципу взаимодействия в системно-эволюционном подходе (Максимова и др., 2013). С этих позиций могут быть интерпретированы и результаты ранее проводимых экспериментов. Например, В.Н. Черниговский проводил исследование механизмов включенности внутренних органов в общеорганизменные процессы (Черниговский, 1975). Он полагал, что саморегуляция висцеральных систем в организме, связанная с работой внутренних органов и обусловленная реализацией генетически детерминированной программы, осуществляется в координации с высшими отделами нервной системы. Тогда активность висцеральных систем может рассматриваться как процесс оптимизации всех внутренних перестроек организма в соответствии с текущими задачами взаимодействия субъекта со средой. Динамика ВСП может служить показателем оптимизации активности сердца в соответствии с параметрами реализуемого поведения, т.е. проявлением процесса взаимодействия распределенных в организме элементов ФС (по П.К. Анохину).

Важно отметить, что работа всех клеток сердца необходима для реализации любого поведения, поэтому активность сердца является менее “специфичной” в отличие от нервной системы, где предполагается, что вовлечение или невовлечение нейрона ЦНС в обеспечение поведения зависит от цели поведения. Что же касается периферических элементов нервной системы, то их вовлечение в большей степени зависит от того, какие параметры среды используются для организации поведения, хотя характеристики импульсной активности этих элементов проявляют зависимость и от цели поведения (Александров, 1989; Astrand et al., 1986; Aleksandrov, 2008).

Так же и активность сердца изменяется от одного вида поведения к другому, как показывают экспериментальные данные. Будучи специфическим компонентом организации целостного поведения как общеорганизменного процесса, активность сердца может быть связана с некоторыми базовыми характеристиками этого поведения, например типом домена индивидуального опыта, в который входят ФС, обеспечивающие данное поведение – приближение / избегание (approach / withdrawal) (Александров, 2009; Carver, 2006; Созинов и др., 2022) или поведение, направленное на формирование ложного / правдивого сообщения (Учаев и др. 2022), время формирования ФС в онтогенетическом развитии (Бахчина, Парина, 2017) и сложность поведения, обратимо уменьшающаяся при остром стрессе (Александров и др., 2022; Учаев и др., 2022) или остром воздействии алкоголя (Арутюнова и др., 2017; Бахчина и др., 2018). Было показано, что дифференцированность реализуемого поведения как одна из базовых его характеристик отражается в активности сердца, а именно в оценках энтропии последовательностей RR-интервалов. При этом в других исследованиях (см., например, (Yeh et al., 2013)) было показано снижение ВСП в таких состояниях, как сон, наркоз, кома или в ситуациях длительного повторения “одного и того же” простого поведения (монотония). Логично полагать, что такие базовые характеристики реализуемого поведения проявляются в изменениях активности и других элементов тела, входящих в общеорганизменную интеграцию: в динамике дыхания, кожногальванической активности (см., например, (Kolbeneva et al., 2016; Малахов и др., 2023)) и пр.

Рассматривая возрастные особенности ВСП в рамках вышеизложенных позиций, можно отметить также закономерные особенности в ситуациях поведенческой регрессии. На ранних этапах развития наблюдается доминирующий вклад симпатической регуляции активности сердца (Ernst, 2017), аналогично и во взрослом возрасте в ситуациях временной обратимой дедифференциации, регрессии к старым формам поведения (Александров и др., 2022) для поиска и формирования новых форм решения проблемы в динамике сердечного ритма мы также наблюдаем доминирование симпатической регуляции.

Развитие индивида происходит через все более дифференцированное соотношение со средой путем формирования новых ФС. Фиксация новой ФС не вытесняет ранее сформированные ФС, а

модифицирует их, таким образом, процесс развития индивида фиксируется в структуре индивидуального опыта как формирование новых ФС (Александров, 2006, 2009; Швырков, 2006). При этом поведение, сформированное на более поздних этапах развития, как правило, обеспечивается сравнительно большим набором ФС и межсистемных взаимодействий (Александров, 1989, 2006, 2009; Колбенева, 2013; Чуприкова, 1997).

Таким образом, в онтогенетическом и филогенетическом развитии наблюдается изменение активности сердца на всех выделенных уровнях описания. На интракардиальном уровне наблюдается усложнение морфологии сердца: появляются новые типы клеток и оформляются новые структуры. На уровне вегетативной регуляции наблюдается усложнение иннервации сердца: к гуморальным взаимодействиям добавляются более специализированные симпатические и парасимпатические. На уровне нейровисцеральных взаимодействий наблюдается усложнение динамики изменений сердечного ритма в связи с усложнением и детализацией целостных соотношений организма со средой. В индивидуальном развитии выделяются аналогичные процессы: развитие вегетативной регуляции сердечного ритма и усложнение нейровисцеральных взаимодействий в связи с расширением поведенческого репертуара (увеличением разнообразия поведенческих специализаций нейронных групп).

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Статья подготовлена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (НИР № 0138-2024-0013 “Системно-эволюционный анализ процессов консолидации, актуализации и реконсолидации памяти”), Институт психологии РАН.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Александров Ю.И.* Психофизиологическое значение активности центральных и периферических нейронов в поведении. М.: Наука, 1989. 208. с.
- Александров Ю.И.* Опасность междисциплинарных исследований и ее преодоление. Психологическое знание: виды, источники, пути построения. Отв. ред. А.Л. Журавлев, А.В. Юревич. М.: Изд-во “Институт психологии РАН”. 2021. 159–198.
- Александров Ю.И.* От эмоций к сознанию. Психология творчества: школа Я.А. Пономарева. Под ред. Д.В. Ушакова. М.: Изд-во “Институт психологии РАН”, 2006. 293–328.
- Александров Ю.И.* Развитие как дифференциация. Теория развития: Дифференционно-интеграционная парадигма. Сост. Н.И. Чуприкова. М.: Языки славянских культур, 2009. 17–28.
- Александров Ю.И., Булава А.И., Бахчина А.В., Гаврилов В.В., Колбенева М.Г., Кузина Е.А., Знаменская И.И., Русак И.И., Горкин А.Г.* Стресс и индивидуальное развитие. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2022. 72 (4): 437–456.
- Анохин П.К.* Принципы системной организации функций. М.: Наука, 1973. 5–61.
- Анохин П.К.* Очерки по физиологии функциональных систем. Сост. П.К. Анохин. М.: Медицина, 1975. 448.
- Анохин П.К.* Биология и нейрофизиология условного рефлекса. М.: Медицина, 1968. 546.
- Арутюнова К.Р., Бахчина А.В., Крылов А.К., Александров Ю.И.* Воздействие алкоголя на сердечный ритм и оценку действий при решении моральных дилемм. Экспериментальная психология. 2017. 10 (1): 5–22.
- Баевский Р.М.* Анализ variability сердечного ритма: история и философия, теория и практика. Клин. информат. и телемед. 2004. 1 (1): 54–64.
- Баевский Р.М., Иванов Г.Г.* Variability сердечного ритма: теоретические аспекты и возможности клинического применения. Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2001. 3: 108–127.
- Бахчина А.В., Демидовский А.В., Александров Ю.И.* Соотношение сложности динамики сердечного ритма и системных характеристик поведения. Психологический журнал. 2018. 39 (5): 46–58.
- Бахчина А.В., Александров Ю.И.* Сложность сердечного ритма при временной системной дедифференциации. Экспериментальная психология. 2017. 10 (2): 114–130.
- Бахчина А.В.* Нелинейный анализ variability сердечного ритма: возможности использования в психологических исследованиях. Психологический журнал. 2022. 43 (2): 96–104.
- Бахчина А.В., Парина И.С.* Variability сердечного ритма при решении лингвистических задач, актуализирующих индивидуальный опыт разного возраста. Психология – наука будущего: Материалы VII Междунар. конф. молодых ученых “Психология – наука будущего”. Москва, 14–15 ноября 2017 г. М.: Ип РАН, 2017. 86–89.
- Бойцов С.А., Белозерцева И.В., Кучмин А.Н., Захарова И.М., Княжева Т.Ю., Черкашин Д.В., Карпенко М.А.* Возрастные особенности изменения показателей variability сердечного ритма у практически здоровых лиц. Вестник аритмологии. 2002. 26: 57–60.
- Вейн А.М.* Вегетативные расстройства (клиника, диагностика, лечение). М.: ООО “Медицинское информационное агентство”, 2003.
- Галеев А.Р., Игишева Л.Н., Казин Э.М.* Variability

- сердечного ритма у здоровых детей в возрасте 6–16 лет. Вестник Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. Серия “Медицина”. 2002. 3 (545): 35–40.
- Горкин А.Г.* Некоторые особенности структуры индивидуального опыта, выявляемые по активности специализированных нейронов. Фундаментальные и прикладные исследования современной психологии. 2017. 1531–1537.
- Господинова А.И.* Филогенез сердца позвоночных животных. Академическая публицистика. 2018. 12: 245–247.
- Гудков Г.В., Пустовая Ж.В., Покровский В.М.* Феномен сердечно-дыхательного синхронизма у доношенного плода. Кубанский научный медицинский вестник. 2013. 5: 73–78.
- Догадкина С.Б.* Особенности вегетативной нервной регуляции сердечного ритма у детей 5 лет. Новые исследования. 2008. 1: 17.
- Колбенева М.Г.* Психофизиологические закономерности инициируемой словами актуализации индивидуального опыта разной дифференцированности: дисс. ... к. психол. н. М., 2013.
- Коркушко О.В., Писарук А.В., Лишневская В.Ю.* Возрастные и патологические изменения суточной вариабельности сердечного ритма. Вестник аритмологии. 1999. 14: 30–33.
- Максимова Н.Е., Александров И.О.* Компоненты психологического взаимодействия и возможность их операционализации. Материалы конференции: Человек, субъект, личность в современной психологии. Отв. ред. А.Л. Журавлев, Е.А. Сергиенко. М.: “Институт психологии РАН”, 2013. 3: 161–164.
- Малахов Д.Г., Орлов В.А., Карташов С.И., Скитева Л.И., Ковальчук М.В., Александров Ю.И., Холодный Ю.И.* Оптимизация параметров обработки сигналов в психофизиологических исследованиях на примере КГР и ФПГ. Экспериментальная психология. 2023. 16 (1): 62–86.
- Панкова Н.Б., Любина Б.Г., Щербаков В.П., Тяпин А.Н., Ковалев В.И.* Повышение уровня физической нагрузки школьников как метод профилактики задержки в функциональном развитии регуляторных систем их организма. Физическая культура: воспитание, образование, тренировка. 2008. 2: 6–9.
- Покровский В.М.* Интеграция уровней сердечного ритмогенеза: генератор ритма сердца в мозге. Бюллетень сибирской медицины. 2006. 5 (1): 26–31.
- Проссер Л.* Сравнительная физиология животных. М.: Изд-во “Мир”, 1978, 286–319 по Титов В.Н. Филогенез, становление переноса и поглощения клетками жирных кислот, биологической функции локомоции и действия инсулина. Патогенез синдрома резистентности к инсулину. Клиническая лабораторная диагностика. 2010. 6: 3–17.
- Сварник О.Е., Анохин К.В., Александров Ю.И.* Распределение поведенчески специализированных нейронов и экспрессия транскрипционного фактора c-Fos в коре головного мозга крыс при научении. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2001. 51 (6): 758–761.
- Созинов А.А., Бахчина А.В., Александров Ю.И.* Показатели вариабельности сердечного ритма студентов при достижении поощрения и избегании потери. История, современность и перспективы развития психологии в системе Российской Академии наук: Материалы конференции, 16–18 ноября 2022 г., Москва. Отв. ред. Д.В. Ушаков и др. М.: Изд-во “Институт психологии РАН”, 2022. 814–816.
- Судаков К.В.* Системогенез поведенческого акта. Механизмы деятельности мозга. М.: Госнаучтехиздат, 1979. 88–89.
- Титов В.Н.* Филогенез, становление переноса и поглощения клетками жирных кислот, биологической функции локомоции и действия инсулина. Патогенез синдрома резистентности к инсулину. Клиническая лабораторная диагностика. 2010. 6: 3–17.
- Учаев А.В., Александров Ю.И.* Системный анализ заданного экспериментатором и “свободного” поведения продуцирования лжи. Психологический журнал. 2022. 43 (6): 43–50.
- Учаев А.В., Александров Ю.И.* Обусловленные стрессом особенности актуализации субъективного опыта в процессе сокрытия информации. Российский психологический журнал. 2022. 19 (1): 158–172.
- Черниговский В.Н.* Деятельность висцеральных систем как особая форма поведения. Механизмы деятельности головного мозга. Тбилиси: Наука, 1975. 478–493.
- Чуприкова Н.И.* Психология умственного развития: Принцип дифференциации. М.: Столетие, 1997.
- Швырков В.Б.* Введение в объективную психологию. Нейрональные основы психики. М.: Изд-во “Институт психологии РАН”, 2006.
- Швырков В.Б.* Нейрональные механизмы обучения как формирование функциональной системы поведенческого акта. Механизмы системной деятельности мозга. Горький. 1978. 147–149.
- Шишко В.И.* Вегетативная регуляция сердечной деятельности. Журнал ГрГМУ. 2009. 3 (27): 6–8.
- Abhishekh H.A., Nisarga P., Kisan R., Meghana A., Chandran S., Raju T., Sathyaprabha T.N.* Influence of age and gender on autonomic regulation of heart. Journal of clinical monitoring and computing. 2013. 27: 259–264.
- Acharya U.R., Kannathal N., Sing O.W., Ping L.Y., Chua T.* Heart rate analysis in normal subjects of various age groups. Biomedical engineering online. 2004. 3: 1–8.
- Alexandrov Yu.I.* Chapter 3 Systemic Psychophysiology. For-

- sythe C. (ed.). Russian Cognitive Neuroscience: Historical and Cultural Context. Leiden, The Netherlands: Brill, 2022. 56–86.
- Alexandrov Yu.I. How we fragment the world: the view from inside versus the view from outside. *Social Science Information. Spec. issue: Cognitive technologies*. 2008. 47 (3): 419–457.
- Amano M., Oida E., Moritani T. A comparative scale of autonomic function with age through the tone-entropy analysis on heart period variation. *European journal of applied physiology*. 2006. 98: 276–283.
- Astrand K., Hamalainen H., Alexandrov Yu.I., Jarvilehto T. Response characteristics of the peripheral mechanoreceptive units in man: relation to the sensation magnitude and to the subject' task. *EEG and Clin. Neurophysiol.* 1986. 64: 438–446.
- Augustinsson K.B., Fange R., Johnels A., Ostlund E. Histological, physiological and biochemical studies on the heart of two cyclostomes, hagfish (*Myxine*) and lamprey (*Lampetra*). *J. Physiol.* 1956. 13: 257–276. цит.
- Bakhchina A.V., Arutyunova K.R., Sozinov A.A., Demidovsky A.V., Alexandrov Yu.I. Sample Entropy of the heart rate reflects properties of the system organization of behaviour. *Entropy*. 2018. 20 (449). <https://doi.org/10.3390/e20060449>
- Bar-Haim Y., Marshall P.J., Fox N.A. Developmental changes in heart period and high-frequency heart period variability from 4 months to 4 years of age. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*. 2000. 37 (1): 44–56.
- Benevides T.W., Lane S.J. A review of cardiac autonomic measures: considerations for examination of physiological response in children with autism spectrum disorder. *Journal of autism and developmental disorders*. 2015. 45 (2): 560–575.
- Bobkowski W., Stefaniak M.E., Krauze T., Gendera K., Wykretowicz A., Piskorski J., Guzik P. Measures of heart rate variability in 24-h ECGs depend on age but not gender of healthy children. *Frontiers in Physiology*. 2017. 8: 311.
- Bonner J.T. The evolution of complexity by means of natural selection. Princeton University Press, 1988.
- von Borell E., Langbein J., Després G., Hansen S., Leterrier C., Marchant J. et al. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals – a review. *Physiol Behav*. 2007. 92 (3): 293–316.
- Campos D.I., Pinto V., Sousa N., Pereira V.H. A brain within the heart: A review on the intracardiac nervous system. *J Mol Cell Cardiol*. 2018. 119:1-9.
- Carver C.S. Approach, Avoidance, and the Self-Regulation of Affect and Action. *Motiv Emot*. 2006. 30: 105–110.
- Choi J.B., Hong S., Nelesen R., Bardwell W.A., Natarajan L., Schubert C., Dimsdale J.E. Age and ethnicity differences in short-term heart-rate variability. *Psychosomatic medicine*. 2006. 68 (3): 421–426.
- Duran L.M., Taylor E.W., Sanches P.V., Cruz A.L., Tavares D., Sartori M.R. et al. Heart rate variability in the tegu lizard, *Salvator merianae*, its neuroanatomical basis and role in the assessment of recovery from experimental manipulation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2020. 240: 110607.
- Ernst G. Heart-rate variability – More than heart beats? *Frontiers in public health*. 2017. 5: 240.
- Frondelius L., Järvenranta K., Koponen T., Mononen J. The effects of body posture and temperament on heart rate variability in dairy cows. *Physiol Behav*. 2015. 139: 437–441.
- Gierałtowski J., Ciuchciński K., Grzegorzczak I., Kośna K., Soliński M., Podziemski P. RS slope detection algorithm for extraction of heart rate from noisy, multimodal recordings. *Physiological measurement*. 2015. 36 (8): 1743.
- Gasior J.S., Sacha J., Jeleń P.J., Pawłowski M., Werner B., Dąbrowski M.J. Interaction between heart rate variability and heart rate in pediatric population. *Frontiers in Physiology*. 2015. 6: 385.
- Hartenstein V., Mandal L. The blood/vascular system in a phylogenetic perspective. *Bioessays*. 2006. 28 (12): 1203–1210.
- Hoyer D., Nowack S., Bauer S., Tetschke F., Rudolph A., Wallwitz U. et al. Fetal development of complex autonomic control evaluated from multiscale heart rate patterns. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*. 2013. 304: 383–392, <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00120.2012.0363-6119/13>
- Hoyer D., Schmidt A., Gustafson K.M., Lobmaier S.M., Lakhno I., van Leeuwen P. et al. Heart rate variability categories of fluctuation amplitude and complexity: diagnostic markers of fetal development and its disturbances. *Physiological Measurement*. 2019. 40 (6): 064002.
- Imbrogno S., Filice M., Cerra M.C. Exploring cardiac plasticity in teleost: the role of humoral modulation. *Gen. Comp. Endocrinol*. 2019. 283: 113236.
- Javorka K., Lehotska Z., Kozar M., Uhrikova Z., Kolarovszki B., Javorka M., Zibolen M. Heart Rate Variability in Newborns. *Physiol. Res*. 2017. 66 (2): S203–S214.
- Jensen-Urstad K., Storck N., Bouvier F., Ericson M., Lindbland L.E., Jensen-Urstad M. Heart rate variability in healthy subjects is related to age and gender. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1997. 160 (3): 235–241.
- Kazuma N., Otsuka K., Wakamatsu K., Shirase E., Matsuoka I. Heart rate variability in normotensive healthy children with aging. *Clinical and experimental hypertension*. 2002. 24 (1–2): 83–89.
- Kolbeneva M.G., Aleksandrov Yu.I. Mental reactivation and pleasantness judgment of experience related to vi-

- sion, hearing, skin sensations, taste and olfaction. PLoS ONE. 2016. 11 (7): e0159036.
- Lehotska Z., Javorka K., Javorka M., Zibolen M., Luptakova A.* Heart rate variability in small-for-age newborns during first days of life. *Acta Med.* 2007. 10–16.
- Liao D., Cai J., Brancati F.L., Folsom A., Barnes R.W., Tyroler H.A., Heiss G.* Association of vagal tone with serum insulin, glucose, and diabetes mellitus – The ARIC Study. *Diabetes research and clinical practice.* 1995. 30 (3): 211–221.
- Mangone L., Guerrini R., Emdin M.* Pediatric age and the ontogeny of the brain and heart connection. *Brain and Heart Dynamics.* 2020. 923–935.
- Massin M., Von Bernuth G.* Normal ranges of heart rate variability during infancy and childhood. *Pediatric cardiology.* 1997. 18 (4): 297–302.
- Pikkujämsä S.M., Mäkikallio T.H., Sourander L.B., Rähkä I.J., Puukka P., Skyttä J. et al.* Cardiac interbeat interval dynamics from childhood to senescence: comparison of conventional and new measures based on fractals and chaos theory. *Circulation.* 1999. 100 (4): 393–399.
- Porges S.W.* The polyvagal perspective. *Biological Psychology.* 2007. 74: 116–143.
- Porges S.W., Kolacz J.* Neurocardiology through the lens of the polyvagal theory. In *Gelpe R.J., Buchholz B.* Neurocardiology: Pathophysiological aspects and clinical implications. Elsevier, Spain, 2018.
- Reardon M., Malik M.* Changes in heart rate variability with age. *Pacing and clinical electrophysiology.* 1996. 19 (11): 1863–1866.
- Rispoli L., Vacca R., Pedrelli E., Porges S.W.* Polyvagal theory and its possible impact on clinical practice: The Neo-Functionalism perspective. *Activitas nervosa superior rediviva.* 2018. 60 (2): 67–77.
- Salomon K., Matthews K.A., Allen M. T.* Patterns of sympathetic and parasympathetic reactivity in a sample of children and adolescents. *Psychophysiology.* 2000. 37 (6): 842–849.
- Sanches P.V.W., Taylor E.W., Duran L.M., Cruz A.L., Dias D.P., Leite C.A.* Respiratory sinus arrhythmia is a major component of heart rate variability in undisturbed, remotely monitored rattlesnakes, *Crotalus durissus.* *Journal of Experimental Biology.* 2019. 222 (9): 1–9.
- Seals D.R., Esler M.D.* Human ageing and the sympathoadrenal system. *The Journal of physiology.* 2000. 528 (3): 407–417.
- Smith R., Thayer J.F., Khalsa S.S., Lane R.D.* The hierarchical basis of neurovisceral integration. *Neurosci Biobehav Rev.* 2017. 75: 274–296.
- Srinivasan K., Sucharita S., Vaz M.* Effect of standing on short term heart rate variability across age. *Clinical physiology and functional imaging.* 2002. 22 (6): 404–408.
- Taylor E.W., Leite C.A., Sartori M.R., Wang T., Abe A.S., Crossley D.A.* The phylogeny and ontogeny of autonomic control of the heart and cardiorespiratory interactions in vertebrates. *Journal of Experimental Biology.* 2014. 217 (5): 690–703.
- Thayer J.F., Ahs F., Fredrikson M., Sollers J.J., Wager T.D.* A meta-analysis of heart rate variability and neuroimaging studies: implications for heart rate variability as a marker of stress and health. *Neurosci Biobehav Rev.* 2012. 36(2):747–756.
- Wallwitz U., Schneider U., Nowack S., Feucker J., Bauer S., Rudolph A., Hoyer D.* Development of integrative autonomic nervous system function: an investigation based on time correlation in fetal heart rate patterns. *Journal of perinatal medicine.* 2012. 40 (6): 659–667.
- Winkelmann T., Thayer J.F., Pohlack S., Nees F., Grimm O., Flor H.* Structural brain correlates of heart rate variability in a healthy young adult population. *Brain Struct. Funct.* 2017. 222: 1061–1068.
- Yeh R.G., Shieh J.S., Chen G.Y., Kuo C.D.* Detrended fluctuation analysis of short-term heart rate variability in late pregnant women. *Autonomic Neuroscience.* 2009. 150 (1–2): 122–126.
- Yeragani V.K., Sobolewski E., Kay J., Jampala V.C., Igel G.* Effect of age on long-term heart rate variability. *Cardiovasc. Res.* 1997. 35 (1): 35–42.
- Yum M.K., Kim N.S.* Change of complex and periodic heart rate dynamics with change of pulmonary artery pressure in infants with left-to-right shunt lesion. *Int. J. Cardiol.* 1997. 60 (2): 143–150.
- Zhang J.* Effect of age and sex on heart rate variability in healthy subjects. *Journal of manipulative and physiological therapeutics.* 2007. 30 (5): 374–379.
- Zupan M., Buskas J., Altimiras J., Keeling L.J.* Assessing positive emotional states in dogs using heart rate and heart rate variability. *Physiol. Behav.* 2016. 155: 102–111.

**NEUROVISCERAL INTERACTIONS IN INDIVIDUAL AND PHYLOGENETIC DEVELOPMENT****A. V. Bakhchina<sup>a, b, #</sup>, I. S. Sozinova<sup>a</sup>, Yu. I. Alexandrov<sup>a</sup>***<sup>a</sup>Shvyrkov's Lab, Neural Bases of Mind, Institute of Psychology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia**<sup>b</sup>Department of Psychophysiology, National Research University Nizhny Novgorod State University Named after N.I. Lobachevsky, Nizhny Novgorod, Russia**<sup>#</sup>e-mail: nastya18-90@mail.ru*

The article provides a review of experimental studies exploring the nature of neurovisceral interactions through the analysis of heart rate variability at different stages of individual development and within different species. Analysis of heart rate variability is one of the most common and accessible experimental methods to observe aspects of neurovisceral (for example, neurocardiac) interactions. Nonstationary, nonlinear components in the dynamics of inter-beat intervals (periods between adjacent heart beats) reflect the processes of coordination of heart activity with changes in the organization of neural activity, ensuring the current relationship of the individual with the environment. Mathematically, these aspects of heart rate dynamics are expressed in estimates of the complexity, irregularity, entropy, and unpredictability of the time sequence of inter-beat intervals. The dynamics of neurocardiac interactions described in this way are not the same in different species and become more complex in phylogeny. Similarly, in individual development, the dynamics of the heart rate becomes more complex and reflects, among other things, the degree of maturation of certain nervous structures at different stages of ontogenesis. We examined the features of the dynamics of neurovisceral interactions in individual and phylogenetic development within the framework of the system-evolution theory and interpreted them in connection with changes in the structure of individual experience – the characteristics of a set of functional systems actualized in behavior (increasing differentiation of the relationship between the individual and the environment).

*Keywords:* neurovisceral interactions, heart rate variability, entropy, ontogeny, phylogeny, system-evolution theory

УДК 612.821.2 + 159.91

## ПОИСК НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ КОНФИГУРАЦИОННОГО ОБУЧЕНИЯ

© 2024 г. Б. В. Чернышев<sup>1, 2, 3, \*</sup>, В. Л. Ушаков<sup>2, 4, 5</sup>, Л. А. Позняк<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Кафедра высшей нервной деятельности, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт перспективных исследований мозга, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>3</sup>Центр нейрокогнитивных исследований (МЭГ-центр), Московский государственный психолого-педагогический университет, Москва, Россия

<sup>4</sup>НИЯУ МИФИ, Москва, Россия

<sup>5</sup>ГБУЗ “Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева Департамента здравоохранения города Москвы”, Москва, Россия

\*e-mail: b\_chernysh@mail.ru

Поступила в редакцию 09.10.2023 г.

После доработки 29.11.2023 г.

Принята к публикации 01.12.2023 г.

Конфигурационным обучением называют такую форму ассоциативного обучения, при которой условным стимулом выступает целостный комплекс стимульных элементов, а не отдельные стимулы или их изолированные свойства. Для успешного решения задачи такого ассоциативного обучения требуется холистический анализ всей конфигурации в целом. Возможность анализировать не только отдельные физические аспекты стимула или отдельные объекты зрительной сцены, но и их целостные комбинации дает существенные эволюционные преимущества, поскольку часто конфигурации обладают существенно большей предсказательной силой в сравнении с отдельными элементами или признаками стимула. Более того, возможность холистического анализа комбинаций элементов или признаков стимульного поля может считаться начальным, примитивным проявлением сознания. В настоящем обзоре мы рассмотрим историю разработки концепции конфигурационного обучения, основные методические пути исследования и имеющиеся на настоящий момент нейрофизиологические данные о предполагаемых нейрональных основах этого феномена. Наиболее интересными нам представляются исследования процессов конфигурационного обучения у человека с помощью современных методов нейровизуализации, поскольку они дают возможность заглянуть в работу целостного мозга. В заключение мы рассмотрим, какие проблемы в имеющихся исследованиях должны быть преодолены в будущем, чтобы обеспечить более полное понимание нейрофизиологии феномена конфигурационного обучения.

*Ключевые слова:* ассоциативное обучение, конфигурационное обучение, гештальт, функциональная магнитно-резонансная томография, электрофизиология, электроэнцефалография, магнитоэнцефалография

DOI: 10.31857/S0044467724020028

### ВВЕДЕНИЕ

Благодаря сенсорным процессам живые организмы получают информацию, на основе которой они строят и корректируют внутренние модели окружающей среды. Такие модели позволяют осуществлять адекватное поведение и тем самым обеспечивают выживание (Friston, 2010). В ходе эволюции под влиянием естественного отбора многие группы животных продвигались в направлении усложнения нервной системы, что давало им возможность производить более сложную обработку информации, поступающей от сенсорных систем, и, соответственно, создавать более сложные модели окружающей среды,

обладающие большей предсказательной силой; а это, в свою очередь, давало большие преимущества в ходе естественного отбора. Нервная система также обладает еще одним важнейшим свойством – нейропластичностью, являющейся физиологической основой обучения и памяти. Благодаря этому свойству приобретенная модель может быть сохранена и использована в будущем, что позволяет реализовывать адекватное поведение организма при последующих встречах с подобными стимулами и их сочетаниями. Условный рефлекс – базовое понятие физиологии высшей нервной деятельности – можно считать фундаментальным проявлением памяти о значении стимулов, делающей стимул “сигна-

лом” для опережающего запуска поведенческой реакции.

Возможность вырабатывать условную реакцию на относительно простые стимулы, возникшая очень рано в эволюции, конечно же сохранялась и при усложнении нервной системы. Однако усложнение нервной системы в ходе эволюции открывало новые возможности. Очевидно, что, например, на уровне высших позвоночных трудно представить себе поиск пищи, защиту от врагов и прочие важные поведенческие функции без возможности воспринимать целостные объекты и сложные контексты, идентификация которых требует анализа сочетания множества признаков.

Изначально в теории условного рефлекса рассматривались простые стимулы, поскольку стояла аналитическая задача исследовать сам феномен приобретения условной реакции. Тем не менее исследователи начали обращаться к вопросу о выработке рефлекса на комплексные стимулы еще на заре разработки условнорефлекторной теории (Zeliony, 1910; Палладин, 1906; Перельцвейг, 1907). Сам И.П. Павлов описывал возможность выработки условного рефлекса как проявление синтетической деятельности мозга (Павлов, 1949).

В конце 30-х гг. XX в. Г. Разран выполнил систематический анализ имевшихся на тот момент данных о выработке условного рефлекса на комплексные стимулы, которую он назвал конфигурационным обучением (*configural conditioning*); работа основывалась на обзоре большого количества экспериментальных данных, полученных в том числе в работах И.П. Павлова, Н.И. Красногорского, А.Г. Иванова-Смоленского, И.С. Бериташвили, В.М. Бехтерева и других российских авторов (Razran, 1939).

Г. Разран интерпретировал конфигурационное обусловливание как гештальтный процесс (Razran, 1939). Более того, развивая идеи И.П. Павлова о синтетической деятельности мозга, Г. Разран постулировал, что возможность конфигурационного обучения является признаком наличия у животного порогового сознания (*liminal consciousness*) (Razran, 1971). Относительно недавно в литературе снова была высказана гипотеза, что возможность выработки условного рефлекса на комплексный стимул является самым ранним проявлением сознания и фактором его дальнейшей эволюции (Bronfman et al., 2016; Feinberg, Mallatt, 2016; Ginsburg, Jablonka,

2019). В частности, С. Гинсбург и Е. Яблонка провели систематический анализ конвенциональных черт сознания, на основе которого предложили использовать ассоциативное обучение новым сложным стимулам в качестве позитивного маркера, свидетельствующего о наличии у животных минимального уровня сознания (Bronfman et al., 2016; Ginsburg, Jablonka, 2019).

#### *Что такое конфигурационное обучение и как его исследовать*

Интегративная обработка информации присуща многим аспектам работы мозга. В дальнейшем рассмотрении мы не будем останавливаться на сенсорных процессах распознавания образов, таких как, например, выделение лиц при зрительном восприятии изображений. Эти процессы также называют конфигурационными, поскольку происходящая при этом холистическая обработка воспринимаемого изображения (склеивание отдельных элементов в гештальт) ориентирована на анализ конфигурации элементов (см., например, обзор (Piepers, Robbins, 2012)). Однако в подобных случаях мы имеем дело со специализированными сенсорными сетями и даже с целыми областями мозга, которые на врожденной и/или приобретенной основе выполняют поиск и обработку статистически вероятных и часто встречающихся конфигураций из элементов сенсорного поля. Именно так обстоят дела в случае зрительной области распознавания лиц (Kanwisher et al., 1997) или зрительной области распознавания формы слов (*visual word form area*) (Cohen et al., 2000) — при том, что первая функция имеет врожденную основу, а вторая, вероятно, приобретается в ходе индивидуального опыта. Эти процессы чрезвычайно сложны и имеют огромное значение, однако они обычно высоко автоматизированы и осуществляются лишь как неотъемлемая часть сенсорных процессов (хотя показана возможность существования исключений из этого правила (Kozunov et al., 2020)).

В настоящем обзоре мы будем рассматривать такие конфигурационные феномены, в отношении которых конфигурация не является априорно высоковероятной, а субъект обучается ориентироваться на конфигурации элементов в процессе эксперимента, при выполнении некоторой конкретной задачи.

Очевидно, что такие стимульные ситуации, когда нужно запомнить определенную конфигурацию и реагировать на нее неким определенным



образом, часто встречаются в жизни. Например, будучи пешеходом, вы научаетесь реагировать на сигналы светофора в виде зеленого и красного человечков, но игнорируете зеленые и красные сигналы в виде кругов или стрелок. Обучаясь управлять автомобилем, вы, наоборот, научаетесь реагировать на зеленый и красный цвет в сочетании с круглой формой сигнала, а также с формой в виде стрелки. Во всех этих случаях сигнальное значение для вас будет иметь только конъюнкция формы и цвета, но не цвет или форма в отдельности.

Обстановочный (контекстный) условный рефлекс также часто является формой конфигурационного обучения, и ему посвящено большое количество литературы (например, см. (Kubie et al., 2020; Maren et al., 2013; Rudy, 2009; Urcelay, Miller, 2014)). Особенность такого обучения в естественных условиях состоит в том, что обстановка (контекст) обычно является сложной комбинацией из множества элементов и действительно может рассматриваться как форма конфигурационного обучения. Многие исследования конфигурационного обучения методически основаны именно на обстановочной парадигме (см. ниже). Однако нужно учитывать, что в экспериментальной практике исследований обстановочного обучения – ради упрощения поведенческого и нейрофизиологического анализа – часто варьируют лишь одно свойство контекста, что потенциально позволяет животному или человеку выполнять задачу, не задействуя механизмы конфигурационного обучения. Мы будем далее рассматривать обстановочное обучение лишь постольку, поскольку для выполнения экспериментальной задачи требуется анализ конфигурации.

В настоящем обзоре мы будем преимущественно рассматривать работы, в которых анализировали именно комплексные стимулы, составленные из относительно небольшого контролируемого числа элементов, причем в экспериментальной процедуре значимыми (“сигнальными”) назначаются лишь определенные конъюнкции элементов и/или определенное относительное расположение их в пространстве.

В экспериментах на животных, в том числе в основополагающих работах Дж. Руди (см. ниже), широко применяется задача негативного паттернинга (*negative patterning task*) – простейшая задача на конфигурационное обучение, в которой каждый из стимулов, предъявленный в отдель-

ности, подкрепляется, а совместное предъявление тех же стимулов не подкрепляется (A+, B+, AB-). Если элементное обучение произойдет на каждый из стимулов в отдельности, то реакция на одновременное предъявление обоих стимулов, скорее всего, будет сильнее, чем на каждый из них, но никак не меньше, чем на каждый в отдельности, поскольку эффекты двух выработанных рефлексов с одинаковой условной реакцией могут лишь суммироваться. А для того, чтобы подавить реакцию на комплекс из двух стимулов, требуется именно конфигурационная обработка информации, позволяющая воспринимать комплекс как самостоятельный стимул, а не просто сумму двух других стимулов. В этот же класс задач входят задача позитивного паттернинга (*positive patterning task*), задача транзитивного паттернинга (*transverse patterning task*) и др. родственные задачи, построенные на взаимозависимостях нескольких стимулов, предъявляемых по отдельности и одновременно (описание и сравнение задач данного класса см. в обзоре (Rudy, Sutherland, 1995)).

Одной из востребованных методик изучения конфигурационного обучения в экспериментах на животных является выработка условного рефлекса замирания на комплексный условный стимул, состоящий из нескольких одновременно предъявляемых стимулов разной сенсорной модальности (обычно слуховой и зрительной), на крысах (Debiec et al., 2013; Jones et al., 2013) и на мышах (Yadav et al., 2013; Ивашкина et al., 2020).

Распространены исследования на людях, основанные на предъявлении изображений комнат, в которых в разной комбинации и в разном относительном пространственном расположении размещены элементы обстановки (столы, стулья, диваны, шкафы, торшеры, телевизоры, и т.п.) (Baeuchl et al., 2015; Stout et al., 2019; Stout et al., 2018). Варьируя относительное расположение элементов или исключая один элемент из сцены, можно создавать условия для конфигурационной обработки зрительной информации. Также близкой к конфигурационному обучению можно считать ситуацию обобщения контекста до одного емкого понятия, например географического местоположения (легко опознаваемого по какой-либо широко известной достопримечательности на фотографии): в этом эксперименте от участника эксперимента требовалось вырабатывать ассоциации между фотографиями известных персон и известных мест (например, (Ison et al., 2015), см. ниже). Кроме того, в экс-

периментах на людях использовали изображения, составленные из абстрактных графических элементов, совмещаемых на рисунке различным образом (Duncan et al., 2018), что позволяет адресоваться собственно к конфигурационному обучению в чистом виде, без каких-либо обстановочных компонент. Далее мы рассмотрим более подробно, как соотносятся элементное и конфигурационное обучение.

*В чем разница между элементным и конфигурационным обучением*

Представьте себе, что из окружающей среды непрерывно поступает множество разных стимулов (причем иногда они следуют по отдельности, а иногда накладываются друг на друга во времени), а ваша задача состоит в том, чтобы научиться предсказывать связанные с ними последствия. В общем случае ваш мозг может попытаться ориентироваться как на стимулы по отдельности, так и на их сочетания, поскольку вы заранее не знаете, что из этого является правильным. Иными словами, при выработке условного рефлекса в сложной среде, например при выработке обстановочного (контекстного) рефлекса, могут происходить два процесса: элементное и конфигурационное обучение (Rudy, 2009; Rudy et al., 2004). Кодирование на элементном уровне подразумевает, что в ассоциативном обучении участвует лишь одна репрезентация одного элемента или отдельное свойство сенсорного стимула (Rudy et al., 2004; Urcelay and Miller, 2014). Например, это может быть высота звукового тона или цвет фигуры — безотносительно прочих характеристик этих стимулов. В отличие от элементного, конфигурационное обучение основано на формировании репрезентации всего комплекса стимулов и их свойств в целом, с учетом их взаимного расположения в пространстве и прочих взаимосвязей (Rudy, 2009). Взаимоотношение между элементными и конфигурационными процессами во многом определяет, по какому пути пойдет процесс обучения (Maren et al., 2013).

В целом элементное обучение может быть более эффективным в том случае, если стимульные компоненты не взаимосвязаны друг с другом, а конфигурационное обучение — если в среде имеются такие взаимозависимости, при которых исход от предъявления одного стимула будет разным, в зависимости от наличия и расположения других стимулов. В целом для человека более характерно ориентироваться на конфигурации стимулов, чем на отдельные элементы (Kimchi, 1994). Вероятно,

это связано с тем, что во многих случаях сочетания стимулов обладают большей предсказательной силой, чем отдельные элементы. Однако то, по какому именно пути пойдет обучение в каждом конкретном случае, зависит от многих факторов, в том числе, например, от предыстории: если крыса обучалась ранее в задаче, требующей конфигурационной обработки информации, то в дальнейшем у крысы произойдет перенос принципа конфигурационной обработки на новую задачу, которая на самом деле подразумевает лишь элементную обработку (Alvarado, Rudy, 1992).

Важно, что обучение на конфигурационном уровне приводит к другим результатам, чем обучение на элементном уровне, и условный рефлекс на сумму стимулов не эквивалентен сумме рефлексов на отдельные стимулы (Pearce, 1987; Rudy, Sutherland, 1995). Условный рефлекс на комплексный конфигурационный стимул сложнее угасить (Jones et al., 2013), при этом важно, что угашение рефлекса на изолированный компонент комплекса может вести к угашению реакции на весь комплекс; кроме того, может наблюдаться генерализация между компонентами комплекса (Goldfarb et al., 2021). Особый интерес представляет тот факт, что при предъявлении одного элемента комплекса может происходить не только угашение, но и реконсолидация всего комплекса (Debiec et al., 2013). Различия проявляются не только в поведении, но и на уровне паттернов мозговой активности (Duncan et al., 2018).

Нарушение формирования реакций на комплексные стимулы может лежать в основе ряда патологических состояний у человека, из которых чаще всего в литературе упоминают посттравматическое стрессовое расстройство. Причины этого расстройства могут быть отчасти связаны с нарушением баланса между двумя формами обучения, с преобладанием элементного обучения (Acheson et al., 2012; Bisby et al., 2020; Gilbertson et al., 2007). Предположительно, при этом расстройстве отдельные элементы травмирующего опыта начинают вызывать реакцию страха безотносительно контекста, в результате чего происходит генерализация реакции страха на совершенно нерелевантные контексты (Goldfarb et al., 2021). При конфигурационном обучении возникновение реакции страха на отдельный элемент менее вероятно, поскольку полноценная реакция развивается лишь при условии совпадения всей конфигурации как конъюнкции ее элементов (Acheson et al., 2012; Maren et al., 2013).

*Гиппокамп критически необходим для  
конфигурационного обучения*

Дж. Руди и Р. Сазерленд выдвинули конфигурационную ассоциативную теорию, согласно которой гиппокамп вовлечен в формирование конфигурационных репрезентаций комплексных стимулов (Rudy, Sutherland, 1995; Sutherland, Rudy, 1989). Так, например, в одном из ранних исследований было показано, что у крыс с разрушенным гиппокампом нарушено выполнение задачи негативного паттернинга (negative patterning task), которая критически зависит от способности запоминать конфигурации. При этом возможность выработки ассоциации как таковая не нарушалась: несмотря на разрушение гиппокампа, крысы успешно справлялись с простой условнорефлекторной дифференцировкой, не требующей конфигурационной обработки (Alvarado, Rudy, 1995).

В дальнейшем многочисленные фармакологические и оптогенетические исследования подтвердили, что при нарушении работы гиппокампа ухудшается как само конфигурационное обучение, так и соответствующее ему извлечение из памяти (Albasser et al., 2013; Anagnostaras et al., 2001; Chang, Liang, 2017; Corcoran, Maren, 2001; Dumont et al., 2007; Kheirbek et al., 2013; Sanderson et al., 2006). С помощью иммуногистохимического картирования белка — продукта немедленного раннего гена *c-fos* в гиппокампе удалось выявить, что область CA1 гиппокампа активируется при извлечении ассоциативной памяти о комплексном условном сигнале, но не о его компонентах (Ивашкина et al., 2020). Имеются также сообщения о нарушении конфигурационного обучения при поражении гиппокампа у человека (Hannula et al., 2006; Watson et al., 2013).

Конфигурационная ассоциативная теория основывается на представлении, что гиппокамп реализует функцию памяти путем интеграции информации о множестве источников информации в уникальную целостную конфигурацию; к настоящему времени на основе большого объема соответствующей литературы можно считать общепризнанным, что конфигурационное обучение критически зависит от гиппокампа (Aggleton et al., 2007; Vaeuchl et al., 2015; Eichenbaum, 1999; Eichenbaum, 2004; Fanselow, 2000; Stout et al., 2019; Stout et al., 2018; Sutherland, Rudy, 1989). Иными словами, гиппокамп обеспечивает мультимодальное связывание, в том числе на основе относительного расположения стимульных элементов (Eichenbaum, Cohen, 2014; Monti et al., 2015).

Предполагается, что при выработке условного рефлекса с отрицательным подкреплением репрезентация такого конфигурационного условного сигнала поступает из гиппокампа в другие структуры, например в миндалину, где, собственно, и происходит ассоциация данной конфигурации с электрокожным подкреплением (Fanselow, Poulos, 2005; Rudy, 2009). Также гиппокамп имеет не прямой выход на прелимбическую кору у грызунов (гомолог дорсальной передней поясной коры человека), которая далее проецируется как на миндалину, так и на другие структуры, вовлеченные в реализацию реакции страха при оборонительном условном рефлексе (Knapska et al., 2012; Maren et al., 2013).

Элементные ассоциации, в отличие от конфигурационных, не зависят от гиппокампа (Gluck, Myers, 1993; Sutherland, Rudy, 1989). Замыкание условного рефлекса между сенсорными репрезентациями и электрокожным подкреплением не требует участия гиппокампа и происходит сразу на уровне миндалины; соответственно, в литературе этот процесс характеризуют как зависимый от миндалины (Davis, Whalen, 2001; LeDoux, 2000; Urcelay, Miller, 2014).

Если функция гиппокампа нарушена, то тогда сложная, в том числе контекстная информация может быть представлена в мозге практически только лишь на уровне элементного обучения (Maren et al., 1997; Maren et al., 2013). В частности, при выработке условного рефлекса с отрицательным подкреплением условный стимул будет вызывать реакцию страха независимо от контекста, в котором он предъявляется, что может являться одним из механизмов развития посттравматического стрессового расстройства (Acheson et al., 2012; Bisby et al., 2020; Gilbertson et al., 2007).

*Теория перекрывающихся энграмм памяти*

Для понимания роли гиппокампа в конфигурационном обучении большое значение имеет уникальная серия исследований, проведенных Р. Кирогой и соавт. в экспериментах с регистрацией активности одиночных нейронов у человека (Quiroga, 2012). Для этих экспериментов использовались электроды, установленные по медицинским показаниям пациентам с эпилепсией. Р. Кирогоа с соавт. выявил нейроны, располагающиеся в медиальной височной доле (включающей гиппокамп, энторинальную кору, парагиппокампальную кору, периринальную кору и миндалину), которые были чрезвычайно

селективны к определенным персонам или достопримечательностям, таким как Дженнифер Энистон, Люк Скайуокер, Сиднейская опера или Пизанская башня. Р. Кироба назвал такие нейроны “концептуальными клетками” (concept cells). По мнению авторов, такие клетки специфически отвечают на сочетания признаков и таким образом кодируют абстрактную концепцию, характеризующуюся этими признаками. Например, в одном из первых экспериментов такого рода был обнаружен нейрон в гиппокампе, который отвечал на фото актрисы Дженнифер Энистон, но не давал ответа ни на одну из других картинок известных персон, животных и мест. Однако в одной из последующих экспериментальных сессий выяснилось, что тот же нейрон отвечал еще и на фото Лизы Кудроу, игравшей в популярном телешоу совместно с Дженнифер Энистон. Впоследствии авторы изучили этот вопрос более детально и пришли к выводу, что в тех случаях, когда нейроны медиальной височной доли отвечали не на одну, а на несколько концепций, то эти концепции оказывались так или иначе ассоциированными друг с другом (Rey et al., 2018). Таким образом, хотя нейроны медиальной височной коры, включая гиппокамп, способны кодировать абстрактные концепции на основе сочетания признаков, они не являются “нейронами бабушки” (Gross, 2002) – т.е. кодируют именно сложные сочетания признаков, а не конкретные уникальные объекты.

Важный следующий шаг состоял том, что удалось проследить формирование таких “концептуальных клеток” при ассоциативном обучении (Ison et al., 2015). У участников экспериментов вырабатывали ассоциации между фото конкретного человека и конкретного места. Нейроны, чувствительные лишь к одному из компонентов ассоциации, после обучения начинали реагировать на оба компонента – но при этом результат обучения был высоко специфичным, т.е. эти нейроны не начинали отвечать на какие-либо другие зрительные стимулы (т.е. на аналогичные фото других людей и других мест), предъявлявшиеся в ходе эксперимента, но не подвергавшиеся ассоциации. Эффект развивался достаточно быстро, для этого требовалось лишь небольшое количество сочетаний. Результаты подобных экспериментов и вычислительного моделирования привели к разработке “теории перекрывающихся энграмм памяти” (theory of overlapping memory engrams) (Gastaldi et al., 2022). Согласно этой теории, “концептуальные нейроны”, реагирующие на две разные концепции (и, соответственно,

одновременно принадлежащие двум разным ансамблям нейронов, репрезентирующим каждую концепцию в отдельности), и есть основа ассоциации между двумя изначально изолированными концепциям. При помощи моделирования с использованием аттракторных нейронных сетей авторы убедительно показали, как благодаря такому перекрытию между ансамблями нейронов предъявление одной концепции (человека, места, и т.п.) может приводить к активации другой концепции – при условии, что эти концепции были подвергнуты ассоциации некогда в прошлом.

В дополнение к “концептуальным клеткам”, каждая из которых инвариантным образом кодирует определенную концепцию, позднее был выявлен еще один тип нейронов, имеющих прямое отношение к конфигурационному обучению. Эти нейроны, также обнаруженные при регистрации в гиппокампе человека (но не в парагиппокампальной коре), были названы эпизод-специфичными (episode-specific neurons). Как при кодировании, так и при воспроизведении эпизодической памяти такие клетки реагировали исключительно только на конъюнкцию всех элементов, составлявших конфигурацию конкретного эпизода, но не отвечали на предъявление отдельных элементов, входивших в состав данного эпизода (Kolobus et al., 2023).

При сопоставлении работ с регистрацией одиночных нейронов в медиальной височной доле человека, описанных в настоящем разделе, с другими исследованиями конфигурационного обучения важно учитывать, что в этих экспериментах при выработке ассоциации между относительно нейтральными стимулами не использовалось никакого подкрепления. Вероятно, это во многом более корректный подход, так как он позволяет исследовать конфигурационное обучение в чистом виде, без сопутствующих ему вегетативных и поведенческих компонентов условного рефлекса с биологически значимым безусловным стимулом.

#### *Системная консолидация: гиппокамп vs новая кора больших полушарий*

Приведенные выше работы дают убедительную картину участия гиппокампа в конфигурационном обучении. Потенциально такого механизма могло бы быть достаточно для замыкания условного рефлекса. Однако в отношении животных с развитой корой больших

полушарий и сложным поведением, и тем более человека, трудно представить себе, чтобы в новой коре в процессе обучения не происходили бы некие кортикальные ассоциативные процессы в дополнение к гиппокампальной пластичности.

Согласно классической точке зрения на системную консолидацию<sup>1</sup>, формирование конфигурационной ассоциации происходит вначале в гиппокампе, а лишь значительно позже неким неясным образом транслируется в кору (Squire, Alvarez, 1995; Squire et al., 2015). Влиятельная современная формулировка идеи системной консолидации известна как “теория множественных следов” (multiple trace theory), выдвинутая М. Московицем и соавт. (Moscovitch, Gilboa, 2022; Nadel, Moscovitch, 1997). В рамках этой теории по-прежнему признается, что гиппокамп необходим для конфигурационного обучения, однако внесено важное уточнение: если ранее считалось, что в процессе системной консолидации происходит полный перенос памяти из гиппокампа в кору, после чего гиппокамп становится ненужным для извлечения памяти (Squire, Alvarez, 1995; Squire et al., 2015), то в рамках данного подхода утверждается, что необходимость участия гиппокампа в эпизодической памяти сохраняется и далее на неограниченное время. Так или иначе, но в рамках данных теорий постулируется, что на ранних этапах обучение обеспечивается исключительно гиппокампом, но не неокортексом. Процесс системной консолидации достаточно медленный и может растягиваться на срок в несколько дней или даже недель, проходя за это время несколько разных фаз (Fiebig and Lansner, 2014).

Итак, изложенная схема предполагает, что в процессе конфигурационного обучения гиппокамп играет критически важную роль, а новая кора больших полушарий, вероятно, присоединяется к воспроизведению памяти лишь значительно позже. Однако недавно было показано, что пластические перестройки в новой коре (а именно в медиальной префронтальной коре) могут происходить и с самого начала выработки ассоциации, хотя вначале они пребывают в латентном состоянии, а полностью формируются и проявляются лишь после прохождения процесса системной консолидации (Tonogawa et al., 2018).

Так происходят ли какие-то существенные процессы нейропластичности в новой коре больших полушарий непосредственно при выработке ассоциации? Очевидно, что этот вопрос до сих пор остается мало исследованным, так как изложенные выше представления о системной консолидации вступают в противоречие с рядом других работ. Известно, что кортикальная пластичность может развиваться практически немедленно, т.е. на самом деле не требует системной консолидации длительностью, например в сутки или более. Более того, кортикальная пластичность происходит даже в тех случаях, когда она может показаться ненужной в рамках используемой методической парадигмы. Например, известно, что у грызунов замыкание классического условного рефлекса страха (оцениваемого по частоте сердечных сокращений, особенно в условиях стереотаксической фиксации животного, а не свободного поведения) на простые одиночные звуковые тоны с электроболевым подкреплением происходит на подкорковом уровне: репрезентация звука поступает в миндалину из медиального колленчатого тела таламуса, а далее через миндалину реализуются соответствующие условные вегетативные реакции (LeDoux, 2000). Однако нейроны слуховой коры претерпевают при этом выраженные пластические перестройки, которые можно наблюдать сразу же после выработки ассоциации (см., например, Weinberger, 2004).

Кроме того, если рассматривать не только простейшие неосознаваемые вегетативные показатели формирования ассоциации, но и более сложные проявления, в том числе декларативную память (ведь во многих экспериментах участники экспериментов осуществляют эксплицитные поведенческие ответы вроде нажатий на кнопки), то станет понятно, что гиппокамп, вероятно, не имеет должной организации и выходов на исполнительные структуры для выполнения функций, присущих у млекопитающих практически только новой коре, что входит в противоречие с данными о вовлечении одного лишь гиппокампа. Например, в ряде фМРТ-исследований выработки ассоциаций между новыми незнакомыми псевдословами и присваиваемыми им значениями (Davis, Gaskell, 2009; Gaskell, Dumay, 2003; Rodríguez-Fornells et al., 2009) было показано, что непосредственно после обучения эффект ассоциации является исключительно только в гиппокампе,

<sup>1</sup> Необходимо четко различать системную консолидацию, происходящую на системном уровне в целостном мозге во временном масштабе дней и недель, и синаптическую консолидацию, реализующуюся на уровне отдельного нейрона и требующую значительно меньше времени в масштабе часов, а не дней. Эти понятия произошли от общего психологического представления о процессах закрепления памяти, но они имеют совершенно разные нейрофизиологические механизмы.

а в новой коре никаких проявлений ассоциации не обнаруживалось. Соответствующие эффекты в новой коре больших полушарий можно было выявить лишь на следующий день, т.е. после ночного сна, который, как предполагают авторы, требуется для процессов системной консолидации (см. подробнее в обзоре (Разоренова и др., 2020)). Такие результаты хорошо соответствуют классическим представлениям о системной консолидации. Однако важно понимать, что участники этих экспериментов прекрасно обучались совершать эксплицитные осознаваемые поведенческие ответы уже в первый день. Возникает вопрос, как могла приобретенная ассоциация реализовываться в сложном произвольном и осознаваемом поведении человека без вовлечения новой коры больших полушарий? Предположительно, это не вопрос полного неучастия новой коры сразу после выработки ассоциации, а лишь вопрос недостаточной чувствительности методов регистрации, не позволивших выявить эффекты в новой коре больших полушарий. Действительно, при использовании метода магнитоэнцефалографии удалось выявить кортикальные эффекты ассоциативной пластичности непосредственно сразу после выработки ассоциации между псевдословами и присваиваемыми им значениями (Razorenova et al., 2020). Подобные эксперименты с обучением смыслу слов основаны на слухоречевом анализе звуковых стимулов в мозге, и очевидно, что при этом в мозге выполняется анализ конфигураций фонематического состава, т.е., по сути, происходят процессы, близкие к конфигурационному обучению.

Человек способен чрезвычайно быстро учиться ассоциировать конфигурационный стимул с отрицательным подкреплением, причем обучение проявляется одновременно и по вегетативным показателям (например, по кожно-гальванической реакции), и по эксплицитному поведению – нажатиям на кнопки (Stout et al., 2019; Stout et al., 2018). Очевидно, что эксплицитный осознаваемый ответ, совершаемый человеком, не может не вовлекать соответствующие области коры больших полушарий сразу же, т.е. еще до наступления системной консолидации. Действительно, в ряде работ, направленных на изучение конфигурационного обучения у человека с помощью современных методов визуализации, наблюдали достоверные проявления выработанной ассоциации не только в гиппокампе, но и в новой коре больших полушарий, причем сразу же после обучения; эти работы будут рассмотрены ниже в последующих разделах.

Вовлечение новой коры непосредственно во время или сразу после обучения (т.е. до прохождения системной консолидации) косвенно подтверждается также тем, что в процессе ассоциативного обучения можно наблюдать сложное двунаправленное осцилляторное взаимодействие между гиппокампом и кортикальными областями, например с префронтальной корой, на тета-, альфа- и бета-частотах (Brincat, Miller, 2015).

В каких областях коры можно ожидать проявления ассоциативных эффектов при конфигурационном обучении? Очевидно, что прежде всего – в высокоуровневых ассоциативных областях, позволяющих осуществлять синтез различных репрезентаций, в том числе и на межмодальном уровне, формировать правила и программы действий. Ниже мы рассмотрим, какими именно данными в отношении коры больших полушарий мы располагаем на сегодняшний день.

Важно отметить, что, вопреки распространенному мнению, даже низкоуровневые сенсорные области обладают свойствами межмодальности (см. обзор (Ghazanfar, Schroeder, 2006)) и, следовательно, уже обладают необходимыми сенсорными входами для реализации ассоциативной пластичности, объединяющей отдельные стимулы и характеристики стимулов в запоминаемую целостную конфигурацию.

В литературе есть также значительный пласт работ, показывающих возможность регистрации выраженных показателей кортикальных ассоциативных эффектов с помощью ЭЭГ и МЭГ в условиях связывания признаков стимула человеком (см., например, (Novikov et al., 2015; Razorenova et al., 2020)).

Рассмотрим далее основные работы по исследованию конфигурационного обучения у человека с помощью современных методов нейровизуализации, при необходимости иногда возвращаясь к исследованиям и на животных.

#### *Исследования конфигурационного обучения с помощью функциональной магнитно-резонансной томографии*

В исследованиях обстановочного (контекстного) обучения с отрицательным подкреплением у человека с помощью современных методов нейровизуализации было выявлено участие довольно обширного списка структур головного мозга,

включая миндалину, гиппокамп, медиальную префронтальную кору, переднюю поясную кору, дорсолатеральную и вентролатеральную префронтальную кору, островковую кору (Alvarez et al., 2008; Andreatta et al., 2015; Marschner et al., 2008). Необходимо отметить, что в этих экспериментах использовались достаточно простые фоновые контексты, различие которых могло быть осуществлено на основе единичных свойств или элементов, а не конфигураций. Таким образом, роль конфигурационного кодирования в целом по результатам этих исследований оставалась недостаточно ясной (Glenn et al., 2018).

В подтверждение представлений о критической роли гиппокампа в конфигурационном обучении (см. выше), действительно, участие гиппокампа выявлено во всех известных нам недавних фМРТ-исследованиях конфигурационного обучения, которые мы рассмотрим ниже. К сожалению, ни в одной из известных нам работ не проводилось исследование динамики системной консолидации: регистрацию выполняли только непосредственно в день обучения, а повторного исследования через несколько дней не предпринимали.

Уже в первой работе (Vaeuchl et al., 2015), в которой авторы попытались прицельно исследовать контекстное обучение через контролируемые конфигурации элементов стимульного поля (с электролевым подкреплением), закономерным образом была выявлена активация в гиппокампе и миндалине, а также билатеральная активация в передней островковой коре, медиальной части верхней лобной извилины (дорсомедиальная префронтальная кора), хвостом ядра, нижней теменной дольке, нижней лобной извилине (включая оперкулярную, треугольную и орбитальную части). При этом авторы отмечают, что не было выявлено активации в передней поясной коре – структуре, которая обычно вовлечена в ассоциативное обучение, связанное со страхом (fear conditioning) (Sehlmeyer et al., 2009). Вовлечение указанных выше областей не является строго уникальным для конфигурационных условий и было ранее выявлено в других исследованиях обстановочного обучения с отрицательным подкреплением на человеке (например, Alvarez et al., 2008; Büchel et al., 1998; Lang et al., 2009; Marschner et al., 2008; Pohlack et al., 2012; Pohlack et al., 2012).

Также в указанной выше работе (Vaeuchl et al., 2015) была выявлена функциональная связность между гиппокампом и несколькими

кортикальными областями, а именно: задней поясной корой, верхней теменной долькой, а также постцентральной извилиной.

Еще одно исследование с применением похожего стимульного материала было специально направлено на сравнение между конфигурационным и элементарным обучением (Stout et al., 2018), хотя, к сожалению, в этом исследовании стимулы для конфигурационного и элементарного условий существенно различались, что в итоге не позволило авторам произвести прямое сравнение между этими формами обучения. Выявлено, что при конфигурационном обучении эффект наблюдался в гиппокампе, но не в миндалине. Наоборот, при элементарном обучении активация была выявлена в миндалине, но не в гиппокампе.

Указанный методический недостаток предыдущих работ был исправлен в последующей работе тех же авторов (Stout et al., 2019) – стимульный материал теперь был разработан таким образом, что позволял производить прямое сравнение активности мозга между условиями конфигурационного и элементарного обучения. В этом новом исследовании было показано, что в конфигурационном обучении с отрицательным подкреплением участвуют и гиппокамп, и миндалина, при этом задний гиппокамп был специфически активен именно в связи с конфигурационным обучением – в противопоставлении элементарному, т.е., видимо, именно он является центральной структурой для формирования конфигурационных репрезентаций. Анализ активности, выполненный по всему мозгу в целом, выявил множество структур мозга, включая области неокортекса, вовлеченные в процесс конфигурационного обучения, в том числе: задняя поясная кора, передняя и задняя островковая кора, дополнительная моторная область, парацентральная извилина, надкраевая извилина, дорсолатеральная и дорсомедиальная префронтальная кора, теменная кора, хвостатое ядро, околосредоводное серое вещество и таламус.

Отдельно следует отметить исследование К. Дункан с соавт. (Duncan et al., 2018). Оно сильно отличается от упомянутых выше фМРТ-исследований по ряду важных методических особенностей. Во-первых, авторы полностью ушли от парадигмы обстановочного обучения, и участники эксперимента должны были различать комбинации элементов, складывающихся в различные сложные фигуры. Во-вторых, в эксперименте вообще не было физического отрицатель-

ного подкрепления — лишь зрительная обратная связь, сообщающая участнику, правильно ли он среагировал на фигуры или нет. Кроме того, эксперимент был оформлен не как скучное предъявление небольшого количества стимулов, а как сложная компьютерная игра, в которой участники должны были предсказывать погоду в ответ на предъявления большого количества разнообразных составных фигур. Задача прекрасно позволяла сравнивать конфигурационное и элементное обучение как на основе факторной структуры самой задачи, так и на основе выделения индивидуальных стратегий для каждого участника. Однако, как и в предыдущих описанных выше экспериментах, регистрация проводилась в день обучения и системную консолидацию не изучали. Было показано, что особенностью конфигурационного обучения было вовлечение гиппокампа и вентрального стриатума (прилежащего ядра), а также функциональная коннективность между ними. Таким образом, снова подтверждена важнейшая роль гиппокампа в конфигурационном обучении. Вовлечение вентрального стриатума (вместо миндалины, задней островковой коры, передней поясной коры или околоводопроводного серого вещества) может быть связано с тем, что не использовалось никакое физическое отрицательное подкрепление (оно было скорее положительным за правильные ответы). Что касается новой коры, то в работе упоминается лишь то, что при элементном обучении сильнее вовлекался латеральный окципитальный комплекс в затылочной коре, а о каких-либо других эффектах в новой коре не сообщается.

Таким образом, все известные нам исследования конфигурационного обучения за последние 10 лет, выполненные с помощью фМРТ на человеке, показали вовлечение гиппокампа в день обучения. Также в приведенных выше работах показано участие некоторых областей коры, из которых наиболее примечательно участие префронтальных и заднетеменных областей — высокоуровневых зон, отвечающих за принятие решения и реализацию правил задачи в поведении. К сожалению, ни в одном из этих исследований не регистрировали активность мозга человека после периода системной консолидации. Однако представляется крайне важным, что в нескольких работах специфические эффекты конфигурационного обучения в новой коре были выявлены сразу после обучения, т.е. до периода системной консолидации. При этом явно недостаточное общее число работ по теме и существенные методические недостатки в ряде

из них не позволяют на настоящий момент получить полную и ясную картину физиологических основ процесса, а лишь указывают на необходимость проведения дальнейших исследований.

*Исследования конфигурационного обучения с помощью регистрации потенциалов локального поля, электроэнцефалографии и магнитоэнцефалографии*

В экспериментах на крысах в качестве задачи на конфигурационное обучение часто использовали задачу негативного паттернинга (negative patterning task) — одну из простейших задач, которая требует конъюнкции признаков и реализуема в экспериментах на грызунах. В этой оперантной задаче предъявления отдельных стимульных элементов подкрепляются, а сочетанное предъявление комплекса этих же элементов является дифференцировочным стимулом и не подкрепляется (A+, B+, AB-). Считается, что выполнение этой задачи критическим образом зависит от гиппокампа, а разрушение этой структуры, как правило, ведет к нарушению выполнения этой задачи (см. обзор (Sakimoto and Mitsuhashi, 2017)). С помощью регистрации через имплантированные электроды было выявлено изменение мощности гиппокампальных тета-осцилляций при выполнении конфигурационной задачи, в сравнении с не-конфигурационными задачами, причем как в сторону повышения (Sakimoto et al., 2013), так и понижения (Sakimoto et al., 2013). Видимо, такой результат связан с тем, что при выполнении задачи негативного паттернинга требуется подавление реакции на элементы, каждый из которых в отдельности подкрепляется, т.е. эффект потенциально может быть инвертированным. В отдельном исследовании авторы изучили мощность гиппокампальных тета-осцилляций при задаче позитивного паттернинга (positive patterning task) (A-, B-, AB+): мощность тета-осцилляций на подкрепляемый комплексный стимул была больше, чем на звуковой элемент, предъявляемый отдельно и не подкрепляемый, однако для второго элемента, зрительного стимула, достоверных различий выявлено не было (Sakimoto, Sakata, 2015). Таким образом, с одной стороны, эти работы указывают на вовлеченность гиппокампальных тета-осцилляций в конфигурационное обучение, но при этом несколько не проясняют собственно роль тета-осцилляций как механизма этих процессов и даже не вносят ясности относительно знака эффекта. Важно учитывать, что в силу особенностей



хронической регистрации на животных с обучением инструментальной задаче экспериментальные данные получены лишь на хорошо обученных крысах через неизвестные сроки после обучения – вероятно, на протяжении многих дней или недель (точные сроки в публикациях не указаны).

Помимо гиппокампа, вовлечение тета-осцилляций в конфигурационное обучение было показано для ретроспленальной коры, которая тесно связана с гиппокампом. В этом аккуратном спланированном исследовании (Yoshida et al., 2021), выполненном на крысах, поведенческая задача была специально создана для изучения конфигурационного обучения и сравнения его с элементным обучением, для чего был применен сбалансированный дизайн из шести стимулов – двух зрительных, двух слуховых и двух комплексных, представляющих собой объединение тех же слуховых и зрительных стимулов. В этом исследовании с помощью вживленных электродов регистрировали потенциал локального поля и активность одиночных нейронов в ретроспленальной коре. Результаты этой работы показали, что как на уровне тета-осцилляций, так и на уровне одиночных нейронов ретроспленальная кора вовлечена в конфигурационное обучение.

Как было рассмотрено выше, в фМРТ-исследованиях при конфигурационном обучении с отрицательным подкреплением выявляется одновременное участие и гиппокампа, и миндалины (Stout et al., 2019). При помощи стерео-ЭЭГ с интракраниальными электродами, вживленными в гиппокамп и миндалину у пациентов с эпилепсией, было показано, что при успешном распознавании зрительных паттернов (фотографии сцен с различной эмоциональной валентностью) происходило двустороннее взаимодействие между гиппокампом и миндалиной на частоте тета-ритма (3–7 Гц) (Zheng et al., 2019). При этом ошибки в распознавании зрительных паттернов сопровождалось однонаправленным влиянием миндалины на гиппокамп в альфа-диапазоне (7–13 Гц). К интерпретации результатов данного исследования в рамках настоящего обзора нужно подходить с осторожностью, так как авторы не ставили перед собой задачу изучать именно конфигурационные процессы, хотя то, что различие зрительных паттернов вовлекало конфигурационные процессы, не вызывает сомнений.

Показано, что межрегиональная гамма-синхронизация передает сенсорную информацию

в гиппокамп во время формирования памяти и представления информации из гиппокампа в кору во время ее извлечения (Griffiths, Jensen, 2023).

Чрезвычайно интересная серия исследований конфигурационного обучения была выполнена с регистрацией магнитоэнцефалографической (МЭГ) активности мозга (Cashdollar et al., 2009; Fuentemilla et al., 2010; Poch et al., 2011). Хотя поведенческие задачи в этих работах были ориентированы на исследование рабочей памяти, в них присутствовало конфигурационное условие, в котором изображения групп абстрактных объектов или фотографии помещений различались по взаимному расположению или отсутствию одного из элементов: например, на двух реалистичных фото могла быть идентичная сцена комнаты с мебелью, с одним отличием, что пуфик располагался по-разному относительно кресел – на одном фото он находился между креслами, а на другом – немного в стороне от обоих. Неконфигурационные условия включали в себя другие варианты, например предъявления другой комнаты с другой мебелью. К сожалению, в этих работах тоже не исследовали системную консолидацию, т.е. не проводили повторную регистрацию активности мозга через несколько дней / недель после обучения.

В работе Н. Кэшдоллара и др. (Cashdollar et al., 2009) анализировали МЭГ-активность коры больших полушарий при удержании в рабочей памяти сцен в конфигурационных и неконфигурационных условиях. При анализе кортикальной синхронизации тета-осцилляций на здоровых участниках и на пациентах с билатеральным склерозом гиппокампа были выявлены две сети тета-синхронизации. Одна сеть, критически зависящая от гиппокампа, была вовлечена в удержание конфигурационных репрезентаций и объединяла затылочные и височные сенсоры; важно, что у пациентов с пораженным гиппокампом данная сеть не выявлялась, а выполнение конфигурационной задачи у них было нарушено. Другая сеть, объединяющая лобные и теменные области, не зависела от гиппокампа и, по мнению авторов, служила для удержания в рабочей памяти лишь зрительного образа как такового.

В следующей работе этой же группы (Fuentemilla et al., 2010) авторы применили анализ с помощью мультивариативного классификатора паттернов (multivariate pattern classification analysis) к осцилляциям в бета- и гамма-диапазонах, зарегистрированным с помощью МЭГ,

чтобы исследовать временной период удержания изображений в памяти, в конфигурационных и элементных условиях. Авторам удалось обнаружить, что во время периода удержания образа в памяти происходит воспроизведение (“replay”) соответствующих паттернов, позволяющих различить типы запоминаемых сцен (фотографии, сделанные на улице или в помещении, аналогичные тем, которые были в упомянутом выше исследовании), причем выявляемые моменты воспроизведения были привязаны по фазе к тета-осцилляциям. Воспроизведение удерживаемой в памяти информации зависело от условия: в конфигурационном условии воспроизведение происходило в лобно-височных областях, а в неконфигурационном условии — в лобно-теменных и затылочных областях.

Далее авторы вернулись к тем же данным по воспроизведению запомненной информации во время периода удержания в памяти (Poch et al., 2011), но проанализировали эти данные заново с помощью алгоритмов бимформерного пространственного фильтра, позволяющего локализовать источники активности мозга в пространстве, в том числе чтобы иметь возможность исследовать активность в гиппокампе. В работе было выявлено, что индивидуальные различия в уровне выполнения задачи на рабочую память в конфигурационном условии были связаны со степенью фазовой синхронизации тета-осцилляций между правой задней частью гиппокампа и правой нижней лобной извилиной. Таким образом, эта работа показала, что реактивация памяти привязана к фазе гиппокампального тета-ритма.

В похожей по сути работе (Olsen et al., 2013), в которой также анализировали данные МЭГ с помощью бимформерного пространственного фильтра, использовали конфигурации из трех зрительных объектов на светлом фоне (новых в каждой реализации). Для запоминания комбинации элементов предъявлялись последовательно, а затем в фазе тестирования они предъявлялись все три одновременно, причем в новых абсолютных пространственных расположениях на экране, но либо с сохранением взаимного относительного расположения, либо положение одного из объектов изменяли. Мощность тета-осцилляций в гиппокампе и медиальной префронтальной коре увеличивалась в периоды кодирования и удержания в памяти во время задержки, т.е. когда преобладали процессы связывания относительного расположения элемен-

тов в целостную конфигурацию и ее удержание. Сравнение пространственных отношений при тестировании было сопряжено с большей мощностью тета-осцилляций в правой латеральной префронтальной коре и внутритеменной борозде — в тех реализациях, в которых расположение элементов было изменено, по сравнению с реализациями, в которых расположение элементов не изменялось. Важно отметить, что память на конфигурационные отношения была положительно связана с повышением мощности тета-осцилляций гиппокампа в течение периода кодирования.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем обзоре мы постарались представить имеющиеся на настоящий момент сведения о нейрофизиологических механизмах конфигурационного обучения и применяемые при этом методические подходы. Неоспоримым результатом работ, выполненных за последние 30 лет, стало понимание того, что гиппокамп критически необходим для конфигурационного обучения, причем как для запоминания, так и для извлечения из памяти.

Однако в отношении вовлечения новой коры больших полушарий как на ранних стадиях обучения, т.е. до осуществления системной консолидации, так и после ее завершения остается много неясного. На животных с применением хронической регистрации потенциалов локального поля и нейронной активности этот вопрос исследовать трудно, поскольку хроническая регистрация обычно диктует свои ограничения: как правило, регистрацию проводят на уже обученных животных, причем срок, прошедший от обучения до регистрации, обычно остается неизвестным. Наоборот, на людях с помощью современных методов нейровизуализации регистрировать активность новой коры больших полушарий непосредственно после выработки ассоциации как раз удобно и целесообразно. Однако, несмотря на это, ни в одном из известных нам исследований с применением нейровизуализации на людях не провели повторной регистрации, скажем, через неделю после выработки ассоциации.

Такой пробел в исследовании вовлечения коры больших полушарий в динамику системной консолидации представляется очень странным. Современное понимание системной консолидации, при учете единодушия в отношении

критического вовлечения гиппокампа, вообще не предполагает сколько-нибудь значимого участия коры больших полушарий в день выработки конфигурационной ассоциации. Однако это входит в противоречие с рядом экспериментальных данных, рассмотренных в настоящем обзоре. Для того чтобы прояснить этот вопрос, нужны тщательно спланированные нейровизуализационные исследования, обязательно с проведением регистрации до и после протекания предполагаемой системной консолидации.

Еще одно важное требование к таким исследованиям, которое выполнялось лишь в очень немногих работах, рассмотренных выше, — это такое планирование эксперимента, которое обеспечивает аккуратную балансировку между условиями эксперимента ради возможности корректного сравнения элементного и конфигурационного путей обучения. В противном случае аргументы в пользу вовлечения новой коры больших полушарий ослаблены возможностью альтернативных интерпретаций, сводящихся к различиям в активации коры при протекании процессов (например, сенсорных), не релевантных по отношению к конфигурационной задаче как таковой.

Еще одним крайне существенным недостатком практически всех исследований конфигурационного обучения, рассмотренных выше, является преобладающее использование отрицательного подкрепления. Этот методический прием оправдан при работе с грызунами, однако не совсем понятно, почему практически все исследования на человеке придерживались трансляционной логики, понимаемой столь буквально. В результате во многих рассмотренных выше работах значительный акцент ставится на проекции от гиппокампа в миндалину и отмечается активность в других мозговых структурах, предположительно связанная со страхом или дискомфортом, в то время как прочие механизмы остаются вне фокуса исследования. Важное, но практически единственное известное нам исключение — это работа К. Дункан с соавт. (Duncan et al., 2018), в которой обратной связью, подаваемой испытуемым, были лишь абстрактные сообщения на экране монитора. Отдельно следует упомянуть рассмотренные выше эксперименты группы Р. Кирогги с соавт. (Ison et al., 2015), в которых не использовалось вообще никакого биологически значимого подкрепления, что позволило исследовать феномен конфигурационного обучения в чистом виде. Однако в подавляющем большинстве работ даже на людях

использовали физически неприятную и болезненную стимуляцию. Это может быть обосновано, если, например, работа ориентирована на изучение механизмов посттравматического сенсорного расстройства у человека, однако для фундаментального понимания вопроса требуется более широкий подход в отношении знака подкрепления.

Кроме того, значительная часть исследований конфигурационного обучения содержит в себе еще одну потенциальную проблему: для изучения собственно конфигурационного обучения в подавляющем большинстве случаев применяются задачи, ориентированные на обстановочное (контекстное) обучение. Опять же это характерно для экспериментов и на животных, и на людях, с важным исключением в виде все той же работы К. Дункан с соавт. (Duncan et al., 2018). Хотя при обстановочном обучении восприятие контекста часто является конфигурационным, по сути, в будущем желательно разделять эти понятия, применяя конфигурационные задачи, не требующие обстановочного обучения.

Интерес к ассоциативному обучению в настоящее время не только не уменьшается, но даже растет. Например, в настоящее время предполагается, что речевое обучение, а именно запоминание смысла слов, основано на нейробиологических механизмах ассоциативного обучения (Pulvermüller, 2005; Pulvermüller, 2018). При этом для животных с высокоразвитой нервной системой, и особенно для человека, естественно ориентироваться на сложные конфигурации стимулов: очевидно, это давало значительные преимущества в ходе естественного отбора, так как позволяло выявлять и использовать сложные закономерности в окружающей среде, недоступные животным с более примитивным мозгом.

Именно такое усложнение И.П. Павлов описывал как проявление “синтетической деятельности мозга” (Павлов, 1949). Подобная возможность образовывать ассоциации на основе сложных конфигураций стимулов хорошо согласуется с современными воззрениями на раннее проявление сознания — то начало, которое открыло путь к формированию развитого сознания (Bronfman et al., 2016; Feinberg, Mallatt, 2016; Ginsburg, Jablonka, 2019; Razran, 1971). Настоящим обзором мы преследовали цель не только привлечь внимание к данному феномену конфигурационного обучения, столь значимому в контексте эволюции мозга и сознания, но и обо-

значить пути для его дальнейшего экспериментального исследования.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета “Мозг, когнитивные системы, искусственный интеллект”. Исследование выполнено на Уникальной научной установке “Центр нейрокогнитивных исследований (МЭГ-центр)” МГППУ. Также мы благодарны К.А. Тороповой за плодотворные замечания и предложения при написании рукописи обзора.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-78-00010, <https://rscf.ru/project/23-78-00010/>

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ивашкина О.И., Торопова К.А., Рощина М.А., Анохин К.В.* Формирование и извлечение ассоциативной памяти на комплексный сигнал у мышей: специфическое участие нейронов области CA1 гиппокампа. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2020. 70 (3): 327–341.
- Павлов И.П.* Полное собрание трудов. В 5 томах. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1949.
- Палладин А.* Образование искусственных условных рефлексов из суммы раздражений. Труды общества русских врачей в СПб. 1906. 73: 393.
- Перельцевейг И.Я.* Материалы к учению об условных рефлексах. Диссертация. СПб, 1907.
- Разоренова А.М., Скавронская В.В., Тюленев Н.Б., Рытикова А.М., Чернышев Б.В.* Может ли научение новым словам в слуховой модальности вести к быстрому формированию пластических перестроек в коре больших полушарий у взрослых? Современная зарубежная психология. 2020. 9 (2): 46–56.
- Acheson D.T., Gresack J.E., Risbrough V.B.* Hippocampal dysfunction effects on context memory: Possible etiology for posttraumatic stress disorder. *Neuropharmacology*. 2012. 62 (2): 674–685.
- Aggleton J.P., Sanderson D.J., Pearce J.M.* Structural learning and the hippocampus. *Hippocampus*. 2007. 17 (9): 723–734.
- Albasser M.M., Dumont J.R., Amin E., Holmes J.D., Horne M.R., Pearce J.M., Aggleton J.P.* Association rules for rat spatial learning: The importance of the hippocampus for binding item identity with item location. *Hippocampus*. 2013. 23 (12): 1162–1178.
- Alvarado M.C., Rudy J.W.* Some properties of configural learning: An investigation of the transverse-patterning problem. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*. 1992. 18 (2): 145–153.
- Alvarado M.C., Rudy J.W.* A comparison of “configural” discrimination problems: Implications for understanding the role of the hippocampal formation in learning and memory. *Psychobiology*. 1995. 23 (3): 178–184.
- Alvarez R.P., Biggs A., Chen G., Pine D.S., Grillon C.* Contextual fear conditioning in humans: cortical-hippocampal and amygdala contributions. *The Journal of Neuroscience*. 2008. 28 (24): 6211–6219.
- Anagnostaras S.G., Gale G.D., Fanselow M.S.* Hippocampus and contextual fear conditioning: Recent controversies and advances. *Hippocampus*. 2001. 11 (1): 8–17.
- Andreatta M., Glotzbach-Schoon E., Mühlberger A., Schulz S.M., Wiemer J., Pauli P.* Initial and sustained brain responses to contextual conditioned anxiety in humans. *Cortex*. 2015. 63: 352–363.
- Baeuchi C., Meyer P., Hoppstädter M., Diener C., Flor H.* Contextual fear conditioning in humans using feature-identical contexts. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2015. 121: 1–11.
- Bisby J.A., Burgess N., Brewin C.R.* Reduced memory coherence for negative events and its relationship to post-traumatic stress disorder. *Current Directions in Psychological Science*. 2020. 29 (3): 267–272.
- Brincat S.L., Miller E.K.* Frequency-specific hippocampal-prefrontal interactions during associative learning. *Nature neuroscience*. 2015. 18 (4): 576–581.
- Bronfman Z.Z., Ginsburg S., Jablonka E.* The transition to minimal consciousness through the evolution of associative learning. *Frontiers in Psychology*. 2016. 7: 1954.
- Büchel C., Morris J., Dolan R.J., Friston K.J.* Brain systems mediating aversive conditioning: an event-related fMRI study. *Neuron*. 1998. 20 (5): 947–957.
- Cashdollar N., Malecki U., Rugg-Gunn F.J., Duncan J.S., Lavie N., Duzel E.* Hippocampus-dependent and -independent theta-networks of active maintenance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009. 106 (48): 20493–20498.
- Chang S.-D., Liang K.C.* The hippocampus integrates context and shock into a configural memory in contextual fear conditioning. *Hippocampus*. 2017. 27 (2): 145–155.
- Cohen L., Dehaene S., Naccache L., Lehéricy S., Dehaene-Lambertz G., Hénaff M.-A., Michel F.* The visual word form area: Spatial and temporal characterization of an initial stage of reading in normal subjects and posterior split-brain patients. *Brain*. 2000. 123 (2): 291–307.
- Corcoran K.A., Maren S.* Hippocampal inactivation disrupts contextual retrieval of fear memory after extinction. *The Journal of Neuroscience*. 2001. 21 (5): 1720–1726.
- Davis M., Whalen P.J.* The amygdala: vigilance and emotion. *Mol. Psychiatry*. 2001. 6 (1): 13–34.
- Davis M.H., Gaskell M.G.* A complementary systems account of word learning: neural and behavioural evidence.

- Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences. 2009. 364 (1536): 3773–3800.
- Debiec J., Diaz-Mataix L., Bush D.E.A., Doyère V., LeDoux J.E. The selectivity of aversive memory reconsolidation and extinction processes depends on the initial encoding of the Pavlovian association. *Learning & Memory*. 2013. 20 (12): 695–699.
- Dumont J., Petrides M., Sziklas V. Functional dissociation between fornix and hippocampus in spatial conditional learning. *Hippocampus*. 2007. 17 (12): 1170–1179.
- Duncan K., Doll B.B., Daw N.D., Shohamy D. More than the sum of its parts: a role for the hippocampus in configural reinforcement learning. *Neuron*. 2018. 98 (3): 645–657.
- Eichenbaum H. The hippocampus: The shock of the new. *Curr. Biol.* 1999. 9 (13): R482–R484.
- Eichenbaum H. Hippocampus: cognitive processes and neural representations that underlie declarative memory. *Neuron*. 2004. 44 (1): 109–120.
- Eichenbaum H., Cohen N.J. Can we reconcile the declarative memory and spatial navigation views on hippocampal function? *Neuron*. 2014. 83 (4): 764–770.
- Fanselow M.S. Contextual fear, gestalt memories, and the hippocampus. *Behavioural Brain Research*. 2000. 110 (1): 73–81.
- Fanselow M.S., Poulos A.M. The Neuroscience of Mammalian Associative Learning. *Annual Review of Psychology*. 2005. 56 (1): 207–234.
- Feinberg T.E., Mallatt J. The nature of primary consciousness. A new synthesis. *Consciousness and Cognition*. 2016. 43: 113–127.
- Fiebig F., Lansner A. Memory consolidation from seconds to weeks: a three-stage neural network model with autonomous reinstatement dynamics. *Frontiers in Computational Neuroscience*. 2014. 8: 64.
- Friston K.J. The free-energy principle: a unified brain theory? *Nature Reviews Neuroscience*. 2010. 11 (2): 127–138.
- Fuentemilla L., Penny W.D., Cashdollar N., Bunzeck N., Düzel E. Theta-coupled periodic replay in working memory. *Current Biology*. 2010. 20 (7): 606–612.
- Gaskell M.G., Dumay N. Lexical competition and the acquisition of novel words. *Cognition*. 2003. 89 (2): 105–132.
- Gastaldi C., Schwalger T., De Falco E., Quiroga R.Q., Gerstner W. When shared concept cells support associations: Theory of overlapping memory engrams. *PLOS Computational Biology*. 2022. 17 (12): e1009691.
- Ghazanfar A.A., Schroeder C.E. Is neocortex essentially multisensory? *Trends Cogn. Sci.* 2006. 10 (6): 278–285.
- Gilbertson M.W., Williston S.K., Paulus L.A., Lasko N.B., Gurvits T.V., Shenton M.E. et al. Configural cue performance in identical twins discordant for posttraumatic stress disorder: theoretical implications for the role of hippocampal function. *Biological Psychiatry*. 2007. 62 (5): 513–520.
- Ginsburg S., Jablonka E. The evolution of the sensitive soul: learning and the origins of consciousness. Cambridge, MA: MIT Press, 2019.
- Glenn D.E., Risbrough V.B., Simmons A.N., Acheson D.T., Stout D.M. The future of contextual fear learning for PTSD Research: a methodological review of neuroimaging studies. *Behavioral Neurobiology of PTSD / Vermetten E. et al. Cham: Springer International Publishing*, 2018. 207–228.
- Gluck M.A., Myers C.E. Hippocampal mediation of stimulus representation: A computational theory. *Hippocampus*. 1993. 3 (4): 491–516.
- Goldfarb E.V., Blow T., Dunsmoor J.E., Phelps E.A. Elemental and configural threat learning bias extinction generalization. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2021. 180. 107405.
- Griffiths B.J., Jensen O. Gamma oscillations and episodic memory. *Trends in Neurosciences*. 2023. 46 (10): 832–846.
- Gross C.G. Genealogy of the “Grandmother Cell”. *The Neuroscientist*. 2002. 8 (5): 512–518.
- Hannula D.E., Tranel D., Cohen N.J. The long and the short of it: relational memory impairments in amnesia, even at short lags. *The Journal of Neuroscience*. 2006. 26 (32): 8352–8359.
- Ison Matias J., Quiroga R., Fried I. Rapid encoding of new memories by individual neurons in the human brain. *Neuron*. 2015. 87 (1): 220–230.
- Jones C.E., Ringuet S., Monfils M.-H. Learned together, extinguished apart: reducing fear to complex stimuli. *Learning & Memory*. 2013. 20 (12): 674–685.
- Kanwisher N., McDermott J., Chun M.M. The fusiform face area: a module in human extrastriate cortex specialized for face perception. *The Journal of Neuroscience*. 1997. 17 (11): 4302–4311.
- Kheirbek Mazen A., Drew Liam J., Burghardt Nesha S., Costantini Daniel O., Tannenholz L., Ahmari Susanne E. et al. Differential control of learning and anxiety along the dorsoventral axis of the dentate gyrus. *Neuron*. 2013. 77 (5): 955–968.
- Kimchi R. The role of wholistic/configural properties versus global properties in visual form perception. *Perception*. 1994. 23 (5): 489–504.
- Knapska E., Macias M., Mikosz M., Nowak A., Owczarek D., Wawrzyniak M. et al. Functional anatomy of neural circuits regulating fear and extinction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012. 109 (42): 17093–17098.
- Kolobius L.D., Roux F., Parish G., Ter Wal M., Van Der Plas M., Chelvarajah R. et al. Hippocampal neurons code individual episodic memories in humans. *Nature Human Behaviour*. 2023.
- Kozunov V.V., West T.O., Nikolaeva A.Y., Stroganova T.A., Friston K.J. Object recognition is enabled by an experience-dependent appraisal of visual features in the brain’s value system. *NeuroImage*. 2020. 221: 117143.
- Kubie J.L., Levy E.R.J., Fenton A.A. Is hippocampal remapping the physiological basis for context? *Hippocampus*. 2020. 30 (8): 851–864.
- Lang S., Kroll A., Lipinski S.J., Wessa M., Ridder S., Christ-

- mann C. *et al.* Context conditioning and extinction in humans: differential contribution of the hippocampus, amygdala and prefrontal cortex. *European Journal of Neuroscience*. 2009. 29 (4): 823–832.
- LeDoux J.E. Emotion circuits in the brain. *Annu. Rev. Neurosci.* 2000. 23: 155–184.
- Maren S., Aharonov G., Fanselow M.S. Neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats. *Behavioural Brain Research*. 1997. 88 (2): 261–274.
- Maren S., Phan K.L., Liberzon I. The contextual brain: implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. *Nature Reviews Neuroscience*. 2013. 14 (6): 417–428.
- Marschner A., Kalisch R., Vervliet B., Vansteenwegen D., Büchel C. Dissociable roles for the hippocampus and the amygdala in human cued versus context fear conditioning. *The Journal of Neuroscience*. 2008. 28 (36): 9030.
- Monti J.M., Cooke G.E., Watson P.D., Voss M.W., Kramer A.F., Cohen N.J. Relating hippocampus to relational memory processing across domains and delays. *Journal of Cognitive Neuroscience*. 2015. 27 (2): 234–245.
- Moscovitch M., Gilboa A. Has the concept of systems consolidation outlived its usefulness? Identification and evaluation of premises underlying systems consolidation. *Fac Rev*. 2022. 11: 33.
- Nadel L., Moscovitch M. Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Curr. Opin. Neurobiol.* 1997. 7 (2): 217–227.
- Novikov N.A., Bryzgalov D.V., Chernyshev B.V. Theta and alpha band modulations reflect error-related adjustments in the auditory condensation task. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2015. 9: 673.
- Olsen R.K., Rondina I.R., Riggs L., Meltzer J.A., Ryan J.D. Hippocampal and neocortical oscillatory contributions to visuospatial binding and comparison. *Journal of Experimental Psychology: General*. 2013. 142 (4): 1335–1345.
- Pearce J.M. A model for stimulus generalization in Pavlovian conditioning. *Psychological Review*. 1987. 94 (1): 61–73.
- Piepers D., Robbins R. A Review and clarification of the terms “holistic,” “configural,” and “relational” in the face perception literature. *Frontiers in Psychology*. 2012. 3: 559.
- Poch C., Fuentemilla L., Barnes G.R., Düzel E. Hippocampal theta-phase modulation of replay correlates with configural-relational short-term memory performance. *The Journal of Neuroscience*. 2011. 31 (19): 7038–7042.
- Pohlack S.T., Nees F., Liebscher C., Cacciaglia R., Diener S.J., Ridder S. *et al.* Hippocampal but not amygdalar volume affects contextual fear conditioning in humans. *Human Brain Mapping*. 2012. 33 (2): 478–488.
- Pohlack S.T., Nees F., Ruttorf M., Schad L.R., Flor H. Activation of the ventral striatum during aversive contextual conditioning in humans. *Biological Psychology*. 2012. 91 (1): 74–80.
- Pulvermüller F. Brain mechanisms linking language and action. *Nature Reviews Neuroscience*. 2005. 6 (7): 576–582.
- Pulvermüller F. Neural reuse of action perception circuits for language, concepts and communication. *Progress in Neurobiology*. 2018. 160: 1–44.
- Quiroga R.Q. Concept cells: the building blocks of declarative memory functions. *Nature Reviews Neuroscience*. 2012. 13 (8): 587–597.
- Razorenova A.M., Chernyshev B.V., Nikolaeva A.Y., Butorina A.V., Prokofyev A.O., Tyulenev N.B., Stroganova T.A. Rapid cortical plasticity induced by active associative learning of novel words in human adults. *Frontiers in Neuroscience*. 2020. 14: 895.
- Razran G. Studies in configural conditioning: I. Historical and preliminary experimentation. *The Journal of General Psychology*. 1939. 21 (2): 307–330.
- Razran G. Studies in configural conditioning: IV. Gestalt organization and configural conditioning. *The Journal of Psychology*. 1939. 7 (1): 3–16.
- Razran G. Mind in evolution: An East-West synthesis of learned behavior and cognition. Houghton Mifflin, 1971.
- Rey H.G., De Falco E., Ison M.J., Valentin A., Alarcon G., Selway R. *et al.* Encoding of long-term associations through neural unitization in the human medial temporal lobe. *Nature Communications*. 2018. 9 (1): 4372.
- Rodríguez-Fornells A., Cunillera T., Mestres-Missé A., de Diego-Balaguer R. Neurophysiological mechanisms involved in language learning in adults. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2009. 364 (1536). 3711–3735.
- Rudy J.W. Context representations, context functions, and the parahippocampal–hippocampal system. *Learning & Memory*. 2009. 16 (10): 573–585.
- Rudy J.W., Huff N.C., Matus-Amat P. Understanding contextual fear conditioning: insights from a two-process model. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2004. 28 (7): 675–685.
- Rudy J.W., Sutherland R.J. Configural association theory and the hippocampal formation: An appraisal and reconfiguration. *Hippocampus*. 1995. 5 (5): 375–389.
- Sakimoto Y., Hattori M., Takeda K., Okada K., Sakata S. Hippocampal theta wave activity during configural and non-configural tasks in rats. *Experimental Brain Research*. 2013. 225 (2): 177–185.
- Sakimoto Y., Mitsushima D. Hippocampal theta activity during stimulus discrimination task. *Electroencephalography / Phakharawat S. Rijeka: IntechOpen*, 2017. 11–22.
- Sakimoto Y., Okada K., Takeda K., Sakata S. Transient decline in hippocampal theta activity during the acquisition process of the negative patterning task. *PLOS ONE*. 2013. 8 (7): e70756.
- Sakimoto Y., Sakata S. The transient decline in hippocampal theta power during response inhibition in a positive patterning task. *NeuroReport*. 2015. 26 (14): 833–837.

- Sanderson D.J., Pearce J.M., Kyd R.J., Aggleton J.P.* The importance of the rat hippocampus for learning the structure of visual arrays. *European Journal of Neuroscience*. 2006. 24 (6): 1781–1788.
- Sehlmeyer C., Schöning S., Zwitserlood P., Pfleiderer B., Kirchner T., Arolt V., Konrad C.* Human fear conditioning and extinction in neuroimaging: a systematic review. *PLOS ONE*. 2009. 4 (6): e5865.
- Squire L.R., Alvarez P.* Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Current Opinion in Neurobiology*. 1995. 5 (2): 169–177.
- Squire L.R., Genzel L., Wixted J.T., Morris R.G.* Memory consolidation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2015. 7 (8).
- Stout D.M., Glenn D.E., Acheson D.T., Simmons A.N., Risbrough V.B.* Characterizing the neural circuitry associated with configural threat learning. *Brain Research*. 2019. 1719: 225–234.
- Stout D.M., Glenn D.E., Acheson D.T., Spadoni A.D., Risbrough V.B., Simmons A.N.* Neural measures associated with configural threat acquisition. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2018. 150: 99–106.
- Sutherland R.J., Rudy J.W.* Configural association theory: The role of the hippocampal formation in learning, memory, and amnesia. *Psychobiology*. 1989. 17 (2): 129–144.
- Tonegawa S., Morrissey M.D., Kitamura T.* The role of engram cells in the systems consolidation of memory. *Nature Reviews Neuroscience*. 2018. 19 (8): 485–498.
- Urcelay G.P., Miller R.R.* The functions of contexts in associative learning. *Behavioural Processes*. 2014. 104: 2–12.
- Watson P.D., Voss J.L., Warren D.E., Tranel D., Cohen N.J.* Spatial reconstruction by patients with hippocampal damage is dominated by relational memory errors. *Hippocampus*. 2013. 23 (7): 570–580.
- Weinberger N.M.* Specific long-term memory traces in primary auditory cortex. *Nat. Rev. Neurosci.* 2004. 5 (4): 279–290.
- Yadav R., Hillman B.G., Gupta S.C., Suryavanshi P., Bhatt J.M., Pavuluri R. et al.* Deletion of glutamate delta-1 receptor in mouse leads to enhanced working memory and deficit in fear conditioning. *PLOS ONE*. 2013. 8 (4): e60785.
- Yoshida M., Chinzorig C., Matsumoto J., Nishimaru H., Ono T., Yamazaki M., Nishijo H.* Configural cues associated with reward elicit theta oscillations of rat retrosplenial cortical neurons phase-locked to LFP theta cycles. *Cerebral Cortex*. 2021. 31 (5): 2729–2741.
- Zeliony G.* Contribution à l'analyse des excitants complexes des reflexes conditionnels. Institut Impérial de médecine expérimentale, 1910.
- Zheng J., Stevenson R.F., Mander B.A., Mnatsakanyan L., Hsu F.P.K., Vadera S. et al.* Multiplexing of theta and alpha rhythms in the amygdala-hippocampal circuit supports pattern separation of emotional information. *Neuron*. 2019. 102 (4): 887–898.

## SEARCH FOR NEUROPHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF CONFIGURATIONAL LEARNING

**B. V. Chernyshev<sup>a, b, c, #</sup>, V. L. Ushakov<sup>b, d, e</sup>, L. A. Poznyak<sup>c</sup>**

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

<sup>b</sup>*Institute for Advanced Brain Studies, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

<sup>c</sup>*Center for Neurocognitive Research (MEG Center), Moscow State University of Psychology and Education, Moscow, Russia*

<sup>d</sup>*National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia*

<sup>e</sup>*N.A. Alekseev Psychiatric Clinical Hospital No. 1 of the Moscow City Health Department, Moscow, Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: b\_chernysh@mail.ru*

Configural learning is a form of associative learning in which the conditioned stimulus is a holistic set of stimulus elements rather than individual stimuli or their isolated properties. Successfully solving the task of such associative learning requires a holistic analysis of the entire configuration as a whole. The ability to analyze not only individual physical aspects of a stimulus or single objects in a visual scene, but also their holistic combinations, offers significant evolutionary advantages, as configurations often have substantially greater predictive power compared to individual stimulus elements or features. Moreover, the ability to holistically analyze combinations of stimulus field elements or features can be considered an initial, primitive manifestation of consciousness. In the present review, we consider the history of the development of the concept of configural learning, the main methodological avenues of investigation, and currently available neurophysiological data on the putative neural basis of this phenomenon. We find it most interesting to study the processes of configural learning in humans using modern neuroimaging methods, as they provide a glimpse into the holistic brain functioning. Finally, we consider the future tasks aimed to provide a more complete understanding of the neurophysiology of the configural learning phenomenon.

**Keywords:** associative learning, configural learning, gestalt, functional magnetic resonance imaging, electrophysiology, electroencephalography, magnetoencephalography

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ ВОЗБУЖДАЮЩИХ И ТОРМОЗНЫХ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА ПРИ ИЗВЛЕЧЕНИИ АССОЦИАТИВНОЙ ОБСТАНОВОЧНОЙ ПАМЯТИ

© 2024 г. К. А. Торопова<sup>1, 2, \*</sup>, О. И. Ивашкина<sup>1, 2</sup>, Н. С. Воробьева<sup>1</sup>, К. В. Анохин<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Институт перспективных исследований мозга, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Лаборатория нейронного интеллекта, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\*e-mail: xen.alexander@gmail.com

Поступила в редакцию 02.11.2023 г.

После доработки 20.11.2023 г.

Принята к публикации 20.11.2023 г.

В настоящей работе проведен анализ дифференциального вовлечения интернейронов и пирамидных нейронов различных областей гиппокампа в извлечение ассоциативной аверсивной памяти об обстановке. Для этого была использована модель ассоциативного обучения мышей, в которой формирование памяти о нейтральной обстановке и последующая ассоциация кратковременного предъявления этой обстановки с безусловным стимулом — электрокожным раздражением (ЭКР) — были значительно разнесены во времени. Активацию нейронов различных областей гиппокампа при извлечении сформированной таким образом ассоциативной обстановочной памяти исследовали с помощью иммуногистохимической детекции белкового продукта немедленного раннего гена *c-fos*. Извлечение ассоциативной памяти об обстановке сопровождалось увеличением количества с-Fos-положительных клеток в области CA1, но не в области CA3 и зубчатой фации гиппокампа. Далее для специфического выявления возбуждающих нейронов использовали белковый маркер — продукт гомеобокс-содержащего гена *Emx1*, а для специфического выявления тормозных нейронов — маркер глутамат декарбоксилазы, GAD, продукт генов *GAD1* и *GAD2*. По результатам двойного окрашивания на клеточные маркеры и белок с-Fos было показано, что при извлечении ассоциативной аверсивной памяти об обстановке в области CA1 гиппокампа активировались как положительные по маркеру *Emx1* возбуждающие нейроны, так и, в несколько меньшей степени, тормозные интернейроны, положительные по маркеру GAD. При этом, независимо от типа поведенческого воздействия (извлечение ассоциативной памяти об обстановке, неассоциативной памяти об обстановке или обследование обстановки, сочетавшейся с ЭКР, но не запомненной животными), пропорция активированных возбуждающих и тормозных нейронов оставалась постоянной, изменялось только количество активированных клеток каждого типа. Полученные результаты свидетельствуют о специфическом участии нейронов области CA1 гиппокампа в ассоциативной обстановочной памяти, а также демонстрируют, что в кодировании такой памяти участвуют как возбуждающие, так и тормозные нейроны.

**Ключевые слова:** ассоциативная память, извлечение памяти, условно-рефлекторное замирание, гиппокамп, *c-fos*, возбуждающие нейроны, тормозные интернейроны

DOI: 10.31857/S0044467724020034

### ВВЕДЕНИЕ

Гиппокамп — структура головного мозга, играющая важную роль как в процессах формирования эпизодической памяти и памяти об обстановке (Eichenbaum, 2018; Takahashi, 2018; Lee, 2023), так и при условно-рефлекторном обучении и формировании ассоциативной памяти (Takamiya et al., 2021). То, каким образом эти разные типы памяти кодируются клеточными сетями гиппокампа, является актуальной нерешенной проблемой, служащей объектом современных нейрофизиологических исследований. Один из способов приблизиться к изучению

данного вопроса — использовать экспериментальную модель, позволяющую отдельно оценивать вовлечение нейронов гиппокампа в обстановочный и ассоциативный компонент таких традиционных гиппокамп-зависимых форм обучения, как выработка реакции условно-рефлекторного замирания (УРЗ) на обстановку (Surzon et al., 2009). В классической модели обучения УРЗ условный стимул (УС) и безусловный стимул (БС) предъявляются друг за другом или разделены кратким (до 5 сек) промежутком времени (Wotjak, 2019). В настоящей работе мы использовали модель ассоциативного обучения у мышей, в которой формирование памяти об обстановке



и ее последующая ассоциация с аверсивным стимулом (электрокожное раздражение лап, ЭКР) были разнесены во времени на трое суток так, что ассоциации подвергался фактически долговременный след предварительно сформированной памяти, извлекаемый кратким напоминанием в момент обусловливания (Воробьева и др., 2016; Торопова и др., 2018; Pinizzotto et al., 2020; Heroux et al., 2021; Zhu et al., 2022). Главным достоинством данной модели обучения является то, что она дает возможность изучать клеточные механизмы формирования нейтральной памяти об обстановке (УС), имеющей неассоциативный характер, и ее последующего ассоциирования с ЭКР (БС), поскольку эти события существенно разнесены во времени.

Ранее было обнаружено, что разрушение, временная инактивация, блокада синтеза белка или синаптической передачи в гиппокампе приводит к нарушению процессов формирования ассоциативной памяти об обстановке в задаче УРЗ при разнесении времени предъявления обстановки и нанесения ЭКР (Barrientos et al., 2002; Rudy et al., 2002; Matus-Amat et al., 2004; 2007). Таким образом, гиппокамп является критической структурой, необходимой для обучения и формирования памяти в такой модификации задачи УРЗ. Кроме этого, ранее нами была выявлена специфическая активация клеток области СА1 (но не области СА3 и зубчатой фасции) гиппокампа при формировании ассоциативной памяти об обстановке в данной модели (Торопова и др., 2018). Была также установлена необходимость электрической активности клеток гиппокампа для извлечения такого ассоциативного следа (Rudy, O'Reilly, 2001; Matus-Amat et al., 2004).

Известно, что нейроны гиппокампа делятся на две основные субпопуляции: возбуждающие нейроны (пирамидные клетки) и локальные тормозные интернейроны (Buhl, Whittington, 2006; Ramirez-Franco et al., 2016). Хотя интернейроны представляют собой гетерогенную популяцию, характеризующуюся различными биохимическими маркерами, такими как кальций-связывающие белки или нейропептиды, большинство из них содержат ингибирующий нейромедиатор  $\gamma$ -аминомасляную кислоту (ГАМК). В гиппокампе ГАМКергические интернейроны широко распространены в областях СА1 и СА3, а также в зубчатой фасции, и играют важную роль в регуляции активности как возбуждающих нейронов, так и других тормозных интернейронов, а также участвуют в формировании памяти (Topolnik,

Tamboli, 2022; Tzilivaki et al., 2023). Тем не менее до сих пор остается неизученным, какие именно нейроны гиппокампа участвуют в формировании и извлечении ассоциативной памяти об обстановке в рассмотренной выше задаче.

В связи с этим целью настоящей работы было изучить дифференциальное вовлечение пирамидных нейронов и интернейронов в активность различных областей гиппокампа мышей при извлечении сформированной ранее аверсивной ассоциативной памяти об обстановке. Для этого нами был использован подход, основанный на сочетании выявления клеток, активированных извлечением памяти, по накоплению в них белкового продукта немедленного раннего гена *c-fos* и маркирования пирамидных клеток и интернейронов гиппокампа по экспрессии в них генов *Emx1* и *GAD1/2*. Экспрессия немедленных ранних генов, таких как *c-fos*, *egr-1* и *Arc*, быстро и избирательно активируется в тех нейронах и областях мозга, которые вовлекаются в обучение и формирование памяти. Поэтому экспрессия немедленных ранних генов широко используется в качестве молекулярного маркера популяций нейронов, которые претерпевают пластические изменения, лежащие в основе формирования долговременной памяти (Nambu et al., 2022). Гомеобокс-содержащий ген *Emx1* специфически экспрессируется в возбуждающих пирамидных клетках, являясь одним из клеточных маркеров этого типа нейронов (Chan et al., 2001). Гены *GAD1* и *GAD2* кодируют две изоформы глутаматдекарбоксилазы (*GAD65* и *GAD67*), которые экспрессируются в нейронах и различаются компартментализацией в клетках. Глутаматдекарбоксилаза катализирует превращение глутамата в ГАМК в ГАМКергических нейронах и может служить клеточным маркером всех подтипов интернейронов в гиппокампе (Houser et al., 2007).

## МЕТОДИКА

### *Животные*

В экспериментах использовали 15 самцов мышей линии C57BL/6 в возрасте 14–18 недель (питомник “Столбовая”). Мышей содержали в индивидуально вентилируемых клетках по 5 особей со свободным доступом к воде и пище при световом цикле 12/12 ч. Экспериментальные процедуры проводили в светлой фазе цикла (с 10:00 до 17:00). Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных

были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по биоэтике МГУ им. М.В. Ломоносова (Заявка № 148-а, одобренная на заседании Комиссии № 151-d от 20.04.2023).

#### Формирование и извлечение памяти об обстановке в задаче УРЗ

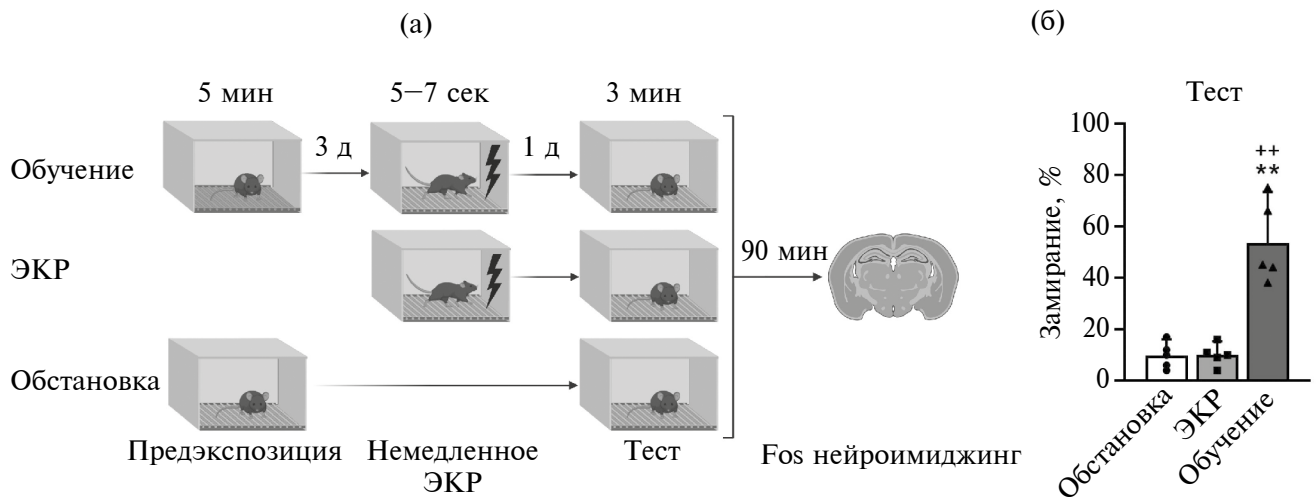
Схема эксперимента представлена на рис. 1 (а). Процедура обучения УРЗ на обстановку состояла из двух этапов: на первом этапе мышам давали свободно обследовать новую для них обстановку, а затем через 3 дня животным наносили немедленное ЭКР в той же обстановке. Через 1 день после нанесения немедленного ЭКР животных помещали в обстановку обучения для тестирования ассоциативной памяти. Все процедуры проводили в установке Video Fear Conditioning System (MED Associates Inc.) с использованием программы Video Freeze v2.5.5.0 (MED Associates Inc.) Обстановка обучения представляла собой камеру размером 20 × 30 × 20 см с тремя непрозрачными пластиковыми стенками, одной прозрачной пластиковой стенкой и электродным полом из стальных стержней. Над экспериментальной ка-

мерой находился источник диффузного белого света (средний уровень освещенности в камере 87 люкс) и источник постоянного шума (средний уровень громкости 25 дБ). Перед помещением каждого животного камеру протирали 40%-ным раствором этилового спирта. Общее время обследования обстановки на первом этапе обучения составляло 5 мин, после этого мышей возвращали в домашнюю клетку. При нанесении немедленного ЭКР животных помещали в ту же обстановку и немедленно наносили ЭКР силой 1 мА длительностью 2 сек, после чего сразу же возвращали в домашнюю клетку. Общая длительность процедуры нанесения немедленного ЭКР составляла 5–7 сек. Тестирование памяти об обстановке проводили в течение 3 мин (Воробьева и др., 2016; Торопова и др., 2018).

В эксперименте использовали три группы животных:

– группа “Обучение” ( $n = 5$ ) – животные, которые формировали ассоциативную память об обстановке: проходили и предварительное обследование обстановки, и нанесение немедленного ЭКР в ней;

– группа “ЭКР” ( $n = 5$ ) – животные, которые не формировали ассоциативную память об об-



**Рис. 1.** Схема эксперимента (а) и данные о поведении мышей трех групп при тестировании ассоциативной памяти об обстановке (б). Предэкспозиция – предварительное неподкрепляемое обследование новой обстановки, Немедленное ЭКР – нанесение немедленного ЭКР в ранее обследованной обстановке, Тест – тестирование памяти об обстановке. \*\* –  $p = 0.008$  по сравнению с группой “Обстановка”, ++ –  $p = 0.007$  по сравнению с группой “ЭКР”, апостериорный критерий Тамхейна T2.

**Fig. 1.** The scheme of the experiment (a) and the behavior of three groups of mice during context associative memory test (b). Experimental procedures: Preexposure – preliminary unreinforced exploration of a new context, Immediate shock – immediate footshock in a previously explored context, Memory test – context associative memory test. \*\* –  $p = 0.008$  compared to the Context group, ++ –  $p = 0.007$  compared to the Footshock group, Tamhane’s T2 multiple comparisons test.

становке и получали только немедленное ЭКР, без предварительного обследования обстановки;

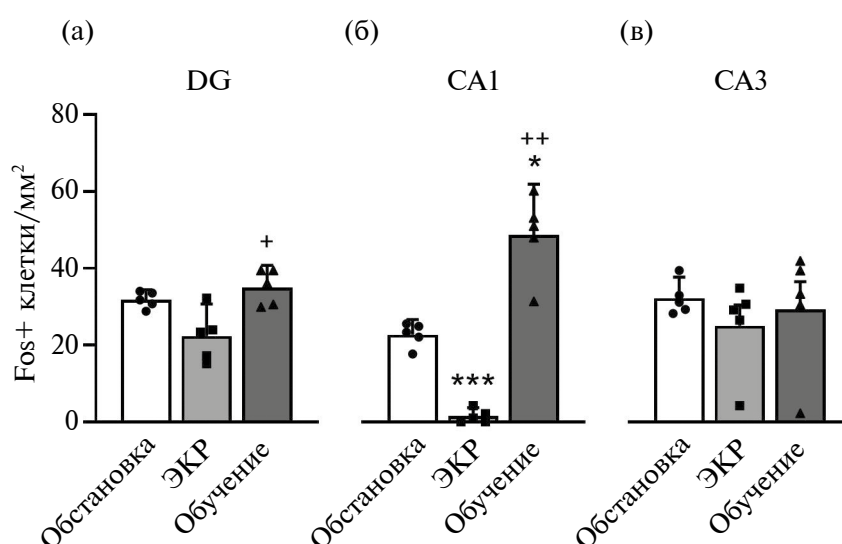
– группа “Обстановка” ( $n = 5$ ) – животные, которые формировали неассоциативную память об обстановке: проходили только предварительное обследование обстановки, но не получали немедленное ЭКР в ней.

При предварительном обследовании обстановки и тестировании памяти проводили видеорегистрацию поведения мышей и автоматически определяли количество и продолжительность актов замирания. Замиранием считали полное отсутствие любых движений мыши, кроме дыхательных. Автоматическое выделение актов замирания осуществляли на основании следующих порогов: максимальное количество пикселей, измененных в данном кадре относительно предыдущего – 15 (при частоте оцифровки изображения 30 кадров в секунду и разрешении  $320 \times 240$  пикселей); минимальная длительность иммобилизации – 0.5 сек. Для оценки ассоциативной памяти определяли процент времени замирания животных при тестировании.

#### Оценка паттернов экспрессии *c-Fos* в гиппокампе

Через 90 мин после тестирования животных умерщвляли путем транспозиции шейных по-

звонок. Мозг мышей извлекали и замораживали в парах жидкого азота. Срезы толщиной 20 мкм получали на криостате (Leica CM1950, Leica Microsystems, Германия). Координаты срезов определяли с помощью стереотаксического атласа мозга мыши (для области гиппокампа – 1.74 мм от уровня Брегмы) (Franklin, Paxinos, 2007). В анализ брали по три среза с одного уровня. Проводили иммуногистохимическое окрашивание для выявления белка *c-Fos*, а также для определения типов нейронов: возбуждающих (по маркеру *Emx1*) и тормозных интернейронов (по маркеру *GAD*). Для этого срезы головного мозга промывали в растворе 1xPBS и затем инкубировали в блокирующем растворе (10% NGS, 1% BSA и 0.2% Triton X-100 в PBS) в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем срезы инкубировали с первичными антителами в 0.2%-ном растворе TBS в течение ночи при 4 °C, промывали в PBS  $4 \times 5$  мин и 2 ч инкубировали со вторичными антителами при комнатной температуре, промывая затем  $4 \times 5$  мин в PBS. Использовали следующие первичные антитела: антитела козы против белка *c-Fos* goat anti-*c-Fos* (sc-52-G) (Santa Cruz Biotechnologies, разведение 1:500), антитела кролика против белка *GAD* rabbit anti-*GAD65/67* (Sigma-Aldrich, разведение 1:500), антитела кролика против *Emx1* anti-*EMX1* (H-50) (Santa Cruz Biotechnologies, разведение 1:100). Для визуализации использовали вторичные ан-



**Рис. 2.** Активность различных областей гиппокампа мышей при извлечении памяти об обстановке. (а) зубчатая фасция (DG), (б) область CA1, (в) область CA3. \* –  $p = 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.0001$  по сравнению с группой “Обстановка”, + –  $p = 0.03$ , ++ –  $p = 0.002$  по сравнению с группой “ЭКР”, апостериорный критерий Тамхеяна T2.

**Fig. 2.** Activity of three hippocampal regions during context memory retrieval. (a) dentate gyrus (DG), (б) CA1 region, (c) CA3 region. \* –  $p = 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.0001$  compared to the Context group, + –  $p = 0.03$ , ++ –  $p = 0.002$  compared to the Footshock group, Tamhane’s T2 multiple comparisons test.

титела осла против белков козы donkey anti-goat, конъюгированные с зеленым флуоресцентным красителем (AlexaFluor 488, Invitrogen, разведение 1:500) и вторичные антитела осла против белков кролика donkey anti-rabbit, конъюгированные с красным флуоресцентным красителем (AlexaFluor 568, Invitrogen, разведение 1:500). После окончания окрашивания срезы помещали под покровное стекло, используя водную монтирующую гистологическую среду Fluoromount™ (Sigma-Aldrich). Изображения получали с помощью лазерного конфокального спиннинг-диск-микроскопа Andor Revolution WD (Andor) и проводили последующую постобработку в программе Imaris 7.4.2 (Bitplane). Далее в программе Imaris 7.4.2 (Bitplane) проводили подсчет колокализаций белка c-Fos и клеточных маркеров Emx1 и GAD в гранулярных слоях зон CA1, CA3 и зубчатой фасции гиппокампа. Для двойных положительных клеток (Fos<sup>+</sup>Emx1<sup>+</sup> и Fos<sup>+</sup>GAD<sup>+</sup>) рассчитывали их долю относительно общего числа Fos-положительных (Fos<sup>+</sup>) клеток в отдельных областях гиппокампа. При этом для Fos<sup>+</sup>-клеток также рассчитывали плотность в каждой области гиппокампа.

#### *Статистический анализ данных*

Статистическую обработку данных и построение графиков проводили с помощью статистического пакета GraphPad Prism 8.0. (GraphPad Software). Использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с поправкой Брауна–Форсайта и апостериорный критерий Тамхейна T2 для множественных сравнений, а также двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA и апостериорный критерий Тьюки для множественных сравнений. Значимыми считали различия при  $p \leq 0.05$ . Данные на графиках представлены как среднее  $\pm$  95%-ный доверительный интервал, точки отражают индивидуальные значения. Схему эксперимента изображали с использованием BioRender.com.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

*Мыши формируют долговременную ассоциативную аверсивную память об обстановке, только если немедленному ЭКР в ней предшествовало обследование этой обстановки*

Результаты тестирования обстановочной ассоциативной памяти представлены на рис. 1 (б). Было показано, что при отставлении немедленного ЭКР от обследования обстановки на 3 дня у

мышей формировалась долговременная ассоциативная аверсивная память о данной обстановке, что выражалось в значимом повышении уровня замирания при тестировании у мышей группы “Обучение”, по сравнению с контрольными группами “ЭКР” и “Обстановка” ( $F^*$  (2,5.4) = 31.8,  $p = 0.001$ ). При этом группы “Обстановка” и “ЭКР” демонстрировали очень низкие уровни замирания: в среднем  $9.8\% \pm 6.4\%$  и  $10.0\% \pm 5.3\%$  соответственно. Таким образом, только животные, получавшие предъявление новой обстановки с последующим нанесением немедленного ЭКР в ней, формировали ассоциативную аверсивную память об этой обстановке.

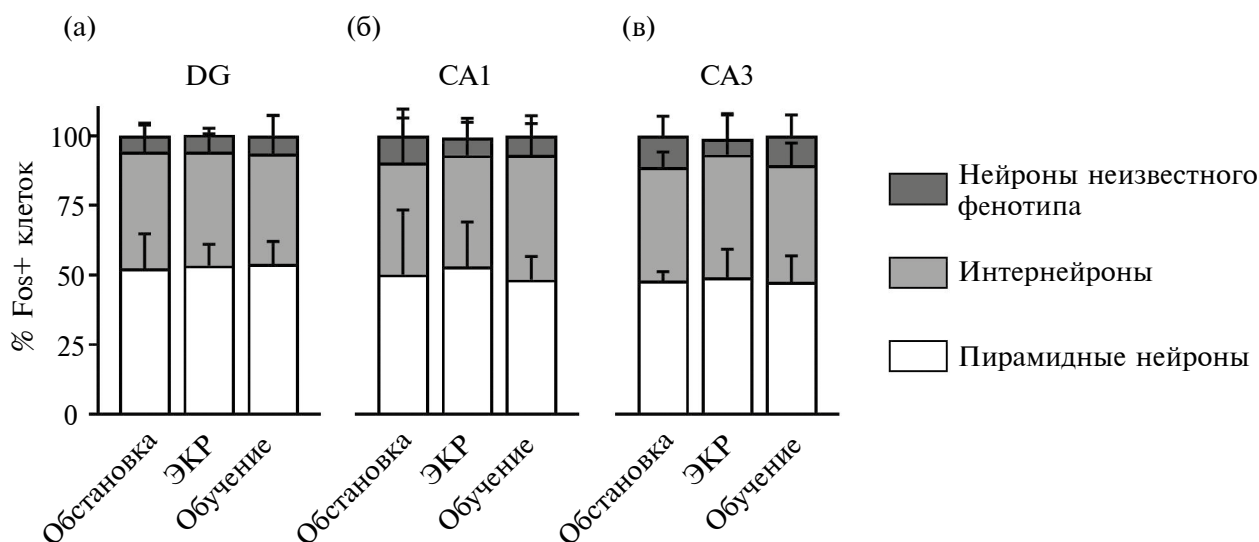
*Область CA1 гиппокампа специфически активируется при извлечении ассоциативной аверсивной памяти об обстановке*

Методом Fos-нейроимиджинга мы проанализировали активность различных областей гиппокампа мышей при извлечении памяти об обстановке (рис. 2). В зубчатой фасции гиппокампа единственное значимое различие было найдено между группами “Обучение” и “ЭКР”: в первой группе плотность Fos<sup>+</sup>-клеток была повышена ( $F^*$  (2,8.06) = 9.2,  $p = 0.008$ ) – рис. 2 (а). В области CA1 гиппокампа наблюдалось значимое повышение плотности Fos<sup>+</sup>-клеток у животных группы “Обстановка”, по сравнению с мышами группы “ЭКР” ( $F^*$  (2,4.9) = 65.8,  $p = 0.0003$ ). Кроме этого, плотность Fos<sup>+</sup>-клеток была значимо выше у обученных животных, чем в обеих контрольных группах, – рис. 2 (б). В области CA3 гиппокампа нами не было обнаружено никаких значимых различий в плотности Fos<sup>+</sup>-клеток между разными группами мышей ( $F^*$  (2,8.2) = 0.47,  $p = 0.64$ ) – рис. 2 (в).

Таким образом, мы обнаружили, что только в области CA1 гиппокампа наблюдалась специфическая активация, связанная именно с извлечением ассоциативной памяти.

*Активация пирамидных нейронов и интернейронов гиппокампа при извлечении памяти*

Для того чтобы установить, какие нейроны, возбуждающие или тормозные, преимущественно активируются при извлечении ассоциативной аверсивной памяти об обстановке, мы провели совместное иммуногистохимическое мечение белка c-Fos и маркеров типов нейронов – Emx1 и GAD. Нами были проанализированы доли Emx<sup>+</sup>- и GAD<sup>+</sup>-нейронов от всех Fos<sup>+</sup>-клеток



**Рис. 3.** Доля пирамидных Emx1<sup>+</sup>-нейронов, GAD<sup>+</sup>-интернейронов и нейронов неизвестного фенотипа от всех активированных по c-Fos нейронов в различных областях гиппокампа мышей при извлечении памяти об обстановке. (а) зубчатая фасция (DG), (б) область CA1, (в) область CA3. Описание статистических различий дано в тексте.

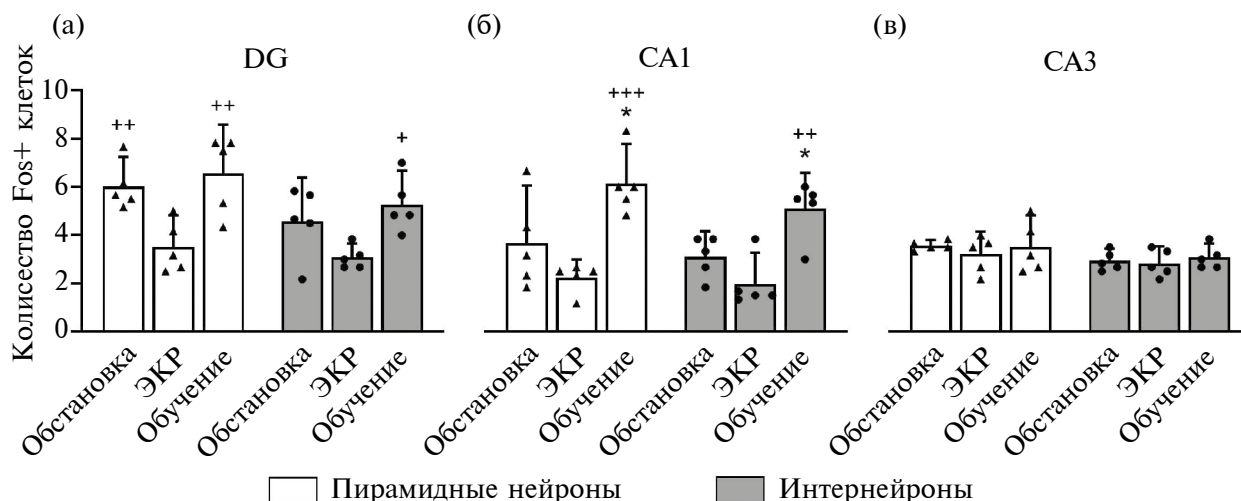
**Fig. 3.** The fraction of pyramidal Emx1<sup>+</sup> neurons, GAD<sup>+</sup> interneurons and neurons of unknown phenotype of all c-Fos<sup>+</sup> neurons in three areas of the hippocampus during context memory retrieval. (a) dentate gyrus (DG), (б) CA1 region, (в) CA3 region. For the description of statistics see main text.

в областях CA1, CA3 и зубчатой фисции. При этом оказалось, что часть Fos<sup>+</sup>-нейронов не окрашиваются ни на Emx1, ни на GAD – такие клетки были названы “нейронами неизвестного фенотипа”, поскольку в рамках нашего эксперимента определить их клеточный тип не представлялось возможным (рис. 3).

Было показано, что пропорция пирамидных нейронов, интернейронов и нейронов неизвестного фенотипа среди Fos<sup>+</sup>-клеток, активированных извлечением памяти, является практически постоянной и не зависит ни от области гиппокампа, ни от предыдущего опыта животных. Так, во всех исследованных областях и у всех экспериментальных групп доля Fos<sup>+</sup>Emx1<sup>+</sup>-нейронов составляла в среднем 47–54%, доля Fos<sup>+</sup>GAD<sup>+</sup>-нейронов – 40–45% и доля Fos<sup>+</sup>-нейронов неизвестного фенотипа – 6–11%. При этом доля Fos<sup>+</sup>-нейронов неизвестного фенотипа во всех областях гиппокампа была значимо меньше, чем доли Fos<sup>+</sup>Emx1<sup>+</sup>- и Fos<sup>+</sup>GAD<sup>+</sup>-нейронов (зубчатая фисция, рис. 3 (а): фактор “тип клеток”:  $F(1.337, 16.05) = 120.4, p < 0.0001$ , фактор “группа мышей”:  $F(2, 12) = 1.0, p = 0.4$ , взаимодействие факторов:  $F(4, 24) = 0.07, p = 0.99$ , попарные сравнения доли нейронов неизвестного фенотипа и пирамидных или интернейронов:  $p < 0.0001$ ; область CA1, рис. 3 (б): фактор “тип клеток”:  $F(1.206, 14.47) = 42.72, p < 0.0001$ , фак-

тор “группа мышей”:  $F(2, 12) = 1.0, p = 0.4$ , взаимодействие факторов:  $F(4, 24) = 0.22, p = 0.92$ , попарные сравнения доли нейронов неизвестного фенотипа и пирамидных или интернейронов:  $p < 0.0001$ ; область CA3, рис. 3 (в): фактор “тип клеток”:  $F(1.892, 22.70) = 89.85, p < 0.0001$ , фактор “группа мышей”:  $F(2, 12) = 1.0, p = 0.4$ , взаимодействие факторов:  $F(4, 24) = 0.45, p = 0.77$ , попарные сравнения доли нейронов неизвестного фенотипа и пирамидных или интернейронов:  $p < 0.0001$ ). Доли Fos<sup>+</sup>Emx1<sup>+</sup>- и Fos<sup>+</sup>GAD<sup>+</sup>-нейронов были равными и не различались в областях CA1 и CA3 (попарные сравнения:  $p > 0.2$ ), а в зубчатой фисции Fos<sup>+</sup>-пирамидных нейронов было несколько больше, чем Fos<sup>+</sup>-интернейронов ( $p = 0.01$ ). Интересно, что пропорция активированных нейронов разного типа оставалась постоянной во всех областях гиппокампа, независимо от того, извлекали ли мыши аверсивную ассоциативную память об обстановке (группа “Обучение”), неассоциативную обстановочную память (группа “Обстановка”) или обследовали обстановку, ранее сочетавшуюся с немедленным ЭКР, но не запомненную животными (группа “ЭКР”), – как описано выше, фактор “группа мышей” не был значим ни в одной из изученных областей.

Несмотря на то, что пропорция нейронов разных типов не зависела от группы животных,



**Рис. 4.** Количество активированных по с-Fos пирамидных Emx1<sup>+</sup>-нейронов и GAD<sup>+</sup>-интернейронов в различных областях гиппокампа у мышей разных групп при извлечении памяти об обстановке. (а) зубчатая фасция (DG), (б) область СА1, (в) область СА3. \* –  $p < 0.05$  по сравнению с группой “Обстановка”, + –  $p = 0.02$ , ++ –  $p < 0.01$ , +++ –  $p = 0.0001$  по сравнению с группой “ЭКР”, апостериорный критерий Тьюки.

**Fig. 4.** The number of c-Fos-positive pyramidal Emx1<sup>+</sup> neurons and GAD<sup>+</sup> interneurons in three hippocampal regions of mice during context memory retrieval. (a) dentate gyrus (DG), (б) CA1 region, (в) CA3 region. \* –  $p < 0.05$  compared to the Context group, + –  $p = 0.02$ , ++ –  $p < 0.01$ , +++ –  $p = 0.0001$  compared to the Footshock group, Tukey’s multiple comparisons test.

в абсолютных количествах Fos<sup>+</sup>-пирамидных и интернейронов наблюдались значимые межгрупповые различия (рис. 4). Так, в зубчатой фасции количество Fos<sup>+</sup>Emx1<sup>+</sup>-нейронов было значимо больше у групп “Обстановка” и “Обучение”, чем у группы “ЭКР”, а количество Fos<sup>+</sup>GAD<sup>+</sup>-нейронов было значимо больше только у группы “Обучение”, чем у группы “ЭКР” (фактор “тип клеток”:  $F(1, 12) = 4.83, p = 0.045$ , фактор “группа мышей”:  $F(2, 12) = 18.37, p = 0.0002$ , взаимодействие факторов:  $F(2, 12) = 0.44, p = 0.65$ ) – рис. 4 (а). В области СА1 наблюдалось значимое повышение количества как Fos<sup>+</sup>Emx1<sup>+</sup>-, так и Fos<sup>+</sup>GAD<sup>+</sup>-нейронов у группы “Обучение”, по сравнению с контрольными группами “Обстановка” и “ЭКР” (фактор “тип клеток”:  $F(1, 12) = 2.04, p = 0.18$ , фактор “группа мышей”:  $F(2, 12) = 19.67, p = 0.0002$ , взаимодействие факторов:  $F(2, 12) = 0.26, p = 0$ ) – рис. 4 (б). В области СА3 не было обнаружено никаких значимых различий по количеству Fos<sup>+</sup>Emx1<sup>+</sup>- и Fos<sup>+</sup>GAD<sup>+</sup>-нейронов у разных групп мышей (фактор “тип клеток”:  $F(1, 12) = 3.84, p = 0.07$ , фактор “группа мышей”:  $F(2, 12) = 0.57, p = 0.58$ , взаимодействие факторов:  $F(2, 12) = 0.11, p = 0.9$ ) – рис. 4 (в).

Таким образом, нами было показано, что соотношение пирамидных и интернейронов, активи-

рующихся по с-Fos, практически одинаково для разных областей гиппокампа и не изменяется при извлечении различных форм памяти. При этом увеличение количества Fos<sup>+</sup>-клеток в области СА1 гиппокампа при извлечении ассоциативной памяти происходит в равной степени за счет активации интернейронов и пирамидных нейронов.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе было проведено сравнительное исследование вовлечения возбуждающих и тормозных нейронов гиппокампа в извлечение ассоциативной аверсивной памяти об обстановке. Для этого использовали модель обучения УРЗ на обстановку, в которой ознакомление животного с обстановкой (будущим УС) и последующий БС (нанесение ЭКР в этой обстановке) были разнесены на длительное время (Воробьева и др., 2016; Pinizzotto et al., 2020; Heroux et al., 2021; Zhu et al., 2022). Мы показали, что животные способны формировать ассоциативную аверсивную память об обстановке только в том случае, если нанесение немедленного ЭКР производится в обследованной ими ранее обстановке, в то время как одно только немедленное ЭКР не приводит к формированию ассоциации, что согласуется с данными предыдущих работ (Воробьева и др., 2016; Горопова и др., 2018; Lunardi et al., 2020).



Далее с помощью выявления белкового продукта немедленного раннего гена *c-fos* нами была изучена активация нейронов различных областей гиппокампа при извлечении аверсивной ассоциативной памяти об обстановке (группа “Обучение”), по сравнению с неассоциативной памятью об обстановке (группа “Обстановка”) или обследованием обстановки, сочетавшейся с ЭКР, но не запомненной животными (группа “ЭКР”). Мы показали, что извлечение ассоциативной памяти об обстановке сопровождается специфической активацией только области CA1 гиппокампа, но не области CA3 и не зубчатой фации гиппокампа. Считается, что область CA1 гиппокампа является критически важной для формирования нейтральной памяти об обстановке, а также ассоциативного обучения УРЗ на обстановку (Maurer, Nadel, 2021). Нейроны этой области участвуют в кодировании окружающего пространства (Alexander et al., 2020), в CA1 были найдены клетки места, активность которых была приурочена к конкретной обстановке (Khatib et al., 2023). Именно CA1 рассматривается как область, в которой происходит изменение активности нейронов и экспрессия генов в связи с обучением в классической модели УРЗ (Silva et al., 2019; Kobayashi, Matsuo, 2023). В некоторых из ранее выполненных работ по изучению экспрессии немедленных ранних генов в гиппокампе при предварительном обследовании мышами или крысами обстановки, нанесении в ней немедленного ЭКР, а также при сочетании обеих этих процедур была показана специфическая активация области CA1 при формировании аверсивной ассоциативной памяти в момент сочетания немедленного ЭКР с обследованной ранее обстановкой (Торопова и др., 2018; Pevzner, Guzowski, 2014). Однако исследований, посвященных активности различных областей гиппокампа при извлечении памяти в такой поведенческой модели, ранее не проводили.

Мы показали, что при извлечении аверсивной обстановочной памяти в различных областях гиппокампа активируются как возбуждающие  $Emx1^+$ -пирамидные нейроны, так и тормозные  $GAD^+$ -интернейроны. Пирамидные нейроны и интернейроны гиппокампа образуют сложную сеть, которая играет ключевую роль в обучении и формировании памяти, в том числе и в условно-рефлекторном замирании. Известно, что пирамидные нейроны активируются при формировании пространственных карт и обстановочной памяти (Krueger et al., 2020; Jarzowski et al., 2022; Nilchian et al., 2022). Исследования с

применением оптической стимуляции и ингибирования показывают, что пирамидные клетки гиппокампа играют ключевую роль в формировании ассоциативной памяти (Alexander et al., 2019; Krueger et al., 2020; Graham et al., 2021). Роль интернейронов, особенно парвальбумин-позитивных интернейронов, представляется не менее важной в контексте обучения и формирования условных рефлексов. Парвальбумин-позитивные интернейроны играют ключевую роль в регулировании синаптической пластичности (Kaifosh et al., 2014). Эти интернейроны ингибируют активность пирамидных нейронов в определенных временных интервалах, что способствует точному временному кодированию информации и формированию ассоциативных связей (Lee et al., 2013). Еще один класс интернейронов – NPY-положительные корзинчатые клетки – играют важную роль в регулировании сетевой активности гиппокампа (Comeras et al., 2021). Эти клетки контролируют высвобождение гамма-аминомасляной кислоты, что влияет на синаптическую пластичность и генерацию ритмической активности, сопутствующей обучению (Comeras et al., 2021). Таким образом, взаимодействие пирамидных нейронов и интернейронов различных типов в гиппокампе существенно для обучения условно-рефлекторному замиранию и формирования ассоциативной памяти.

В проведенных ранее исследованиях роли нейронов различных типов в формировании памяти, в частности участия клеток гиппокампа различных типов в обучении УРЗ на обстановку, было показано, что как пирамидные нейроны, так и интернейроны гиппокампа вовлечены в формирование ассоциативной обстановочной памяти (Lovett-Barron et al., 2014; Raza et al., 2017; Guo et al., 2018; Besnard et al., 2019; Comeras et al., 2021). Тем не менее проведенные ранее исследования были выполнены в принципиально иной парадигме – они изучали микросетевые механизмы формирования ассоциативной памяти и роль клеток какого-то одного нейронального подтипа, используя в основном электрофизиологические методы (Lovett-Barron et al., 2014; Raza et al., 2017; Guo et al., 2018; Besnard et al., 2019; Comeras et al., 2021). Нас же интересовал сравнительный анализ активности пирамидных клеток и интернейронов различных областей гиппокампа при извлечении ассоциативной обстановочной памяти. При этом метод Fos-нейроимиджинга позволил нам избирательно выявлять энграммные клетки, то есть именно те

нейроны, которые подвергаются пластическим перестройкам при обучении и, как предполагается, поддерживают хранение и воспроизведение памяти (Kitamura et al., 2017; Roy et al., 2017; Tonegawa et al., 2018; Pignatelli et al., 2019; Josselyn, Tonegawa, 2020; Zhang et al., 2020). Это позволило выяснить, относятся ли выявленные по *c-Fos* нейроны энграммы гиппокампа к пирамидным клеткам или интернейронам. Было показано, что оба эти базовых типа нейронов вовлекаются в специфическую активность при извлечении памяти, причем соотношение активированных пирамидных и интернейронов практически не зависит ни от типа поведенческого воздействия, ни от области гиппокампа, и близко к 50/50%, а наблюдавшийся при извлечении ассоциативной памяти специфический прирост количества  $Fos^+$ -клеток в области CA1 гиппокампа происходил в равной степени за счет увеличения количества активированных интернейронов и пирамидных нейронов.

Добавочную информацию по пластичности нейронов различных типов в гиппокампе дают исследования экспрессии гена *c-fos* в ответ на фармакологические или физиологические воздействия. Так, в серии работ было показано, что судороги, индуцированные электрической стимуляцией (Dragunow et al., 1992), введением 4-аминопиридина (Mihály et al., 2001) или пилокарпина (Peng et al., 2005), приводят к экспрессии *c-fos* в интернейронах разных подтипов в гиппокампе у мышей или крыс. Кроме того, показано, что ген *c-fos* экспрессируется как в пирамидных нейронах зубчатой фасции, так и в парвалбуминовых интернейронах лабораторных крыс и щетинистых крыс *Proechimys guyannensis* после пилокарпин-индуцированных судорог (Fabene et al., 2004). Высококачественная оптогенетическая стимуляция медиальной префронтальной коры стрессированных крыс не влияла на экспрессию *c-fos* в  $CaMKII^+$ -пирамидных нейронах гиппокампа, но приводила к усилению его экспрессии в  $GAD^+$ -интернейронах (Parr et al., 2022). Стимуляция околосинаптического серого вещества, наоборот, приводила к снижению количества  $Fos^+$ -парвалбумин-позитивных интернейронов в гиппокампе крыс (Temel et al., 2013). Введение эстрадиола самкам крыс приводило к индукции *c-fos* в небольшом количестве  $GAD^+$ -интернейронов областей CA1 и CA3 гиппокампа (Rudick et al., 2000). И, наконец, исследование активации экспрессии *c-fos* в парвалбуминовых и кальбиндиновых интернейронах коры и гиппокампа показало, что при введении

фенциклидина крысам активировались парвалбуминовые интернейроны области CA1 (Hervig et al., 2016). Таким образом, исследования соотношения активирующихся по экспрессии *c-fos* пирамидных и интернейронов ранее не проводили. В представленных выше работах было показано, что *c-fos* может экспрессироваться как в пирамидных, так и в интернейронах различных подтипов в ответ на фармакологические и физиологические воздействия. При этом изменения в соотношении разных типов нейронов в контрольных и экспериментальных группах не оценивали. В нашей работе мы впервые показали, что соотношение входящих в энграмму пирамидных и интернейронов не изменяется в зависимости от типа поведенческого воздействия.

Таким образом, нами было проведено первое сравнительное исследование вовлечения пирамидных клеток и интернейронов гиппокампа в извлечение различных форм памяти и показано, что нейроны обоих типов вовлекаются в специфическую активность при извлечении памяти, причем соотношение типов активированных нейронов практически не зависит ни от поведенческого воздействия, ни от области гиппокампа, и близко к 50/50%, а наблюдающийся при извлечении ассоциативной памяти специфический прирост количества  $Fos^+$ -клеток в области CA1 гиппокампа происходит в равной степени за счет увеличения количества активированных интернейронов и пирамидных нейронов. В связи с тем, что и пирамидные нейроны, и интернейроны гиппокампа делятся на различные клеточные подтипы (Zeisel et al., 2015; Tasic et al., 2016; Zeng, Sanes, 2017; Booker, Vida, 2018), следующим вопросом, требующим исследования, является то, экспрессируют ли *c-fos* при обучении и извлечении памяти все эти подтипы нейронов в равной степени, или только некоторые из них?

## ВЫВОДЫ

Извлечение ассоциативной памяти об обстановке, сформированной ранее при разнесении во времени предварительного предъявления обстановки и аверсивного безусловного стимула, сопровождается увеличением количества *c-Fos*-положительных клеток в области CA1 гиппокампа.

При извлечении памяти об обстановке в гиппокампе активируются как положительные по маркеру *Emx1* возбуждающие нейроны, так и тормозные интернейроны, положительные по маркеру *GAD*.



При этом независимо от типа поведенческого воздействия пропорция активированных возбуждающих и тормозных нейронов остается постоянной, изменяется только количество активированных клеток каждого типа.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда: проект № 20-15-00283 — поведенческие эксперименты и эксперименты по анализу экспрессии *c-fos* при извлечении памяти; проект № 23-78-00010 — эксперименты по анализу активации нейронов разных типов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Воробьева Н.С., Ивашкина О.И., Торопова К.А., Анохин К.В.* Долговременная обстановочная память у мышей: продолжительность и способность к ассоциации с подкрепляющим воздействием. Журн. высш. нервн. деят. им. Павлова. 2016. 66 (3): 352–360.
- Торопова К.А., Трошев Д.В., Ивашкина О.И., Анохин К.В.* Активация экспрессии *c-Fos* в ретроспленальной коре, но не гиппокампе, сопровождает формирование ассоциации между обстановкой и безусловным стимулом и ее последующее извлечение у мышей. Журн. высш. нервн. деят. им. Павлова. 2018. 68 (6): 759–774.
- Alexander A.S., Robinson J.C., Dannenberg H., Kinsky N.R., Levy S.J., Mau W. et al.* Neurophysiological coding of space and time in the hippocampus, entorhinal cortex, and retrosplenial cortex. *Brain Neurosci Adv.* 2020. 4: 2398212820972871.
- Alexander G.M., Riddick N.V., McCann K.E., Lustberg D., Moy S.S., Dudek S.M.* Modulation of CA2 neuronal activity increases behavioral responses to fear conditioning in female mice. *Neurobiol Learn Mem.* 2019. 163: 107044.
- Barrientos R.M., Reilly R.C.O., Rudy J.W.* Memory for context is impaired by injecting anisomycin into dorsal hippocampus following context exploration. *Behav. Brain Res.* 2002. 134: 299–306.
- Besnard A., Gao Y., TaeWoo Kim M., Twarkowski H. et al.* Dorsolateral septum somatostatin interneurons gate mobility to calibrate context-specific behavioral fear responses. *Nat Neurosci.* 2019. 22 (3): 436–446.
- Booker S.A., Vida I.* Morphological diversity and connectivity of hippocampal interneurons. 2018. *Cell Tissue Res.* 373 (3): 619–641.
- Buhl E., Whittington M.* Local Circuits. The Hippocampus Book. Ed. Per Andersen et al. New York: Oxford Neuroscience Series, 2006. 297–320.
- Chan C.-H., Godinho L.N., Thomaidou D., Tan S.-S., Gulisano M., Parnavelas J.G.* *Emx1* is a Marker for Pyramidal Neurons of the Cerebral Cortex. *Cerebral Cortex.* 2001. 11 (12): 1191–1198.
- Comeras L.B., Hörner N., Mohan Bethuraj P., Tasan R.O.* NPY Released from GABA neurons of the dentate gyrus specially reduces contextual fear without affecting cued or trace fear. *Front. Synaptic Neurosci.* 2021. 13: 635–726.
- Curzon P., Rustay N.R., Browman K.E.* Cued and Contextual Fear Conditioning for Rodents. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience.* 2nd ed. Ed. Buccafusco J.J. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2009. Chapter 2.
- Dragunow M., Yamada N., Bilkey D.K., Lawlor P.* Induction of immediate-early gene proteins in dentate granule cells and somatostatin interneurons after hippocampal seizures. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1992. 13 (1–2): 119–126.
- Eichenbaum H.* What Versus Where: Non-spatial Aspects of Memory Representation by the Hippocampus. *Curr Top Behav Neurosci.* 2018. 37: 101–117.
- Fabene P.F., Andrioli A., Priel M.R., Cavalheiro E.A., Bentivoglio M.* Fos induction and persistence, neurodegeneration, and interneuron activation in the hippocampus of epilepsy-resistant versus epilepsy-prone rats after pilocarpine-induced seizures. *Hippocampus.* 2004. 14 (7): 895–907.
- Franklin B.J., Paxinos G.* The mouse brain in stereotaxic coordinates, 3rd ed. New York: Academic Press, 2007.
- Graham J., D'Ambra A.F., Jung S.J., Teratani-Ota Y., Vishwakarma N., Venkatesh R. et al.* High-frequency stimulation of ventral CA1 neurons reduces amygdala activity and inhibits fear. *Front Behav Neurosci.* 2021. 15: 595049.
- Guo N., Soden M.E., Herber C., Kim M.T., Besnard A., Lin Pw. et al.* Dentate granule cell recruitment of feedforward inhibition governs engram maintenance and remote memory generalization. *Nat Med.* 2018. 24 (4): 438–449.
- Heroux N.A., Horgan C.J., Stanton M.E.* Prefrontal NMDA-receptor antagonism disrupts encoding or consolidation but not retrieval of incidental context learning. *Behav. Brain Res.* 2021. 405: 113175.
- Hervig M.E., Thomsen M.S., Kalló I., Mikkelsen J.D.* Acute phencyclidine administration induces *c-Fos*-immunoreactivity in interneurons in cortical and subcortical regions. *Neuroscience.* 2016. 334: 13–25.
- Houser C.R.* Interneurons of the dentate gyrus: an overview of cell types, terminal fields and neurochemical identity. *Prog. Brain Res.* 2007. 163: 217–232.
- Jarzebowski P., Hay Y.A., Grewe B.F., Paulsen O.* Different encoding of reward location in dorsal and intermediate hippocampus. *Curr Biol.* 2022. 32(4): 834–841.
- Josselyn S.A., Tonegawa S.* Memory engrams: Recalling the past and imagining the future. *Science.* 2020. 367 (6473): eaaw4325.
- Kaifosh P., Lovett-Barron M., Turi G.F., Reardon T.R., Losonczy A.* Septo-hippocampal GABAergic signaling across multiple modalities in awake mice. *Nat Neurosci.* 2013. 16 (9): 1182–1184.

- Khatib D., Ratzon A., Sellevoll M., Barak O., Morris G., Derdikman D.* Active experience, not time, determines within-day representational drift in dorsal CA1. *Neuron*. 2023. 111 (15): 2348–2356.e5.
- Kitamura T., Ogawa S.K., Roy D.S., Okuyama T., Morrissey M.D., Smith L.M. et al.* Engrams and circuits crucial for systems consolidation of a memory. *Science*. 2017. 356 (6333): 73–78.
- Kobayashi K.S., Matsuo N.* Persistent representation of the environment in the hippocampus. *Cell Rep*. 2023. 42 (1): 111989.
- Krueger J.N., Wilmut J.H., Teratani-Ota Y., Puhger K.R., Nemes S.E., Crestani A.P. et al.* Amnesia for context fear is caused by widespread disruption of hippocampal activity. *Neurobiol Learn Mem*. 2020. 175: 107295.
- Lee S.A.* Navigational roots of spatial and temporal memory structure. *Anim. Cogn*. 2023. 26 (1): 87–95.
- Lee S.H., Marchionni I., Bezaire M., Varga C., Danielson N., Lovett-Barron M. et al.* Parvalbumin-positive basket cells differentiate among hippocampal pyramidal cells. *Neuron*. 2014. 82 (5): 1129–1144.
- Lovett-Barron M., Kaifosh P., Kheirbek M.A., Danielson N., Zaremba J.D., Reardon T.R. et al.* Dendritic inhibition in the hippocampus supports fear learning. *Science*. 2014. 343 (6173): 857–863.
- Lunardi P., de Souza L.W., Dos Santos B., Popik B., de Oliveira Alves L.* Effect of the endocannabinoid system in memory updating and forgetting. *neuroscience*. 2020. 444: 33–42.
- Matus-Amat P., Higgins E.A., Barrientos R.M., Rudy J.M.* The role of the dorsal hippocampus in the acquisition and retrieval of context memory representations. *J. Neurosci*. 2004. 24 (10): 2431–2439.
- Matus-Amat P., Higgins E.A., Sprunger D., Wright-Hardesty K., Rudy J.W.* The role of dorsal hippocampus and basolateral amygdala NMDA receptors in the acquisition and retrieval of context and contextual fear memories. *Behav. Neurosci*. 2007. 121 (4): 721–731.
- Maurer A.P., Nadel L.* The Continuity of Context: A Role for the hippocampus. *Trends Cogn Sci*. 2021. 25 (3): 187–199.
- Mihály A., Szakács R., Bohata C., Dobó E., Krisztin-Péva B.* Time-dependent distribution and neuronal localization of c-fos protein in the rat hippocampus following 4-aminopyridine seizures. *Epilepsy Res*. 2001. 44 (2–3): 97–108.
- Nambu M.F., Lin Y.J., Reuschenbach J., Tanaka K.Z.* What does engram encode? Heterogeneous memory engrams for different aspects of experience. *Curr. Opin. Neurobiol*. 2022. 75: 102568.
- Nilchian P., Wilson MA, Sanders H.* Animal-to-Animal Variability in Partial Hippocampal Remapping in Repeated Environments. *J Neurosci*. 2022. 42 (26): 5268–5280.
- Papp M., Gruca P., Lason M., Litwa E., Solecki W., Willner P.* Optogenetic stimulation of medial prefrontal cortex excites GABAergic cells in the nucleus accumbens and hippocampus of Wistar-Kyoto rats exposed to chronic mild stress. *Psychopharmacology (Berl)*. 2022. 239 (7): 2299–2307.
- Peng Z., Houser C.R.* Temporal patterns of fos expression in the dentate gyrus after spontaneous seizures in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci*. 2005. 25 (31): 7210–7220.
- Pevzner A., Guzowski J.F.* Immediate-early gene transcriptional activation in hippocampus CA1 and CA3 does not accurately reflect rapid, pattern completion-based retrieval of context memory. *Learn. Mem*. 2014. 22 (1): 1–5.
- Pignatelli M., Ryan T.J., Roy D.S., Lovett C., Smith L.M., Murralidhar S., Tonegawa S.* Engram cell excitability state determines the efficacy of memory retrieval. *Neuron*. 2019. 101 (2): 274–284.e5.
- Pinizzotto C.C., Heroux N.A., Horgan C.J., Stanton M.E.* Role of dorsal and ventral hippocampal muscarinic receptor activity in acquisition and retention of contextual fear conditioning. *Behav. Neurosci*. 2020. 134 (5): 460–470.
- Ramírez-Franco J.J., Muñoz-Cuevas F.J., Luján R., Jurado S.* Excitatory and inhibitory neurons in the hippocampus exhibit molecularly distinct large dense core vesicles. *Front. Cell Neurosci*. 2016. 10: 202.
- Raza S.A., Albrecht A., Çalıřkan G., Müller B., Demiray Y.E., Ludewig S. et al.* HIP neurons in the dentate gyrus mediate the cholinergic modulation of background context memory salience. *Nat. Commun*. 2017. 8 (1): 189.
- Roy D.S., Kitamura T., Okuyama T., Ogawa S.K., Sun C., Obata Y. et al.* Distinct Neural circuits for the formation and retrieval of episodic memories. *Cell*. 2017. 170 (5): 1000–1012.e19.
- Rudick C.N., Woolley C.S.* Estradiol induces a phasic Fos response in the hippocampal CA1 and CA3 regions of adult female rats. *Hippocampus*. 2000. 10 (3): 274–283.
- Rudy J.W., Barrientos R.M., O'Reilly R.C.* Hippocampal formation supports conditioning to memory of a context. *Behav. Neurosci*. 2002. 116 (4): 530–538.
- Rudy J.W., O'Reilly R.C.* Conjunctive representations, the hippocampus, and contextual fear conditioning. *Cogn. Affect. Behav. Neurosci*. 2001. 1 (1): 66–82.
- Silva B.A., Burns A.M., Gräff J.* A cFos activation map of remote fear memory attenuation. *Psychopharmacology (Berl)*. 2019. 236 (1): 369–381.
- Takahashi S.* The hippocampal ensemble code for spatial navigation and episodic memory. *Adv. Neurobiol*. 2018. 21:49-70.
- Takamiya S., Shiotani K., Ohnuki T., Osako Y., Tanisumi Y., Yuki S. et al.* Hippocampal CA1 neurons represent positive feedback during the learning process of an associative memory task. *Front. Syst. Neurosci*. 2021. 15: 718619.
- Tasic B., Menon V., Nguyen T.N., Kim T.K., Jarsky T., Yao Z. et al.* Adult mouse cortical cell taxonomy revealed by single cell transcriptomics. *Nat. Neurosci*. 2016. 19 (2): 335–346.
- Temel Y., Blokland A., Lim L.W.* Deactivation of the parvalbumin-positive interneurons in the hippocampus after fear-like behaviour following electrical stimulation of

- the dorsolateral periaqueductal gray of rats. *Behav. Brain Res.* 2012. 233 (2): 322–325.
- Tonegawa S., Morrissey M.D., Kitamura T. The role of engram cells in the systems consolidation of memory. *Nat. Rev. Neurosci.* 2018. 19 (8): 485–498.
- Topolnik L., Tamboli S. The role of inhibitory circuits in hippocampal memory processing. *Nat. Rev. Neurosci.* 2022. 23 (8): 476–492.
- Tzivilaki A., Tukker J.J., Maier N., Poirazi P., Sammons R.P., Schmitz D. Hippocampal GABAergic interneurons and memory. *Neuron.* 2023. 111 (20): 3154–3175.
- Wotjak C.T. Sound check, stage design and screen plot – how to increase the comparability of fear conditioning and fear extinction experiments. *Psychopharmacology.* 2019. 236 (1): 33–48.
- Zeisel A., Muñoz-Manchado A.B., Codeluppi S., Lönnerberg P., La Manno G., Juréus A. et al. Brain structure. Cell types in the mouse cortex and hippocampus revealed by single-cell RNA-seq. *Science.* 2015. 347 (6226): 1138–1142.
- Zeng H., Sanes J.R. Neuronal cell-type classification: challenges, opportunities and the path forward. *Nat. Rev. Neurosci.* 2017. 18 (9): 530–546.
- Zhang X., Kim J., Tonegawa S. Amygdala reward neurons form and store fear extinction memory. *Neuron.* 2020. 105 (6): 1077–1093.e7.
- Zhu M., Perkins M.G., Lennertz R., Abdulzahir A., Pearce R.A. Dose-dependent suppression of hippocampal contextual memory formation, place cells, and spatial engrams by the NMDAR antagonist (R)-CPP. *Neuropharmacology.* 2022. 218: 109215.

## COMPARATIVE ANALYSIS OF THE EXCITATORY AND INHIBITORY HIPPOCAMPAL NEURONS ACTIVITY DURING ASSOCIATIVE CONTEXT MEMORY RETRIEVAL

K. A. Toropova<sup>a,b,#</sup>, O. I. Ivashkina<sup>a,b</sup>, N. S. Vorobyeva<sup>a</sup>, K. V. Anokhin<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Institute for advanced brain studies, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>b</sup>Laboratory of neuronal intelligence, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

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

In the present study, we analyzed the differential involvement of hippocampal interneurons and pyramidal neurons in the retrieval of associative aversive context memory. For this purpose, we used a model of associative learning in which the formation of a neutral context memory and the subsequent association of this memory with the footshock US during a brief reminder of the context were significantly separated in time. The activation of hippocampal neurons during associative context memory retrieval in this task was addressed by immunohistochemical detection of the immediate early gene *c-fos* protein. Retrieval of associative context memory was accompanied by an increase in the number of c-Fos-positive cells in the CA1 region, but not in the CA3 region and the dentate gyrus of the hippocampus. Next, a protein marker, the product of the homeobox-containing gene *Emx1*, was used to specifically identify excitatory neurons, and the marker glutamate decarboxylase, GAD, the product of the *GAD1* and *GAD2* genes, was used to specifically identify inhibitory neurons. The results of double staining for cell markers and c-Fos protein showed that during retrieval of associative aversive context memory in the CA1 region of the hippocampus, both *Emx1*-positive excitatory neurons and, less, GAD-positive inhibitory interneurons were activated. At the same time, regardless of the type of behavioral procedure (retrieval of associative context memory, non-associative context memory, or exploration of context, where animals previously received the footshock but did not remember it), the proportion of activated excitatory and inhibitory neurons remained constant, only the number of activated cells of each type changed. Altogether, our results indicate the specific role of hippocampal CA1 neurons in associative context memory and demonstrate that both excitatory and inhibitory neurons are involved in the encoding of such memory.

**Keywords:** associative memory, memory retrieval, fear conditioning, hippocampus, *c-fos*, excitatory neurons, inhibitory interneurons

## ОЦЕНКА СЕНСОМОТОРНОГО РАЗВИТИЯ, ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ ПОТОМСТВА ВТОРОГО ПОКОЛЕНИЯ КРЫС С ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ

© 2024 г. О. В. Яковлева\*, В. В. Скрипникова, А. В. Яковлев, Г. Ф. Ситдикова

Кафедра физиологии человека и животных, ИФМиБ, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

\*e-mail: a-olay@yandex.ru

Поступила в редакцию 08.09.2023 г.

После доработки 23.11.2023 г.

Принята к публикации: 11.03.2024 г.

Неблагоприятные условия, воздействующие на мать в период беременности, не только нарушают развитие потомства, но и могут влиять на последующие поколения. Одним из факторов, который может опосредовать наследственные метаболические заболевания, является эпигенетическая регуляция транскрипции. Эпигенетические модификации генома наблюдаются при повышении концентрации гомоцистеина в крови, что может сопровождаться изменениями программы развития мозга плода и когнитивными нарушениями. Целью нашей работы было проанализировать сенсомоторное развитие, поведенческие реакции и когнитивные функции потомства крыс с гипергомоцистеинемией во втором поколении (ГГцF2). Нами было показано отставание в формировании безусловных рефлексов и физических параметров у крыс ГГцF2. В тесте “открытое поле” у этих животных наблюдались высокая тревожность, снижение исследовательской и двигательной активности, при этом координация движений в тесте “ротарод” не была нарушена, но наблюдалось снижение силы мышц конечностей в тесте “сила хвата”. В тесте “водный лабиринт Морриса” у крыс ГГцF2 ухудшались обучение и долговременная память. Биохимический анализ показал нарушение баланса в работе антиоксидантных систем, вследствие снижения активности глутатионпероксидаз и ферментов синтеза сероводорода. Можно предположить, что высокий уровень гомоцистеина во время беременности приводит к эпигенетическим изменениям генома, влияющим на метаболизм потомства и передающимся последующим поколениям.

*Ключевые слова:* гипергомоцистеинемия, второе поколение, сенсомоторное развитие, тревожность, память, обучение, координация движений, окислительный стресс

DOI: 10.31857/S0044467724020049

### ВВЕДЕНИЕ

Гипергомоцистеинемия (ГГц) – это состояние, при котором наблюдается повышение уровня гомоцистеина в плазме выше 15 мкМ (Fu et al., 2018) вследствие генетически детерминированных или приобретенных нарушений метаболизма гомоцистеина. Гомоцистеин образуется из метионина путем деметилирования с образованием S-аденозил-L-метионина (SAM), являющегося донором метильных групп, необходимых для реакций трансметилирования ДНК, РНК, белков, липидов и др. Гомоцистеин далее подвергается реметилированию в присутствии витамина B12 и метилтетрагидрофолат (активной формы фолиевой кислоты). Второй путь метаболизма гомоцистеина – транссульфурация – приводит к образованию цистатионина и цистеина, предшественника глутатиона с помощью цистатионин-β-синтазы и витамина

B6 как кофактора. Избыток метионина в диете, мутации или полиморфизм генов, ответственных за ферменты метионинового цикла, дефицит витаминов группы B приводят к ГГц (Petras et al., 2014; Bhatia, Singh, 2015; Yakovleva et al., 2018; Moretti, Caruso, 2019; Арутюнян и др., 2022; Яковлев и др., 2022). Доказана связь ГГц с патологиями беременности, такими как внутриутробная задержка развития и гибель плода, самопроизвольный аборт, отслойка плаценты, преэклампсия, нарушение маточно-плацентарного и фетоплацентарного кровообращения, васкулиты и тромбоз сосудов, а также нарушения когнитивной функции у детей (Hague, 2003; Streck et al., 2004; Арутюнян и др., 2010; Shcherbitskaya et al., 2017; Chaudhry et al., 2019; Арутюнян и др., 2021).

Окислительное повреждение и воспаление тканей играют значительную роль в нейроток-

## МЕТОДИКА

*Объект исследования*

сичности, индуцированной гомоцистеином, который способен проникать через плацентарный барьер и непосредственно повреждать ткани плода (Machado et al., 2011; Shcherbitskaya et al., 2017; Yakovleva et al., 2018; Yakovleva et al., 2020). Показано накопление гомоцистеина в течение пренатального периода в различных областях мозга плода, – включая мозжечок, гиппокамп, полосатое тело, – вызывающее эксайтотоксичность с последующим апоптозом (Blaise et al., 2007; Koz et al., 2010; Pustygina et al., 2015), что может нарушать созревание нейрональной сети в критические периоды развития (Yakovlev et al., 2018; Yakovlev et al., 2023). Действительно, в моделях материнской ГГц у грызунов показаны ранние нарушения развития и долговременные когнитивные дисфункции потомства (Blaise et al., 2007; Gerasimova et al., 2017; Kumar et al., 2017; Shcherbitskaya et al., 2017; Yakovleva et al., 2018; Arutjunyan et al., 2020; Yakovleva et al., 2020). Эпигенетические нарушения являются еще одним следствием ГГц (Molloy et al., 2002; Scholz et al., 2015). Так, в моделях ГГц различного генеза у взрослых животных показаны изменения содержания ДНК-метилтрансфераз, общего метилирования ДНК, метилирования CpG-богатых регуляторных областей и промоторов отдельных генов в мозге (Pogribny et al., 2008; Kalani et al., 2014; Li et al., 2017; Арутюнян и др., 2021). Одним из факторов патологии пренатальной ГГц является воздействие на уровень метилирования ДНК, сопровождающееся изменением программы развития мозга плода (Geoffroy et al., 2019), что наряду с нейрохимическими изменениями в мозге при ГГц (Shcherbitskaya et al., 2017; Arutjunyan et al., 2020) может приводить к патологиям развития потомства следующего поколения. Действительно, дефицит фолиевой кислоты и витамина В12 во время беременности влияет на внутриутробное развитие плода, что в дальнейшем приводит к поведенческим аномалиям во взрослой жизни и является достаточным для нарушения когнитивного поведения в последующем поколении (Langie et al., 2013; Kumar, Sandhir, 2019).

В нашей работе мы оценивали сенсомоторное развитие, поведенческие реакции и когнитивные функции потомства второго поколения (F2) крыс с ГГц. Кроме того, мы определили концентрации гомоцистеина, сероводорода и уровень окислительного стресса по концентрации малонового диальдегида и активности глутатионпероксидаз в тканях мозга крыс второго поколения.

Эксперименты проводились на крысах Wistar в возрасте от 2 до 30 дня жизни (P2-30, где P0 – день рождения), которые содержались в стандартных условиях вивария КФУ в полипропиленовых клетках (32 × 40 × 18 см) при стабильной комнатной температуре, 12-часовом цикле “день-ночь” (свет включается в 07:00) и со свободным доступом к пище и воде на полнорационной сбалансированной по содержанию питательных веществ диете для лабораторных животных. Эксперименты проводились в соответствии с Директивой ЕС 2010/63/EU для экспериментов на животных и одобрены Локальным этическим комитетом КФУ (протокол № 33 от 21.11.2021).

Для моделирования ГГц крысы ежедневно получали метионин с пищей (7.7 г/кг корма) три недели до и во время беременности. У самок за 7 дней до подсадки самца измеряли концентрацию гомоцистеина в плазме. Далее мы получали потомство ГГцF1, у которого также проводили измерение концентрации гомоцистеина в плазме в возрасте 3–4 месяца (рис. 1 (а)).

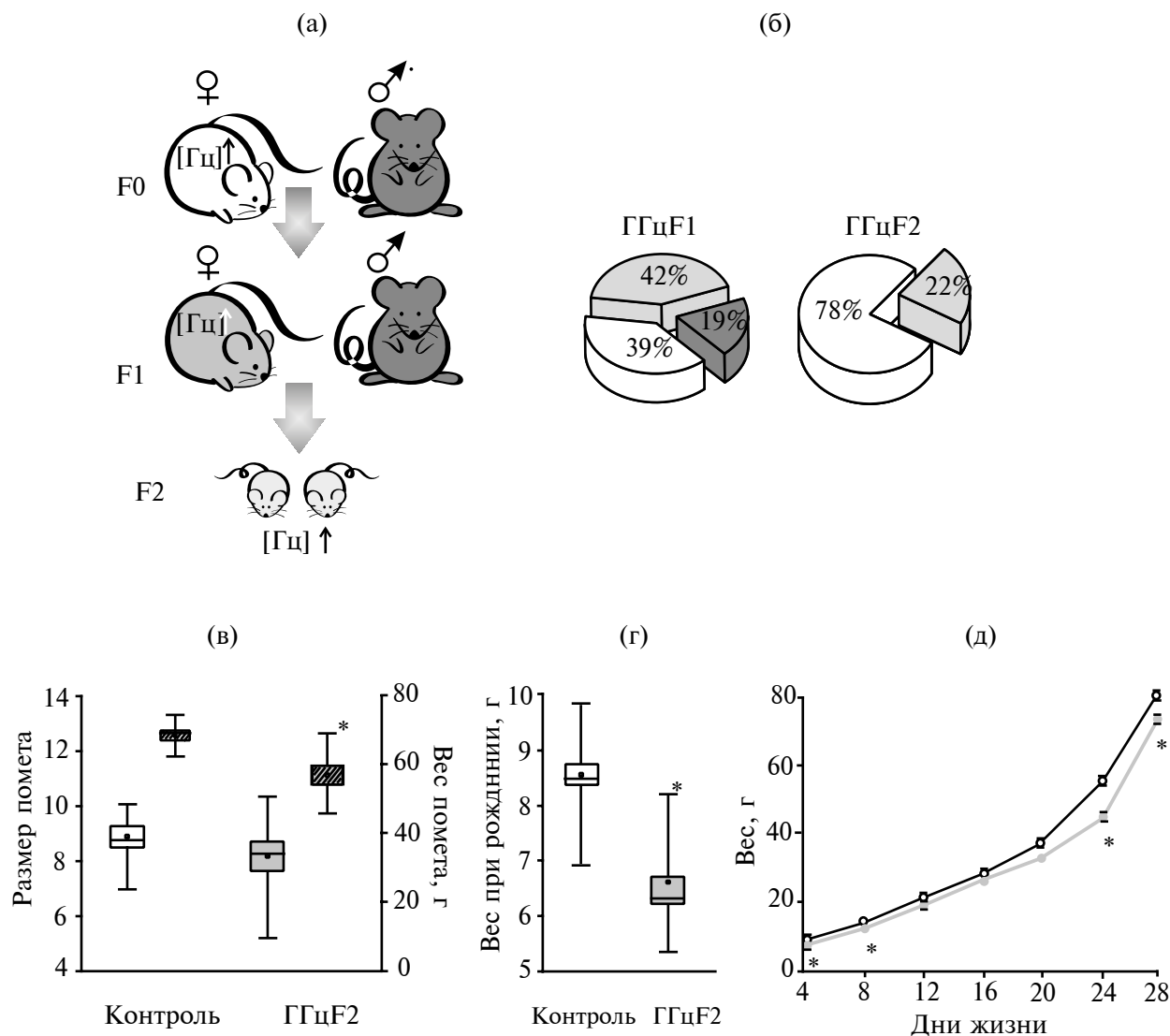
Ксамкам ГГцF1 с концентрацией гомоцистеина в плазме  $15 \pm 1$  мкМ ( $n = 10$ ) подсаживали здоровых самцов для получения потомков ГГцF2 (рис. 1(а)).

Животные были разделены на две группы:

- 1) контрольная группа (К,  $n = 53$  крысенка,  $N = 6$  пометов) – потомство от контрольных самок;
- 2) ГГцF2 ( $n = 60$  крысят,  $N = 8$  пометов) – второе поколение крыс от самок с ГГц.

*Общее наблюдение за физическим развитием потомства*

Подсчитывали количество родившихся в популяции крысят, измеряли вес животных при рождении и в течение всего эксперимента, наблюдали за их физическим развитием: фиксировали день появления первичного волосяного покрова, отлипания ушной раковины, прорезывания резцов, открытия глаз. Смертность определялась как процент умерших крысят относительно рожденных за период от рождения до 14-го дня жизни.



**Рис. 1.** Уровень гомоцистеина, размер и вес помета, набор массы у крыс второго поколения, рожденных от самок с ГГЦ. (а) – схема получения потомства второго поколения ([ГЦ] – концентрация гомоцистеина), (б) – уровень гомоцистеина у животных, рожденных от самок с ГГЦ, в первом (ГГЦF1) и втором поколении (ГГЦF2). Процент животных с концентрацией гомоцистеина в плазме в пределах нормы (0–9 мкМ, белый сектор), с легкой ГГЦ (10–20 мкМ, светло-серый сектор), умеренной ГГЦ (21–50 мкМ, темно-серый сектор). (в) – размер и общий вес помета (заштриховано) у контрольных самок (белый квадрат), у самок с ГГЦ (серый квадрат). (г) – вес при рождении крыс контрольной (белый квадрат) и ГГЦF2 групп (серый квадрат). Прямоугольник – 25–75%, квадратик внутри – среднее значение, центральная линия – медиана, “усы” – значения минимума / максимума. (д) – динамика набора веса крысят контрольной (белый квадрат) и ГГЦF2 групп (серый квадрат). \*  $p < 0.05$  по сравнению с контрольной группой.

**Fig. 1.** The homocysteine levels, litter size and weight, and weight gain in the second generation rats born from dams with HHcy. (a) – the scheme shows the protocol for obtaining second-generation offspring, (б) – homocysteine level in animals born from females with HHcy in the first (HcyF1) and second-generation (HcyF2). Percentage of animals with plasma homocysteine concentrations within the normal range (0–9 μM, white sector), mild HHcy (10–20 μM, light gray sector), moderate HHcy (21–50 μM, dark gray sector). (в) – Litter size and total weight (shaded) in control females (white square), in females with HHcy (gray square). (г) – Birth weight of rats in control (white square) and HcyF2 groups (gray square). Rectangle – 25–75%, square inside – average value, central line – median, “whiskers” – minimum/maximum values. (д) – dynamics of weight gain in rat pups of the control (white square) and HcyF2 groups (gray square). \*  $p < 0.05$  compared to the control group.

*Тесты на формирование безусловных рефлексов*

Все тесты были разделены на 2 группы: до 15 суток, пока крысята питаются молоком матери, и после 15 суток, когда они переходят на смешанное питание (Smart, Dobbing, 1971; Kiss et al., 2013).

Тесты:

- “Переворачивание на плоскости”
- “Отрицательный геотаксис”
- “Избегание обрыва”
- “Маятниковый рефлекс”
- “Реакция на акустический стимул”
- “Избегание обрыва (вызванное визуальным стимулом)”
- “Обонятельная реакция”
- “Переворачивание в свободном падении”

*Анализ двигательной функции*

Мышечная выносливость оценивалась с помощью теста “сила хвата” на P4, P14, P18 и P26. Крыс помещали на проволочную сетку и осторожно встряхивали, чтобы побудить крысу схватиться за сетку. Сетку переворачивали вверх дном над клеткой и удерживали на высоте ~ 0.45 м над дном открытой клетки. Оценивалось время (с), проведенное на сетке до падения. Для анализа использовалось наибольшее значение из трех отдельных испытаний (Weydt et al., 2003; Yakovleva et al., 2018).

Для оценки координации движений передних, задних конечностей и равновесия на P16 и P26 использовали ротарод. Каждую крысу помещали на вращающийся стержень со скоростью вращения 5 оборотов в минуту (об/мин) и измеряли время до падения и дистанцию бега. Животных подвергали трем последовательным сеансам с интервалом 20–30 мин и регистрировали максимальное время пребывания на вращающемся цилиндре (Karl et al., 2003; Yakovleva et al., 2018).

*Тест “открытое поле”*

В тесте “открытое поле” (ОП) фиксируется стратегия поведения грызунов на открытой площадке. Тест ОП проводили трижды: на 8, на 16 и на 26 дни после рождения (Kraeuter et al., 2019; Yakovleva et al., 2019).

В возрасте P8 (ОП1) крысят помещали на площадку размерами 30 × 30 см, разделенную на

36 квадратов, на 1 минуту, в течение которой регистрировали:

- поднимание головы;
- ползание, опору на задние конечности, подъем всего тела, т.е. двигательную активность (число пересеченных квадратов).

В возрастах P16 и P26 (ОП2 и ОП3) крысу помещали в центр ярко освещенной круглой площадки диаметром 60 см, разбитой на 36 квадратов, на 3 мин. Регистрировали такие показатели, как:

- поднимание головы и число обследованных норок – исследовательская активность;
- вертикальная двигательная активность, т.е. число стоек на задних лапах – исследовательская активность;
- количество пересеченных квадратов, т.е. горизонтальная двигательная активность (перемещение по периферии, прецентральной и центральной части поля);
- акты груминга (движение лап вокруг носа, умывание области глаз, головы, боков, туловища, аногенитальной области и хвоста);
- акты дефекации.

После каждого животного площадку тщательно мыли, протирали спиртовым раствором.

По отношению суммы показателей горизонтальной активности в центральном и прецентральных секторах поля к общей сумме показателей горизонтальной двигательной активности вычисляли индекс тревожности у крыс (Капица и др., 2020).

Тест “водный лабиринт Морриса” (ВЛМ). Поведенческие наблюдения за пространственным обучением и памятью проводили в водном лабиринте, модифицированном для крыс на основе Streck et al., 2004. Исследование проводили на крысах возраста P21–P22 в цилиндрической емкости диаметром 100 см и глубиной 40 см (Open Science, Россия), которая была заполнена водой, подкрашенной нежирным молоком на уровень 30 см над дном (температура 26–28 °С). В испытательной комнате располагали различные предметы, которые крысы могли использовать для пространственной ориентации. Платформа из плексигласа (10 см в диаметре) располагалась на 1 см ниже поверхности воды.

Процесс обучения включал 6 подходов, в ходе которых животное должно было находить скры-

тую платформу. При обнаружении платформы крысы оставались на ней в течение 30 с. Межиспытательный интервал составлял 15 с. Исходное положение в водном лабиринте было псевдослучайным, если крыса не находила платформу в течение 1 мин, ее осторожно подводили к платформе. Через 1 и 24 ч после обучения крыса повторно опускалась в бассейн, и регистрировалось время нахождения платформы, что позволило оценить нарушения кратковременной и долговременной памяти соответственно.

Каждый тест записывался с помощью цветной видеокамеры Sony SSC-G118 (Китай), захватывающей приставки и программы Pinnacle Studio (Corel Corporation, Ottawa, Canada) и обсчитывался после проведения эксперимента независимым исследователем. Траектория плавания была проанализирована вручную у 15 животных из каждой группы, и были определены четыре основных типа стратегии поиска: тигмотаксис, когда животное проводит большую часть времени у стены (некогнитивная форма); вторжение (случайный поиск), когда животное плавает вдоль стены, но также двигается и в центральные области; сканирование, при котором исследуются центральные области арены, и сканирование цели (направленный поиск) – плавание вблизи платформы (Ивлиева и др., 2016; Yakovleva et al., 2020).

#### *Биохимический анализ*

Концентрация гомоцистеина в плазме определялась с использованием набора Homocysteine Colorimetric Assay Kit (E-BC-K143, ElabScience, USA) спектрофотометрическим методом с использованием ИФА-ридера (Multiskan FS, Thermo Fisher Scientific, USA).

#### *Анализ продукции H<sub>2</sub>S*

Концентрацию сульфидов и скорость образования H<sub>2</sub>S измеряли с использованием N,N-диметил-п-фенилендиамина (NNDPD) (Yusuf et al., 2005; Yakovleva et al., 2020). Определение основано на способности сероводорода и сульфидов образовывать в кислой среде с продуктами окисления NNDPD и солью железа (III) метиленовую синь, интенсивность окраски которой пропорциональна содержанию сульфидов в образце. Ткани головного мозга крыс гомогенизировали в ледяной 0.15 М NaCl с 1 М фосфатным буфером pH 7.4. Гомогенат (10%, 860 мкл) смешивали с ацетатом цинка (1%, 500 мкл) и 0.15 М NaCl (140 мкл) при комнатной температуре. Для остано-

ки реакции добавляли трихлоруксусную кислоту (10%, 500 мкл). Для оценки скорости образования H<sub>2</sub>S гомогенат мозга (10%, 860 мкл) смешивали с L-цистеином (10 мМ, 40 мкл), пиридоксаль 5'-фосфатом (2 мМ, 40 мкл) и 0.15 М NaCl (60 мкл) и инкубировали при 37 °С в течение 60 мин.

В обоих случаях пробы смешивали с NNDPD (20 мМ, 266 мкл) в 7.2 М HCl и FeCl<sub>3</sub> (30 мМ, 266 мкл) в 1.2 М HCl и измеряли поглощение полученного раствора при 670 нм методом спектрофотометрии (Спектрофотометр ПЭ-5300ВИ, ООО “ЭКРОСХИМ”, Россия). Концентрации H<sub>2</sub>S рассчитывали по калибровочной кривой NaHS. Активность синтеза H<sub>2</sub>S выражалась в мкМ/г H<sub>2</sub>S, вырабатываемого 1 г ткани в минуту (мкМ/мин/г).

#### *Перекисное окисление липидов и активность глутатионпероксидазы*

Образцы ткани головного мозга замораживали и гомогенизировали в буферном растворе (0.15 М NaCl с 1 М фосфатным буфером pH 7.4, соотношение 1:10) для дальнейшего анализа. Малоновый диальдегид (МДА) измеряли спектрофотометрически по методу Ohkawa (Ohkawa et al., 1979). Гомогенаты ткани головного мозга смешивали с 20% трихлоруксусной кислотой и 0.03 М 2-тиобарбитуровой кислотой в соотношении 2:2:1. Смесь нагревали в течение 45 мин при 95 °С и центрифугировали в течение 10 мин при 1000 g. При этом условии МДА легко участвует в реакции нуклеофильного присоединения с 2-тиобарбитуровой кислотой, образуя красный флуоресцентный аддукт 1:2. Поглощение супернатанта контролировали при 532 нм ( $\epsilon_{TBA-MDA} = 1.55 \text{ мм}^{-1} \text{ см}^{-1}$ ) методом спектрофотометрии (Спектрофотометр ПЭ-5300ВИ, ООО “ЭКРОСХИМ”, Россия). Уровни МДА выражали в мкг/г тканей.

Антиоксидантный потенциал определяли путем измерения активности глутатион пероксидаз (ГП) (Razygraev et al., 2018; Яковлев и др., 2022). 1 мл раствора глутатиона смешивали с 1 мл гомогената головного мозга, смесь разделяли на две центрифужные (тестовую и контрольную) пробирки и инкубировали в течение 5 мин. В тестовую пробирку добавляли раствор трет-бутилпероксида (5 мкМ, 0.02 мл). Через 10 мин в тестовую и контрольную пробирки налили 0.2 мл холодной 10%-ной трихлоруксусной кислоты. Образцы центрифугировали в течение 15 мин при 10 000 g и к 0.1 мл надосадочной жидкости добавляли 2 мл фосфатного буфера (pH 8.0) и



0.05 мл реагента Элмана, перемешивали. Оптическую плотность контрольного и тестового образцов измеряли при 412 нм с помощью спектрофотометра (Спектрофотометр ПЭ-5300ВИ, ООО “ЭКРОСХИМ”, Россия). Активность ГП выражали в мкг/мин/г тканей.

#### Статистический анализ результатов

Статистическую обработку данных проводили при помощи непараметрических и параметрических методов с использованием пакета прикладных программ Origin Pro software (OriginLab Corp, USA) с использованием общепринятых методов вариационной статистики. Для проверки выборки на нормальное распределение применяли тест Колмогорова–Смирнова и F-тест для равных дисперсий.

После оценки распределения в выборках для проверки различий между группами использовали t-критерий Стьюдента (t-тест). Если распределение исследуемого признака отличалось от нормального, например при сравнении данных развития сенсомоторных рефлексов, применяли непараметрический тест Манна–Уитни (U-тест).

Для анализа теста ВЛМ использовали дисперсионный анализ для связанных переменных (RM-ANOVA) с апостериорным множественным сравнением средних по критерию Тьюки. Для анализа выделяли два фактора с соответствующими градациями: “группа” (2 градации) и “номер попытки” (6 градаций).

Для сравнения процентных величин использовали Хи-квадрат Пирсона с критерием Фишера ( $F < 0.05$ ).

Различия считались статистически значимыми при  $p < 0.05$ . Результаты представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее значение,  $m$  – ошибка

среднего, или в виде Median (Q1–Q3) – медиана, квартили.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Уровень гомоцистеина в плазме контрольных самок составлял  $8.2 \pm 0.3$  мкМ ( $n = 16$ ), у самок, получавших диету, содержащую метионин, –  $27.7 \pm 1.8$  мкМ, ( $n = 33$ ,  $p < 0.05$ , t-тест). Несмотря на то, что крысы с пренатальной ГГц находились на стандартной диете более 2 месяцев после отлучения от матери, у 61% потомства сохранялись повышенные концентрации гомоцистеина в плазме крови (выше 10 мкМ). При этом у 42% животных наблюдалась легкая ГГц (10–20 мкМ), а у 19% – умеренная ГГц (21–50 мкМ) (рис. 1 (б)). Для анализа развития второго поколения крыс, рожденных от самок с ГГц, мы отбирали животных с уровнем гомоцистеина в плазме  $15 \pm 1$  мкМ ( $n = 10$ ). У 22% потомства ГГцF2 в возрасте 30–45 дней жизни наблюдалась легкая форма ГГц (10–20 мкМ), 78% имели уровень гомоцистеина в пределах нормы (0–9 мкМ) (рис. 1 (б)).

#### Исследование физического развития потомства второго поколения

Оценка физического развития крысят в группе ГГцF2 выявила отставание во времени прорезывания резцов ( $p < 0.05$ , U-тест), остальные показатели не отличались от контрольных значений (табл. 1).

Новорожденные животные из группы ГГцF2 характеризовались меньшей массой тела при рождении ( $6.5 \pm 1.0$  г,  $n = 60$ ,  $p < 0.05$ , t-тест), по сравнению с контрольной группой, где масса тела была равна  $8.5 \pm 0.2$  г ( $n = 53$ ), но количество крысят в пометах ГГцF2 и контрольной группы не отличалось (рис. 1 (в, г)). Общий вес помета в группе ГГцF2 ( $57.6 \pm 11.2$  г,  $N = 8$ ) был ниже, чем у контрольной группы ( $66.3 \pm 1.7$  г,  $N = 6$ ,

**Таблица 1.** Развитие физических особенностей крысят в группах контроль и ГГцF2  
**Table 1.** Development of physical features of rats in control and GcyF2 groups

Параметры	Контроль (n = 53)	ГГцF2 (n = 60)
Раскрытие ушей (день появления)	2 (2–2.5)	3 (2–3)
Появление первичного волосяного покрова (день появления)	4 (4–4)	4 (4–6)
Прорезывание резцов (день появления)	8 (8–8)	10 (8–12)*
Открытие глаз (день появления)	14 (12–14.25)	13 (12–16)

*Примечание.* Данные выражены в виде медианы (Q1–Q3), n – количество животных. Статистическая значимость между медианами была рассчитана с использованием U-теста, \*  $p < 0.05$  по сравнению с контрольной группой.

*Note.* Data are expressed as median (Q1–Q3), n – number of animals. Statistical significance between medians was calculated using the U-test, \*  $p < 0.05$  compared to the control group.

**Таблица 2.** Формирование врожденных рефлексов у крысят в группах контроль и ГГцF2  
**Table 2.** The development of neurobehavioral reflexes of pups in control group and in group with prenatal HcyF2

Параметры	Контроль (n = 53)	ГГцF2 (n = 60)
Отрицательный геотаксис (день появления)	6 (5–7)	6 (4–8)
Маятниковый рефлекс (количество поворотов в минуту на 8-й день жизни)	7 (5–11)	6 (4–8)*
Переворачивание на плоскости (день появления)	6 (4–7)	6 (4–8)
Избегание обрыва (день появления)	6 (5–7)	6 (4–8)
Реакция на акустический стимул (день появления)	10 (8–10)	14 (12–14)*
Избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом (день появления)	14 (12–15)	16 (16–18)*
Переворачивание в свободном падении (день появления)	12 (12–16)	16 (14–18)*
Обонятельная реакция (день появления)	14 (12–15)	16 (12–18)*

*Примечание.* Данные выражены в виде медианы (Q1–Q3), n – количество животных. Статистическая значимость между медианами была рассчитана с использованием U-теста, \*  $p < 0.05$  по сравнению с контрольной группой.

*Note.* Data are expressed as median (Q1–Q3), n – number of animals. Statistical significance between medians was calculated using the U test, \*  $p < 0.05$  compared to the control group.

рис. 1 (в)). Сниженная масса тела потомства группы ГГцF2 сохранялась в течение 4 недель после рождения (рис. 1 (д)).

#### *Исследование скорости созревания сенсомоторных рефлексов*

Слабовыраженные или поздно сформированные рефлексы свидетельствуют о различных патологиях ЦНС (Gerasimova et al., 2017; Yakovleva et al., 2018; Yakovleva et al., 2019; Яковлева и др., 2021). Сроки формирования рефлексов в тестах “избегание обрыва” и “отрицательный геотаксис” достоверно не отличались в группах контроля и ГГцF2 (табл. 2). День формирования рефлекса “переворачивание на плоскости” не отличался в обеих группах. Однако увеличивалось время переворота у крысят группы ГГцF2 ( $2.0 \pm 0.1$  с,  $n = 60$ ,  $p < 0.05$ , t-тест), по сравнению с контрольными животными ( $1.5 \pm 0.1$  с,  $n = 53$ ).

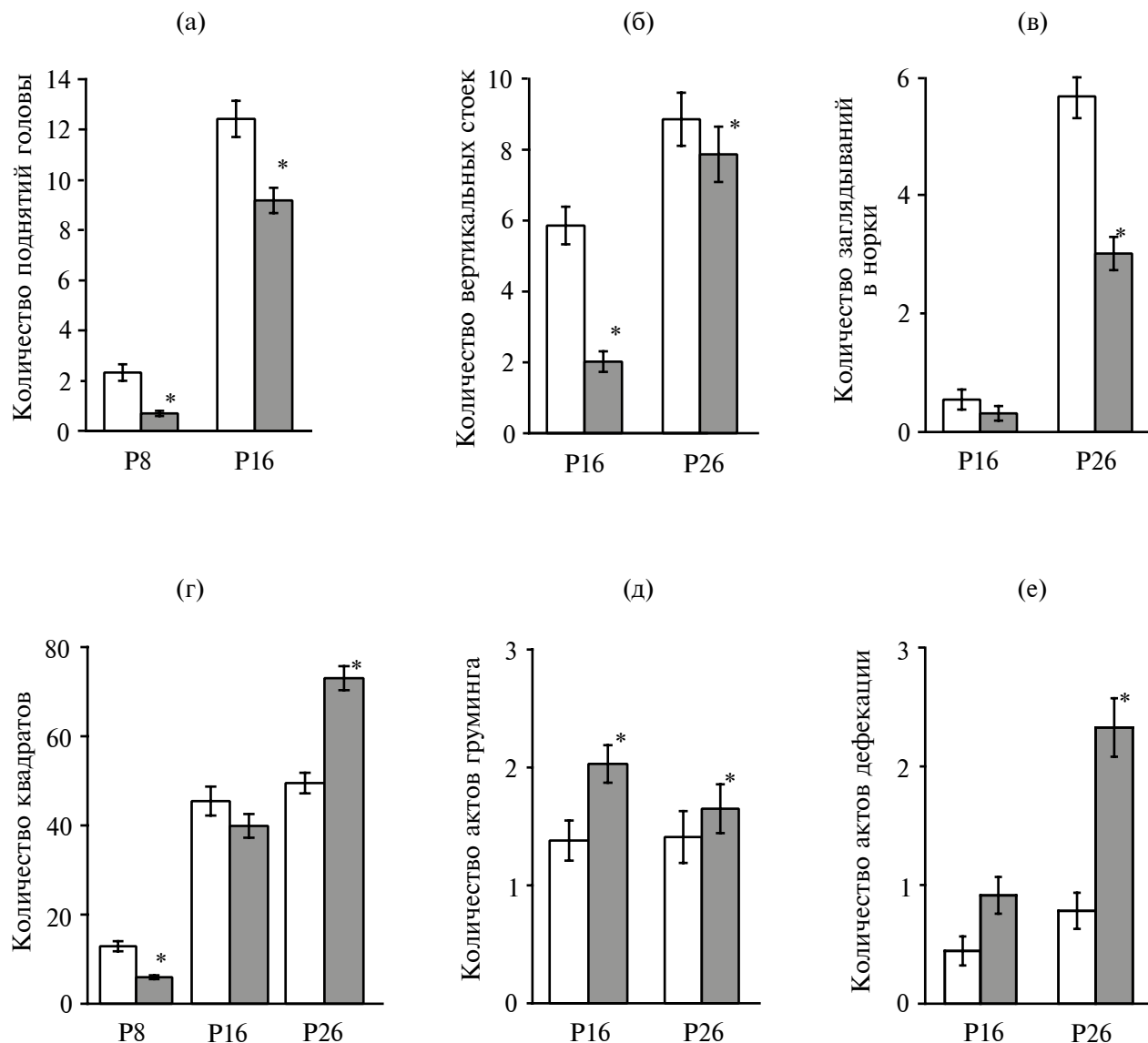
Кроме того, у крысят группы ГГцF2 наблюдали замедление созревания рефлекса “реакция на акустический стимул” ( $14.0 \pm 0.1$  день,  $p < 0.05$ , U-тест,  $n = 60$ ), по сравнению с контрольной группой животных ( $9.5 \pm 0.2$  день,  $n = 53$ ). В возрасте 14 суток и более наблюдалось значительное отставание во времени формирования таких рефлексов, как “избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом”, “обонятельная реакция” и “переворачивание” (табл. 2). У крысят группы ГГцF2 количество маятниковых движений головой за 1 мин ( $6.1 \pm 0.5$ ,  $p < 0.05$ , U-тест,  $n = 60$ ) было ниже, чем у контрольных животных ( $7.5 \pm 0.7$ ,  $n = 53$ ).

#### *Анализ поведенческих реакций в тесте “открытое поле”*

В тесте “открытое поле” у животных группы ГГцF2 наблюдалось меньше поднятий головы на 8 и 16 дни жизни ( $0.7 \pm 0.1$  и  $9.2 \pm 0.5$ ,  $p < 0.05$ , t-тест,  $n = 60$ ) относительно контрольной группы ( $2.3 \pm 0.3$  и  $12.6 \pm 0.7$ ,  $n = 53$ ) (рис. 2 (а)). У животных группы ГГцF2 снижалось количество вертикальных стоек на 16 и 26 дни жизни ( $2.0 \pm 0.3$  и  $7.8 \pm 0.8$ ,  $p < 0.05$ , t-тест,  $n = 60$ ) относительно контрольной группы ( $5.8 \pm 0.5$  и  $8.9 \pm 0.7$ ,  $n = 53$ ) (рис. 2 (б)). Число обследованных норок – исследовательская активность – на 16 и 26 дни жизни было меньше у животных группы ГГцF2 (рис. 2 (в)).

Горизонтальная двигательная активность, оцениваемая по количеству пройденных квадратов на 8 и 16 дни жизни, была меньше у животных группы ГГцF2 ( $3.7 \pm 0.5$  и  $39.8 \pm 2.5$  квадратов,  $n = 60$ ,  $p < 0.05$ , t-тест) относительно контроля ( $12.9 \pm 1.1$  и  $45.4 \pm 3.2$  квадратов,  $n = 53$  соответственно, рис. 2 (г)).

В старшей возрастной группе (P26) у животных ГГцF2 наблюдалось увеличение общей горизонтальной двигательной активности ( $73.1 \pm 2.7$  квадратов,  $p < 0.05$ , t-тест,  $n = 60$ ) относительно контрольных значений ( $49.5 \pm 2.3$  квадратов,  $n = 53$ ) (рис. 2 (г)). У крыс ГГцF2-группы было выявлено значимое снижение двигательной активности в центральной части “открытого поля” и увеличение на периферии (табл. 3), по сравнению с контрольной группой ( $p < 0.05$ , t-тест). Предполагается, что чем больше выходов в медиальные и центральный квадраты и продолжи-



**Рис. 2.** Изменение двигательной и исследовательской активности, уровень тревожности в тесте “открытое поле” у крыс в группах контроль и ГГцF2. Количество поднятий головы (а), вертикальных стоек (б), исследованных отверстий – “норки” (в), пересеченных квадратов (г), актов груминга (д) и дефекации (е). P8, P16, P26 – возрастные периоды. Белый столбик – контрольная группа, серый столбик – группа ГГцF2. \*  $p < 0.05$  относительно контрольной группы.

**Fig. 2.** Changes in motor and exploratory activity, level of anxiety in the “open field” test in rats in the control and HcyF2 groups. Number of head elevations (a), vertical stands (б), explored holes - “head dips” (в), crossed squares (г), acts of grooming (д) and defecation (е). P8, P16, P26 – age periods. White bar – control group, gray bar – HcyF2 group. \*  $p < 0.05$  relative to the control group.

тельность нахождения в них, тем меньше выражена тревожность (Капица и др., 2020). Индекс тревожности у крыс ГГцF2 группы был почти в два раза ниже показателя контрольной группы ( $p < 0.05$ , t-тест), что указывает на повышение тревожности у животных (табл. 3).

Действительно, такие показатели тревожности, как количество актов груминга (рис. 2 (д))

и болюсов дефекации (рис. 2 (е)), были достоверно выше у крысят группы ГГцF2, чем в контроле.

#### Исследование моторного развития

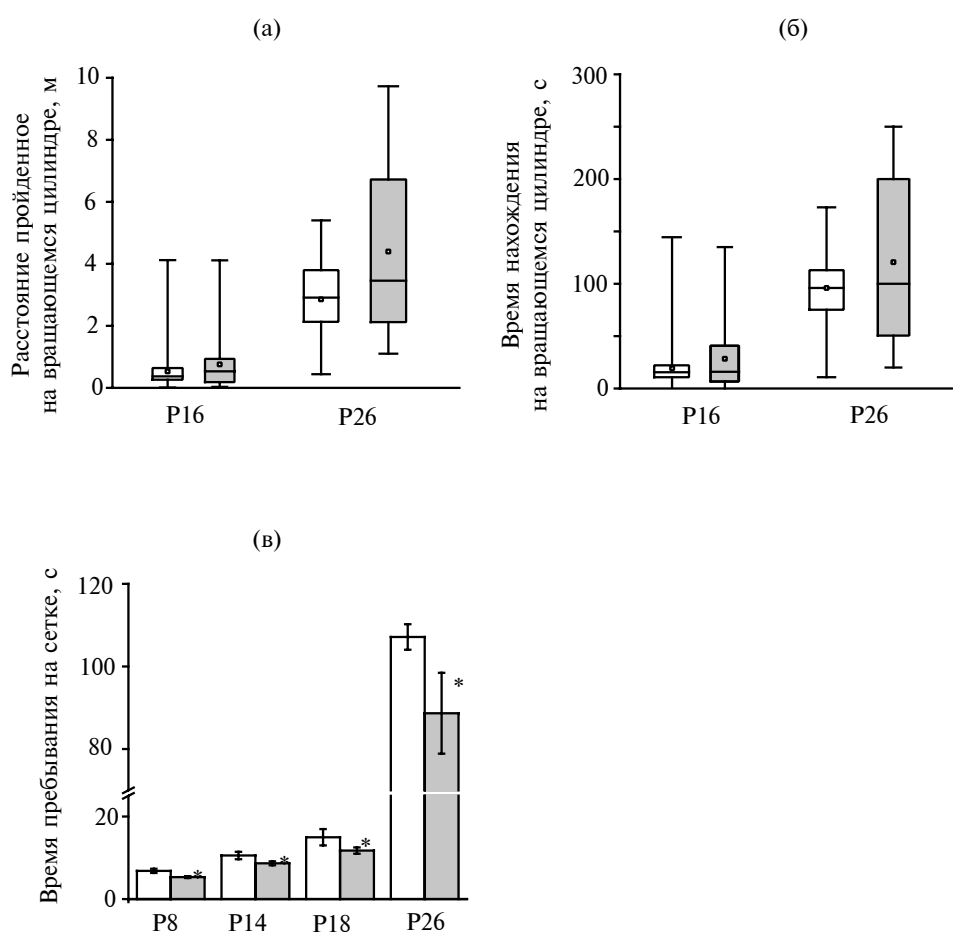
Тест “ротарод” служит для оценки моторной функции задних и передних конечностей и координации движений крысят. Достоверных различий по пройденному расстоянию и време-

**Таблица 3.** Горизонтальная двигательная активность и индекс тревожности в тесте “открытое поле” в группах контроль и ГГцF2**Table 3.** Horizontal motor activity and anxiety index in the “open field” test in the control and HcyF2 groups

Группа	Горизонтальная двигательная активность, квадраты			Индекс тревожности, %
	периферия	прецентральная часть	центр	
Контроль (n = 53)	41.0 ± 2.8	6.9 ± 0.7	1.7 ± 0.3	17.69
ГГцF2 (n = 60)	67.3 ± 2.3*	5.6 ± 0.6	0.9 ± 0.2*	9.25*

*Примечание.* Данные выражены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее значение,  $m$  – ошибка среднего,  $n$  – количество животных. Статистическая значимость была рассчитана с использованием t-теста,  $*p < 0.05$  по сравнению с контрольной группой.

*Note.* Data are expressed as  $M \pm m$ , where  $M$  is the mean value,  $m$  is the error of the mean,  $n$  is the number of animals. Statistical significance was calculated using t-test,  $*p < 0.05$  compared to the control group.



**Рис. 3.** Расстояние пройденное (а) и время (б) пребывания на вращающемся цилиндре в тесте “ротарод” и время пребывания на сетке в тесте “сила хвата” (в) у крыс групп контроль (белые столбики) и ГГцF2 (серые столбики) в разном возрасте. P8, P14, P16, P18, P26 – возрастные периоды. Прямоугольник – 25–75%, квадратик внутри – среднее значение, центральная линия – медиана, “усы” – значения минимума/максимума.  $*p < 0.05$  по сравнению с контрольной группой.

**Fig. 3.** Distance (a) and time (б) spent on a rotating cylinder in the “rotarod” test and time spent on the grid in the “grip strength” test (в) in rats of the control (white bars) and HcyF2 (gray bars) groups at different ages. P8, P14, P16, P18, P26 – age periods. Rectangle – 25–75%, square inside – average value, central line – median, “whiskers” – minimum/maximum values.  $*p < 0.05$  compared to the control group.

ни, проведенному на вращающемся цилиндре, между крысятами групп ГГцF2 ( $n = 60$ ,  $p > 0.05$ , t-тест) и контроля не было выявлено ( $n = 53$ , рис. 3 (а, б)).

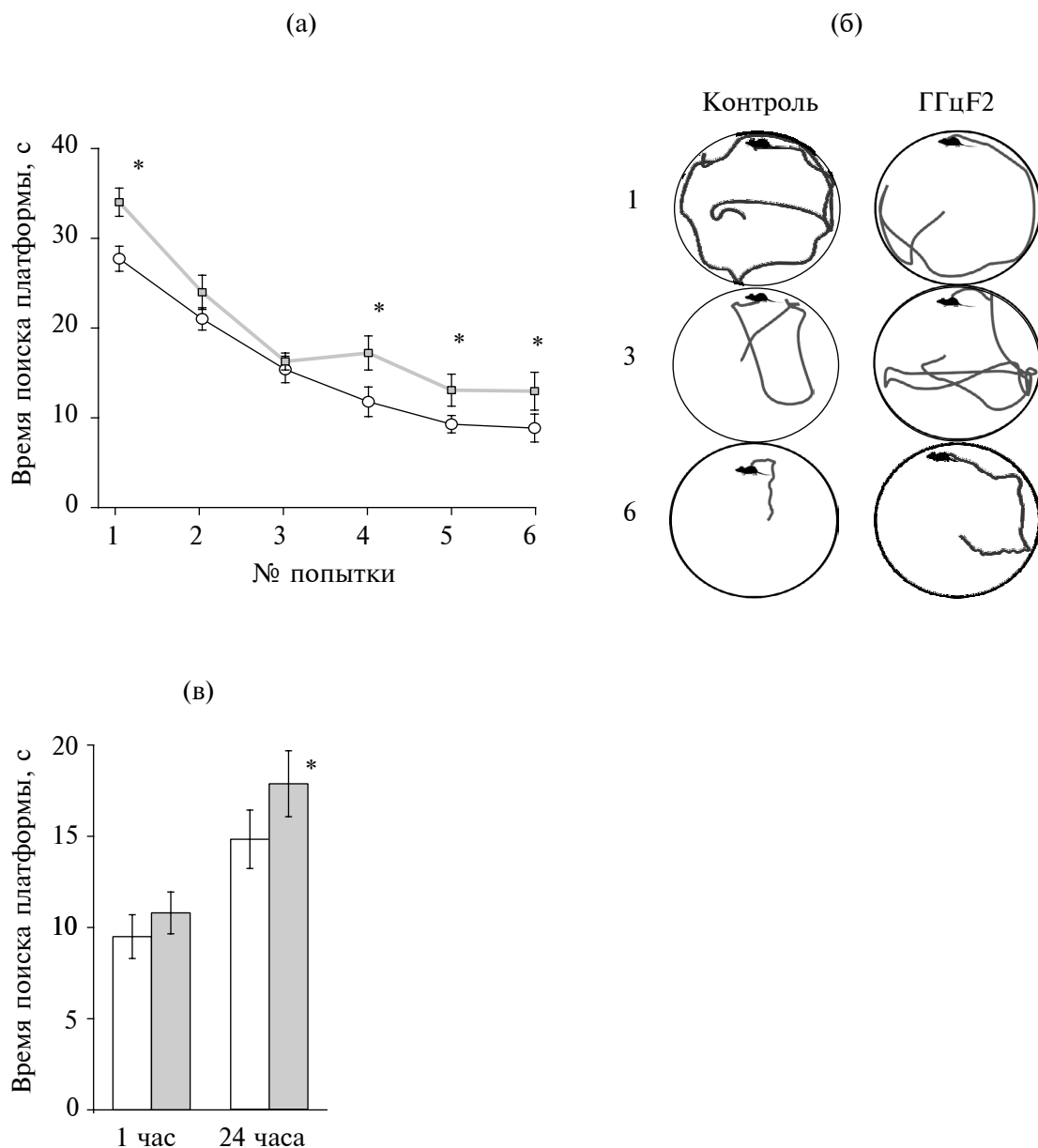
В тесте “сила хвата” в обеих группах наблюдалось возраст-зависимое увеличение времени нахождения на сетке (рис. 3 (в)). Однако время пребывания крысят группы ГГцF2 на горизон-

тальной сетке было достоверно ниже контрольных значений во всех анализируемых периодах (рис. 3 (в)).

### Водный лабиринт Морриса

В тесте ВЛМ было выявлено снижение времени поиска платформы у обеих групп животных во время обучения (рис. 4 (а)). В группе контроля время

поиска снизилось с  $27.7 \pm 1.3$  с в первом подходе до  $8.3 \pm 1.5$  с в шестом подходе ( $n = 37, p < 0.05$ , RM-ANOVA), а у животных ГГцF2 – с  $33.9 \pm 1.6$  до  $13.6 \pm 2.3$  с соответственно ( $n = 37, p < 0.05$ , RM-ANOVA, рис. 4 (а)). ANOVA выявил эффект фактора “группа” ( $F(1, 36) = 7.42, p < 0.05$ ) и фактора “попытка обучения” ( $F(5, 32) = 86.45, p < 0.05$ ), при этом взаимодействие факторов не было статистически значимым ( $F(5, 32) = 1.54, p > 0.05$ ).



**Рис. 4.** Оценка обучения и памяти крыс ГГцF2 в тесте “водный лабиринт Морриса”. (а) – изменение времени поиска платформы в ходе обучения в тесте “водный лабиринт Морриса” у крыс групп контроль (белые круги) и ГГцF2 (серые квадраты), (б) – примеры траекторий поиска платформы крысами групп контроль и ГГцF2, (в) – время поиска платформы через 1 и 24 ч после обучения. \*  $p < 0.05$  относительно контроля.

**Fig. 4.** Evaluation of learning and memory in HcyF2 rats in the Morris water maze test. (a) – changes in platform search time during training in the Morris water maze in both control (white circles) and HcyF2 (gray squares) rats, (б) – examples of the trajectories of platform search by rats from the control and HcyF2 groups, (в) – platform search time 1 and 24 hours after training. \*  $p < 0.05$  relative to control.

Пройденное животными расстояние в начале обучения составило  $249.8 \pm 41.8$  см у ГГцF2 группы и  $201.8 \pm 25.7$  см – у контроля и к концу обучения –  $61.7 \pm 13.6$  см и  $44.2 \pm 5.3$  см соответственно ( $n = 37$ ,  $p < 0.05$ ). Скорость плавания не отличалась у крысят обеих групп ( $p > 0.05$ , RM-ANOVA).

Траектория плавания (рис. 4 (б)) была проанализирована вручную у 2–3 животных из помета, и были определены четыре основных типа стратегии поиска: тигмотаксис (животное проводит большую часть времени рядом со стеной), сканирование цели (сканирование области вокруг платформы), случайный поиск (животное все еще касается стены, но начинает двигаться внутрь) и сканирование (животное обыскивает более центральные области арены) (Ивлиева и др., 2016; Yakovleva et al., 2020).

Анализ стратегии поиска платформы показал, что у животных контрольной группы в первый подход наблюдались три базовых стратегии поиска платформы в равной степени всеми крысятами: тигмотаксис, случайный поиск и сканирование (у 14 из 15 анализируемых животных). У животных группы ГГцF2 в первых подходах преобладал тигмотаксис (у 12 из 15 животных), реже встречались случайный поиск и сканирование (рис. 4 (б)).

К концу обучения (5–6-й подходы) основной стратегией животных контрольной группы стал направленный поиск, который является наиболее эффективным для поиска платформы (10 животных), а также применялись стратегии сканирования (7 животных) и случайный поиск (5 животных из 15), тигмотаксис не применялся ни одним животным. В группе ГГцF2 к концу обучения основной стратегией стал также направленный поиск (9 животных), но все еще применялся тигмотаксис (6 животных), и использовалась стратегия случайного поиска (5 животных из 15).

Через 1 ч после обучения время поиска платформы в контрольной группе составило  $9.5 \pm 1.2$  с ( $n = 35$ ,  $p > 0.05$ , RM-ANOVA) и не отличалось от шестой пробы. В группе ГГцF2 время поиска платформы через час после обучения ( $10.9 \pm 1.1$  с) не отличалось ни от шестой пробы, ни относительно контрольной группы ( $n = 32$ ,  $p > 0.05$ , t-тест, рис. 4 (в)).

Через 24 ч крысам из контрольной группы требовалось  $14.6 \pm 1.7$  с ( $p < 0.05$ , RM-ANOVA

относительно шестой пробы) на поиск платформы. Крысам группы ГГцF2 требовалось  $17.8 \pm 1.8$  с ( $p < 0.05$ , RM-ANOVA относительно шестой пробы, рис. 4 (в)), что значительно больше, чем в контрольной группе животных ( $p < 0.05$ , RM-ANOVA).

Расстояние, пройденное животными ГГцF2 при поиске платформы, было больше (через 1 ч –  $86.0 \pm 10.7$  см и через 24 ч –  $162.4 \pm 33.6$  см,  $n = 15$ ,  $p < 0.05$ , RM-ANOVA), чем в группе контроля (через 1 ч –  $63.3 \pm 6.2$  см и через 24 ч –  $92.3 \pm 12.1$  см). Скорость плавания ГГцF2 крысят, равная через 1 ч –  $6.8 \pm 0.2$  см/с, через 24 ч –  $7.1 \pm 0.9$  см/с, была выше скорости контрольных животных ( $6.6 \pm 0.1$  см/с и  $6.3 \pm 0.1$  см/с,  $n = 15$ ,  $p < 0.05$ , RM-ANOVA, соответственно).

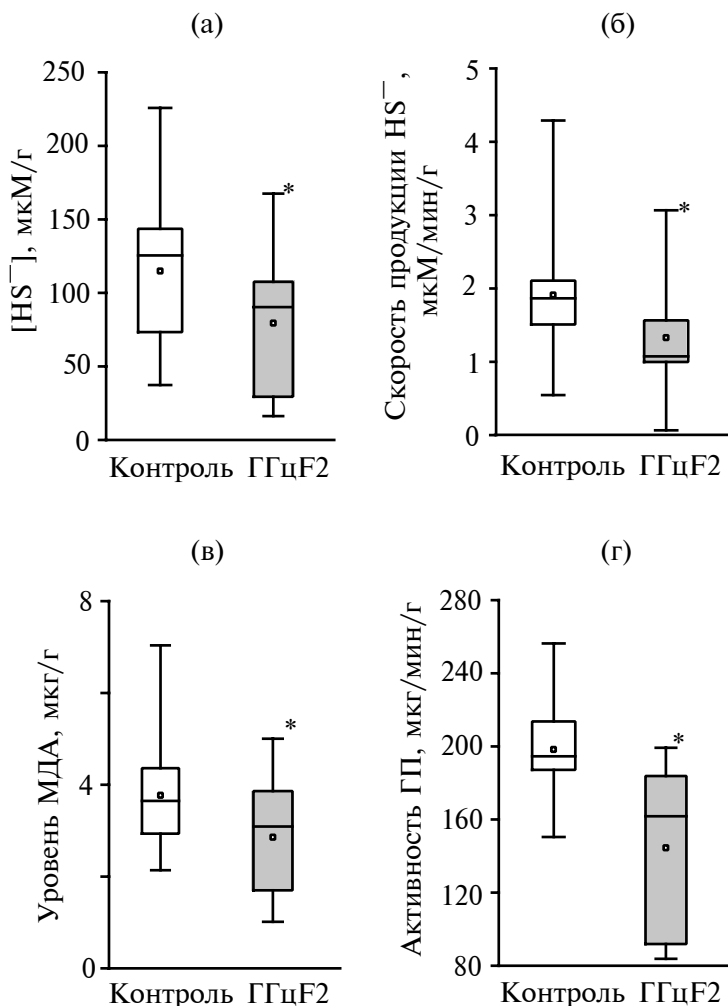
Расположение платформы в группе ГГцF2 через 1 ч помнили лишь 48% и через 24 ч – 40% животных, что меньше, по сравнению с контрольными животными, 89% – через 1 ч ( $\chi^2 = 38.95$ ,  $F < 0.05$ ) и 78% – через 24 ч ( $\chi^2 = 29.85$ ,  $F < 0.05$ ) соответственно.

#### *Концентрация сероводорода в тканях мозга*

Ранее было показано, что воздействие гомоцистеина снижает эндогенное образование  $H_2S$  (Kamat et al., 2013; Yakovleva et al., 2018). В наших экспериментах концентрация сульфидов в тканях головного мозга контрольных животных составила  $120.1 \pm 11.4$  мкМ/г ( $n = 21$ ) (рис. 5 (а)). У крыс из группы ГГцF2 концентрация сульфидов была снижена до  $79.7 \pm 12.0$  мкМ/г ( $n = 21$ ,  $p < 0.05$ , t-тест, рис. 5 (а)). Скорость продукции  $H_2S$  в контроле составила  $19.3 \pm 2.2$  мкМ/мин/г ( $n = 21$ ), что больше, чем в группе ГГцF2 –  $13.7 \pm 2.1$  мкМ/мин/г ( $n = 21$ ,  $p < 0.05$ , t-тест, рис. 5 (б)).

#### *Перекисное окисление липидов и активность глутатионпероксидаз*

Оксидативный стресс считается одним из основных повреждающих факторов при ГГц (Арутюнян и др., 2010; Яковлева и др., 2021). Уровень МДА в группе ГГцF2 составил  $3.76 \pm 0.30$  мкг/г и не отличался от контроля ( $3.52 \pm 0.47$  мкг/г,  $n = 21$ ,  $p > 0.05$ , t-тест, рис. 5 (в)). Активность ГП, которые восстанавливают пероксиды, была снижена в группе ГГцF2 и составила  $144.52 \pm 13.21$  мкг/мин/г, что значительно ниже контрольных значений  $198.09 \pm 4.43$  мкг/мин/г ( $n = 21$ ,  $p < 0.05$ , t-тест, рис. 5 (г)).



**Рис. 5.** Уровень сульфидов и окислительного стресса в мозге крыс, в группах контроль и ГГцF2. Концентрация ионов HS<sup>-</sup> (а), скорость продукции HS<sup>-</sup> (б), уровень малонового диальдегида (МДА) (в), активность глутатиопероксидаз (ГП) (г) в мозге крыс групп контроль (белые столбцы), ГГцF2 (серые столбцы). Прямоугольник – 25–75%, квадратик внутри – среднее значение, центральная линия – медиана, “усы” – значения минимума/максимума. \*  $p < 0.05$  по сравнению с контрольной группой.

**Fig. 5.** Levels of sulfides and oxidative stress in the brain of rats, in control and HcyF2 groups. The concentration of HS<sup>-</sup> ions (a), rate of HS<sup>-</sup> production (б), level of malondialdehyde (MDA) (в), activity of glutathione peroxidases (GPx) (г) in the brain of rats of the control group (white columns), HcyF2 (gray columns). Rectangle – 25–75%, square inside – average value, central line – median, “whiskers” – minimum/maximum values. \*  $p < 0.05$  compared to the control group.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Все больше данных указывают на то, что неблагоприятные воздействия на мать (например, инфекционный, метаболический или психологический стресс) во время беременности вызывают долговременные изменения когнитивных функций потомства, сохраняющиеся и во втором поколении (Estes, McAllister, 2016; Luo et al., 2023). Риск некоторых заболеваний, таких как диабет и ожирение, эпилепсия, мигрень и шизофрения, может передаваться из поколения в поколение, что предполагает существование ме-

ханизмов, с помощью которых метаболические изменения родительского фенотипа передаются потомству (Ferreira et al., 2016; Portha et al., 2019). Механизмы, лежащие в основе передачи запрограммированных эффектов из поколения в поколение, до сих пор неясны. Однако эпигенетическая регуляция транскрипции является одним из факторов, который может опосредовать наследственные метаболические заболевания (Portha et al., 2019).

Процессы метилирования ДНК и гистонов зависят от одноуглеводного метаболизма и яв-

ляются одними из основных эпигенетических особенностей генома млекопитающих для регуляции экспрессии генов (Friso et al., 2016). Метионинный цикл является основным источником S-аденозил-L-метионина, используемого ферментами ДНК-метилтрансферазами (DNA methyltransferases, DNMTs) для метилирования ДНК (Friso et al., 2016; Madrid et al., 2023). Поэтому нарушения метаболизма метионина могут приводить к изменениям эпигенетического контроля экспрессии генов, опосредованным метилированием ДНК, модификациями гистонов и некодирующей РНК, что лежит в основе ряда заболеваний человека (Madrid et al., 2023). Снижение общего метилирования ДНК в развивающемся мозге влияет на созревание и выживание нейронов, вызывает преждевременную астроглиальную дифференцировку (Hutnick, 2009), угнетает синтез нейромедиаторов (Schatz, 1981), изменяет состав и текучесть мембран клеток (Perla-Kajan, Jakubowski, 2019). Так, ГГц самок мышей, вызванная диетой с дефицитом фолиевой кислоты, приводила к снижению активности системы эксцизионной репарации оснований в головном мозге взрослого потомства, что сопровождалось нейродегенерацией за счет увеличения чувствительности ДНК к окислительному повреждению (Langie et al., 2013). С другой стороны, прием фолиевой кислоты у мышей с травмой спинного мозга приводил к существенной модуляции экспрессии генов и метилирования ДНК, которые способствовали образованию фенотипа с улучшенной регенерацией аксонов (Madrid et al., 2023).

Помимо модификаций ДНК, гомоцистеин изменяет экспрессию ферментов, модифицирующих гистоны. Аналогичные эффекты проявляют метаболиты гомоцистеина: гомоцистеин-тиолактон, N-гомоцистеин-белки, S-гомоцистеин-белки и низкомолекулярные дисульфиды гомоцистеина. Именно гомоцистеин-тиолактон индуцирует эпигенетические механизмы, включающие модификацию гистонов, способствующие эндотелиальной дисфункции, а посттрансляционная модификация остатков лизина гистонов является новым эпигенетическим механизмом, ответственным за дефекты нервной трубки (Perla-Kajan, Jakubowski, 2019).

В моделях пренатальной ГГц, вызванной диетой с повышенным содержанием метионина, показаны многочисленные нарушения развития потомства: отставание в развитии, снижение массы тела и количества крысят в помете при ро-

ждении, высокая смертность в неонатальном периоде, а также нарушения когнитивных функций и моторного контроля в позднем постнатальном периоде (Gerasimova et al., 2017; Shcherbitskaya et al., 2017; Yakovleva et al., 2018). Однако сохраняются ли подобные изменения во втором поколении животных, не было изучено.

В нашей работе у животных второго поколения смертность и количество крысят в помете соответствовали контрольным значениям, но показатели массы тела оставались сниженными. Анализ скорости созревания сенсомоторных рефлексов не выявил значительных нарушений в скорости созревания нервной системы у второго поколения крысят. Однако такие сенсомоторные рефлексы, как “реакция на акустический стимул”, “избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом”, “обонятельная реакция” и “переворачивание в свободном падении”, формировались значительно позже контрольной группы.

Известно, что BDNF является одним из факторов нейрогенеза и выживания нервных клеток на ранних стадиях развития, синаптогенеза, а его экспрессия регулируется эпигенетическими механизмами, такими как модификация гистонов и метилирование ДНК (Karpova, 2014). Можно предположить, что нарушение регуляции экспрессии BDNF при ГГц является одним из факторов выявленного нами отставания в созревании некоторых сенсомоторных рефлексов (Karpova, 2014; Irwin et al., 2016; Арутюнян и др., 2023).

Первое поколение животных, рожденных от самок с ГГц, характеризуется повышением уровня тревожности (Shcherbitskaya et al., 2017, Yakovleva et al., 2020), что может быть связано со снижением S-аденозилметионин (SAM)-зависимого синтеза катехоламинов, происходящего из-за избытка гомоцистеина (Милютин, 2014; Bhatia, Singh, 2015; Kumar et al., 2017; Shcherbitskaya et al., 2017). Анализ поведения потомства второго поколения крыс с ГГц в тесте “открытое поле” показал сохранение повышенной тревожности у крысят, также как у первого поколения.

У развивающихся животных с пренатальной ГГц были нарушены двигательные и когнитивные функции (Shcherbitskaya et al., 2017; Yakovleva et al., 2018; Yakovleva et al., 2019; Yakovleva et al., 2020). Сходным образом у крысят ГГцF2 на 8 день жизни наблюдалось снижение числа поднятий головы, исследованных



норок, горизонтальной и вертикальной активности и поворотов туловища в маятниковом рефлексе, а также отставание в развитии рефлекса, связанного с координацией движений — переворота в падении, однако к 16 дню жизни двигательная активность у ГГцF2 крысят соответствовала контрольным значениям в тестах “открытое поле” и “ротарод”, но не в тесте “сила хвата”.

Дефицит кратковременной и долговременной памяти был выявлен у крыс с пре- и постнатальной ГГц во многих исследованиях (Streck et al., 2004; Kumar et al., 2017; Shcherbitskaya et al., 2017; Yakovleva et al., 2020). Эти изменения сохранялись и у животных второго поколения, которые в период обучения не улучшили стратегию поиска платформы и поэтому тратили больше времени на ее поиск, что указывает на снижение способности к пространственному обучению. В группе крыс ГГцF2 мы не наблюдали достоверных отличий при тестировании кратковременной памяти, но они тратили больше времени на поиск платформы через 24 ч после обучения. Такие нарушения могут быть связаны со снижением моноаминергической передачи в гиппокампе (Kumar et al., 2017; Shcherbitskaya et al., 2017) и патологиями механизмов долговременной пластичности (Kurmashova et al., 2020; Postnikova et al., 2023; Yakovlev et al., 2023).

Считается, что окислительный стресс и воспаление играют ключевую роль в нейротоксичности, вызванной гомоцистеином (Machado et al., 2011; Yakovleva et al., 2018; Elsherbiny et al., 2020; Yakovleva et al., 2020; Яковлев и др., 2022). Нами было показано, что у крыс ГГцF2, в отличие от первого поколения, не наблюдалось усиления перекисного окисления липидов — маркера оксидативного стресса, но снижалась активность глутатионпероксидазы.

Каковы возможные механизмы обнаруженных патологий у второго поколения, родившихся от самок с моделированием ГГц во время беременности? В литературе рассматриваются два менделевских механизма передачи признаков. Во-первых, это митохондриальные дисфункции, передающиеся только через яйцеклетку (Friso et al., 2016; Арутюнян и др., 2023), которые могут затрагивать ДНК митохондрий и работу их ферментов (Kumar, Sandhir, 2019). Это один из механизмов, который может вызывать окислительный стресс у

потомства. Во-вторых, это регуляция ДНК зародыша путем метилирования гистонов, ДНК, микроРНК (Friso et al., 2016; Liu et al., 2020). В этом механизме активно задействован фолатный цикл, недостаточность которого ведет к патологиям развития половых клеток плода, приводящим к нарушениям клеточного метаболизма следующих поколений. Оба механизма могут лежать в основе нарушений у крыс ГГцF2, никогда не получавших высокие дозы метионина.

Кроме того, не исключено и негативное влияние дефицита  $H_2S$  на состояние генома (Toohey, 2017). Сероводород является нейропротекторной молекулой, обладающей антиоксидантным и противовоспалительным действием, синтез которой угнетался в условиях ГГц, а экзогенное введение доноров  $H_2S$  предотвращало развитие окислительного стресса в мозге и когнитивные дисфункции (Kamat et al., 2013; Kamat et al., 2016; Yakovleva et al., 2018; Yakovleva et al., 2020). В тканях мозга крыс ГГцF2 сохранялась сниженная концентрация сульфидов и продукция  $H_2S$ . Недавно было показано, что  $H_2S$  может модулировать контрольные точки клеточного цикла, синтез, повреждение и репарацию ДНК, а также экспрессию белков, участвующих в поддержании стабильности генома (Takeuchi et al., 2008; Li, Yang, 2015; Chen et al., 2019; Shackelford et al., 2021).

## ВЫВОДЫ

Таким образом, у потомства самок с пренатальной ГГц, находящихся во время беременности и вскармливания крысят на стандартном рационе питания, наблюдались нарушения сенсомоторного развития, когнитивные дисфункции, снижение силы мышц без изменения двигательной координации.

Кроме того, была снижена активность глутатионпероксидазы и уровень  $H_2S$  в ткани, что является факторами окислительного стресса. Поэтому необходимы дальнейшие исследования механизмов действия ГГц, а контроль уровня гомоцистеина является одной из превентивных стратегий для предотвращения связанных с ним патологий.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 20-15-00100.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арутюнян А.В., Козина Л.С., Арутюнян В.А. Токсическое влияние пренатальной гипергомоцистеинемии на потомство. *Ж. акуш. и жен. болезн.* 2010. 59 (4): 16–20.
- Арутюнян А.В., Керкешко Г.О., Милютин Ю.П., Щербицкая А.Д., Залозная И.В. Пренатальный стресс при материнской гипергомоцистеинемии: нарушения развития нервной системы плода и функционального состояния плаценты. *Биохимия.* 2021. 86 (6): 871–884.
- Арутюнян А.В., Милютин Ю.П., Щербицкая А.Д., Керкешко Г.О., Залозная И.В. Эпигенетические механизмы воздействия пренатальной гипергомоцистеинемии на функциональное состояние плаценты и пластичность нервной системы потомства. *Биохимия.* 2023. 88 (4): 531–557.
- Ивлиева А.Л., Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А., Демин В.А. Методические особенности применения водного лабиринта Морриса для оценки когнитивных функций у животных. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2016. 102 (1): 3–17.
- Капица И.Г., Иванова Е.А., Воронина Т.А. Половые особенности поведения крыс с фетальным вальпроатным синдромом. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология.* 2020. 75(2): 107–114.
- Милютин Ю.П., Арутюнян А.В., Пустыгина А.В., Щербицкая А.Д., Залозная И.В., Зорина И.И. Содержание катехоламинов в надпочечниках крысят, перенесших пренатальную гипергомоцистеинемия. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2014. 100: 360–369.
- Яковлев А.В., Дмитриева С.А., Краснова А.Н., Яковлева О.В., Ситдикова Г.Ф. Уровень карбонилирования белков и активность протеаз в мозге новорожденных крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией. *Нейрохимия.* 2022. 39 (3): 243–250.
- Яковлева О.В., Богатова К.С., Скрипникова В.В., Ситдикова Г.Ф. Влияние умеренного хронического стресса самок крыс до и во время беременности на сенсомоторное развитие, уровень тревожности и когнитивные функции потомства. *Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова.* 2021. 71 (3): 414–428.
- Arutjunyan A.V., Milyutina Y.P., Shcherbitskaia A.D., Kerkeshko G.O., Zalozniaia I.V., Mikhel A.V. Neurotrophins of the fetal brain and placenta in prenatal hyperhomocysteinemia. *Biochemistry (Mosc.).* 2020. 85 (2): 248–259.
- Bhatia P., Singh N. Homocysteine excess: delineating the possible mechanism of neurotoxicity and depression. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2015. 29 (6): 522–528.
- Blaise S.A., Nedelec E., Schroeder H., Alberto J.M., Bossenmeyer-Pourie C., Gueant J.L., Daval J.L. Gestational vitamin B deficiency leads to homocysteine-associated brain apoptosis and alters neurobehavioral development in rats. *Am. J. Pathol.* 2007. 170 (2): 667–679.
- Chaudhry S., Taljaard M., MacFarlane A., Gaudet L., Smith G., Rodger M. et al. The role of maternal homocysteine concentration in placenta-mediated complications: findings from the Ottawa and Kingston birth cohort. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2019. 19 (1): 1–10.
- Chen J., Shen X., Pardue S., Meram A.T., Rajendran S., Ghali G.E. et al. The ataxia telangiectasia-mutated and rad3-related protein kinase regulates cellular hydrogen sulfide concentrations. *DNA Repair.* 2019. 73: 55–63.
- Dong E., Guidotti A., Grayson D.R., Costa E. Histone hyperacetylation induces demethylation of reelin and 67-kDa glutamic acid decarboxylase promoters. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. 104: 4676–4681. <https://doi.org/10.1073/pnas.0700529104>.
- Estes M.L., McAllister A.K. Maternal immune activation: implications for neuropsychiatric disorders. *Science.* 2016. 353 (6301): 772–777.
- Elsherbiny N.M., Sharma I., Kira D., Alhusban S., Samra Y.A., Jadeja R. et al. Homocysteine Induces Inflammation in Retina and Brain. *Biomolecules.* 2020. 10 (3): 393. <https://doi.org/10.3390/biom10030393>
- Ferreira D.S., Liu Y., Fernandes M.P., Lagranha C.J. Perinatal low-protein diet alters brainstem antioxidant metabolism in adult offspring. *Nutr. Neurosci.* 2016. 19 (8): 369–375.
- Friso S., Udali S., Santis D.D., Choi S.W. One-carbon metabolism and epigenetics. *Mol. Aspects. Med.* 2016. 54: 28–36.
- Fu Y., Wang X., Kong W. Hyperhomocysteinemia and vascular injury: advances in mechanisms and drug targets. *Br. J. Pharmacol.* 2018. 175 (8): 1173–1189.
- Geoffroy A., Saber-Cherif L., Pourie G., Helle D., Umoret R., Gueant J.L. et al. Developmental impairments in a rat model of methyl donor deficiency: effects of a late maternal supplementation with folic acid. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019. 20 (4): 1–14.
- Gerasimova E., Yakovleva O., Burkhanova G., Ziyatdinova G., Khaertdinov N., Sitdikova G. Effects of maternal hyperhomocysteinemia on the early physical development and neurobehavioral maturation of rat offspring. *BioNanoScience.* 2017. 7 (1): 155–158.
- Gerasimova E., Yakovleva O., Enikeev D., Bogatova K., Hermann A., Giniatullin R., Sitdikova G. Hyperhomocysteinemia increases cortical excitability and aggravates mechanical hyperalgesia and anxiety in a nitroglycerine-induced migraine model in rats. *Biomolecules.* 2022. 12 (5): 735.
- Hutnick L.K., Golshani P., Namihira M., Xue Z., Matynia A., Yang X.W. et al. DNA hypomethylation restricted to the murine forebrain induces cortical degeneration and impairs postnatal neuronal maturation. *Hum. Mol. Genet.* 2009. 18: 2875–2888. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp222>.
- Jakubowski H. Homocysteine modification in protein structure/function and human disease. *Physiol. Rev.* 2019. 99

- (1): 555–604.
- Kalani A., Kamat P.K., Familtseva A., Chaturvedi P., Muradasvili N., Narayanan N. et al.* Role of microRNA29b in blood-brain barrier dysfunction during hyperhomocysteinemia: an epigenetic mechanism. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2014. 34 (7): 1212–1222.
- Kalhan S.C.* One carbon metabolism in pregnancy: impact on maternal, fetal and neonatal health. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2016. 435: 48–60.
- Kamat P.K., Kalani A., Givvimani S., Sathnur P.B., Tyagi S.C., Tyagi N.* Hydrogen sulfide attenuates neurodegeneration and neurovascular dysfunction induced by intra cerebral administered homocysteine in mice. *Neuroscience.* 2013. 252: 302–319.
- Kamat P.K., Kyles P., Kalani A., Tyagi N.* Hydrogen sulfide ameliorates homocysteine-induced Alzheimer's disease-like pathology, blood-brain barrier disruption, and synaptic disorder. *Mol. Neurobiol.* 2016. 53 (4): 2451–2467.
- Karl T., Pabst R., von Horsten S.* Behavioral phenotyping of mice in pharmacological and toxicological research. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2003. 55 (1): 69–83.
- Kiss P., Vadasz G., Kiss-Illes B., Horvath G., Tamas A., Reglodi D., Koppán M.* Environmental enrichment decreases asphyxia induced neurobehavioral developmental delay in neonatal rats. *Int. J. Mol. Sci.* 2013. 14 (11): 22258–22273.
- Koz T., Gouwy N.T., Demir N., Nedzvetsky V.S., Etem E., Baydas G.* Effects of maternal hyperhomocysteinemia induced by methionine intake on oxidative stress and apoptosis in pup rat brain. *Int. J. Dev. Neurosci.* 2010. 28 (4): 325–329.
- Kraeuter A.K., Guest P.C., Sarnyai Z.* The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior. *Methods Mol. Biol.* 2019. 1916: 99–103.
- Kumar M., Modi M., Sandhir R.* Hydrogen sulfide attenuates homocysteine-induced cognitive deficits and neurochemical alterations by improving endogenous hydrogen sulfide levels. *Biofactors.* 2017. 43 (3): 434–450.
- Kumar M., Sandhir R.* Hydrogen sulfide attenuates hyperhomocysteinemia-induced mitochondrial dysfunctions in brain. *Mitochondrion.* 2019. 50: 158–169.
- Kurmashova E.D., Gataulina E.D., Zefirov A.L., Sitdikova G.F., Yakovlev A.V.* Effects of homocysteine and its derivatives on spontaneous network activity in the hippocampus of neonatal rat pups. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2020. 50: 907–913.
- Langie S.A., Achterfeldt S., Gorniak J.P., Halley-Hogg K.J., Oxley D., van Schooten F.J. et al.* Maternal folate depletion and high-fat feeding from weaning affects DNA methylation and DNA repair in brain of adult offspring. *FASEB J.* 2013. 27 (8): 3323–3334.
- Li J.G., Barrero C., Gupta S., Kruger W. D., Merali S., Pratico D.* Homocysteine modulates 5-lipoxygenase expression level via DNA methylation. *Aging Cell.* 2017. 16 (2): 273–280.
- Li W., Li Z., Zhou D., Zhang X., Yan J., Huang G.* Maternal folic acid deficiency stimulates neural cell apoptosis via miR-34a associated with Bcl-2 in the rat fetal brain. *Int J Dev Neurosci.* 2019. 72: 6–12.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2018.11.002>
- Liu H.Y., Liu S.M., Zhang Y.Z.* Maternal folic acid supplementation mediates offspring health via DNA methylation. *Reprod. Sci.* 2020. 27 (4): 963–976.
- Luo B.L., Zhang Z.Z., Chen J., Liu X., Zhang Y.M., Yang Q.G., Chen G.H.* Effects of gestational inflammation on age-related cognitive decline and hippocampal Gdnf-GFRα1 levels in F1 and F2 generations of CD-1 Mice. *BMC Neurosci.* 2023. 24 (1): 26.
- Machado F.R., Ferreira A.G.K., da Cunha A.A., Tagliari B., Mussulini B.H.M., Wofchuk S., Wise A.T.S.* Homocysteine alters glutamate uptake and Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity and oxidative status in rats hippocampus: Protection by vitamin C. *Metab. Brain Dis.* 2011. 26 (1): 61–67.
- Madrid A., Alisch R.S., Rizk E., Papale L.A., Hogan K.J., Iskandar B.J.* Transgenerational epigenetic inheritance of axonal regeneration after spinal cord injury. *Environ. Epigenet.* 2023. 9 (1): 1–7.
- Molloy A.M., Mills J.L., McPartlin J., Kirke P.N., Scott J.M., Daly S.* Maternal and fetal plasma homocysteine concentrations at birth: the influence of folate, vitamin B12, and the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase 677C-T variant. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2002. 186 (3): 499–503.
- Moretti R., Caruso P.* The controversial role of homocysteine in neurology: from labs to clinical practice. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. 20 (1): 231.
- Moustafa A.A., Hewedi D.H., Eissa A.M., Frydecka D., Misiak B.* Homocysteine levels in schizophrenia and affective disorders—focus on cognition. *Front. Behav. Neurosci.* 2014. 8: 343.
- Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K.* Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 1979. 95 (2): 351–358.
- Perla-Kajan J., Jakubowski H.* Dysregulation of epigenetic mechanisms of gene expression in the pathologies of hyperhomocysteinemia. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. 20 (13): 3140.
- Petras M., Tatarkova Z., Kovalska M., Mokra D., Dobrota D., Lehotsky J., Drgova A.* Hyperhomocysteinemia as a risk factor for the neuronal system disorders. *J. Physiol. Pharmacol.* 2014. 65 (1): 15–23.
- Pogribny I.P., Karpf A.R., James S.R., Melnyk S., Han T., Tryndyak V.P.* Epigenetic alterations in the brains of Fisher 344 rats induced by long-term administration of folate/methyl-deficient diet. *Brain Res.* 2008. 1237: 25–34.
- Portha B., Grandjean V., Movassat J.* Mother or Father: who is in the front line? Mechanisms underlying the non-genomic transmission of obesity/diabetes via the maternal or the paternal line. *Nutrients.* 2019. 11 (2): 233.
- Postnikova T.Y., Amakhin D.V., Trofimova A.M., Tumanova N.L., Dubrovskaya N.M., Kalinina D.S. et al.* Maternal hyperhomocysteinemia produces memory deficits associated

- with impairment of long-term synaptic plasticity in young rats. *Cells*. 2023. 12 (1): 58.
- Pustygina A.V., Milyutina Y.P., Zaloznyaya I.V., Arutyunyan A.V.* Indices of oxidative stress in the brain of newborn rat subjected to prenatal hyperhomocysteinemia. *Neurochem. J.* 2015. 9: 60–65.
- Razygraev V., Yushina A.D., Titovich I.A.* A method of measuring glutathione peroxidase activity in murine brain: application in pharmacological experiment. *Bull. Exper. Biol. Med.* 2018. 165 (4): 589–592.
- Schatz R.A., Wilens T.E., Sellinger O.Z.* Decreased transmethylation of biogenic amines after in vivo elevation of brain S-adenosyl-l-homocysteine. *J. Neurochem.* 1981. 36: 1739–1748.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1981.tb00426.x>.
- Scholz J., Niibori Y., Frankland P., Lerch J.* Rotarod training in mice is associated with changes in brain structure observable with multimodal MRI. *Neuroimage*. 2015. 107: 182–189.
- Seshadri S., Beiser A., Selhub J., Jacques P.F., Rosenberg I.H., D'Agostino R.B. et al.* Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* 2002. 346 (7): 476–483.
- Shackelford R., Ozluk E., Islam M.Z., Hopper B., Meram A., Ghali G., Kevil C.G.* Hydrogen sulfide and DNA repair. *Redox. Biol.* 2021. 38: 101675.
- Shcherbitskaya A.D., Milyutina Y.P., Zaloznyaya I.V., Arutyunyan A.V., Nalivaeva N.N., Zhuravin I.A.* The effects of prenatal hyperhomocysteinemia on the formation of memory and the contents of biogenic amines in the rat hippocampus. *Neurochem. J.* 2017. 11: 296–301.
- Streck E.L., Bavaresco C.S., Netto C.A., Wyse A.T.* Chronic hyperhomocysteinemia provoked a memory deficit in rats in the Morris water task. *Behav. Brain. Res.* 2004. 153 (2): 377–381.
- Takeuchi H., Setoguchi T., Machigashira M., Kanbara K., Izumi Y.* Hydrogen sulfide inhibits cell proliferation and induces cell cycle arrest via an elevated p21 Cip1 level in Ca9-22 cells. *J. Periodontal. Res.* 2008. 43 (1): 90–95.
- Toohey J.I.* Possible Involvement of Hydrosulfide in B12-Dependent Methyl Group Transfer. *Molecules*. 2017. 22 (4): 582.  
<https://doi.org/10.3390/molecules22040582>.
- Tothova B., Kovalska M., Kalenska D., Tomascova A., Lehotsky J.* Histone Hyperacetylation as a Response to Global Brain Ischemia Associated with Hyperhomocysteinemia in Rats. *Int. J. Mol. Sci.* 2018. 19.  
<https://doi.org/10.3390/ijms19103147>
- Tremolizzo L., Doueiri M.S., Dong E., Grayson D.R., Davis J., Pinna G. et al.* Valproate corrects the schizophrenia-like epigenetic behavioral modifications induced by methionine in mice. *Biol. Psychiatry*. 2005. 57: 500–509.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.11.046>.
- Wald D.S., Law M., Morris J.K.* Homocysteine and cardiovascular disease: Evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ*. 2002. 325 (7374): 1202.
- Weydt P., Hong S.Y., Kliot M., Moller T.* Assessing disease onset and progression in the SOD1 mouse model of ALS. *Neuroreport*. 2003. 14 (7): 1051–1054.
- Yakovlev A.V., Kurmashova E., Gataulina E., Gerasimova E., Khalilov I., Sitdikova G.F.* Maternal hyperhomocysteinemia increases seizures susceptibility of neonatal rats. *Life Sci.* 2023. 329: 121953.
- Yakovlev A.V., Kurmashova E., Zakharov A., Sitdikova G.F.* Network-driven activity and neuronal excitability in hippocampus of neonatal rats with prenatal hyperhomocysteinemia. *BioNanoScience*. 2018. 8 (1): 304–309.
- Yakovleva O., Bogatova K., Mukhtarova R., Yakovlev A., Shakhmatova V., Gerasimova E. et al.* Hydrogen sulfide alleviates anxiety, motor, and cognitive dysfunctions in rats with maternal hyperhomocysteinemia via mitigation of oxidative stress. *Biomolecules*. 2020. 10 (7): 995.
- Yakovleva O.V., Ziganshina A.R., Dmitrieva S.A., Arslanova A.N., Yakovlev A.V., Minibayeva F.V. et al.* Hydrogen sulfide ameliorates developmental impairments of rat offspring with prenatal hyperhomocysteinemia. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018. 2018: 1–13.
- Yakovleva O.V., Ziganshina A.R., Gerasimova E.V., Arslanova A.N., Yarmiev I.Z., Zefirov A.L., Sitdikova G.F.* The effect of B Vitamins on the early development of rat pups with prenatal hyperhomocysteinemia. *Rus. J. Physiol.* 2019. 105 (10): 1247–1261.
- Yusuf M., Huat B.T.K., Hsu A., Whiteman M., Bhatia M., Moore P.K.* Streptozocin-induced diabetes in the rat is associated with enhanced tissue hydrogen sulphide biosynthesis. *Biochem. Biophys.* 2005. 333: 1146–1152.

## EVALUATION OF SENSOMOTOR DEVELOPMENT, BEHAVIORAL REACTIONS AND COGNITIVE FUNCTIONS OF THE SECOND GENERATION OF RATS WITH HYPERHOMOCYSTEINEMIA

**O. V. Yakovleva<sup>#</sup>, V. V. Skripnikova, A. V. Yakovlev, G. F. Sitdikova**

*Department of Human and Animal Physiology, IFM&B, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia*

*<sup>#</sup>e-mail: a-olay@yandex.ru*

The adverse maternal exposure during pregnancy leads to developmental disorders in the offspring that can be passed on to later generations. Epigenetic regulation of DNA transcription may mediate inherited metabolic diseases. An increase in homocysteine concentration in the blood is associated with epigenetic modifications of the genome, which can alter the fetal brain's development program and cause cognitive impairment. The aim of our work was to identify changes in sensomotor development, behavioral reactions and cognitive functions of offspring of second generation rats (HcyF2) of hyperhomocysteinemia. Our results indicate that unconditioned reflexes and physical parameters are delayed in HcyF2 rats. In "open field", HcyF2 rats showed higher levels of anxiety and decreased exploratory and motor activity, while coordination of movements studied in "rotarod" test was not impaired. Decreased limb muscle strength was shown in the "grip strength" test. Additionally, HcyF2 rats demonstrated an impaired learning and long-term memory in the Morris water maze. Biochemical analysis revealed an imbalance in the antioxidant systems, which was attributed to decreased activity of glutathione peroxidases and H2S synthesis enzymes. It was suggested that elevated homocysteine levels during pregnancy may result in epigenetic modifications of the genome, which can impact the metabolism of offspring and be inherited by future generations.

*Keywords:* hyperhomocysteinemia, second generation, sensomotor development, anxiety, memory, learning, motor coordination, oxidative stress

## МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ СИСТЕМЫ У САМЦОВ МЫШЕЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА СОЦИАЛЬНЫХ ПОРАЖЕНИЙ

© 2024 г. А. А. Сапронова<sup>1, \*</sup>, Ю. А. Рябушкина<sup>1</sup>, П. Э. Кисаретова<sup>1, 2</sup>, Н. П. Бондарь<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский государственный исследовательский университет, Новосибирск, Россия

\*e-mail: sapronovann@gmail.com

Поступила в редакцию 04.10.2023 г.

После доработки 02.11.2023 г.

Принята к публикации 06.11.2023 г.

Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система (ГНС) играет важную роль в механизмах адаптации к хроническому стрессу. Модель хронического социального стресса (ХСС), основанная на опыте поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях, вызывает у мышей развитие депрессивно-подобного состояния, которое чаще всего сопровождается повышением уровня кортикостерона в крови. В данной работе мы оценили, какие изменения, которые могут влиять на регуляцию синтеза кортикостерона и его уровень в крови, происходят в центральном (гипоталамус) и периферическом (надпочечники) звеньях ГНС под влиянием хронического социального стресса. Опыт хронического социального стресса вызывает увеличение относительной массы надпочечников, увеличение уровня экспрессии гена *Crh* в гипоталамусе и экспрессии генов ферментов синтеза кортикостерона *Star*, *Cyp11a1*, *Cyp11b1* в надпочечниках. Одновременно с этим в гипоталамусе снижается экспрессия *Fkbp5* и *Nr3c1* и повышается экспрессия *Crhbp*, а в надпочечниках снижается экспрессия гена *Mc2r* и *Hsd11b1*, что суммарно направлено на уменьшение количества выделяемого надпочечниками кортикостерона и приводит к ограничению глюкокортикоидного ответа. Таким образом, хронический стресс приводит к дисбалансу активирующих и стабилизирующих механизмов регуляции ГНС и возможному неадекватному ответу на дополнительные стрессорные стимулы.

**Ключевые слова:** хронический социальный стресс, гипоталамус, надпочечники, ГНС, мыши линии C57BL/6J

DOI: 10.31857/S0044467724020058

### ВВЕДЕНИЕ

Депрессия является серьезным бременем для общества и в настоящее время затрагивает около 350 млн человек во всем мире. За последние годы в развитых странах депрессивные расстройства становятся все большей финансовой нагрузкой на бюджет страны и основной причиной инвалидности (Greenberg et al., 2021).

Значительная часть депрессивных расстройств в первую очередь обусловлена и усугубляется социальным стрессом, а не физическими проблемами. При этом результаты исследований показывают, что адаптироваться к хроническому социальному стрессу гораздо сложнее, чем к физическому (Bartolomucci, 2007).

Стресс социального поражения является валидной моделью депрессии на мышах, несмотря на то, что интенсивность используемого стресса выше, чем у большинства людей. Однако люди

гораздо больше подвержены депрессивным состояниям, чем животные, и даже гораздо менее сильные стрессоры приводят к более выраженным эффектам, поэтому подобрать полностью релевантную модель невозможно. Хронический стресс социальных поражений вызывает у мышей депрессивно-подобное состояние, подобное депрессивным состояниям у человека, со сходством симптомов, этиологии, чувствительности к препаратам, нейрохимических и гормональных изменений (Bartolomucci, Leopardi, 2009; Berton et al., 2006; N. Bondar et al., 2009; Han, Nestler, 2017; Kudryavtseva et al., 1991; Venzala et al., 2012).

Исследования с использованием модели стресса социальных поражений зачастую ограничиваются 10 днями стресса (Kamimura et al., 2021; Lu et al., 2021; Nakatake et al., 2020), однако малая длительность стресса дает возможность оценить только первые этапы перестройки гормональной регуляции и адаптации животных к стрессу, а методики эксперимента зачастую

позволяют животным довольно легко физиологически адаптироваться к стрессирующим событиям. Кроме того, после непродолжительного стресса только часть животных демонстрирует признаки депрессивного состояния, а остальные проявляют резистентность к действию стресса (Berton et al., 2006; Dias et al., 2014; Krishnan et al., 2007; Murra et al., 2022; Warren et al., 2013).

Используемая в нашей работе модификация модели хронического социального стресса предполагает воздействие стрессирующих факторов в течение 36 дней, что приводит к формированию депрессивного состояния практически у всех животных. Ранее в наших работах было показано развитие поведенческого дефицита, значительное снижение коммуникативности у мышей, выраженное депрессивное поведение у мышей с опытом хронического социального стресса в течение 30 дней (Bondar et al., 2018; Avgustinovich et al., 2005; Августинович, Бондарь, 2021; Avgustinovich et al., 2022).

При хроническом стрессе и ряде связанных со стрессом психических расстройств происходит повышение уровня глюкокортикоидных гормонов в крови, при этом нарушается механизм отрицательной обратной связи, регулирующей активность ГНС (Merkulov et al., 2017). Ранее мы показали (Bondar et al., 2018), что 36-дневный хронический социальный стресс приводит к стойкому повышению базального уровня кортикостерона и при этом нарушается чувствительность генов-мишеней глюкокортикоидов в отделах мозга. Механизмы, лежащие в основе таких нарушений, и вовлеченность разных звеньев ГНС до конца не изучены и могут варьировать в зависимости от силы и продолжительности стресса.

В данной работе мы хотели оценить, какие изменения, которые могут влиять на регуляцию синтеза кортикостерона и его уровень в крови, происходят в центральном (гипоталамус) и периферическом (надпочечники) звеньях ГНС под влиянием хронического социального стресса. Мы оценили влияние стресса на уровень экспрессии генов в двух структурах, при этом анализ экспрессии проводили через сутки после последнего стрессирующего воздействия, что должно отражать долговременные изменения в регуляции активности ГНС.

В гипоталамусе мы исследовали экспрессию гена кортикотропин-рилизинг-гормона (КРГ)

*Crh*, являющегося центральным регулятором активности ГНС, и экспрессию генов, продукты которых непосредственно с ним связаны, — *Crhr1* (рецептор КРГ) и *Crhbp* (corticotropin-releasing factor-binding protein). Рецептор CRHR1 в гипоталамусе является частью петли обратной связи ГНС (Jiang et al., 2019), а белок CRHBP связывает КРГ, уменьшая количество КРГ, поступающее в гипофиз для активации ГНС (Ketchesin et al., 2017). Кроме того, мы оценили уровень экспрессии гена глюкокортикоидного рецептора (ГР) *Nr3c1* и его ко-шаперона, *Fkbp5*. В гипоталамусе глюкокортикоидный рецептор, реагирующий на кортикостерон, необходим для окончания стрессовой реакции, а ко-шаперон FKBP51 снижает чувствительность ГР к стимуляции гормоном, увеличивая тем самым продолжительность стрессовой реакции (Häusl et al., 2021; Juszczak, Stankiewicz, 2018).

В надпочечниках мы исследовали гены участников синтеза кортикостерона: ген рецептора АКТГ *Mc2r*, гены ферментов, участвующие в синтезе кортикостерона на ключевых стадиях (*Star*, *Cyp11a1*, *Cyp11b1*, *Hsd11b1*), гены регуляции глюкокортикоидного ответа *Fkbp5*, *Nr3c1*. Рецептор АКТГ MC2R располагается на внешней мембране клеток надпочечников, и его активация запускает процесс синтеза кортикостерона. StaR — стероидогенный острый регуляторный белок, который опосредует транспорт холестерина от внешней митохондриальной мембраны к внутренней митохондриальной мембране. CYP11A1 — митохондриальный фермент, который катализирует превращение холестерина в прегненолон, что является первой стадией синтеза глюкокортикоидов. CYP11B1 — 11-бета-гидроксилаза, которая участвует в финальной стадии синтеза кортикостерона. HSD11B1 — 11-бета-гидроксистероиддегидрогеназа, которая участвует в превращении дегидрокортикостерона (метаболит кортикостерона) обратно в кортикостерон (Merk et al., 2023). Глюкокортикоидный рецептор и его ко-шаперон FKBP51 в надпочечниках также являются участниками петли обратной связи, и ее активация приводит к снижению синтеза кортикостерона (Mourtzi et al., 2021).

## МЕТОДИКА

### 1. Животные

Эксперименты проводили на самцах мышей линии C57BL/6J в возрасте 2.5–3 мес. В качестве агрессоров использовались самцы мышей линии

CD1. Мыши содержались в стандартных условиях вивария Института цитологии и генетики СО РАН (RFMEFI62119X0023) (12:12 ч света/темноты, рассвет в 19:00, вода и корм *ad libitum*). После отсаживания от матерей в возрасте 1 мес мышей содержали в группах по 8–10 особей в клетках 36 × 23 × 12 см до использования в эксперименте.

## 2. Формирование депрессивно-подобного состояния у самцов мышей

Для формирования депрессивно-подобного состояния у самцов мышей использовали модель хронического социального стресса (Kudryavtseva et al., 1991). Мышей линий C57BL/6J и CD1 попарно помещали в экспериментальные клетки, разделенные пополам прозрачной перегородкой с отверстиями, позволявшей мышам видеть, слышать, воспринимать запахи друг друга, но предотвращавшей физическое взаимодействие. Мыши линии CD1 крупнее мышей линии C57BL/6J и в эксперименте являлись доминантными самцами (агрессорами). В течение 36 дней ежедневно во второй половине дня (15.00–17.00 часов) убирали перегородку на 10 мин, что приводило к межсамцовым конфронтациям. Взаимодействие самцов прекращали, если интенсивные атаки со стороны нападающей особи во время агрессивных столкновений длились более 2 мин, вновь устанавливая между ними перегородку. После драки самца линии C57BL/6J, потерпевшего поражение, пересаживали к новому агрессору, с которым они сидели в течение суток до следующей драки, разделенные прозрачной перегородкой.

В качестве контроля использовали животных без опыта взаимодействий, рассаженных в индивидуальные клетки за 5 дней до эксперимента. Контрольные животные были разделены на 2 подгруппы: группа 1 – мыши были протестированы в тесте вынужденного плавания, группа 2 – мыши не подвергались поведенческому тестированию и использовались только для молекулярных исследований. Тест вынужденного плавания является сильным острым стрессором для контрольных животных и изменяет активность ГГНС, поэтому для оценки уровня экспрессии мы использовали интактных животных. Соответственно, в тесте вынужденного плавания в качестве контроля использовали группу 1, при оценке уровня экспрессии генов – группу 2. В группах контроля было по 11–12 животных, в группе стресса – 37 животных. Животных распределяли по группам случайным образом. Раз-

мер группы выбран стандартный для такого рода исследований (10–20 особей в каждой группе).

## 3. Анализ поведения

Для оценки изменений в поведении мышей после ХСС мы использовали тест вынужденного плавания (Castagné et al., 2009) с некоторыми модификациями. Мышей индивидуально помещали в плексигласовые цилиндры (высота 45 см, диаметр 10 см), содержащие воду (глубина 27 см, 24–25°C). В течение 5 мин теста оценивали общее время активного плавания, время дрейфа (небольшие движения лапами для поддержания равновесия), общее время иммобильности (полное отсутствие движения мыши) и латентное время до первой иммобильности. Тест проводили за 2 дня до вывода животных из эксперимента. Поведение регистрировали с помощью программного обеспечения BORIS (Behavioral Observation Research Interactive Software (Friard, Gamba, 2016)).

## 4. Сбор тканей

На следующий день после последней агонистической конфронтации (36-й день эксперимента) между 10 и 13 ч утра животные были выведены из эксперимента с помощью быстрой декапитации. Выделяли и взвешивали надпочечники, выделяли гипоталамус и замораживали при –70°C.

## 5. Выделение РНК и ПЦР в реальном времени

Из замороженных образцов ткани в дальнейшем выделяли РНК с использованием ExtractRNA (ООО “Евроген”, Россия) согласно протоколу производителя. Образцы были обработаны ДНКазой DNase I (Thermo Fisher Scientific, США) и затем очищены с помощью парамагнитных частиц RNAClean XP beads (Beckman Coulter, США). Измерение качества и количества выделенной РНК проводили с использованием спектрофотометра NanoDrop 2000. Для синтеза комплементарной ДНК использовали набор RevertAid (Thermo Fisher Scientific, США), для ПЦР использовали наборы БиоМастер HS-qПЦР (ООО “Биолаб-микс”, Россия). В реакцию брали 0.5 мкг РНК, все процедуры проводили согласно протоколам производителя.

Для оценки экспрессии генов использовали ПЦР с детекцией в режиме реального времени с



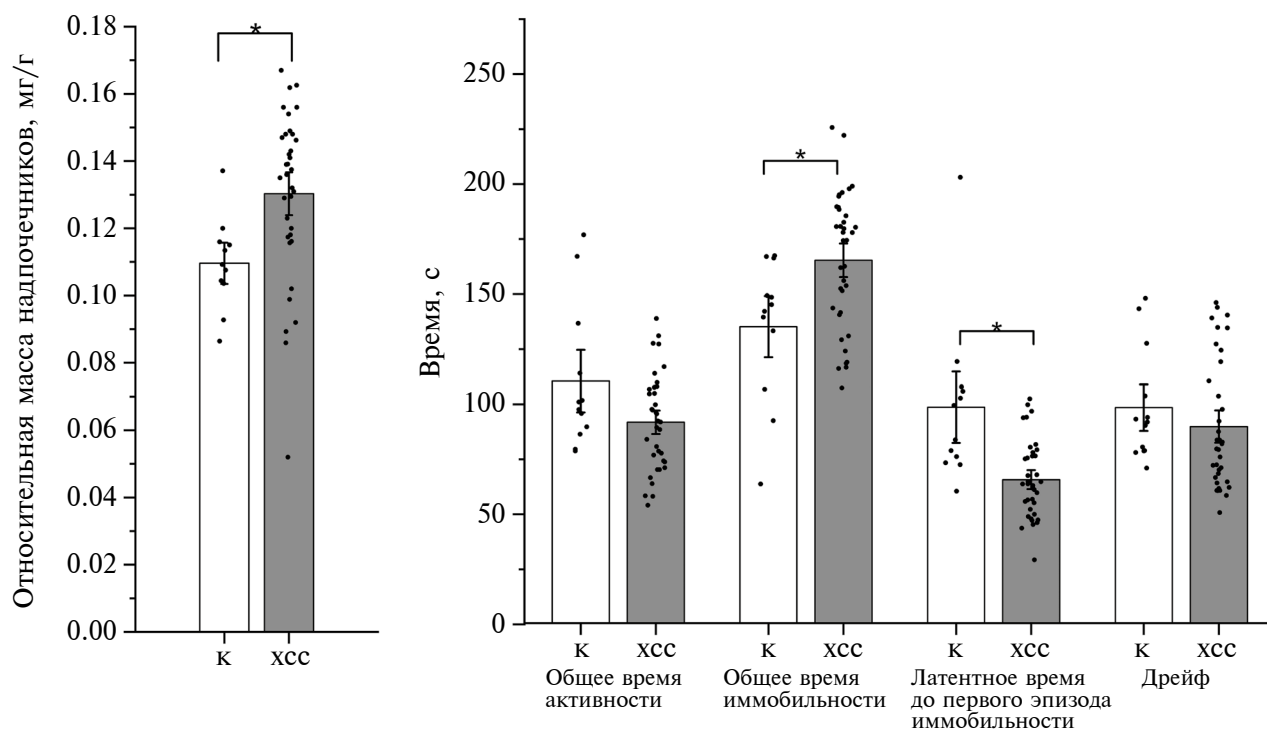


Рис. 1. (а) – относительная масса надпочечников (масса органа в миллиграммах, деленная на массу тела в граммах). Данные представлены как среднее  $\pm$  ошибка среднего. Статистический анализ с оценкой статистической значимости t-критерием Стьюдента, \* –  $p < 0.05$ . К – контрольная группа, ХСС – мыши с хроническим стрессом социальных поражений. (б) – Параметры поведения в тесте вынужденного плавания. Данные представлены как среднее  $\pm$  ошибка среднего. Статистический анализ с оценкой статистической значимости t-критерием Стьюдента, \* –  $p < 0.05$ . К – контрольная группа, ХСС – мыши с хроническим стрессом социальных поражений.

**Fig. 1.** (a) – Relative mass of the adrenal glands (organ mass in milligrams divided by body mass in grams). Data are presented as mean  $\pm$  error of mean. Statistical analysis with significance assessment by Student's t-test, \* –  $p < 0.05$ . К – control group, ХСС – mice with chronic social defeat stress. (б) – Behavioral parameters in the forced swimming test. Data are presented as mean  $\pm$  error of mean. Statistical analysis with significance assessment by Student's t-test, \* –  $p < 0.05$ . К – control group, ХСС – mice with chronic social defeat stress.

использованием флуоресцентно-меченых зондов. Праймеры и зонды для каждого гена подбирали с использованием программы Primer-BLAST (NCBI). Праймеры были синтезированы в ООО “Биосет” (Новосибирск, Россия), зонды в ООО “ДНК-Синтез” (Москва, Россия). Последовательности праймеров и зондов исследованных генов представлены в табл. 1. Результаты ПЦР нормализовали на референсные гены: *Hk1* и *Gpm6b* для гипоталамуса и *Hk1* и *Pic3c3* для надпочечников и анализировали с использованием  $\Delta\Delta C_t$ -метода. Каждую реакцию проводили в двух повторах. Поскольку для референсных и целевых генов использовали зонды с разными флюорофорами (*Hk1* – Cy5, *Gpm6b*, *Pic3c3* – HEX, целевые гены – ROX), то измерение экспрессии генов проводили в одной лунке. Эффективность амплификации каждой пары праймеров составляла от 80 до 110%. Для постановки реакции использовали амплификатор Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, США).

Стабильность референсных генов между и внутри групп проверяли с помощью программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager (Bio-Rad, США): стабильность экспрессии (M) была менее 0.5 и коэффициент вариации (CV) был менее 0.25, что говорит о стабильности экспрессии генов между образцами.

#### 6. Статистическая обработка данных

Проверка распределения количественных данных на нормальность и гомогенность дисперсий проводили с помощью теста Шапиро–Уилка (Shapiro–Wilk test). Поскольку данные соответствовали нормальному распределению, статистическую обработку проводили, используя t-критерий Стьюдента. Различия между экспериментальными группами считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ . Анализ данных производили с помощью пакета программ Statistica 8.0 (StatSoft, США).

**Таблица 1.** Последовательности праймеров и зондов, использованных в работе  
**Table 1.** Sequences of primers and probes used in the work

Ген	Последовательность нуклеотидов	Последовательность 5'→3'
<i>Crh</i>	Прямая (праймер)	GGAGAAGAGAGCGCCCCTAA
	Обратная (праймер)	AAGAAATTC AAGGGCTGCGG
	Зонд	ROX-ATGCTGCTGGTGGCTCTGTCTCC-BHQ2
<i>Crhr1</i>	Прямая (праймер)	GGTCCTGCTGATCAACTTTA
	Обратная (праймер)	ACATGTAGGTGATGCCCA
	Зонд	ROX-CTGGGGTGCCTTTCCC-BHQ2
<i>Crhbp</i>	Прямая (праймер)	TCCATACCAGCACCAAACTG
	Обратная (праймер)	CAGCTCCACAAAGTCACCAG
	Зонд	ROX-ACTGAAGGCCATGCAAGTGTCCGA-BHQ2
<i>Fkbp5</i>	Прямая (праймер)	AGAATCAAACGGAAGGCGAG
	Обратная (праймер)	CTCGGCAATCAAATGTCCTTC
	Зонд	ROX-CCAAACGAAGGAGCAACGG-BHQ2
<i>Nr3c1</i>	Прямая (праймер)	ATGTATGACCAATGTAAACACA
	Обратная (праймер)	GCTCTTCAGACCTTCCTTAG
	Зонд	ROX-TGCAGGTATCCTATGAAGAG-BHQ2
<i>Hsd11b1</i>	Прямая (праймер)	GCTGAAGCAGAGCAATGGCAG
	Обратная (праймер)	GTGATGGACACGTTGACCTTGG
	Зонд	/56-ROXN/CCTTGGCTGGGAAAATGACCC/3BHQ_2/
<i>Cyp11a1</i>	Прямая (праймер)	GCTGAAGCAGAGCAATGGCAG
	Обратная (праймер)	GTGATGGACACGTTGACCTTGG
	Зонд	ROX-CCTTGGCTGGGAAAATGACCC-BHQ2
<i>Cyp11b1</i>	Прямая (праймер)	GCAGAGGCAGAGATGATGC
	Обратная (праймер)	ACAGGCCTGAAAGTGAGGAG
	Зонд	56-ROXN/CACCATGTGCTGAAATCCTTCC/3BHQ_2/
<i>Mc2r</i>	Прямая (праймер)	CTTGCCGAGAAAGATCCTAC
	Обратная (праймер)	GCCTTGAAGCAGCAGAATC
	Зонд	ROX-CTGAAGCCAGCAAGCCTGCC-BHQ2
<i>Star</i>	Прямая (праймер)	AAACTCACTTGGCTGCTCAGTA
	Обратная (праймер)	TGCGATAGGACCTGGTTGAT
	Зонд	ROX-TGAAGGGGTGGCTGCCGAAG-BHQ2
<i>Hk1</i>	Прямая (праймер)	ACATTGTCTCCTGCATCTCC
	Обратная (праймер)	GCTTGAATCCCTTTGTCCAC
	Зонд	Cy5-CCTTCTCGTTTCCCTGCAAG-BHQ2
<i>Gpr6b</i>	Прямая (праймер)	CAAGTGCAGTGAAGAGCTG
	Обратная (праймер)	TGTAGAACATAAACTGGCAC
	Зонд	HEX-ACSTATGTGCTGGGAGTGGCCT-BHQ2
<i>Pik3c3</i>	Прямая (праймер)	GGATTGGCTGGACAGATT
	Обратная (праймер)	CTCCTTGTCACTCGCACTT
	Зонд	HEX-ACTTGATGGTTGAGTTTCGCTGTGT-BHQ1

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2. Поведение мышей в тесте вынужденного плавания

#### 1. Относительная масса надпочечников

Массу надпочечников нормировали на массу тела животных. ХСС привел к повышению относительной массы надпочечников по сравнению с контролем [ $t(1,44) = -2.61, p = 0.012$ ] (рис. 1 (а)).

В тесте вынужденного плавания (рис. 1 (б)) ХСС вызвал повышение времени иммобильности [ $t(1,47) = -2.91, p = 0.005$ ] и снижение латентного времени до первого эпизода иммобильности [ $t(1,47) = 4.17, p < 0.001$ ], что говорит о развитии депрессивного состояния у стрессированных животных.

## 3. Уровень экспрессии генов в гипоталамусе

В данной работе мы оценили экспрессию пяти генов в гипоталамусе, которые отражают состояние глюкокортикоидной системы (рис. 2).

ХСС привел к повышению экспрессии гена кортикотропин-рилизинг-гормона *Crh* [ $t(1,45) = -3.28, p = 0.002$ ] и его регулятора *Crhbp* [ $t(1,45) = -2.80, p = 0.007$ ]. При этом экспрессия генов глюкокортикоидного рецептора *Nr3c1* [ $t(1,45) = 2.84, p = 0.007$ ] и его кофактора *Fkbp5* [ $t(1,45) = 3.01, p = 0.004$ ] была снижена у стрессированных животных по сравнению с контролем. Экспрессия только одного гена, *Crhr1*, кодирующего рецептор КРГ, не зависела от опыта стресса.

## 4. Уровень экспрессии генов в надпочечниках

ХСС также оказал значительное влияние на экспрессию генов в надпочечниках, мы обнаружили изменение уровня экспрессии в 5 из 7 исследованных генов (рис. 3).

Экспрессия генов, кодирующих ферменты синтеза кортикостерона, *Cyp11a1* [ $t(1,46) = -5.49, p < 0.001$ ] и *Cyp11b1* [ $t(1,46) = -4.69, p < 0.001$ ] у стрессированных животных повышена, и также повышена экспрессия гена *Star* [ $t(1,46) = -4.78, p < 0.001$ ], кодирующего белок-переносчик холестерина внутрь митохондрий, где происходит синтез стероидных гормонов. При этом уровень экспрессии гена *Hsd11b1*, кодирующего фермент, отвечающий за превращение дегидрокортикостерона (метаболит кортикостерона) обратно

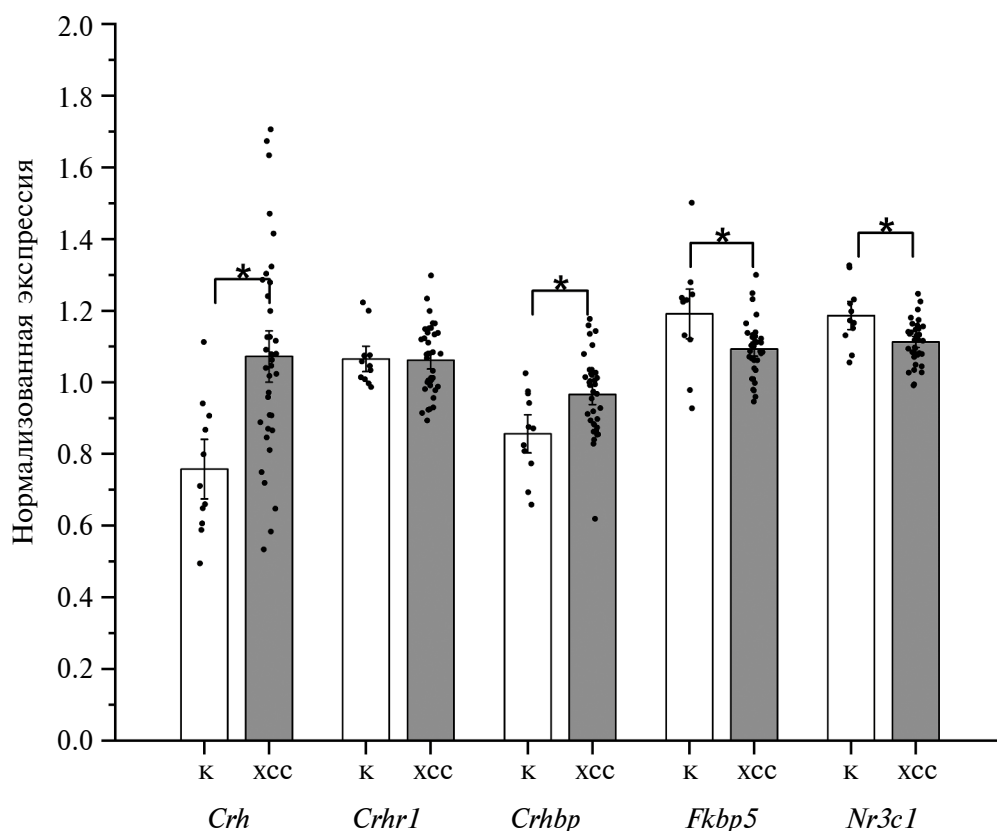


Рис. 2. Относительный уровень экспрессии генов в гипоталамусе. Уровень экспрессии каждого гена нормировали на уровень экспрессии референсных генов. Данные представлены как среднее  $\pm$  ошибка среднего. Точки отражают значение для индивидуального животного. Статистический анализ с оценкой статистической значимости t-критерием Стьюдента, \* –  $p < 0.05$ . К – контрольная группа, ХСС – мыши с хроническим стрессом социальных поражений.

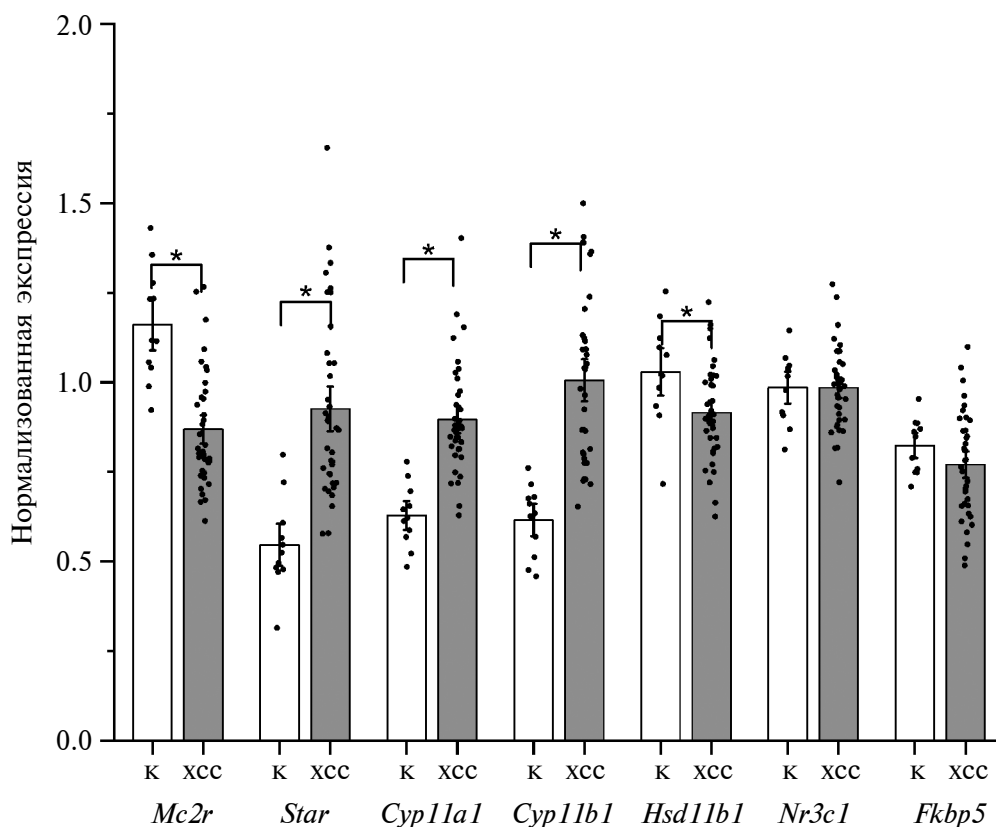
**Fig. 2.** Relative gene expression levels in the hypothalamus. The expression level of each gene was normalized to the expression level of reference genes. Data are presented as mean  $\pm$  error of mean. The points reflect the value for the individual animal. Data are presented as mean  $\pm$  error of mean. Statistical analysis with significance assessment by Student's t-test, \* –  $p < 0.05$ . К – control group, ХСС – mice with chronic social defeat stress.

в кортикостерон, у стрессированных животных снижен по сравнению с контролем [ $t(1,46) = 2.39$ ,  $p = 0.02$ ]. Также ХСС привел к снижению уровня экспрессии гена меланокортинового рецептора *Mc2r* [ $t(1,46) = 5.59$ ,  $p < 0.001$ ], который передает сигнал от АКГГ клеткам надпочечников. Изменений в уровне экспрессии гена глюкокортикоидного рецептора *Nr3c1* и его кофактора *Fkbp5* выявлено не было, что, вероятно, говорит об отсутствии регуляции синтеза кортикостерона через данный тип рецептора.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранее неоднократно было показано, что хронический социальный стресс приводит к развитию депрессивно-подобного состояния у мышей (Kudryavtseva, 1991; Bondar et al., 2018; Avgustinovich et al., 2005; Августинович, Бондарь, 2021;

Avgustinovich et al., 2022). В нашем эксперименте у стрессированных мышей время неподвижности в тесте вынужденного плавания значительно повышено, а латентное время до первого эпизода имобильности снижено, что согласуется с другими работами с использованием данной модели стресса длительностью более 3 недель (Avgustinovich et al., 2022; Bondar et al., 2018; Carnevali et al., 2020). Широкое использование данной модели стресса и воспроизводимые результаты, получаемые разными группами исследователей, позволяют нам предположить, что у мышей развиваются и другие признаки депрессивного состояния: повышенная тревожность, ангедония, снижение социальных взаимодействий, которые мы не оценивали, но которые всегда выявляются в подобных работах (Guo et al., 2020; Kudryavtseva et al., 2017). Поэтому найденные нами изменения в работе ГГНС мы можем связывать именно с хроническим стрессом



**Рис. 3.** Относительный уровень экспрессии генов в надпочечниках. Уровень экспрессии каждого гена нормировали на уровень экспрессии референсных генов. Данные представлены как среднее  $\pm$  ошибка среднего. Точки отражают значение для индивидуального животного. Статистический анализ с оценкой статистической значимости t-критерием Стьюдента, \* –  $p < 0.05$ . К – контрольная группа, ХСС – мыши с хроническим стрессом социальных поражений.

**Fig. 3.** Relative gene expression levels in adrenal glands. The expression level of each gene was normalized to the expression level of reference genes. Data are presented as mean  $\pm$  error of mean. The points reflect the value for the individual animal. Data are presented as mean  $\pm$  error of mean. Statistical analysis with significance assessment by Student's t-test, \* –  $p < 0.05$ . К – control group, ХСС – mice with chronic social defeat stress.

и развитием депрессивно-подобного состояния у мышей.

Мы показали, что на уровне центрального звена регуляции ГГНС, в гипоталамусе, хронический стресс приводит к увеличению уровня экспрессии гена кортикотропин-рилизинг-гормона *Crh*, продукт которого стимулирует выработку АКТГ гипофизом. Однако одновременно с этим при хроническом стрессе повышается и экспрессия гена *Crhbp*, продукт которого является частью обратной связи и деактивирует избыток КРГ. Кроме того, мы показали снижение экспрессии и других генов, участвующих в петле отрицательной обратной связи на уровне гипоталамуса, – генов глюкокортикоидного рецептора (*Nr3c1*) и гена *Fkbp5*, продукт которого блокирует активность ГР.

Таким образом, можно предположить, что изменения экспрессии этих генов являются результатом адаптации организма к повышению активности ГГНС при хроническом стрессе: так как в данной модели сильные стрессоры возникают у мыши каждый день, уровень экспрессии *Crh* все время остается повышенным, но часть КРГ блокируется связывающим белком, а также происходит общее снижение активности петли обратной связи, которая в норме должна блокировать повышенную экспрессию КРГ при избытке кортикостерона.

Модель хронического социального стресса, используемая нами, предполагает ежедневные конфронтации с новым партнером и в новой клетке, что является сильным стрессором для мышей, благодаря чему эффекты стресса проявляются достаточно ярко. Существует более мягкая, но схожая модель стресса – chronic subordinate colony housing (CSC) (Füchsl et al., 2013). CSC – это модель стресса, в которой четырех самцов мышей помещают в колонию с доминантным самцом на 19 дней и раз в неделю пересаживают в новую колонию, с новым доминантным самцом. Эта модель достаточно хорошо имитирует естественные условия проживания мышей и их социальных конфликтов, однако в ней мыши проявляют только отдельные симптомы хронического стресса. Анализ исследований активности ГГНС на этих двух моделях помогает нам лучше понять эффекты хронического стресса социальных поражений разной интенсивности. В нашем эксперименте у мышей с опытом ХСС увеличивается относительная масса надпочечников. Ранее мы

показали (Bondar et al., 2018), что это сопровождается и увеличением уровня базального кортикостерона, и такие данные часто получают в работах по исследованию сильного и продолжительного стресса (Krishnan et al., 2007; Vagnerová et al., 2023). При хроническом, но более мягком стрессе в модели CSC показано, что базальный уровень кортикостерона у стрессированных животных на 19-й день не отличается от контроля, однако при этом гипертрофия надпочечников возникает в первые же сутки и в дальнейшем сохраняется (Uschold-Schmidt et al., 2013). Стрессовая гипертрофия надпочечников осуществляется преимущественно за счет пучковой зоны, где синтезируются глюкокортикоиды. Гипертрофия обусловлена увеличением размера клеток, которое сопровождается гипертрофией ядер, увеличением числа и объема митохондрий, а также поверхности гладкого эндоплазматического ретикулума, т.е. структур, на которых локализованы ферменты биосинтеза стероидов.

В нашем эксперименте были исследованы гены, продукты которых отвечают за синтез кортикостерона в надпочечниках. Ген *Cyp11a1* (фермент 20,22-десмолаза или P450<sub>scc</sub>), продукт которого катализирует гидроксирование боковой цепи и расщепление холестерина до прегненолона, что является первой стадией в синтезе кортикостерона и других стероидных гормонов, и ген *Cyp11b1* (11-beta-гидроксилаза), продукт которого является ферментом заключительной стадии синтеза кортикостерона, экспрессировались у стрессированных животных более интенсивно. Также был значительно повышен уровень экспрессии гена *Star* (стероидогенный острый регуляторный белок), продукт которого представляет собой транспортный белок, обеспечивающий доставку холестерина в митохондрии. Это хорошо согласуется как с повышенным уровнем кортикостерона у стрессированных животных, так и с гипертрофией надпочечников. Снижение уровня экспрессии гена *Hsd11b1*, кодирующего фермент, отвечающий за превращение неактивного 11β-дегидрокортикостерона обратно в кортикостерон, в нашем исследовании может свидетельствовать о способе снижения глюкокортикоидного ответа – более быстрой деактивации кортикостерона.

Исследования на более мягкой модели хронического стресса CSC, в которой не было найдено повышение базального уровня кортикостерона,

не показали увеличения уровня экспрессии генов *Star* и *Cyp11a1* и обнаружили лишь незначительное повышение уровня экспрессии *Cyp11b1* (Uschold-Schmidt et al., 2012).

Ключевые ферменты синтеза кортикостерона (*Star*, *Cyp11a1* и *Cyp11b1*) также увеличиваются и при других видах хронического стресса, например при длительном метаболическом стрессе (высокожировой диете) (Berger et al., 2019). В работе (Aguilera et al., 1996) при исследовании хронического стресса иммобильности в течение 2 недель также было показано увеличение уровня экспрессии гена *Cyp11a1*, но не *Cyp11b1*. С использованием single-cell-подхода (Lopez et al., 2021) было показано, что хронический социальный стресс в течение 21 дня приводит к повышению уровня кортикостерона, гипертрофии надпочечников и к повышению экспрессии *Star* и *Cyp11b1* в пучковой зоне надпочечников, однако одновременно и к некоторому снижению уровня экспрессии *Cyp11a1*.

Стоит отметить, что при остром стрессе экспрессия генов, кодирующих ферменты синтеза стероидов, тоже увеличивается. Так, в нашей недавней работе (Auriyants et al., 2023) у мышей после предъявления иммобилизационного стресса в течение 1 ч было показано увеличение экспрессии генов *Star*, *Cyp11a1*, *Cyp11b1* в надпочечниках. В работе (Vagnerová et al., 2019) экспрессия *Star* и *Cyp11a1* после острого иммобилизационного стресса была увеличена по сравнению с контролем. Таким образом, при острой реакции на стресс происходит повышение экспрессии этих генов для обеспечения повышенного синтеза кортикостерона, которая, однако, возвращается к норме после окончания воздействия. При хроническом стрессе, в зависимости от его длительности и ресурсов организма, экспрессия этих генов может оставаться повышенной в фазе адаптации к стрессу или даже снижаться ниже нормы в фазе истощения.

Самым примечательным является показанное нами значительное снижение экспрессии гена рецептора АКТГ *Mc2r*, активация которого запускает усиление синтеза и выброса в кровь кортикостерона. Аналогичное снижение уровня экспрессии гена *Mc2r* было показано и в более мягкой модели CSC, однако количество самого рецептора не менялось (Uschold-Schmidt et al., 2012). Было показано, что при длительном стрессе (на модели CSC) чувствительность надпочечников к АКТГ постепенно снижается.

В первые двое суток после начала стресса эффект снижения глюкокортикоидного ответа на АКТГ еще отсутствует, к концу первой недели становится заметным, на вторую-третью неделю становится выраженным (Langgartner et al., 2020; Uschold-Schmidt et al., 2013), однако причины этой нечувствительности остаются неясными. На клетках надпочечников мышей с опытом 19 дней стресса в модели CSC было показано, что снижение чувствительности под влиянием стресса происходит при обработке как большими, так малыми дозами АКТГ (Reber et al., 2007). При использовании модели хронического переменного стресса также было показано (Algamal et al., 2021), что через 30 мин после введения АКТГ кортикостероновый ответ в группе стрессированных животных ниже, чем в группе контроля. Однако в данной работе показали увеличение числа рецепторов MC2 по сравнению с контролем.

Тем не менее существуют и противоположные данные. Так, после хронического стресса иммобильности изолированные клетки надпочечников показывали более высокий кортикостероновый ответ на АКТГ (Aguilera et al., 1996). На модели 14-дневного хронического переменного стресса был также показан повышенный кортикостероновый ответ на АКТГ, особенно выраженный при введении больших доз (Ulrich-Lai et al., 2006). Таким образом, вероятно, чувствительность надпочечников к АКТГ зависит от типа хронического стресса, и именно социальный стресс чаще всего приводит к снижению кортикостеронового ответа надпочечников. Однако ни в одном из экспериментов не было показано снижение количества самих рецепторов MC2, даже при снижении экспрессии гена рецептора, и механизм снижения чувствительности остается неизвестным. Возможно, что при хроническом социальном стрессе количество этих рецепторов снижается медленно, и к 19-му дню стресса (как это было измерено в экспериментах с CSC) еще не происходит снижения количества рецепторов, а резистентность к АКТГ реализуется иными путями, например снижением эффективности связывания лиганда с рецептором.

Таким образом, в нашем эксперименте хронический стресс социальных поражений вызывает изменения как в центральном, так и в периферическом отделе ГНС. Мы показали активацию глюкокортикоидной системы: увеличение относительной массы надпочеч-

ников, увеличение уровня экспрессии генов кортикотропин-рилизинг-гормона *Crh* в гипоталамусе и экспрессии генов ферментов синтеза кортикостерона *Star*, *Cyp11a1* и *Cyp11b1* в надпочечниках. Одновременно с этим в гипоталамусе снижается экспрессия генов, продукты которых участвуют в петле отрицательной обратной связи – *Nr3c1* и *Fkbp5*, что говорит об ослаблении регуляции и компенсаторного потенциала системы. Снижение уровня экспрессии гена меланокортинового рецептора *Mcr2r* в надпочечниках позволяет предположить снижение ответа ткани на АКТГ, что может быть компенсаторным механизмом, направленным на стабилизацию системы. К таким же компенсаторным механизмам можно отнести и снижение уровня экспрессии *Hsd11b1*, кодирующего фермент, отвечающий за превращение неактивного  $11\beta$ -дегидрокортикостерона обратно в кортикостерон, что суммарно может приводить к уменьшению количества выделяемого надпочечниками кортикостерона и, таким образом, к ограничению глюкокортикоидного ответа. Конечно, наше исследование имеет ограничения в плане интерпретации, поскольку мы основываемся только на уровне экспрессии гена, но ничего не можем сказать об уровне белковых продуктов этих генов. Однако мы фиксируем не изменения, вызванные острым стрессом, а долговременные изменения в уровне экспрессии, поэтому повышение / снижение уровня мРНК генов должны коррелировать с потребностями клетки в конкретном белковом продукте.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы показали, что при хроническом стрессе социальных поражений на протяжении 36 дней у мышей линии C57Bl/6J увеличивается масса надпочечников и увеличивается уровень экспрессии гена *Crh* в гипоталамусе и генов ферментов синтеза кортикостерона *Star*, *Cyp11a1*, *Cyp11b1* в надпочечниках, что коррелирует с ранее показанным повышением уровня кортикостерона и активацией ГГНС при данном типе стресса. Одновременно с этим в гипоталамусе снижается экспрессия *Fkbp5* и *Nr3c1* и повышается экспрессия *Crhbp*, а в надпочечниках снижается экспрессия гена *Mcr2r* и *Hsd11b1*, что направлено на уменьшение количества выделяемого надпочечниками кортикостерона. Таким образом, хронический стресс приводит к дисбалансу активирующих и стабилизирующих механизмов регуляции ГГНС.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа проведена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-15-00142).

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все процедуры с использованием данной модели стресса одобрены этическим комитетом ИЦиГ СО РАН (протокол № 149 от 24.04.2023 г). Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Все авторы подтверждают, что они знакомы с финальной версией рукописи и не имеют каких-либо конфликтов интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Августинович Д.Ф., Бондарь Н.П.* Особенности социального поведения мышей после длительного действия психоэмоционального и инфекционного факторов. *Рос. Физиол. Журн.* 2021. 107 (1): 28–42 <https://doi.org/10.31857/S0869813921010039>
- Aguilera G., Kiss A., Lu A., Camacho C.* Regulation of adrenal steroidogenesis during chronic stress. *Endocr. Res.* 1996. 22 (4): 433–443. Informa Healthcare. <https://doi.org/10.1080/07435809609043729>
- Algamal M., Pearson A.J., Hahn-Townsend C., Burca I., Mullan M., Crawford F., Ojo J.O.* Repeated unpredictable stress and social isolation induce chronic HPA axis dysfunction and persistent abnormal fear memory. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* 2021. 104 Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110035>
- Avgustinovich D.F., Kovalenko I.L., Kudryavtseva N.N.* A model of anxious depression: persistence of behavioral pathology. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2005. 35 (9): 917–924. <https://doi.org/10.1007/S11055-005-0146-6>
- Avgustinovich D.F., Tenditnik M.V., Bondar N.P., Marenina M.K., Zhanaeva S.Y., Lvova M.N. et al.* Behavioral effects and inflammatory markers in the brain and periphery after repeated social defeat stress burdened by *Opisthorchis felinus* infection in mice. *Physiol. Behav.* 2022. 252. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2022.113846>
- Ayriyants K.A., Ryabushkina Y.A., Sapronova A.A., Ivanchikhina A.V., Kolesnikova M.M., Bondar N.P., Reshetnikov V.V.* A comparison of stress reactivity between BTBR and C57BL/6J mice: an impact of early-life stress. *Exp. Brain Res.* 2023. 241 (3): 687–698. <https://doi.org/10.1007/S00221-022-06541-1>
- Bartolomucci A.* Social stress, immune functions and disease in rodents. *Front. Neuroendocrinol.* 2007. 28 (1): 28–49. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2007.02.001>

- Bartolomucci A., Leopardi R.* Stress and Depression: Preclinical Research and Clinical Implications. *PLoS One* 2009. 4 (1): e4265. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0004265>
- Berger I., Werdermann M., Bornstein S. R., Steenblock C.* The adrenal gland in stress – Adaptation on a cellular level. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2019. 190: 198–206. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.04.006>
- Berton O., McClung C.A., DiLeone R.J., Krishnan V., Renthal W., Russo S.J. et al.* Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science*. 2006. 311 (5762): 864–868. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1120972>
- Bondar N., Bryzgalov L., Ershov N., Gusev F., Reshetnikov V., Avgustinovich D. et al.* Molecular adaptations to social defeat stress and induced depression in mice. *Mol. Neurobiol.* 2018. 55 (4): 3394–3407. <https://doi.org/10.1007/S12035-017-0586-3>
- Bondar N.P., Kovalenko I.L., Avgustinovich D.F., Smagin D.A., Kudryavtseva N.N.* Anhedonia in the shadow of chronic social defeat stress, or when the experimental context matters. *Open Behav. Sci. J.* 2009. 3 (1): 17–27. <https://doi.org/10.2174/1874230000903010017>
- Carnevali L., Montano N., Tobaldini E., Thayer J.F., Sgoifo A.* The contagion of social defeat stress: Insights from rodent studies. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2020. 111: 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.01.011>
- Castagné V., Porsolt R.D., Moser P.* Use of latency to immobility improves detection of antidepressant-like activity in the behavioral despair test in the mouse. *Eur. J. Pharmacol.* 2009. 616 (1–3): 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.06.018>
- Dias C., Feng J., Sun H., Shao N.Y., Mazei-Robison M.S., Damez-Werno D. et al.*  $\beta$ -catenin mediates stress resilience through Dicer1/microRNA regulation. *Nat.* 2014. 516 (7529): 51–55. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nature13976>
- Friard O., Gamba M.* BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods Ecol. Evol.* 2016. 7 (11): 1325–1330. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12584>
- Füchsl A.M., Langgartner D., Reber S.O.* Mechanisms underlying the increased plasma ACTH levels in chronic psychosocially stressed male mice. *PLoS One* 2013. 8 (12): e84161. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0084161>
- Greenberg P.E., Fournier A.A., Sisitsky T., Simes M., Berman R., Koenigsberg S.H., Kessler R.C.* The economic burden of adults with major depressive disorder in the United States (2010 and 2018). *Pharmacoeconomics* 2021. 39 (6): 653–665. <https://doi.org/10.1007/S40273-021-01019-4>
- Guo Q., Wang L., Yuan W., Li L., Zhang J., Hou W. et al.* Different effects of chronic social defeat on social behavior and the brain CRF system in adult male C57 mice with different susceptibilities. *Behav. Brain Res.* 2020. 384: 112553. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2020.112553>
- Han M.H., Nestler E.J.* Neural substrates of depression and resilience. *Neurotherapeutics* 2017. 14 (3): 677–686. <https://doi.org/10.1007/S13311-017-0527-X>
- Häusl A.S., Brix L.M., Hartmann J., Pöhlmann M.L., Lopez J.P., Menegaz D. et al.* The co-chaperone Fkbp5 shapes the acute stress response in the paraventricular nucleus of the hypothalamus of male mice. *Mol. Psychiatry*. 2021. 26 (7): 3060–3076. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01044-x>
- Jiang Z., Rajamanickam S., Justice N.J.* CRF signaling between neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) coordinates stress responses. *Neurobiol. Stress* 2019. 11: 100192. <https://doi.org/10.1016/J.YNSTR.2019.100192>
- Juszczak G.R., Stankiewicz A.M.* Glucocorticoids, genes and brain function. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2018. 82: 136–168. <https://doi.org/10.1016/J.PNPBP.2017.11.020>
- Kamimura Y., Kuwagaki E., Hamano S., Kobayashi M., Yamada Y., Takahata Y. et al.* Reproducible induction of depressive-like behavior in C57BL/6J mice exposed to chronic social defeat stress with a modified sensory contact protocol. *Life Sci.* 2021. 282: 119821. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119821>
- Ketchesin K.D., Stinnett G.S., Seasholtz A.F.* Corticotropin-releasing hormone-binding protein and stress: from invertebrates to humans. *Stress*. 2017. 20 (5): 449–464. <https://doi.org/10.1080/10253890.2017.1322575>
- Krishnan V., Han M.H., Graham D.L., Berton O., Renthal W., Russo S.J. et al.* Molecular adaptations underlying Susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell* 2007. 131 (2): 391–404. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.09.018>
- Kudryavtseva N.N., Bakshtanovskaya I.V., Koryakina L.A.* Social model of depression in mice of C57BL/6J strain. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1991. 38 (2): 315–320. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(91\)90284-9](https://doi.org/10.1016/0091-3057(91)90284-9)
- Kudryavtseva N.N., Kovalenko I.L., Smagin D.A., Galyamina A.G., Babenko V.N.* Abnormal social behaviors and dysfunction of autism-related genes associated with daily agonistic interactions in mice. *bioRxiv*. 2017. 125674. <https://doi.org/10.1101/125674>
- Langgartner D., Marks J., Nguyen T.C., Reber S.O.* Changes in adrenal functioning induced by chronic psychosocial stress in male mice: A time course study. *Psychoneuroendocrinology* 2020. 122: 104880. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2020.104880>
- Lopez J.P., Brivio E., Santambrogio A., Donno C. De, Kos A., Peters M. et al.* Single-cell molecular profiling of all three components of the HPA axis reveals adrenal ABCB1 as a regulator of stress adaptation. *Sci. Adv.* 2021. 7 (5): eabe4497. <https://doi.org/10.1126/SCIADV.ABE4497>
- Lu J., Gong X., Yao X., Guang Y., Yang H., Ji R. et al.* Prolonged chronic social defeat stress promotes less resilience and



- higher uniformity in depression-like behaviors in adult male mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2021. 553: 107–113.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.03.058>
- Merk V.M., Renzulli P., Vrugt B., Fleischmann A., Brunner T.* Glucocorticoids are differentially synthesized along the murine and human respiratory tree. *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.* 2023. 78 (9): 2428–2440.  
<https://doi.org/10.1111/ALL.15765>
- Merkulov V.M., Merkulova T.I., Bondar N.P.* Mechanisms of brain glucocorticoid resistance in stress-induced psychopathologies. *Biochemistry. (Mosc.)* 2017. 82 (3): 351–365.  
<https://doi.org/10.1134/S0006297917030142>
- Mourtzi N., Sertedaki A., Charmandari E.* Glucocorticoid signaling and epigenetic alterations in stress-related disorders. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. 22 (11): 5964.  
<https://doi.org/10.3390/IJMS22115964>
- Murra D., Hilde K.L., Fitzpatrick A., Maras P.M., Watson S.J., Akil H.* Characterizing the behavioral and neuroendocrine features of susceptibility and resilience to social stress. *Neurobiol. Stress* 2022. 17: 100437.  
<https://doi.org/10.1016/J.YNSTR.2022.100437>
- Nakatake Y., Furuie H., Yamada M., Kuniishi H., Ukezono M., Yoshizawa K., Yamada M.* The effects of emotional stress are not identical to those of physical stress in mouse model of social defeat stress. *Neurosci. Res.* 2020. 158: 56–63.  
<https://doi.org/10.1016/J.NEURES.2019.10.008>
- Reber S.O., Birkeneder L., Veenema A.H., Obermeier F., Falk W., Straub R.H., Neumann I.D.* Adrenal insufficiency and colonic inflammation after a novel chronic psychosocial stress paradigm in mice: implications and mechanisms. *Endocrinology* 2007. 148 (2): 670–682.  
<https://doi.org/10.1210/EN.2006-0983>
- Ulrich-Lai Y.M., Figueiredo H.F., Ostrander M.M., Choi D.C., Engeland W.C., Herman J.P.* Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a sub-region-specific manner. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006. 291 (5): E965–73.  
<https://doi.org/10.1152/AJPENDO.00070.2006>
- Uschold-Schmidt N., Nyuyki K.D., Fuchsl A.M., Neumann I.D., Reber S.O.* Chronic psychosocial stress results in sensitization of the HPA axis to acute heterotypic stressors despite a reduction of adrenal in vitro ACTH responsiveness. *Psychoneuroendocrinology* 2012. 37 (10): 1676–1687. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2012.02.015>
- Uschold-Schmidt N., Peterlik D., Fuchsl A.M., Reber S.O.* HPA axis changes during the initial phase of psychosocial stressor exposure in male mice. *J. Endocrinol.* 2013. 218 (2): 193–203. <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0027>
- Vagnerová K., Jágr M., Mekadim C., Ergang P., Sechovcová H., Vodička M. et al.* Profiling of adrenal corticosteroids in blood and local tissues of mice during chronic stress. *Sci. Rep.* 2023. 13 (1): 7278.  
<https://doi.org/10.1038/S41598-023-34395-2>
- Vagnerová K., Vodička M., Hermanová P., Ergang P., Šrůtková D., Klusoňová P. et al.* Interactions between gut microbiota and acute restraint stress in peripheral structures of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis and the intestine of male mice. *Front. Immunol.* 2019. 10: 2655.  
<https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.02655>
- Venzala E., García-García A.L., Elizalde N., Delagrangé P., Tordera R.M.* Chronic social defeat stress model: behavioral features, antidepressant action, and interaction with biological risk factors. *Psychopharmacology (Berl.)* 2012. 224 (2): 313–325.  
<https://doi.org/10.1007/S00213-012-2754-5>
- Warren B.L., Vialou V.F., Iñiguez S.D., Alcantara L.F., Wright K.N., Feng J. et al.* Neurobiological sequelae of witnessing stressful events in adult mice. *Biol. Psychiatry* 2013. 73 (1): 7–14. *Biol. Psychiatry* 2013. 73 (1): 7–14. *Biol. Psychiatry* 2013. 73 (1): 7–14. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2012.06.006>

## MECHANISMS OF ADAPTATION OF THE HYPOTHALAMIC-PITUITARY-ADRENAL AXIS IN MALE MICE UNDER CHRONIC SOCIAL DEFEAT STRESS

**A. A. Sapronova<sup>a, #</sup>, Y. A. Ryabushkina<sup>a</sup>, P. E. Kisaretova<sup>a, b</sup>, N. P. Bondar<sup>a, b</sup>**

<sup>a</sup>*Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia*

<sup>b</sup>*Novosibirsk State Research University, Novosibirsk, Russia*

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

The hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) plays an important role in the mechanisms of adaptation to chronic stress. A model of chronic social defeat stress (CSDS), based on the experience of defeat in daily agonistic interactions, causes the development of a depressive-like state in mice, which is often accompanied by an increase in blood corticosterone levels. In this work, we assessed what changes occur in the central (hypothalamus) and peripheral (adrenal glands) parts of the HPA axis under the influence of chronic social stress, which can affect the regulation of corticosterone synthesis and its level in the blood. The experience of chronic social stress causes an increase in the relative weight of the adrenal glands, an increase in the expression level of *Crh* gene in the hypothalamus and the expression of the genes for the corticosterone synthesis enzymes *Star*, *Cyp11a1*, *Cyp11b1* in the adrenal glands. At the same time, in the hypothalamus the expression of *Fkbp5* and *Nr3c1* decreases and the expression of *Crhbp* increases, and in the adrenal glands the expression of the *Mc2r* and *Hsd11b1* genes decreases, which is ultimately aimed at reducing the amount of corticosterone secreted by the adrenal glands, and thus limiting the glucocorticoid response. Thus, chronic stress leads to an imbalance of the activating and stabilizing mechanisms of HPA axis regulation and a possible inadequate response to additional stress stimuli.

**Keywords:** chronic social defeat stress, hypothalamus, adrenal glands, HPA, C57BL/6J mice

## ДИНАМИКА СИНХРОНИЗАЦИИ И ДЕСИНХРОНИЗАЦИИ ЭЭГ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ РЕАЛЬНОГО И МЫСЛЕННОГО ДВИЖЕНИЯ РУКИ, НАПРАВЛЕННОГО К ВИДИМОЙ ЦЕЛИ

© 2024 г. М. Е. Курганская<sup>1,\*</sup>, М. Р. Исаев<sup>1,2</sup>, П. Д. Бобров<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup>РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

\*e-mail: m-kurg@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.10.2023 г.

После доработки 08.11.2023 г.

Принята к публикации 01.12.2023 г.

В работе исследуется кортикальная организация реального и мысленного выполнения движения руки, направленного в цель. В записях ЭЭГ выделили 6 независимых источников электрической активности. Источники соответствовали премоторным областям, дополнительной моторной области, первичным моторным областям и задней теменной коре. Паттерны их активации в альфа- и бета-диапазоне исследовались при помощи непрерывного вейвлет-преобразования. Основные различия между реальным и мысленным выполнением движения обнаружены в активации первичных моторных и премоторных областей. Асимметрия активации первичных моторных областей наблюдается только при воображаемом движении. Десинхронизация премоторных областей как в альфа-, так и в бета-диапазоне, соответствующая их активации, сопровождается воображаемое движение на всем протяжении. При реальном движении в этих областях наблюдается гиперсинхронизация, которая соответствует торможению, а десинхронизация наблюдается в латентный период, за 1.5 сек до начала движения. Таким образом, воображаемое движение несет на себе черты планирования реального движения.

*Ключевые слова:* целенаправленное движение, воображение движений, зрительно-моторная координация, ЭЭГ, вейвлет-анализ

DOI: 10.31857/S0044467724020069

### ВВЕДЕНИЕ

Мысленное выполнение движений практикуют многие специалисты, чья успешность деятельности определяется точностью движения как пространственной, так и временной. Музыканты проигрывают в уме произведение без использования инструмента, спортсмены и танцоры представляют себе выполнение сложных элементов. Воображение движений позволяет многократно увеличить количество тренировочных повторений, избегая при этом риска травмы и переутомления.

Возросший интерес к мысленному выполнению движений продиктован возможностью применить его к реабилитации пациентов с нарушениями движения (Frank et al., 2023, Villa-Berges et al., 2023, Мокиенко и др., 2013, Столбков и др., 2018). Потребность в такой реабилитации связана с тем, что благодаря успехам современной медицины и новым подходам к ведению пациентов с острым инсультом

смертность от него сокращается как в России, так и во всем мире (Thrift et al., 2017). Однако выжившие пациенты часто утрачивают способность полноценно управлять движением, что ведет к тяжелой инвалидизации.

При воображении движения человеку не требуется его совершать, поэтому единственными объективными показателями выполнения такой мысленной задачи являются регистрируемые изменения в активности мозга. Изменения активности мозга, сопровождающие мысленное движение, отчасти совпадают с изменениями, характерными для реального исполнения движения. Так, многочисленные исследования гемодинамической активности мозга позволили выделить набор областей, активация которых сопровождается как воображением, так и совершение движений (Hardwick et al., 2018, Hetu et al., 2013). При этом относительно различий активации мозга при реальном и воображаемом движении единого мнения не складывается. В одних работах отмечается и в том, и в другом случае

активация в первичных моторных областях (Pfurtscheller, Neuper, 1997). В других, напротив, первичные моторные области активировались только при реальном движении, а во время мысленной локомоции активировались дополнительные моторные области и базальные ганглии (La Fougere et al., 2010). Такая неоднородность может быть связана с тем, что в разных исследованиях используются разные способы представления движений и разные движения.

Воспроизводимость паттерна активации мозга при воображаемом движении позволяет использовать его как основу для интерфейса “мозг-компьютер” (ИМК) (Фролов и др., 2013), что дает возможность привести обратную связь в мысленное выполнение движения. Наиболее предпочтительным способом регистрации активности мозга для нужд ИМК является электроэнцефалография (Hramov et al., 2021) как неинвазивный метод с хорошим временным разрешением.

В большом количестве работ, посвященных кортикальной организации воображаемого движения, использовано простое однокоординатное движение. В работах используются: сгибание пальца (Metais et al., 2022), сгибание руки в лучезапястном суставе (Pfurtscheller, Neuper, 1997), раскрытие и сжатие кисти руки (McFarland et al., 2000), сгибание и разгибание кисти и стопы (Nakagawa et al., 2023, Pfurtscheller et al., 2009). Неоспоримое преимущество таких движений заключается в том, что их можно выполнять, зафиксировав голову неподвижно, что важно для получения безартефактных записей ЭЭГ и иных методов картирования мозга.

Однако воображение однокоординатных движений не дает такой выраженной и стабильной картины, как более сложные движения, вовлекающие несколько степеней свободы, опирающиеся на зрительную обратную связь и составляющие осмысленное и упроченное действие (Gibson et al., 2014, Glover et al., 2020, Kraeutner et al., 2020).

В настоящей работе исследовалась организация воображаемого движения руки к видимой цели. Это сложное координированное движение, хорошо упроченное в репертуаре любого человека. Для регистрации кортикальной активности использована ЭЭГ.

## МЕТОДИКА

В исследовании приняли участие 20 испытуемых, 11 женщин и 9 мужчин. Возраст испытуемых составил 24.9 [20.0; 29.5] лет.

### *Дизайн исследования*

Процедура включала четыре экспериментальных условия: реальное движение к цели по императивному сигналу, реальное нецеленаправленное движение по императивному сигналу, воображаемое движение к цели по императивному сигналу, воображаемое нецеленаправленное движение по императивному сигналу. Для совершения целенаправленного движения участник протягивал руку вперед до контакта пальцем с одной из целей. В английском языке такое движение называется “reaching”. После контакта с целью руку нужно было вернуть на стартовую площадку. Нецеленаправленное движение выполнялось как движение рукой при плавании кролем.

При совершении или воображении движений по императивному сигналу каждой попытке предшествовал период покоя, случайной длительности от 4 до 7 сек. Попытка реального движения считалась законченной, как только участник возвращал руку на стартовую площадку, на попытку воображения движения отводилось 3 сек.

Процедура была разбита на четыре этапа. Каждый этап содержал блоки инструкций, анализирующих о том, какое движение (нецеленаправленное или к одной из пяти целей) какой руки нужно выполнять или воображать. В каждом из этапов было по 2 блока инструкций, каждый блок содержал по 3 инструкции для каждого из шести движений и каждой руки. В двух этапах нужно было только совершать движения, в двух других — только воображать. Таким образом, для типа движения по цели (к одной из пяти целей или нецеленаправленное), руке (левая или правая) и способу выполнения (совершение или воображение) было  $3 \times 2 \times 2 = 12$  попыток, по 6 попыток в каждом из двух соответствующих этапов. В начале каждого этапа человек должен был 30 сек отслеживать взглядом кружок диаметром 2 см, перемещающийся случайным образом по экрану. Длительность каждого из этих четырех этапов составляла в среднем 658 сек (примерно 11 мин). Время записи для каждой экспериментальной сессии составляло в среднем примерно 54 мин (от 43 до 61 мин). Первым всег-

да был этап с совершением реальных движений, после чего оставшиеся этапы шли в случайном порядке.

#### *Экспериментальная установка*

Участник исследования сидел в кресле с подлокотниками и небольшой столешницей, размещенной перед грудью. Перед ним на расстоянии вытянутой руки был вертикально установлен прозрачный экран, на котором размещались пространственные цели – кружки диаметром 2 см. За прозрачным экраном был размещен монитор компьютера. Однотонный серый монитор был расчерчен белыми тонкими линиями на 5 прямоугольных полей, каждое из которых оказывалось в проекции одной из мишеней, если смотреть на них из позиции испытуемого. Поле разделяла на две половины вертикальная линия. Изменение цвета с серого на зеленый правой или левой половины поля соответствовало инструкции выполнять дотягивание до соответствующей цели правой или левой рукой. Для сигнализации о нецеленаправленных движениях на мониторе предьявлялся неподвижный красный кружок диаметром 25 мм, в левой части монитора для движения левой рукой и в правой – для движения правой. Указательные пальцы обеих рук испытуемого лежали на стартовой позиции, которая была отмечена прямоугольником на столешнице.

Перед началом сессии участник убеждался, что может дотянуться указательным пальцем до каждой из целей, делая несколько пробных попыток, которые также служили для ознакомления с процедурой. Ему также демонстрировались и объяснялись зрительные подсказки.

#### *Регистрация данных*

Во время выполнения задач в эксперименте регистрировалась электроэнцефалограмма, электроокулограмма и кинематика обеих рук. Для регистрации ЭЭГ и ЭОГ использовался 48-канальный усилитель NVX52 (“Медицинские компьютерные системы”, Россия), 44 отведения регистрировали ЭЭГ, еще 4 – ЭОГ. ЭЭГ-отведения были установлены на позициях Fp1, Fp2, F5, F3, F1, Fz, F2, F4, F6, Fc5, Fc3, Fc1, Fcz, Fc2, Fc4, Fc6, C5, C3, C1, Cz, C2, C4, C6, Cp5, Cp3, Cp1, Cpz, Cp2, Cp4, Cp6, P7, P5, P1, Pz, P2, P6, P8, Po7, Po3, Poz, Po4, Po8, O1, O2. В качестве референта использовался сигнал от заземленного канала Az. Окулограмма регистрировалась

при помощи четырех электродов, приклеенных слева и справа, а также под глазами испытуемого на расстоянии 5 мм от глаз. Частота дискретизации была равна 500 Гц.

Для регистрации кинематики использовалась электромагнитная система пространственного трекинга Polhemus G4 (Polhemus inc., США). Сенсоры системы располагались на тыльной стороне ладони, предплечье, плече и акромионе левой и правой руки. Еще один сенсор располагался на площадке, куда нужно было возвращать руку после движения. Перед началом каждой экспериментальной сессии положение каждой из целей на прозрачном экране измерялось при помощи отдельного сенсора. Таким образом, в системе координат трекера помимо координат сенсоров, установленных на сегментах тела, были доступны координаты стартовой площадки и всех целей.

#### *Обработка записей кинематики*

В данной работе записи кинематики использовались только для определения начала движения. Для этого использовалась абсолютная величина скорости сенсора, расположенного на тыльной стороне ладони движущейся руки. Для записей с реальными движениями по императивному сигналу искался средний профиль скорости на отрезке от императивного сигнала до конца движения + 0.5 сек. Профиль скорости определялся при помощи итерационного алгоритма. На каждой итерации генерировалась случайная последовательность, в которой перебирались отрезки, соответствующие рассматриваемому движению. В качестве исходной оценки среднего на этой итерации брался первый отрезок последовательности. Каждый следующий отрезок в последовательности совмещался с текущей оценкой среднего на итерации при помощи алгоритма динамической трансформации временной шкалы. Совмещенные отрезки складывались с весами, как при последовательной оценке среднего. Среднее, полученное на каждой следующей итерации, складывалось с текущей оценкой аналогичным образом. Использование динамической трансформации временной шкалы позволило наложить полученный средний профиль скорости на каждый из отрезков. В качестве начала движения выбиралась точка, которая соответствовала при отображении точке, в которой для среднего паттерна величина абсолютного значения скорости впервые превысила 2.5% от максимума.

*Обработка ЭЭГ и ЭОГ*

Обработка записанных данных производилась в среде Matlab. Исходные записи ЭЭГ и ЭОГ фильтровались в диапазоне от 0.5 до 40 Гц при помощи КИХ-фильтра и режекторного фильтра для подавления составляющей 50 Гц. Использовалась двунаправленная фильтрация для компенсации задержки. Отфильтрованные записи всех пяти этапов каждой экспериментальной сессии объединялись. После этого делалось разложение объединенного сигнала на независимые компоненты при помощи метода Infomax (Lee et al., 1999). Затем компоненты сигнала сортировались в убывающем порядке по отношению дисперсий активности во время отрезка слежения взглядом за движущимся кружком и во время выполнения остальных задач сессии. Первые шесть компонент удалялись из сигнала, из восстановленного сигнала выбрасывались четыре ЭОГ-канала и каналы Fp1 и Fp2. Восстановленные сигналы каждого этапа, очищенные таким образом от глазодвигательных артефактов, отдельно фильтровались при помощи фильтра верхних частот, отрезающего частоты ниже 5 Гц, после чего вновь объединялись. Затем искалось новое разложение на независимые компоненты при помощи того же алгоритма Infomax. Из найденных компонент отбирались те, активность которых можно отнести к левой или правой первичной сенсомоторной области (M1L и M1R), левой или правой вентральной премоторной коре (PrmL и PrmR), дополнительной моторной области (SMA), задней теменной коре (PPC). Отбор происходил при помощи экспертной оценки, в основе которой лежали результаты, полученные в работе (Frolov et al., 2020). Если для какой-то записи компоненту определенного типа найти не удавалось, то для оценки ее активности использовалась техника формирования луча (beamforming, (Grosse-Wentrup et al., 2009)) с усредненной топографией всех найденных компонент данного типа.

К активностям компонент каждого типа было применено непрерывное вейвлет-преобразование с использованием быстрого алгоритма, предложенного в работе (Artsvan den Broek, 2022). Преобразование применялось ко всей записи, после чего были выбраны эпохи от –4 до 3 сек относительно императивного сигнала для воображаемых и совершаемых движений по сигналу, а также эпохи от –5 до 3 сек относительно начала движения для движений, совершаемых по сигналу и произвольно. После этого оценивалась зависимость спектральной мощности в

диапазонах альфа (от 8 до 13 Гц) и бета (от 13 до 30 Гц) от времени. Для оценки степени синхронизации или десинхронизации активности за базовый уровень,  $p_{base}$ , бралась средняя мощность в отрезке от 4 до 1 сек для эпох, выравненных относительно императивного сигнала, и средняя мощность в отрезке от 5 до 2 сек для эпох, выравненных относительно начала движения. Степень (де)синхронизации ( $EDR \setminus S$ ) оценивалась как

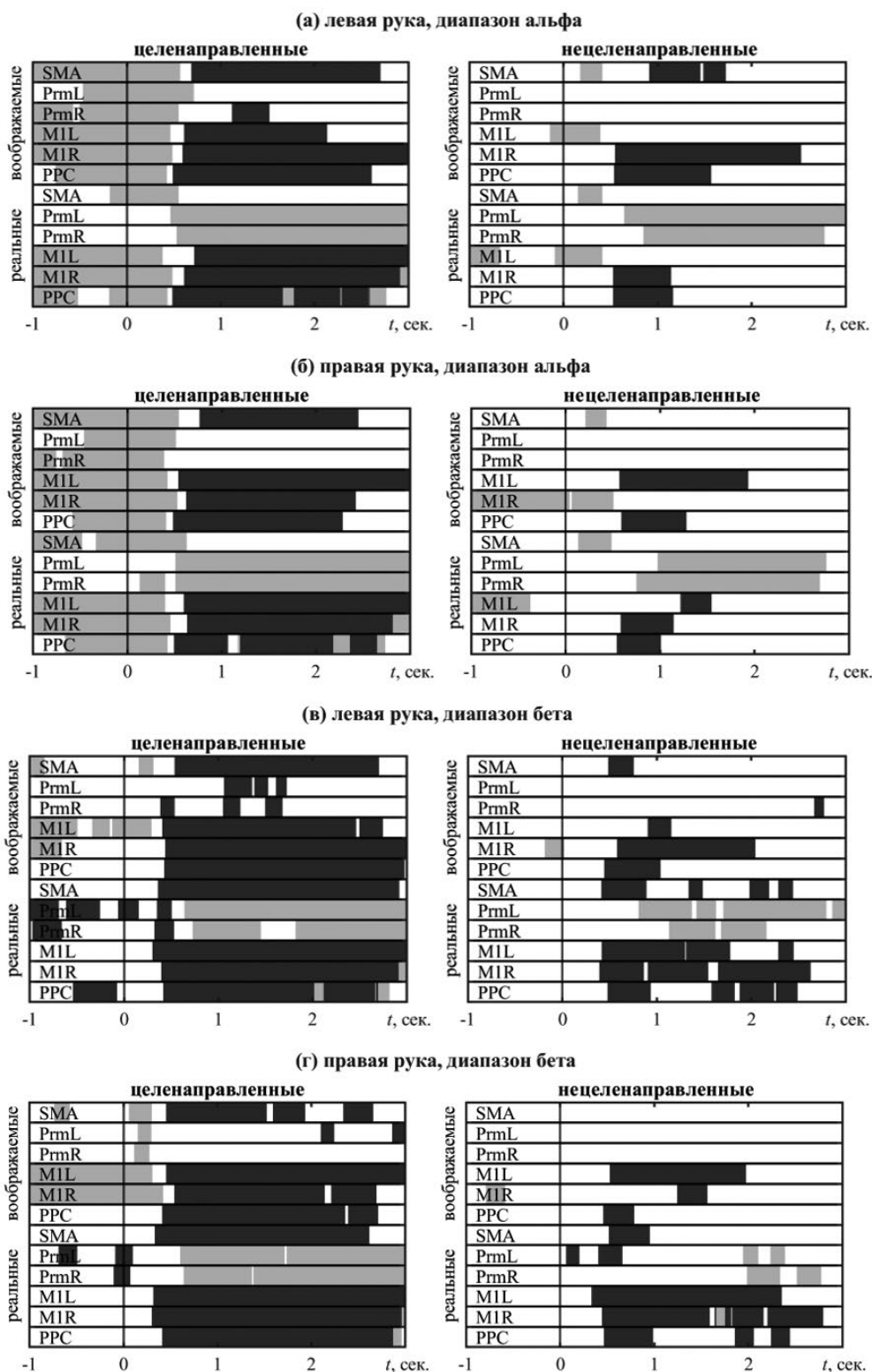
$$EDR \setminus S(t) = \left( \frac{p(t)}{p_{base}} - 1 \right) \times 100\%,$$

где  $p(t)$  – оценка мощности сигнала в момент времени  $t$ . Значения  $EDR \setminus S$ , большие 0, означают синхронизацию, меньшие 0 – десинхронизацию.

*Статистический анализ*

Для сравнения времени реакции (ВР), т.е. времени, прошедшего от императивного сигнала до начала движения, и времени движения (ВД), т.е. времени от подъема руки со стартовой позиции до возвращения на стартовую позицию, применялся тест Манна–Уитни с поправкой Бенджамини–Хохберга к соответствующим величинам, усредненным для каждого испытуемого.

При статистическом анализе величин  $EDR \setminus S$  рассматривались следующие условия: тип движения – целенаправленное или нецеленаправленное, рука – левая или правая, нулевая отметка – императивный сигнал или начало движения, способ выполнения – исполнение или воображение. Для оценки достоверности отличия величин  $EDR \setminus S$  от базового уровня при каждом условии эти величины усреднялись для каждого испытуемого. После этого применялся кластерный перестановочный тест. Достоверность отличия величин от 0 в каждый момент времени оценивалась при помощи критерия знаков, после чего выбирались кластеры временных отсчетов, для которых отличия были достоверны с уровнем  $p < 0.05$ . Для оценки вероятности получения этих кластеров случайным образом у случайно выбранных участников изменялся знак величин  $EDR \setminus S$ , после чего находились новые достоверные кластеры временных отсчетов. В качестве статистики использовалась сумма z-статистик для каждого кластера. Из исходных кластеров, полученных без изменения знаков, оставались те, которые входили в 2.5%-ный “хвост” распределения кластерной статистики слева или справа. Для оценки распределения кластерной статистики было сделано 25 000 перестановок.



**Рис. 1.** Отрезки достоверной синхронизации (светло-серые) и десинхронизации (темно-серые) выделенных компонент ЭЭГ во время совершения реальных или воображаемых движений по императивному сигналу. Нулевая отметка времени соответствует императивному сигналу. Левая панель относится к целенаправленным движениям, правая – к нецеленаправленным.

**Fig. 1.** Periods of statistically significant synchronization (light gray) and desynchronization (dark gray) of the selected EEG components during the real or imaginary movements on the go signal. The zero time mark corresponds to the go signal. Left panel refers to reaching, right panel refers to aimless movements.

Для сравнения величин ERD\S для целенаправленных и нецеленаправленных движений, для реальных и воображаемых движений, а также для левополушарной и правополушарной M1 при заданном наборе остальных условий и выбранном частотном диапазоне применялся двухсторонний кластерный перестановочный тест пакета FieldTrip (Oostenveld et al., 2011), функция `ft_timelockstatistics`. Эпохи ERD\S, относящиеся к сравниваемым условиям, усреднялись для каждого участника. При сравнении целенаправленных и нецеленаправленных движений, как и реальных и воображаемых движений, 6 каналов соответствовали найденным компонентам (M1L, M1R, PrmL, PrmR, SMA, PPC). При сравнении ERD\S для компонент M1 левого и правого полушария канал был один. Переменной, определяющей зависимость наблюдений, был номер участника. При каждом сравнении делалось 10 000 перестановок.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Время реакции от императивного сигнала до начала движения при выполнении целенаправленного движения левой рукой составляло  $780 \pm 295$  мс, правой –  $765 \pm 345$  мс. Для нецеленаправленного движения левой рукой –  $795 \pm 231$  мс, для нецеленаправленного движения правой –  $823 \pm 338$  мс. Различия ВР оказались недостоверны. Длительность целенаправленного движения левой по императивному сигналу составила  $1853 \pm 716$  мс, правой –  $1857 \pm 712$  мс. Длительность нецеленаправленного –  $2054 \pm 513$  мс для левой руки и  $1987 \pm 548$  мс для правой. Длительность целенаправленных движений по императивному сигналу была достоверно меньше длительности нецеленаправленных движений по императивному сигналу ( $p < 0.03$ ).

На рис. 1 (а), 1 (б) и 2 (а), 2 (б) представлены результаты тестов достоверности отличия величин ERD\S от нуля для альфа-диапазона, а на рисунках 1в, 1г и 2в, 2г – для бета-диапазона. На рис. 1 нулевая отметка времени соответствует императивному сигналу, на рис. 2 – началу движения.

*Реальные движения, выполняемые по императивному сигналу, альфа-диапазон*

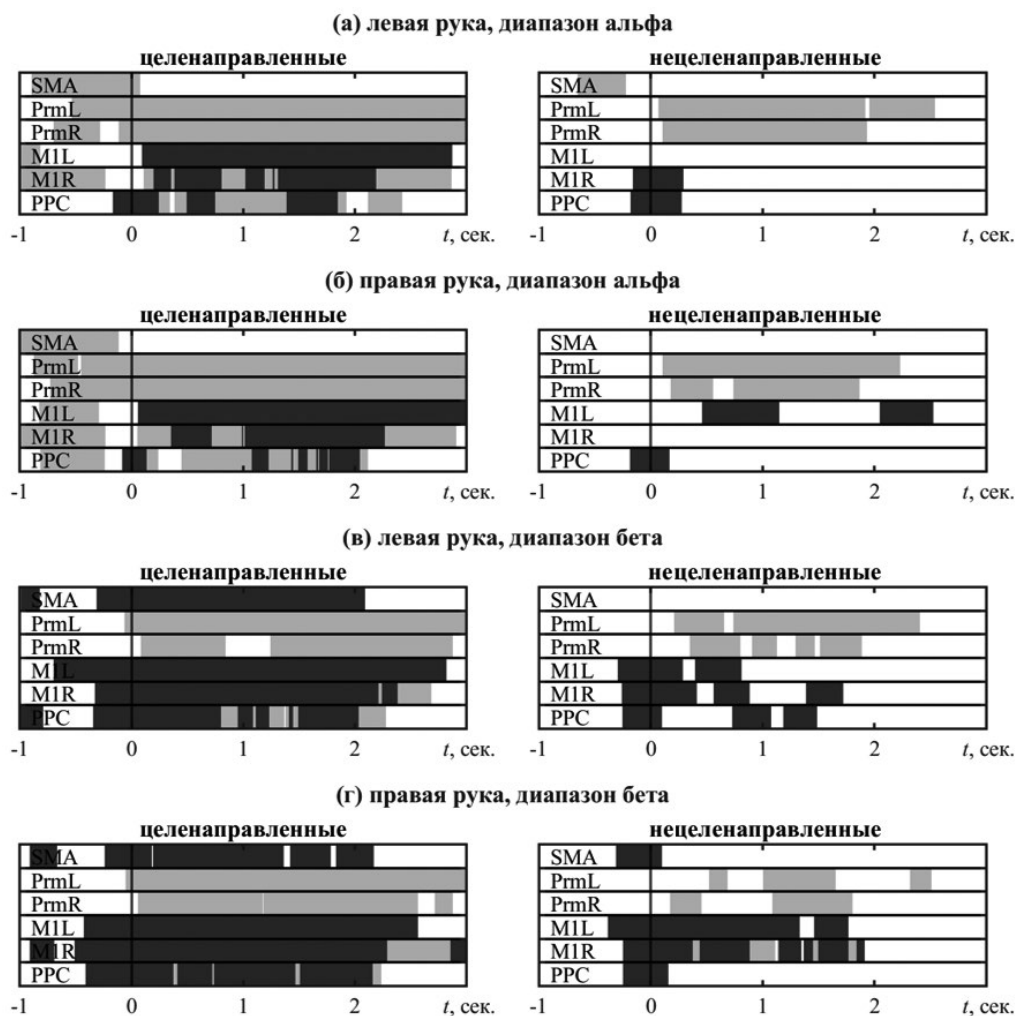
Сразу после императивного сигнала возникает кратковременная синхронизация SMA,

достигающая значимости для всех экспериментальных условий. В других областях эта синхронизация также присутствует и в отдельных случаях достигает уровня значимости (рис. 1 (а), 1 (б)). По всей видимости, эта синхронизация связана с переработкой зрительного сигнала, т.к., если использовать в качестве нулевой отметки начало движения, синхронизация, связанная с поступлением зрительного сигнала, размывается из-за разброса ВР (рис. 2 (а), 2 (б)). Далее, около 500 мс после императивного сигнала, заметна десинхронизация PPC. Если рассматривать начало движения в качестве нулевой отметки, то видно, что десинхронизация PPC происходит до начала движения (рис. 2 (а)).

Десинхронизация M1 при выполнении движения по императивному сигналу выглядит несколько по-разному для целенаправленных и нецеленаправленных движений. В случае целенаправленного движения десинхронизация M1 следует за десинхронизацией PPC примерно через 100 мс (рис 1 (а), 1 (б)). Причем эта десинхронизация достигает уровня значимости с началом движения и продолжается на протяжении всего движения и даже дольше, до 4 сек. Примечательно, что при реальном движении десинхронизация билатеральна, асимметрия отсутствует, что подтверждает перестановочный тест, показывающий отсутствие достоверной разницы в значениях. При ненаправленном движении десинхронизация PPC и M1 наступает одновременно – примерно за 300 мс до начала движения (рис. 2 (а), 2 (б)). Десинхронизация SMA наблюдается после начала движения, достигая значимости через 300–800 мс после начала десинхронизации M1. В случае целевого движения десинхронизация SMA устойчивая и длительная, продолжается после завершения движения. В случае нецелевого движения – напротив, эпизоды десинхронизации SMA кратковременны (до 300 мс) и прерывисты.

При движении по императивному сигналу наблюдается гиперсинхронизация в премоторных областях (PrmL, PrmR). Гиперсинхронизация Prm наблюдается как при целевом, так и при ненаправленном движении (рис. 1 (а), 1 (б), 3 (а), 3 (б)), но полностью отсутствует при воображаемом движении. Очевидно, что этот эффект связан непосредственно с движением, но не с обработкой зрительной информации.





**Рис. 2.** Отрезки достоверной синхронизации (светло-серые) и десинхронизации (темно-серые) выделенных компонент ЭЭГ во время совершения движений по императивному сигналу. Нулевая отметка времени соответствует началу движения. Левая панель относится к целенаправленным движениям, правая – к нецеленаправленным.

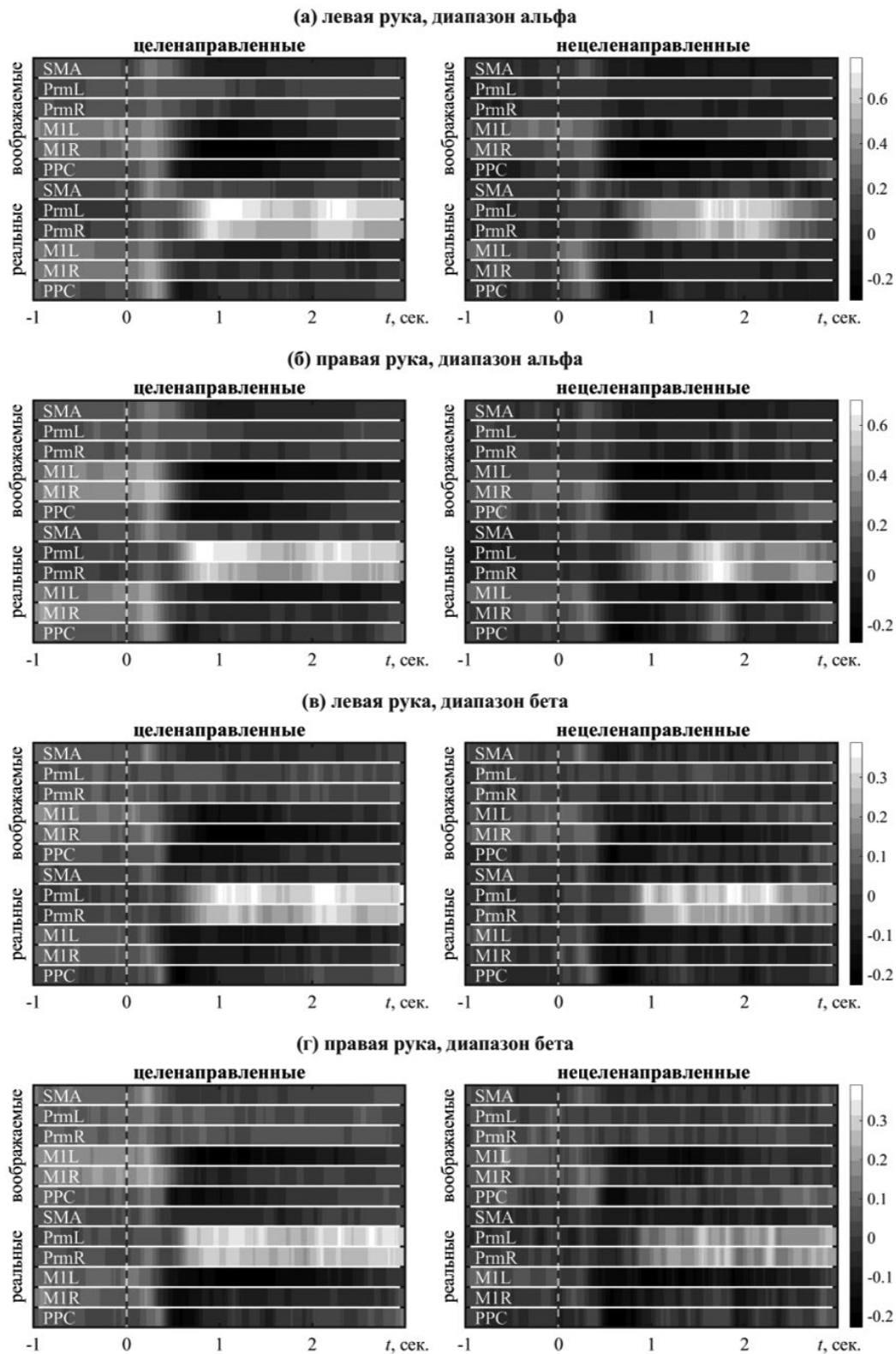
**Fig. 2.** Periods of statistically significant synchronization (light gray) and desynchronization (dark gray) of the selected EEG components during cued movements. The zero time mark corresponds to the beginning of the movement. Left panel refers to reaching, right panel refers to aimless movements.

### Воображаемые движения, альфа-диапазон

В отличие от реального, при выполнении воображаемого движения, как целенаправленного, так и нецеленаправленного, обращает на себя внимание выраженная асимметрия активации M1 (рис 1 (а), 1 (б)). Активация в контралатеральной M1 оказывалась достоверно более глубокой и длительной, чем в ипсилатеральной M1 (рис. 4 (а, б)). Латентность десинхронизации M1 – примерно 500 мс от императивного сигнала, т.е. близка или чуть короче, чем латентность десинхронизации при реальном движении. При воображении целенаправленного движения правой рукой десинхронизация левой M1 достоверно глубже, чем при соверше-

нии целенаправленного движения правой рукой по императивному сигналу (рис. 5 (а, б)). Одновременно с десинхронизацией M1 заметна значимая десинхронизация PPC, а десинхронизация SMA наступает чуть позже – 700–800 мс после императивного сигнала. Статистический анализ показывает, что при воображаемом движении левой рукой десинхронизация SMA на отрезке 700–1600 мс значимо глубже, чем при реальном движении (рис. 5 (а, б)).

Еще позже, уже примерно через 1 сек после императивного сигнала, видна десинхронизация Prm, достигающая уровня значимости только в правом полушарии как для воображаемого движения правой, так и левой руки.



**Рис. 3.** Усредненные картины синхронизации и десинхронизации выделенных компонент ЭЭГ во время совершения реальных или воображаемых движений по императивному сигналу. Нулевая отметка времени соответствует императивному сигналу. Левая панель относится к целенаправленным движениям, правая – к нецеленаправленным.

**Fig. 3.** Averaged patterns of synchronization and desynchronization of the selected EEG components in the course of real or imaginary movements on go signal. The zero time mark corresponds to the go signal. Left panel refers to reaching, right panel refers to aimless movements.

*Реальные движения, выполненные по императивному сигналу, бета-диапазон*

При выполнении как целевого, так и нецелевого движения по императивному сигналу наблюдалась выраженная значимая билатеральная бета-десинхронизация М1 (рис. 1 (в, г)). Десинхронизация М1 продолжалась около 2 сек от начала движения, т.е. все время движения. Асимметрия десинхронизации М1 отсутствует и по величине, что подтверждается и статистическим тестом – достоверной разницы в величине ERD\S между левой и правой М1 в бета-диапазоне не обнаружено. Значимая десинхронизация SMA совпадала по времени с десинхронизацией М1. Десинхронизация PPC в основном совпадала по времени с десинхронизацией М1. Обращает на себя внимание десинхронизация премоторных областей за 1.5 сек до начала движения при выполнении целевого движения (рис. 1 (в, г)).

*Воображаемые движения, бета-диапазон*

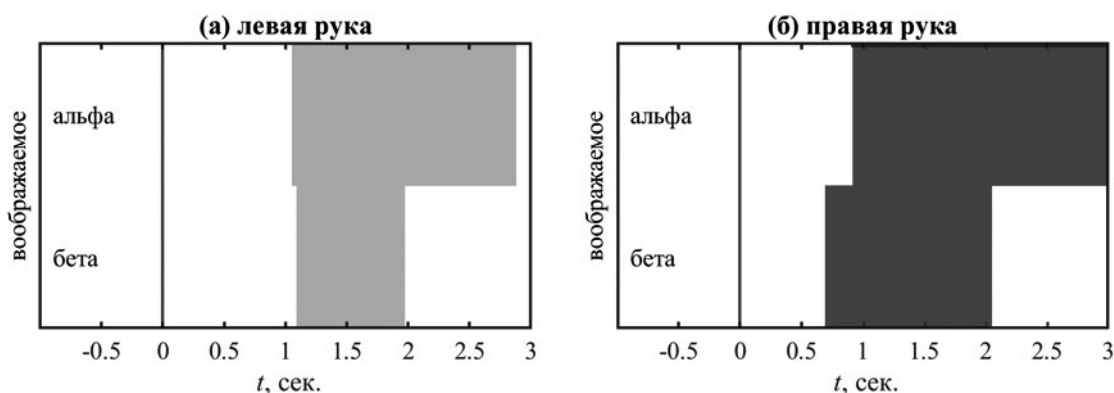
При воображении целевого движения статистически значимая десинхронизация начинается через 200–300мс после императивного сигнала в SMA, М1 и PPC и устойчиво продолжается следующие 3 сек (рис. 1 (в, г)). Через секунду после императивного сигнала присоединяется десинхронизация ПМ-области. Десинхронизация М1 демонстрирует выраженную значимую асимметрию (рис. 4 (а, б)). При том, что десинхронизация достигает уровня значимости в обо-

их полушариях, десинхронизация в полушарии, контрлатеральном воображаемому движению, существенно глубже.

При воображении нецелевого движения (рис. 1 (в, г)) также наблюдается билатеральная и асимметричная десинхронизация М1, однако длительность десинхронизации всего 2 сек, причем десинхронизация в ипсилатеральном полушарии заканчивается еще раньше. Еще короче десинхронизация в SMA и в PPC. Десинхронизация в PrmL отсутствует. Наблюдается нестойкая десинхронизация PrmR во время воображаемого нецеленаправленного движения левой руки.

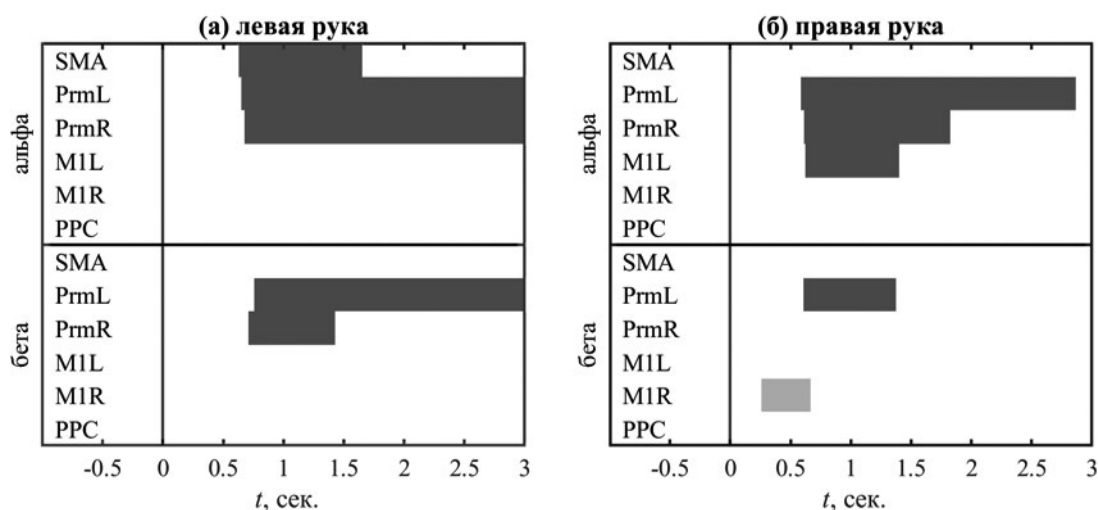
### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящей работе при совершении мысленного движения по императивному сигналу можно видеть сложный паттерн десинхронизации и синхронизации разных источников. Логично предположить, что воображаемое движение, так же как и реальное, разбивается на несколько этапов (Elliott et al., 2017). Временной промежуток между императивным сигналом и началом движения, соответствующий латентному периоду подготовки к движению, составил, по нашим данным, около 700 мс. Это существенно больше, чем 370 мс, полученных в работе (Rakusa et al., 2018), где испытуемые также выполняли реальное и мысленное движение рукой к цели. Возможно, такое долгое время реакции в настоящей работе определяется более



**Рис. 4.** Результаты теста с перестановками, сравнивающего степень подавления мю-ритма в левом и правом полушарии (M1L против M1R) при воображаемом движении по императивному сигналу. Светло-серые полосы – подавление ритма сильнее в правом полушарии, темно-серые – в левом. Левая панель относится к воображению движению левой рукой, правая – к воображению движению правой рукой.

**Fig. 4.** Results of a permutation test comparing the degree of mu rhythm suppression in the left and right hemisphere (M1L vs. M1R) during imagined movement on go signal. Light gray indicates stronger desynchronization in the right hemisphere, dark gray stronger desynchronization in the left hemisphere. The left panel refers to the imagination of movement with the left hand, the right panel to the imagination of movement with the right hand.



**Рис. 5.** Результаты теста с перестановками, сравнивающего степень (де)синхронизации активности выбранных компонент при реальном и воображаемом движении по императивному сигналу. Светло-серые полосы – подавление ритма меньше при воображаемых движениях, темно-серые – подавление ритма больше при воображаемых движениях. На всех панелях приводятся результаты только для целенаправленных движений. Левая панель относится к выполнению заданий левой рукой, правая – к выполнению заданий правой рукой.

**Fig. 5.** Results of a permutation test comparing the degree of (de)synchronization of the activity of selected components during real and imaginary movement on go signal. Light gray stripes – rhythm suppression is less during imaginary movements, dark gray – rhythm suppression is greater during imaginary movements. All panels show results for goal-directed movements only. The left panel refers to performing tasks with the left hand, the right panel refers to performing tasks with the right hand.

сложными экспериментальными условиями, требующими принятия нескольких решений: какое движение делать (целенаправленное или нецеленаправленное), если целенаправленное, то к какой цели, какой рукой. Инструкция для принятия решения была заключена в императивном сигнале, который надо предварительно проанализировать.

Поскольку в настоящей работе инструкции были сходными в случае реального и воображаемого движения, при всей лабильности времени реакции мы можем предположить, что первые 700 мс после императивного сигнала соответствуют подготовке к движению также и для воображаемого движения, что подтверждается динамикой десинхронизации в M1 (рис. 1).

И, действительно, паттерны первых 700 мс сходны для реального и воображаемого движения по императивному сигналу: десинхронизация моторных областей и в задней теменной коре при воображении движения начинается примерно через 500 мс после императивного сигнала. Это время меньше латентности реального движения по императивному сигналу и совпадает с временем от императивного сигнала до десинхронизации моторных областей при выполнении реального движения по сигналу.

В (Rakusa et al., 2018) активизация SMA и Prm (они рассматривались совместно) наступала в первые 120 мс после императивного сигнала. По нашим данным, SMA и Prm ведут себя по-разному. Активация (десинхронизация) этих областей также наступает через 100 мс после императивного сигнала, но активация Prm кратковременна, а активация SMA продолжается все время реального движения. Десинхронизация SMA при мысленном движении наступает позже, время ее превышает латентность реального движения. Т.е. предсказание сенсорных последствий гипотетического движения наступает как следствие активации моторных областей. И самое замечательное, что далее, примерно через 1000 мс после императивного сигнала, наступает десинхронизация премоторных областей. Она наблюдается как в альфа-, так и в бета-диапазонах и заканчивается только с окончанием десинхронизации первичных моторных областей. Это составляет основное различие воображаемого и реального движения. При выполнении реального движения десинхронизация премоторных областей наблюдалась только до начала движения, а во время выполнения реального движения, напротив, наблюдается синхронизация. По-видимому, это связано с тем, что премоторные области обеспечивают намерение совершить движение, но не его осознание. В частности, при прямой

электрической стимуляции премоторной области пациент совершал движение, но отрицал это, если он не видел себя в зеркале (Desmurget, Sirigu, 2009). Результат настоящей работы можно интерпретировать так: при совершении реального движения в мозг поступает сенсорный сигнал, свидетельствующий об успешно начатом движении, инициация нового движения нарушила бы успешно начатое. А при выполнении мысленного движения такой сенсорный сигнал отсутствует. Представление сенсорных ощущений от воображаемого движения удерживается на всем протяжении воображаемого движения.

В настоящем эксперименте не было никакого маркера окончания мысленного движения, но, поскольку реальное движение продолжалось от 2 до 2.5 сек, у нас нет основания ожидать, что мысленное движение совершается быстрее. Поэтому разумно предположить, что наблюдаемая десинхронизация M1, PPC и SMA сопровождает все мысленное движение. Особого обсуждения заслуживает тот факт, что длительная и устойчивая десинхронизация в этих источниках наблюдается только при мысленном выполнении целенаправленного движения. Воображение нецеленаправленного движения, вовлекающего те же суставы, что и дотягивание до видимой цели, сопровождается лишь кратковременной (1.5 сек) десинхронизацией. Это согласуется с данными исследований по мысленному выполнению движений разной сложности. Так, в работе (Gibson et al., 2014) показано, что мысленное выполнение наиболее сложных и при этом хорошо выученных движений (в работе использовались фортепианные пассажи различной сложности) сопровождается наиболее различимым индивидуальным паттерном ЭЭГ даже при однократном выполнении. В другом исследовании (Wheaton et al., 2005) записывали ЭЭГ и электромиограмму участников, которые либо просто сгибали палец в произвольный момент времени, либо исполняли небольшую пантомиму, имитируя использование инструмента. Амплитуда активации париетального отдела за 2–3 сек до роста миографического сигнала была значительно выше при виртуальном использовании инструмента. Считается, что заднетеменные отделы мозга ответственны за зрительно-моторную интеграцию и поддержание фокуса внимания на пространственном расположении цели (Rakusa et al., 2018). Это может объяснять, почему в настоящей работе при нецелевых движениях активация париетальных структур нестабильна.

Понятно, что дотягивание до видимой цели является сложным и в то же время упроченным, часто повторяемым и очень важным для всех приматов движением. В то же время приведение в движение плеча, локтя и запястья без конкретной задачи для рабочей точки таким движением не является. Оно не нуждается в зрительной обратной связи, такое движение можно выполнить разными способами, которые составляют континуум, и ни одно из выполнений не может быть неуспешным. Т.е. это простое и не выученное движение, его мысленное выполнение допускает высокую степень неопределенности, и ему соответствует вариативный паттерн ЭЭГ. Интересно, что при реальном выполнении такого движения паттерны активации источников не отличаются от таковых при целенаправленном движении. Это неудивительно, т.к. при актуальном выполнении движения неопределенность отсутствует, каждый раз выполняется конкретное движение.

## ВЫВОДЫ

Активация областей мозга при реальном и мысленном выполнении движения отличается не набором активированных областей, а последовательностью активации во времени. Активация премоторных областей сопровождает воображаемое движение на всем протяжении, но при реальном движении регистрируется только до начала движения.

Воображаемое движение можно ассоциировать с подготовкой к выполнению реального движения.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации № 122051700017-2.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Мокиенко О.А., Черникова Л.А., Фролов А.А., Бобров П.Д. Воображение движения и его практическое применение. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2013. 63 (2): 195–195.
- Столбков Ю.К., Мошонкина Т.Р., Орлов И.В., Козловская И.Б., Герасименко Ю.П. Воображаемые движения как средство совершенствования и реабилитации моторных функций. Успехи физиологических наук. 2018. 49 (2): 45–59.
- Фролов А.А., Бирюкова Е.В., Бобров П.Д., Мокиенко О.А., Платонов А.К., Пряничников В.Е., Черникова Л.А.

- Принципы нейрореабилитации, основанные на использовании интерфейса “мозг–компьютер” и биологически адекватного управления экзоскелетом. *Физиология человека*. 2013. 39: 99–113.
- Arts L.P., van den Broek E.L. The fast continuous wavelet transformation (fCWT) for real-time, high-quality, noise-resistant time–frequency analysis. *Nature Computational Science*. 2022. 2: 47–58.
- Desmurget M., Sirigu A. A parietal-premotor network for movement intention and motor awareness. *Trends in cognitive sciences*. 2009. 13 (10): 411–419.
- Elliott D., Lyons J., Hayes S.J., Burkitt J.J., Roberts J.W., Grierson L.E. et al. The multiple process model of goal-directed reaching revisited. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2017. 72: 95–110.
- Frank C., Kraeutner S.N., Rieger M., Boe S.G. Learning motor actions via imagery – perceptual or motor learning? *Psychological Research*. 2023: 3752889.
- Frolov A., Bobrov P., Biryukova E., Isaev M., Kerechanin Y., Bobrov D., Lekin A. Using multiple decomposition methods and cluster analysis to find and categorize typical patterns of EEG Activity in motor imagery brain–computer interface experiments. *Frontiers in Robotics and AI*. 2020. 7: 88.
- Gibson R.M., Chennu S., Owen A.M., Cruse D. Complexity and familiarity enhance single-trial detectability of imagined movements with electroencephalography. *Clinical Neurophysiology*. 2014. 125 (8): 1556–1567.
- Glover S., Bibby E., Tuomi E. Executive functions in motor imagery: support for the motor-cognitive model over the functional equivalence model. *Experimental brain research*. 2020. 238: 931–944.
- Grosse-Wentrup M., Liefhold C., Gramann K., Buss M. Beamforming in noninvasive brain-computer interfaces. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2009. 56 (4): 1209–1219.
- Hardwick R.M., Caspers S., Eickhoff S.B., Swinnen S.P. Neural correlates of action: Comparing meta-analyses of imagery, observation, and execution. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2018. 94: 31–44.
- Hetu S., Gregoire M., Saimpont A., Coll M.P., Eugene F., Michon P.E., Jackson P.L. The neural network of motor imagery: an ALE meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*. 2013. 37 (5): 930–949.
- Hramov A.E., Maksimenko V.A., Pisarchik A.N. Physical principles of brain–computer interfaces and their applications for rehabilitation, robotics and control of human brain states. *Physics Reports*. 2021. 918: 1–133.
- Kraeutner S.N., McArthur J.L., Kraeutner P.H., Westwood D.A., Boe S.G. Leveraging the effector independent nature of motor imagery when it is paired with physical practice. *Scientific reports*. 2020. 10 (1): 21335.
- La Fougere C., Zwergal A., Rominger A., Förster S., Fesl G., Dieterich M. et al. Real versus imagined locomotion: a [18F]-FDG PET-fMRI comparison. *Neuroimage*. 2010. 50 (4): 1589–1598.
- Lee T.-W., Girolami M., Sejnowski T.J. Independent component analysis using an extended infomax algorithm for mixed subgaussian and supergaussian sources. *Neural computation*. 1999. 11 (2): 417–441.
- McFarland D.J., Miner L.A., Vaughan T.M., Wolpaw J.R. Mu and beta rhythm topographies during motor imagery and actual movements. *Brain topography*. 2000. 12 (3): 177–186.
- Metais A., Muller C.O., Boublay N., Breuil C., Guillot A., Daligault S. et al. Anodal tDCS does not enhance the learning of the sequential finger-tapping task by motor imagery practice in healthy older adults. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2022. 14: 1060791.
- Nakagawa K., Kawashima S., Fukuda K., Mizuguchi N., Muraoka T., Kanosue K. Constraints on hand-foot coordination associated with phase dependent modulation of corti-cospinal excitability during motor imagery. *Frontiers in human neuroscience*. 2023. 17: 1133279.
- Oostenveld R., Fries P., Maris E., Schoffelen J.-M. FieldTrip: open source software for advanced analysis of MEG, EEG, and invasive electrophysiological data. *Computational Intelligence and Neuroscience*. 2011. 2011: 156869.
- Pfurtscheller G., Linortner P., Winkler R., Korisek G., Müller-Putz G. Discrimination of motor imagery-induced EEG patterns in patients with complete spinal cord injury. *Computational Intelligence and Neuroscience*. 2009. 2009: 104180.
- Pfurtscheller G., Neuper C. Motor imagery activates primary sensorimotor area in humans. *Neurosci Lett*. 1997. 239 (2–3): 65–68.
- Rakusa M., Busan P., Battaglini P.P., Zidar J. Separating the Idea from the Action: A sLORETA Study. *Brain Topogr*. 2018. 31 (2): 228–241.
- Thrift A.G., Howard G., Cadilhac D.A., Howard V.J., Rothwell P.M., Thayabaranathan T. et al. Global stroke statistics: An update of mortality data from countries using a broad code of “cerebrovascular diseases”. *Int J Stroke*. 2017. 12 (8): 796–801.
- Villa-Berges E., Laborda Soriano A.A., Lucha-Lopez O., Tricas-Moreno J.M., Hernandez-Secorun M., Gomez-Martinez M., Hidalgo-Garcia C. Motor imagery and mental practice in the subacute and chronic phases in upper limb rehabilitation after stroke: a systematic review. *Occupational Therapy International*. 2023. 2023: 3752889.
- Wheaton L.A., Yakota S., Hallett M. Posterior parietal negativity preceding self-paced praxis movements. *Experimental brain research*. 2005. 163: 535–539.

## DYNAMICS OF EEG SYNCHRONIZATION AND DESYNCHRONIZATION WHEN PERFORMING REAL AND IMAGINED HAND REACHING

M. E. Kurgansky<sup>a, #</sup>, M. R. Isaev<sup>a, b</sup>, P. D. Bobrov<sup>a, b</sup>

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

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

<sup>#</sup>*e-mail: m-kurg@yandex.ru*

The work investigates spatial and temporal EEG patterns during real and imagined execution of hand reaching. Six independent sources of electrical activity were identified in the EEG recordings. The sources corresponded to the premotor areas, supplementary motor area, primary motor areas, and posterior parietal cortex. Their activation patterns in the alpha and beta range were studied using a continuous wavelet transform. The main differences between real and imagined movement are found in the activation of primary motor and premotor areas. Asymmetry in activation of primary motor areas was observed only during the imaginary movements. Desynchronization in premotor areas of both the alpha and beta ranges, suggesting their activation, accompanied the imaginary movements throughout their course. On the other hand, hypersynchronization was observed in premotor areas during real movement, which likely corresponds to inhibition, while desynchronization was observed in the latent period, 1.5 seconds before the start of movement. Thus, an imaginary movement bears the features of planning a real movement.

*Keywords:* reaching, imaginary movement, visual-motor coordination, EEG, wavelet analysis

## УДЕРЖАНИЕ ВЕРБАЛЬНОЙ И НЕВЕРБАЛЬНОЙ СЕРИЙНОЙ ИНФОРМАЦИИ В РАБОЧЕЙ ПАМЯТИ. АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ И ЭФФЕКТИВНЫХ СВЯЗЕЙ

© 2024 г. А. В. Курганский<sup>1,3,4,\*</sup>, А. А. Корнеев<sup>1,2</sup>, Д. И. Ломакин<sup>1</sup>, Р. И. Мачинская<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ “Институт развития, адаптации и здоровья ребенка”, Москва, Россия

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

<sup>4</sup>Российская академия народного хозяйства и государственной службы, Москва, Россия

\*e-mail: akurg@yandex.ru

Поступила в редакцию 23.10.2023 г.

После доработки 01.12.2023 г.

Принята к публикации 01.12.2023 г.

В работе исследовались различия в структуре мозговых систем, обеспечивающих кодирование и удержание в рабочей памяти (РП) двух видов информации: вербальных (буквы) и невербальных (сегменты незамкнутой ломаной линии) последовательностей, предъявляемых либо статически, либо динамически. Мозговые системы характеризовались силой функциональных и эффективных связей между восемью приблизительно билатерально-симметричными корковыми локусами, включавшими дорсолатеральную префронтальную кору (dIPFC) и участки височной (STG), теменной (IPS) и затылочной (v2) коры.

На группе испытуемых, у которых регистрировалась ЭЭГ высокой плотности, с помощью 8-канальной векторной авторегрессионной модели в пространстве корковых источников ЭЭГ показано, что: 1) мозговая организация РП при удержании последовательности букв отличается от таковой при удержании последовательности сегментов ломаной линии; 2) мозговая организация РП зависит от режима предъявления последовательностей: сила функциональной связи различна при динамическом и статическом предъявлении последовательности; 3) различия в структуре функциональных и эффективных связей не носят выраженный частотно-избирательный характер и наблюдаются во всех исследованных энцефалографических частотных диапазонах от тета (4–8 Гц) до высокочастотного гамма (50–60 Гц); 4) наиболее надежные различия между задачей удержания последовательности букв и задачей удержания последовательности сегментов ломаной линии наблюдаются в альфа- и бета-диапазонах частот при статическом зрительном предъявлении последовательностей в измеряемой с помощью когерентности силе функциональной связи между левополушарной dIPFC и правополушарной STG, а также в тета-диапазоне между правополушарной dIPFC и левой зрительной корой v2; 5) наиболее надежное различие между статическим и динамическим режимами предъявления наблюдается в задаче на удержание сегментов ломаной линии в гамма-диапазоне частот (50–60 Гц) между dIPFC в правом полушарии и левой зрительной корой v2.

*Ключевые слова:* рабочая память, вербальные и невербальные последовательности, ЭЭГ, функциональные связи, эффективные связи

DOI: 10.31857/S0044467724020076

### ВВЕДЕНИЕ

Запоминание и удержание в рабочей памяти (РП) серий различных элементов, в особенности последовательностей символов, с целью последующего узнавания этих серий или их двигательного воспроизведения – одна из рутинных когнитивных операций, многократно выполняемых человеком каждый день.

Рабочая память (РП) в различных психологических и нейрокогнитивных исследованиях, несмотря на их концептуальные различия (для

обзора см. (Величковский Б.М., 2006; Величковский Б.Б., 2015; D’Esposito, Postle, 2015; Working memory: State of the science, 2021), определяется сходным образом как способность индивида кратковременно удерживать информацию, недоступную для непосредственного восприятия, преобразовывать эту информацию и использовать ее для осуществления целенаправленной (в том числе ментальной) активности.

Основная дискуссия авторов различных психологических моделей РП касается преимущественно вопросов о существовании огра-



ниченного количества специфических кодов (вербальных, зрительно-пространственных, моторных, тактильных, обонятельных и пр.), в которые преобразуется и в которых хранится информация о возможности интеграции и модификации внутренних репрезентаций в процессе их удержания в РП, о роли процессов внимания, а также о роли долговременной памяти в формировании и использовании внутренних репрезентаций.

В настоящем исследовании мы не отдавали предпочтение какой-либо конкретной психологической концепции, а исходили из общих для разных моделей положений:

1. РП – не унитарное образование, а система взаимосвязанных блоков. Так, в наиболее часто цитируемой многокомпонентной модели (multicomponent model) А. Baddeley (1974, 2021) РП описывается как единая система, состоящая из подчиненных управляющему механизму интерактивных компонентов (alliance of interactive components). Авторы модели встроенных процессов (embedded-processes model) (Li, Cowan, 2022) характеризуют РП как совокупность компонентов разума (ensemble of components of the mind), которые благодаря активирующим механизмам внимания временно удерживают ограниченное количество информации из долговременной памяти в доступном для использования виде. Модель разделения ресурсов (time-based resource-sharing model) (Barrouillet et al., 2010) предполагает объединение в структуре РП неспецифических по отношению к модальности стимула (domain general) механизмов внимания, которые распределяют ограниченные по времени ресурсы между процессами обработки и хранения информации, и специфического механизма вербального обеспечения удержания внутренних репрезентаций посредством повторяющегося артикулирования.

2. Информация хранится в РП виде модально-специфических или домен-специфических кодов, которые являются результатом преобразования информации “на входе” или извлекаются из долговременной памяти, или образуются в результате сопоставления информации “на входе” со следами долговременной памяти. В любом случае предполагается обработка и преобразование качественно специфичной информации, т.е. существование в структуре РП домен-специфических компонентов (domain-specific components).

3. По определению РП не только хранит нужную информацию, но и осуществляет оперирование с ней, необходимое для решения текущих задач деятельности, что предполагает преобразование внутренних репрезентаций в процессе их удержания в РП.

4. Выбор, активация и поддержание активного состояния внутренних репрезентаций различной степени “удаленности” от сенсорного образа осуществляется домен-неспецифическими компонентами (domain-general), к которым относятся различные виды нисходящего контроля. Это механизмы внимания в моделях встроенных процессов и разделения ресурсов и управляющий механизм (central executive) в мультикомпонентной модели.

Выявление нейрофизиологических механизмов, лежащих в основе РП, представляет собой значительную трудность в силу чрезвычайно высокой вариативности как поведенческих, так и нейрофизиологических данных – полученные результаты зависят от используемой экспериментальной парадигмы (Frost et al., 2021), от сенсорной модальности стимулов (Fougnie, Marois, 2008; Li, Cowan, 2022) и от той цели, с которой последовательность запоминается, в частности от того, каким образом последовательность будет воспроизведена (Absatova et al., 2016). Вместе с тем фМРТ-исследования свидетельствуют в пользу существования домен-специфических компонентов мозговой организации РП. Эти исследования не только подтвердили наличие домен-специфичных изменений активности мозга при удержании релевантной информации, но и выявили вовлечение в этот процесс сенсорно-специфических зон, что послужило основанием для появления нейрокогнитивных моделей РП, получивших название модели сенсомоторного рекрутирования (sensorimotor recruitment models of working memory) (D’Esposito, Postle, 2015; Postle, 2021). Не менее убедительны многочисленные фМРТ-свидетельства участия модулирующих домен-неспецифичных систем в обеспечении процессов РП. Это касается прежде всего систем избирательного нисходящего контроля с участием префронтальных и теменных ассоциативных зон, а также подкорковых структур – стриопалидарной системы и таламуса (Gazzaley et al., 2004; Ikkai, Curtis, 2011). Участие фронто-париетальных систем избирательного внимания в обеспечении домен-неспецифичных компонентов РП демонстрируется и ЭЭГ-исследованиями, использующими как анализ свя-

занной с событиями активности (Фарбер и др., 2011), так и анализ спонтанной ритмической активности (Freunberger et al., 2009; Sauseng et al., 2009; Kawasaki, 2010).

Основным вопросом серии исследований РП, частью которой является и данная работа, является вопрос о возможности преобразований внутренних репрезентаций в процессе их удержания в рабочей памяти. В наших предыдущих работах мы исследовали динамику сохраняемой в РП репрезентации ломаной линии для ее отсроченного воспроизведения (Корнеев и др., 2016а, б; Курганский и др., 2022). Мы анализировали характеристики двигательного воспроизведения (рисования) ломаной линии, состоящей из вертикальных и горизонтальных отрезков и рассматриваемой как последовательность таких элементов. Ломаные линии предъявлялись зрительно либо статически в виде рисунка, либо динамически — движением точки-курсора по этой невидимой испытуемому ломаной. Процесс преобразования информации в РП исследовался в парадигме отсроченного воспроизведения в ответ на предъявление императивного сигнала, задержанного на разное время относительно момента предъявления ломаной линии. Полученные данные указывают на то, что с течением времени внутренняя репрезентация ломаной линии претерпевает спонтанные изменения: происходит ее перекодирование из изначальных перцептивных кодов в более абстрактные коды, причем этот процесс перекодирования протекает неодинаково при статическом и динамическом предъявлении ломаной. Об этом свидетельствуют как поведенческие (Корнеев и др., 2016а), так и электрофизиологические данные (Корнеев и др., 2016б; Курганский и др., 2022) — с ростом задержки императивного сигнала закономерным образом изменяется время реакции на императивный сигнал, а также отдельные компоненты связанных с событиями потенциалов и амплитуда их дипольных корковых источников.

Для того чтобы выяснить, происходит ли подобная спонтанная трансформация внутренней репрезентации последовательности, если эта последовательность состоит из элементов другой природы, был выполнен эксперимент, в котором наряду с ломаными линиями испытуемые должны были воспроизвести последовательности букв, предъявляемых также в двух режимах: статическом и динамическом (Корнеев и др., 2022). Оказалось, что в случае последовательности букв нет поведенческих признаков трансформации внутренней ре-

презентации ни при статическом, ни при динамическом предъявлении последовательности.

В настоящей работе мы попытались выяснить, связаны ли (и если связаны, то как именно) наблюдаемые в наших предыдущих экспериментах различия в поведенческих параметрах РП при удержании серии букв и ломаной линии с различиями в структуре мозговых систем, обеспечивающей кодирование и удержание в РП этих двух видов информации.

Характер мозговой системы определяется составом участников этой системы и связями между ними (Gazzaley et al., 2004). В данном исследовании мы характеризовали структуру корковой части мозговой системы, обеспечивающей РП, посредством силы функциональных и эффективных связей между ее участниками. Многолетние исследования мозговой организации РП с помощью методов нейровизуализации и электрофизиологических методов указывают на то, что функционирование РП обеспечивается сложной распределенной системой взаимодействующих отделов мозга (Wager, Smith, 2003; Eriksson et al., 2015; D'Esposito, Postle, 2015), включающей не только классическую фронто-париетальную сеть, но и, например, передние отделы цингулярной коры (Lenartowicz, McIntosh, 2005), фронто-орбитальную кору (Barbey et al., 2011; Johnson et al., 2022), моторные отделы коры (Carpenter et al., 2018), а также миндалину и гиппокамп (Li et al., 2023). Более того, эта сложная распределенная мозговая система зависит от характера сохраняемой информации, причем не только в том случае, когда различия в природе сохраняемой информации являются достаточно грубыми (слуховая и зрительная информация), но и в случае весьма тонких и неочевидных различий, как между буквами и цифрами (Carreiras et al., 2015).

В настоящем исследовании мы ограничились измерением силы связей между теми корковыми структурами, которые, по данным литературы, являются непререкаемыми участниками мозговой организации РП вне зависимости от характера сохраняемой информации и могут играть существенную роль в ее перекодировании. Мы анализировали связи дорсолатеральной префронтальной коры (dlPFC), которая вовлечена в удержание в РП релевантной информации и играет важнейшую роль в ее мозговом обеспечении (Jackson et al., 2021; Bezdicek et al., 2021; Webler et al., 2022), с рядом областей, расположенных в височной, теменной и затылочной

коре. В височной коре мы ограничились рассмотрением верхней височной извилины, которой принадлежит зона Вернике (Binder, 2015) и другие отделы оказываются вовлечены в процессы РП (Ahveninen et al., 2023). В теменной коре мы выбрали структуры внутритеменной борозды (IPS) и верхней теменной доли (SPL), относительно которых известно, что они вносят существенный вклад в обеспечение РП (Koenigs et al., 2009; Mackey et al., 2016; Pennock et al., 2021). Что касается затылочной коры, то мы анализировали связи dIPFC с сенсорно-специфическими зрительными областями v1, v2 и v3, участвующими в обеспечении зрительной РП (Pratte, Tong, 2014; Yu, Postle, 2021; Zhao et al., 2022).

Подчеркнем, что, выбирая для последующего анализа связи dIPFC с корковыми структурами, лежащими вне пределов префронтальной коры, и игнорируя связи в ее пределах, мы исходили из того, что характер функционирования префронтальных корковых структур в широкомасштабной мозговой системе, обеспечивающей РП, не зависит от типа стимулов (Nystrom et al., 2000). Иными словами, мы *a priori* предполагали одинаковое участие левой и правой dIPFC в системе обеспечения РП для вербальной (буквы) и зрительно-пространственной (ломаные линии = “траектории”) информации, а возможные различия относили на счет более или менее выраженных связей этих областей с височной, теменной и затылочной корой.

Для оценки силы функциональных и эффективных связей мы воспользовались векторным авторегрессионным моделированием (ВАР-моделированием) активности корковых дипольных источников электроэнцефалограммы. Эта активность оценивалась с помощью метода решения обратной задачи электроэнцефалографии eLORETA (Pascual-Marqui et al., 2011), позволяющего преобразовать многоканальную ЭЭГ в дипольные моменты в небольших объемах корковой ткани – вокселях. ВАР-моделирование позволяет вычислить функцию когерентности (СОН) как классическую меру частотно-специфической силы функциональной связи, а в качестве меры силы эффективной связи – функцию, аналогичную направленной когерентности (Bassalá, Sameshima, 2001; Курганский, 2010), – масштабно-независимый вариант направленной передаточной функции (Курганский, Григал, 2010).

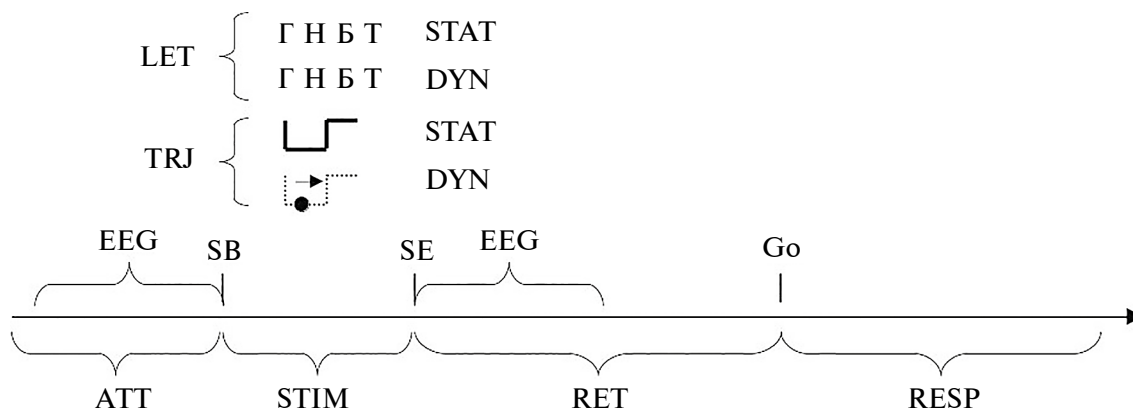
Сила функциональных связей между dIPFC и остальными априорно выбранными нами

корковыми локусами оценивалась с помощью 2-канальной ВАР-модели в период ожидания зрительного стимула и в период его удержания. В окончательную многоканальную ВАР-модель, характеризующую взаимодействия именно в период удержания стимула, отбирались только те области, для которых наблюдался наибольший контраст между предстимульным периодом и периодом удержания информации. Такой подход можно обосновать тем, что во многих исследованиях РП указывается на общность нейрональных механизмов неспецифического поддержания внимания к внешним текущим стимулам и поддержания активного состояния нейронных сетей при удержании информации в РП. В частности, в последней версии мультикомпонентной модели (Baddeley, 2021) управляющий механизм делится на два компонента: аналог перцептивного селективного внимания, который избирательно “выбирает” нужные следы в кратковременной памяти, и внутренний контроль, который обеспечивает постоянное поддержание внутренних репрезентаций разного уровня в активном “свежем” состоянии (refreshing). Второй компонент и по функции, и по нейрональным механизмам если не в точности тот же самый, что вовлекается при удержании неспецифического внимания при ожидании задачи, то очень близок к нему. На вовлечение механизмов неспецифического внимания в удержание внутренних репрезентаций в РП указывают также авторы модели встроенных процессов (Cowan et al., 2022) и модели разделения ресурсов (Barrouillet et al., 2010). Поскольку наша задача состояла в анализе сходства/ различия мозговой организации РП при удержании вербальных и невербальных последовательностей, представлялось целесообразным “вычлест” из анализируемых ЭЭГ-показателей неспецифические составляющие, которые характерны как для ожидания релевантной информации, так и для удержания ее в РП независимо от модальности.

## МЕТОДИКА

### *Испытуемые*

В эксперименте приняли участие 26 взрослых праворуких по самоотчету испытуемых (15 женщин и 11 мужчин) в возрасте от 21 года до 55 лет ( $32.2 \pm 7.9$  лет). Все испытуемые дали информированное согласие на участие в эксперименте. Протокол эксперимента был одобрен этической комиссией ФБГНУ “Институт возрастной физиологии Российской академии образования”.



**Рис. 1.** Временная структура типичной пробы эксперимента. Вдоль оси времени слева направо, разделенные вертикальными линиями (SB – начало стимуляции; SE – окончание стимуляции; Go – предъявление императивного сигнала), обозначены: этап пристимульного внимания (ATT), период зрительной стимуляции – предъявления последовательности стимулов (STIM), этап удержания последовательности в рабочей памяти (RET) и этап двигательного воспроизведения удерживаемой последовательности в ответ на предъявление императивного сигнала (сигнал Go).

Над участком оси времени, соответствующим зрительной стимуляции, показаны два используемых типа зрительных последовательностей: строчки букв (LET) и ломаные линии, или “траектории” (TRJ), составленные из вертикальных и горизонтальных прямолинейных отрезков. Последовательность каждого типа предъявлялась либо в статическом (STAT), либо в динамическом (DYN) режиме (подробности – в тексте). Связи оценивались на отрезках длительностью 500 мс (обозначены – EEG); один из них соответствовал этапу ATT и непосредственно предшествовал началу стимуляции (SB), а другой состоял из первых 500 мс ЭЭГ сразу после окончания стимуляции (SE).

**Fig. 1.** Temporal structure of a typical experimental trial. Along the time axis from left to right, shown are following stages of the trial separated by vertical lines (SB – start of stimulation; SE – end of stimulation; Go – presentation of an imperative signal) shown are: the stage of prestimulus attention (ATT), the period of visual stimulation – presentation of a sequence of stimuli (STIM), the stage of holding the sequence in working memory (RET) and the stage of motor reproduction of the retained sequence in response to the presentation of an imperative signal (Go signal).

Above the portion of the time axis corresponding to visual stimulation are shown the two types of visual sequences used: letter strings (LET) and broken lines or “trajectories” (TRJ), composed of vertical and horizontal straight segments. Each type of sequence was presented either statically (STAT) or dynamically (DYN) (details in the text). Connectivity was assessed in segments lasting 500 ms (marked with EEG label); one of them corresponded to the ATT phase and immediately preceded the start of stimulation (SB), and the other consisted of the first 500 ms of EEG immediately after the end of stimulation (SE).

### Задача и стимулы

В ходе эксперимента испытуемые решали задачу на рабочую память – их просили запомнить предъявленную последовательность зрительных стимулов (отрезков прямой линии или букв), удерживать ее в РП в течение короткого интервала времени, а затем в ответ на предъявление императивного сигнала воспроизвести.

Последовательности были либо составлены из печатных заглавных согласных букв русского алфавита (LET), либо образованы вертикальными и горизонтальными отрезками прямой линии, вместе составлявшими незамкнутую ломаную линию, которую в предыдущих наших работах (Корнеев и др., 2016а, б; 2022; Курганский и др., 2022), а также в настоящей работе мы будем называть траекториями (TRJ). В случае LET длина последовательностей варьировала от 3 до 5 элементов, а в случае TRJ – от 4 до 6.

Последовательности предъявлялись в двух режимах – статическом (STAT) и динамическом (DYN). В статическом режиме последовательность предъявлялась одновременно вся целиком на фиксированное время ( $T = 2000$  мс). В этом режиме в случае LET предъявлялась строчка букв, а в случае TRJ – рисунок ломаной. В динамическом режиме в случае LET буквы предъявлялись одна за другой, каждая на своем месте в строке. В случае TRJ вдоль невидимой траектории двигалось небольшое круглое пятно. В случае LET, так же как и в случае TRJ, время экспозиции одного элемента (буквы или отрезка) составляло 500 мс. Примеры буквенных последовательностей и траекторий можно найти в нашей предыдущей работе (Корнеев и др., 2022).

В качестве императивного сигнала (Go) к воспроизведению последовательности использовался короткий (100 мс) тональный звуковой сигнал. В случае LET одновременно с императивным сигналом появлялась строка ранее по-

казанных для запоминания букв, перемешанных в случайном порядке. Воспроизведение заключалось в том, чтобы коснуться указательным пальцем правой руки изображений букв на сенсорном экране в том порядке, в котором они были предъявлены. В случае TRJ запомненную последовательность линий (траекторию) следовало просто нарисовать указательным пальцем правой руки на сенсорном экране компьютера.

### *Установка*

Эксперимент проводился в полностью автоматическом режиме. Процедура проведения эксперимента была реализована с использованием пакета Psychtoolbox 3.0 в виде скрипта в вычислительной среде Octave 5.2.0 под управлением операционной системы Linux (дистрибутив Kubuntu). Управляющий скрипт выполнялся на компьютере Lenovo Yoga с сенсорным экраном (диагональ 14 дюймов, разрешение 1920 x 1080). Этот скрипт управлял предъявлением стимулов, регистрировал прикосновения и перемещения пальца испытуемого по экрану, а также управлял компьютерным электроэнцефалографом – включал и выключал запись ЭЭГ и в режиме реального времени информировал программу управления электроэнцефалографом о возникающих событиях (начало и конец предъявления стимула, прикосновение к сенсорному экрану).

### *Структура пробы и дизайн эксперимента*

Эксперимент состоял из четырех блоков, каждый из которых соответствовал одному из четырех экспериментальных кросс-условий – одному из четырех возможных сочетаний модальности (LET и TRJ) и режима предъявления (STAT, DYN). Каждый блок включал в себя 48 проб. Пробы внутри каждого блока содержали последовательности разной длины (по 16 проб для каждой длины): последовательности букв состояли из 3, 4 или 5 элементов, а траектории – из 4, 5 или 6 элементов. В половине проб для последовательности каждой длины, каждой модальности в каждом режиме предъявления (16 проб) задержка императивного сигнала составляла 500 мс, а в другой половине – 3000 мс. Порядок проб с последовательностями разной длины внутри каждого блока был псевдослучайным, индивидуальным для каждого испытуемого. Порядок выполнения блоков также варьировался: половина испытуемых сначала выполняли блоки LET, а затем TRJ, а другая половина – наоборот.

Во всех четырех блоках типичная проба была организована сходным образом. Вначале на экране появлялся фиксационный крест, после чего предъявлялась последовательность стимулов для запоминания. Затем с псевдослучайно варьируемой задержкой в 500 или 3000 мс (после окончания последовательности) раздавался звуковой императивный сигнал, в ответ на который испытуемый должен был как можно быстрее и точнее воспроизвести предъявленную последовательность (рис. 1).

### *Проведение эксперимента*

До начала проведения эксперимента испытуемому объясняли, в чем состоит его задача. Каждый из четырех блоков предварялся устной инструкцией и короткой (4 пробы) тренировкой, которую могли повторить по просьбе испытуемого. Во время проведения эксперимента испытуемый сидел в кресле в затемненной камере. Сенсорный экран был расположен на таком расстоянии от него (40–45 см) и на такой высоте, чтобы было удобно рисовать пальцем на сенсорном экране. При этом до начала двигательного ответа испытуемый удерживал указательный палец в определенной позиции (home position) – касался небольшого прямоугольника на сенсорном экране.

### *Регистрация ЭЭГ*

ЭЭГ высокой плотности записывалась при помощи компьютерного электроэнцефалографа (Electrical Geodesics, Inc.) в полосе частот 0.1–70 Гц (частота оцифровки 250 Гц) от 129 электродов, расположенных в узлах сетчатого шлема HydroCel GSN (HCGSN), один из которых (вертексный электрод) использовался в качестве референтного. Запись ЭЭГ контролировалась штатной компьютерной программой NetStation, которая, в свою очередь, запускалась дистанционно по протоколу TCP/IP скриптом, управляющим проведением эксперимента.

### *Анализ ЭЭГ и подготовка к нему*

Для анализа ЭЭГ и подготовки к нему использовались функциональные возможности spm12 (<https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/>), FieldTrip (<https://www.fieldtriptoolbox.org/>), BSMART (Cui et al., 2008), а также скрипты и функции, разработанные авторами настоящей работы в вычислительной среде Octave/Matlab.

### *Предварительная обработка ЭЭГ*

Для дальнейшего анализа индивидуальные записи ЭЭГ и метки событий (начало и конец стимуляции, начало и конец императивного сигнала) извлекались из файлов, созданных управляющей программой электроэнцефалографа, и преобразовывались в формат (\*.mat), который позволял обрабатывать сигнал с помощью написанных авторами скриптов для вычислительной среды Octave/Matlab.

На первом этапе индивидуальные данные анализировались визуально на предмет наличия “плохих” каналов, возникающих при потере соответствующим сенсором электрического контакта с кожным покровом головы. Номера этих каналов запоминались, и на более поздних этапах анализа соответствующие сигналы исключались из вычислений.

На следующем этапе с помощью заградительного фильтра из 128-канальной записи ЭЭГ удалялась сетевая наводка 50 Гц вместе с ее гармониками 100 и 150 Гц, а затем из непрерывной записи ЭЭГ выделялись отрезки длительностью 500 мс на (1) этапе престаимпульного внимания (АТТ) и (2) этапе удержания в РП воспринятой последовательности стимулов (RET).

Из полученных наборов исключались отрезки, содержащие артефакты. Весь отрезок удалялся целиком в автоматическом режиме на основе порогового критерия: отрезок считался артефактным, если после удаления постоянной составляющей и последующей фильтрации в полосе частот 0.5–50 Гц амплитуда сигнала превышала 100 мкВ.

Отметим, что мы намеренно не использовали метод независимых компонент (ICA) для удаления основного вида помех — глазодвигательных артефактов. ICA удаляет глазодвигательные артефакты за счет обнуления одной или нескольких компонент, содержащих такие артефакты, т.е. фактически за счет вычитания (прибавления) некоторого общего сигнала из каждого канала. Добавление общего сигнала к сигналам, между которыми оцениваются функциональные и эффективные связи, приводит к изменению силы статистической связи между каналами; пример такого влияния приведен в (Курганский, 2010).

В силу необходимости иметь для последующего VAR-моделирования достаточную суммарную

длительность безартефактной ЭЭГ в каждом экспериментальном условии, в настоящей работе нам пришлось объединить пробы, соответствующие коротким и длинным интервалам ожидания императивного сигнала. В связи с этим мы не смогли проверить, происходит ли спонтанная трансформация внутренней репрезентации последовательности в задаче на удержание в РП последовательности букв. Даже объединив два этих экспериментальных условия, мы выявили только 17 испытуемых с полным набором данных по оставшимся экспериментальным условиям.

Отобранные безартефактные 500-миллисекундные отрезки ЭЭГ использовались для оценки нормальной проекции токовых векторов диполей в вокселях коры. Для этого (после преобразования каждого отрезка ЭЭГ к усредненному референту) использовался метод eLORETA (Pascual-Marqui et al., 2011), реализованный вместе с рядом вспомогательных процедур в программном пакете (toolbox) FieldTrip (<https://www.fieldtriptoolbox.org/>). Поскольку в нашем распоряжении не было ни индивидуальных структурных МРТ-изображений головы, ни положений сенсоров на скальпе, мы использовали стандартную модель головы и среднее положение электродов шлема HCGSN с 129 электродами, доступную в spm12. Учитывая значительные потенциальные систематические ошибки в определении распределения токовых диполей, мы использовали низкоразмерную версию разбиения коры на воксели (5124 вокселя в стандартной модели коры cortex\_5124.surf.gii). Эти данные использовались сначала для вычисления матрицы L (leadfield matrix), связывающей токовые диполи с потенциалом на скальпе (прямая задача электроэнцефалографии), а затем для вычисления восстанавливающей матрицы W (unmixing matrix), позволяющей для каждого момента времени вычислить токовые диполи в отдельных вокселях корковой ткани по вектору значений потенциала на 129 сенсорах.

В дальнейшем анализе участвовали токовые диполи не во всех вокселях, а только в группах вокселей, принадлежащих выбранным заранее областям интереса (regions of interests, ROI) — ОИ.

### *Выбор областей интереса*

В качестве ОИ были выбраны пары латерально-симметричных областей в префронтальной, височной, теменной и затылочной коре. Для выбора ОИ использовался стандартный анатомиче-

ский атлас (Eickhoff et al., 2005), входящий в систему spm12 (SPM Anatomy Toolbox, Version 3.0). В дорсолатеральной префронтальной коре были выбраны две приблизительно латерально-симметричные ОИ, в верхней височной извилине височной коры также выбраны две ОИ; в теменной коре 5 пар ОИ, из которых три относятся к верхней теменной дольке и три – к внутритеменной борозде; в затылочной коре выбрано 7 пар ОИ – три пары в первичной зрительной коре v1 и по две пары в v2 и v3.

В табл. 1 перечислены все выбранные ОИ, даны их краткие обозначения и приведены MNI-координаты их центров. В качестве границы ОИ использовалась сфера радиусом 10 мм. При этом в качестве принадлежащих данной ОИ рассматривались все воксели, расположенные внутри такой сферы, при условии, что они принадлежали одному и тому же полушарию (если сфера с центром в одном полушарии частично охватывала воксели другого полушария, то последние исключались из ОИ). Дальнейшему анализу подвергались не временные ряды отдельных вокселов, а сигнал, характеризующий активность всех вокселов данного ОИ. В качестве такого сигнала использовалась первая главная компонента (компонента, характеризующая наибольшую дисперсией) разложения всей совокупности временных рядов данного ОИ на главные компоненты (РСА-разложение).

Выбор нескольких ОИ в пределах одной анатомической структуры (например, три пары ОИ в пределах первичной зрительной коры v1) обусловлен тем, что a priori не ясно, какая именно область корковой зоны участвует в обеспечении функции рабочей памяти.

Часть результатов настоящего исследования составлял выбор подмножества наиболее реактивных из перечисленных ОИ для построения векторной авторегрессионной модели, совместной с суммарной длительностью имеющихся безартефактных ЭЭГ-данных. Исходное число ОИ ( $2 + 8 + 10 + 14 = 34$  области) слишком велико для имеющихся ограниченных по объему данных.

#### Оценка функциональных и эффективных связей

Для оценки функциональных связей использовалась стандартная парная функция когерентности СОН, а для оценки эффективных (направленных) связей – масштабно-независимая направленная передаточная функция (directed transfer function – DTF), качественно совпадающая с направленной когерентностью и характеризующая долю, которую один канал вносит в спектральную мощность другого канала (Курганский, 2010).

Эти функции вычислялись на основе коэффициентов векторной авторегрессионной мо-

**Таблица 1.** Кортиковые области интереса  
**Table 1.** Cortical regions of interest

Регион коры	Обозначение	№ ОИ внутри региона	MNI-координаты центра области в левом полушарии	MNI-координаты центра области в правом полушарии
Дорсолатеральная префронтальная кора	dIPFC	1	-43.5 29.5 33.4	44.3 18.6 46.2
Верхняя височная извилина	STG	1	-61.2 0.1 -4.5	62.8 0.1 -3.3
		2	-57.2 -8.8 -4.9	56 -4.7 -7.7
Внутритеменная борозда	IPS	1	-34.2 -48.6 42.2	34.2 -46.6 45.4
		2	-34.2 -68.3 45.8	38.7 -63.5 45.8
		3	-30.2 -73.1 35.4	34.2 -70.3 37.0
Верхняя теменная долька	SPL	1	-11.3 -70.3 57.9	14.9 -71.1 61.5
		2	-6.4 -74.7 55.1	14.9 -76.3 52.3
Зрительная кора v1	v1	1	-7.7 -97.2 2.0	14.5 -98.0 2.0
		2	-8.5 -88.8 2.0	11.7 -84.8 2.0
		3	-18.5 -65.9 2.0	18.5 -62.6 2.0
Зрительная кора v2	v2	1	-7.7 -94.0 -12.1	29.8 -98.8 -2.5
		2	-7.7 -97.6 15.3	18.9 -98.8 15.3
Зрительная кора v3	v3	1	-19.7 -90.4 -12.5	23.0 -87.2 -11.3
		2	-17.3 -90.0 21.3	20.5 -87.2 29.7

дели (VAR-модели), определяемых с помощью BSMART (Cui et al., 2008) для последовательно-многоканальных отрезков сигналов в пространстве источников – сигналов, найденных с помощью метода eLORETA в отдельных вокселях ОИ. Набор функций BSMART позволяет оценивать коэффициенты VAR-модели для множества одинаковых по длине, но не составляющих непрерывную запись многоканальных отрезков ЭЭГ.

В результате процедуры исключения артефактной ЭЭГ у разных испытуемых и в разных экспериментальных кросс-условиях оказалось разное число безартефактных отрезков. Оценка силы функциональной и эффективной связи для записей ЭЭГ разной суммарной длины приводит к различному статистическому смещению – чем короче запись, тем больше величина смещения (Курганский, 2010). Для того чтобы обеспечить одинаковое статистическое смещение оценок функциональных и эффективных связей у разных испытуемых и в разных экспериментальных условиях (во всех ячейках дизайна эксперимента), применялся следующий прием. На основе анализа длительностей безартефактной ЭЭГ была выбрана одинаковая для всех испытуемых и всех условий “стандартная” суммарная длительность электроэнцефалограммы  $T_{eeg}$ . Эта длительность выбиралась из компромиссных соображений. С одной стороны, она должна быть достаточно большой, так, чтобы число подлежащих определению свободных параметров VAR-модели было бы как минимум на порядок меньше числа отсчетов многоканальной ЭЭГ. С другой стороны,  $T_{eeg}$ -длительность должна быть как можно меньше, чтобы минимизировать число отдельных кросс-условий, для которых не удалось определить параметры VAR-модели. Аналогичные компромиссы приходится делать при выборе порядка VAR-модели (чем выше порядок VAR-модели, тем выше частотное разрешение, но при этом требуется запись данных большей длины) и максимального числа каналов  $M$  (число свободных параметров модели пропорционально квадрату числа каналов). В настоящей работе были выбраны следующие значения этих величин: число каналов  $M = 8$ , порядок модели  $P = 10$  и стандартная длительность записи  $T_{eeg} = 5$  с (10 сегментов по 500 мс каждый).

При таких значениях число подлежащих определению свободных параметров VAR-модели  $N_{param} = M^2 P$  оказывается при частоте оциф-

ровки  $F = 250$  Гц почти в 16 раз меньше числа доступных отсчетов ЭЭГ  $N_{sample} = MFT_{eeg}$ .

Процедура оценки индивидуальных функций COH и DTF для каждого испытуемого и каждого кросс-условия (каждого из 8 сочетаний уровней факторов ЭТАП, МОДАЛЬНОСТЬ и РЕЖИМ) заключалась в следующем. Если длительность доступной последовательности безартефактных сегментов ЭЭГ была как минимум в полтора раза больше  $T_{eeg}$  (не менее 15 сегментов), то из этой последовательности случайным образом (случайная выборка с возвращением) 20 раз выбиралась подпоследовательность из 10 сегментов. По каждой из 20 таких последовательностей определялись коэффициенты парциальной VAR-модели и использовались для оценки наборов функций когерентности  $C_i(f)$  и направленной передаточной функции  $D_i(f)$  ( $i = 1, 2, \dots, 20$ ). Здесь  $i$  соответствует номеру последовательности,  $f$  – частоте. В качестве индивидуальных оценок функциональных и эффективных связей использовались средние по всем парциальным моделям оценки когерентности и передаточной функции:

$$COH(f) = \frac{1}{20} \sum_{i=1}^{i=20} C_i(f),$$

$$DTF(f) = \frac{1}{20} \sum_{i=1}^{i=20} D_i(f).$$

#### Статистический анализ функциональных и эффективных связей

Статистическому анализу подвергались усредненные в 7 смежных частотных диапазонах:  $\theta, \alpha, \beta_1, \beta_2, \gamma_1, \gamma_2, \gamma_3$  – значения функций  $COH(f)$  и  $DTF(f)$  для префронтально-височных (F-T), префронтально-теменных (F-P) и префронтально-затылочных (F-O) пар ОИ. В качестве границ диапазонов для  $\theta, \alpha, \beta_1, \beta_2, \gamma_1, \gamma_2, \gamma_3$  были выбраны соответственно: 4–8, 8–13, 13–20, 20–30, 30–40, 40–50, 50–60 Гц.

Мы исследовали, зависят ли величины COH и DTF от следующих факторов: задачи – TASK (LET, TRJ); режима зрительного предъявления последовательности – MODE (STAT, DYN); частотной полосы – FBAND ( $\theta, \alpha, \beta_1, \beta_2, \gamma_1, \gamma_2, \gamma_3$ ); полушария, в котором располагался ОИ в dlPFC, – HEM\_F (L, R); области коры, с которой взаимодействовала dlPFC, – TPO (F-T, F-P, F-O) и полушария, в котором находилась ОИ TPO, – HEM\_TPO (L, R).



Омнибус-тесты выполнялись на основе дисперсионного анализа по схеме с повторными измерениями (rmANOVA), а *post hoc* тестирование выполнялось как с помощью rmANOVA, так и тестов Стьюдента для связанных выборок.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование состояло из двух основных частей. Первая часть была посвящена выбору ОИ, наиболее вовлеченных в обеспечение РП. Во второй части отобранные наиболее вовлеченные ОИ использовались для построения многоканальной VAR-модели, которая, в свою очередь, использовалась для оценки функциональных и эффективных связей между этими ОИ.

### *Выбор ОИ, наиболее вовлеченных в процессы рабочей памяти*

В качестве меры вовлеченности ОИ в процессы РП использовалась t-статистика Стьюдента – статистическое расстояние между средними по группе испытуемых функциями когерентности, оцененными на этапе пристимульного внимания (ATT) и на этапе удержания информации (RET) о последовательности стимулов в РП (см. рис. 1). Для того чтобы оценить такое расстояние, использовалось множество 2-канальных VAR-моделей, куда входили сигнал источника в dIPFC и один из сигналов в височной, теменной или зрительной областях коры. Всего, таким образом, для каждого испытуемого в каждом из 8 кросс-условий – STAGE (ATT, RET), TASK (LET, TRJ) и MODE (STAT, DYN) – было построено по  $2 \times 14 + 2 \times 10 + 2 \times 4 = 28 + 20 + 8 = 56$  моделей и, соответственно, оценено 56 функций СОН для всех значений частоты с шагом в 0.5 Гц в диапазоне от 2 до 60 Гц (всего – 117 значений).

Для каждого из 8 кросс-условий и 117 значений частоты был составлен список пар каналов, для которых значение t-статистики Стьюдента по абсолютной величине превышало 3 хотя бы при одном значении частоты (табл. 2).

На основе данных табл. 2 была составлена 8-канальная VAR-модель, куда вошли только 4 пары билатерально-симметричных ОИ из табл. 1. Это были гомологичные зоны левого и правого полушария в dIPFC; в IPS (ОИ № 3 из табл. 1); в STG (ОИ № 1 из табл. 1); в v2 (ОИ № 1 из табл. 1). Мы включили в модель только v2, поскольку именно ее связи с дорсолатеральной

префронтальной корой оказались в наибольшей степени чувствительны к различию между этапами – пристимульным вниманием и этапом удержания последовательности в РП.

### *Функциональные и эффективные связи в сети из 8 взаимодействующих ОИ*

Для установления влияния факторов и их взаимодействий отдельно для каждой из величин СОН и DTF были выполнены статистические омнибус-тесты. Для краткости мы будем использовать обозначения F-T для связей dIPFC (L и R) с височными зонами, F-P – с теменными зонами и F-O – с затылочными зонами. Для общего обозначения второго участника в парах с dIPFC ниже мы ввели аббревиатуру TPO (temporal, parietal, occipital).

Величины функциональных связей (СОН) анализировались с помощью многомерного дисперсионного анализа с факторами TASK (LET, TRJ), MODE (STAT, DYN), FBAND ( $\theta, \alpha, \beta_1, \beta_2, \gamma_1, \gamma_2, \gamma_3$ ), HEM\_F (L, R), TPO (F-T, F-P, F-O) и HEM\_TPO (L, R). Этот анализ выявил значимый эффект фактора TASK ( $F(1, 16) = 17.570$ ;  $p = 0.001$ ;  $\eta_p^2 = 0.523$ ) и наличие взаимодействий факторов TASK и MODE с факторами TPO (локализация второго участника пары) и HEM\_TPO (полушарие второго участника пары): два тройных взаимодействия TPO  $\times$  TASK  $\times$  MODE ( $F(2, 15) = 4.139$ ;  $p = 0.037$ ;  $\eta_p^2 = 0.356$ ) и TPO  $\times$  TASK  $\times$  HEM\_TPO ( $F(2, 15) = 10.064$ ;  $p = 0.002$ ;  $\eta_p^2 = 0.573$ ).

Величины эффективных (направленных) связей (DTF) анализировались с помощью многомерного дисперсионного анализа с факторами TASK (LET, TRJ), MODE (STAT, DYN), FBAND ( $\theta, \alpha, \beta_1, \beta_2, \gamma_1, \gamma_2, \gamma_3$ ), TPO (F-T, F-P, F-O), HEM\_F (L, R), HEM\_TPO (L, R) и DIR (TPO  $\rightarrow$  F, F  $\rightarrow$  TPO). Этот анализ выявил наличие взаимодействий факторов TASK и MODE с факторами FBAND, TPO, HEM\_F, HEM\_TPO и DIR: FBAND  $\times$  MODE  $\times$  HEM\_TPO ( $F(6, 11) = 3.217$ ;  $p = 0.045$ ;  $\eta_p^2 = 0.637$ ), HEM\_F  $\times$  TASK  $\times$  HEM\_TPO ( $F(1, 16) = 8.353$ ;  $p = 0.011$ ;  $\eta_p^2 = 0.343$ ), TPO  $\times$  HEM\_F  $\times$  MODE  $\times$  DIR ( $F(2, 15) = 4.201$ ;  $p = 0.036$ ;  $\eta_p^2 = 0.359$ ), TPO  $\times$  HEM\_F  $\times$  DIR  $\times$  HEM\_TPO ( $F(2, 15) = 4.300$ ;  $p = 0.033$ ;  $\eta_p^2 = 0.364$ ), HEM\_F  $\times$  MODE  $\times$  DIR  $\times$  HEM\_TPO ( $F(1, 16) = 5.436$ ;  $p = 0.033$ ;  $\eta_p^2 = 0.254$ ) и TPO  $\times$  FREQ  $\times$  TASK  $\times$  MODE  $\times$  HEM\_TPO ( $F(12, 5) = 5.399$ ;  $p = 0.037$ ;  $\eta_p^2 = 0.928$ ).

**Таблица 2.** Пары ОИ, в которых модуль статистического расстояния  $t_c$  (t-статистики Стьюдента) в СОН между этапом направленного внимания (АТТ) и этапом удержания информации (РЕТ) был больше 3  
**Table 2.** Pairs of ROIs in which the absolute value of the statistical distance  $t_c$  (as measured with Student's t statistics) between СОН in the stage of directed attention (АТТ) and СОН in the stage of information retention (РЕТ) was greater than 3

Первая ОИ в паре		Вторая ОИ в паре			Число превышений порога $t_c > 3$
ОИ в дорсо-латеральной префронтальной коре	полушарие	ОИ в височной, теменной или зрительной коре	полушарие	номер ОИ	
dIPFC	L	STG	R	1	47
dIPFC	R	IPS	L	3	23
dIPFC	R	v1	L	1	10
dIPFC	R	v1	L	3	18
dIPFC	R	v2	L	1	60
dIPFC	R	v2	R	2	4
dIPFC	R	v3	L	2	18

Эти результаты указывают на то, что мозговая организация РП при удержании ломаной линии (TRJ) и при удержании последовательности букв существенно отличаются: об этом свидетельствуют как минимум высоко значимое влияние фактора TASK на величину СОН, а также высоко значимое взаимодействие факторов ТРО  $\times$  TASK  $\times$  НЕМ\_ТРО, показывающее, что это влияние неодинаково для разных сочетаний связей (F-T, F-P, F-O) и полушария, в котором находится лежащая вне префронтальной коры ОИ. Отмеченные эффекты не относятся к какому-либо одному частотному диапазону, поскольку фактор частотного диапазона FBAND не оказал на величину СОН никакого влияния ни сам по себе, ни во взаимодействии с другими факторами.

Последующий post hoc анализ величин СОН и DTF отдельно для каждого вида связей F-T, F-P и F-O и каждого частотного диапазона  $\theta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$  проводился с помощью *g*MANOVA с факторами TASK (LET, TRJ), MODE (STAT, DYN), НЕМ\_F (L, R) и НЕМ\_ТРО (L, R) в случае СОН; в случае DTF к ним добавлялся еще и фактор направления DIR (ТРО $\rightarrow$ F, F $\rightarrow$ ТРО).

Этот анализ выявил ряд значимых эффектов факторов TASK и MODE, а также взаимодействий этих факторов с факторами НЕМ\_F и НЕМ\_ТРО (таблицы 3 и 4). Характер двух наиболее часто встречающихся в табл. 3 и 4 взаимодействий факторов TASK  $\times$  НЕМ\_ТРО и MODE  $\times$  НЕМ\_ТРО иллюстрируют рис. 2 и 3 соответственно для СОН и DTF. Из этих рисунков видно, что сила функциональных и эффективных связей зависит, в частности, от того, в каком полушарии расположены височные, теменные и затылочные ОИ.

В зависимости от того, о каких функциональных связях: F-T, F-P или F-O идет речь, чувствительными к модальности стимулов (LET или TRJ) оказываются связи префронтальных областей со структурами обоих полушарий (F-T), правого (F-P) или левого (F-O) полушарий (рис. 2, верхний ряд). Сходная (хотя статистически менее выраженная) картина наблюдается в отношении чувствительности к режиму предъявления стимулов (STAT или DYN), с той лишь разницей, что биполушарный, право- и левополушарный характер влияния режима предъявления обнаруживается для других связей (рис. 3).

Отметим: сравнение рис. 2 и 3 показывает, что характер влияния модальности и режима предъявления качественно одинаков в случае функциональных (СОН) и эффективных (DTF) связей: если такая-то функциональная связь сильнее при определенной модальности или определенном режиме предъявления, то так же ведет себя и эффективная связь (усредненная по направлению).

Наконец, для величины СОН и для величины DTF отдельно для каждого типа связей (F-T, F-P, F-O) была оценена статистическая значимость влияния фактора TASK и фактора MODE. Таким образом, для СОН было выполнено 3 сессии парных сравнений по 56 сравнений в каждой для выявления влияния каждого из факторов TASK и MODE. Такое же число сессий было выполнено и для DTF, на этот раз по 112 сравнений в каждой сессии. Учитывая, что при выполнении большого числа тестов накапливается ошибка второго рода, мы использовали коррекцию по Бонферрони в пределах каждой сессии, беря за порог значимости величину  $0.05/56 = 8.9286e-04$  в случае СОН и величину  $0.05/112 = 4.4643e-04$  — в случае DTF.

**Таблица 3.** *Post hoc* статистические тесты величины COH для F-T, F-P и F-O связей в частотных диапазонах  $\theta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$

**Table 3.** *Post hoc* statistical tests for COH in F-T, F-P, and F-O functional links in the  $\theta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$  frequency bands

Вид связи	Частотный диапазон	Эффект	Степени свободы df1, df2	F-статистика	Значимость p	$\eta_p^2$
F-T	$\theta$	TASK	1, 16	5.053	0.039	0.240
F-T	$\alpha$	TASK	1, 16	17.522	0.001 (0.000699)	0.523
F-T	$\alpha$	MODE x HEM_TPO	1, 16	4.497	0.049936	0.219
F-T	$\beta_1$	TASK	1, 16	23.426	0.000181	0.594
F-T	$\beta_1$	MODE x HEM_TPO	1, 16	5.923	0.027	0.270
F-T	$\beta_1$	HEM_F x TASK x HEM_TPO	1, 16	5.447	0.033	0.254
F-T	$\beta_2$	TASK	1, 16	14.764	0.001442	0.480
F-T	$\beta_2$	MODE x HEM_TPO	1, 16	4.509	0.049672	0.220
F-T	$\gamma_1$	TASK	1, 16	5.770	0.029	0.265
F-T	$\gamma_2$	TASK	1, 16	12.563	0.003	0.440
F-T	$\gamma_3$	TASK	1, 16	11.686	0.004	0.422
F-P	$\alpha$	TASK	1, 16	7.668	0.014	0.324
F-P	$\alpha$	HEM_F x TASK x MODE x HEM_TPO	1, 16	8.162	0.011	0.338
F-P	$\beta_1$	TASK	1, 16	5.974	0.026	0.272
F-P	$\beta_1$	TASK x HEM_TPO	1, 16	6.824	0.019	0.299
F-P	$\beta_2$	TASK x HEM_TPO	1, 16	14.543	0.002	0.476
F-P	$\gamma_1$	TASK x HEM_TPO	1, 16	7.182	0.016	0.310
F-P	$\gamma_2$	MODE	1, 16	5.265	0.036	0.248
F-P	$\gamma_2$	TASK x HEM_TPO	1, 16	9.627	0.007	0.376
F-P	$\gamma_3$	TASK x HEM_TPO	1, 16	9.051	0.008	0.361
F-O	$\alpha$	MODE x HEM_TPO	1, 16	4.639	0.047	0.225
F-O	$\alpha$	HEM_F x MODE x HEM_TPO	1, 16	4.551	0.049	0.221
F-O	$\beta_1$	TASK x HEM_TPO	1, 16	5.567	0.031	0.258
F-O	$\beta_1$	MODE x HEM_TPO	1, 16	7.845	0.013	0.329
F-O	$\beta_2$	MODE	1, 16	5.090	0.038	0.241
F-O	$\beta_2$	TASK x HEM_TPO	1, 16	5.308	0.035	0.249
F-O	$\gamma_1$	TASK x HEM_TPO	1, 16	6.937	0.018	0.302
F-O	$\gamma_2$	TASK	1, 16	5.133	0.038	0.243
F-O	$\gamma_2$	TASK x HEM_TPO	1, 16	5.412	0.033	0.253
F-O	$\gamma_2$	HEM_F x MODE x HEM_TPO	1, 16	7.468	0.015	0.318
F-O	$\gamma_3$	TASK	1, 16	4.923	0.041	0.235
F-O	$\gamma_3$	TASK x HEM_TPO	1, 16	6.339	0.023	0.284
F-O	$\gamma_3$	HEM_F x MODE x HEM_TPO	1, 16	4.524	0.049	0.220

Значимыми при поправках на множественные сравнения оказались только несколько различий в величине COH. Для пары, образованной dIPFC в левом полушарии и правополушарной STG, при статическом зрительном предъявлении последовательностей стимулов величина COH оказалась значимо больше ( $t(18) = 4.940$ ;  $p = 0.000106$ ) в задаче LET, чем в задаче TRJ в частотных диапазонах альфа (0.41674 против 0.27463) и бета1 (0.39000 против 0.25116). Усредненная по группе испытуемых функция коге-

рентности  $COH(f)$  показана на рис. 4 (а), где альфа- и бета1-диапазоны частот изображены вертикальной полосой.

Значимое влияние фактора TASK на величину COH обнаружено также в паре, образованной dIPFC в правом полушарии и левой зрительной корой v2. В этой паре в статическом режиме предъявления стимулов COH в LET значимо больше, чем в TRJ ( $t(18) = 4.186$ ;  $p = 0.000555$ ) в тета-диапазоне частот (0.40605

**Таблица 4.** *Post hoc* статистические тесты величины DTF для F-T, F-P и F-O связей в частотных диапазонах  $\theta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$ **Table 4.** *Post hoc* statistical tests for DTF in F-T, F-P, and F-O functional links in the  $\theta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$  frequency bands

Вид связи	Частотный диапазон	эффект	Степени свободы df1, df2	F-статистика	Значимость p	$\eta_p^2$
F-T	$\beta_1$	TASK	1, 16	7.677	0.014	0.324
F-T	$\beta_2$	TASK	1, 16	8.234	0.011	0.340
F-T	$\beta_2$	HEM_F x TASK x DIR x HEM_TPO	1, 16	11.010	0.004	0.408
F-T	$\gamma_1$	TASK x HEM_TPO	1, 16	7.412	0.015	0.317
F-T	$\gamma_3$	TASK x HEM_TPO	1, 16	4.726	0.045	0.228
F-P	$\theta$	MODE	1, 16	12.570	0.003	0.440
F-P	$\theta$	TASK x HEM_TPO	1, 16	5.347	0.034	0.250
F-P	$\theta$	HEM_F x MODE x HEM_TPO	1, 16	6.004	0.026	0.273
F-P	$\beta_1$	HEM_F x TASK x HEM_TPO	1, 16	5.681	0.030	0.262
F-P	$\beta_1$	HEM_F x TASK x DIR x HEM_TPO	1, 16	5.827	0.028	0.267
F-P	$\beta_2$	TASK x HEM_TPO	1, 16	6.308	0.023	0.283
F-P	$\gamma_1$	HEM_F x TASK x HEM_TPO	1, 16	5.627	0.031	0.260
F-P	$\gamma_2$	HEM_F x TASK x HEM_TPO	1, 16	11.125	0.004	0.410
F-P	$\gamma_3$	TASK	1, 16	5.598	0.031	0.259
F-P	$\gamma_3$	TASK x MODE x HEM_TPO	1, 16	11.141	0.004	0.410
F-O	$\alpha$	TASK x MODE	1, 16	4.996	0.040	0.338
F-O	$\beta_1$	TASK x MODE	1, 16	5.154	0.037	0.244
F-O	$\beta_1$	TASK x HEM_TPO	1, 16	4.664	0.046	0.226
F-O	$\beta_1$	MODE x HEM_TPO	1, 16	8.846	0.009	0.356
F-O	$\beta_2$	TASK	1, 16	5.335	0.035	0.250
F-O	$\beta_2$	TASK x HEM_TPO	1, 16	12.874	0.002	0.446
F-O	$\beta_2$	TASK x DIR x HEM_TPO	1, 16	5.737	0.029	0.264
F-O	$\gamma_1$	TASK x HEM_TPO	1, 16	9.172	0.008	0.364
F-O	$\gamma_2$	HEM_F x MODE	1, 16	5.734	0.029	0.264
F-O	$\gamma_3$	HEM_F x MODE	1, 16	6.040	0.026	0.274
F-O	$\gamma_3$	TASK x DIR x HEM_TPO	1, 16	4.749	0.045	0.229

против 0.29853). Эта ситуация проиллюстрирована на рис. 4 (б).

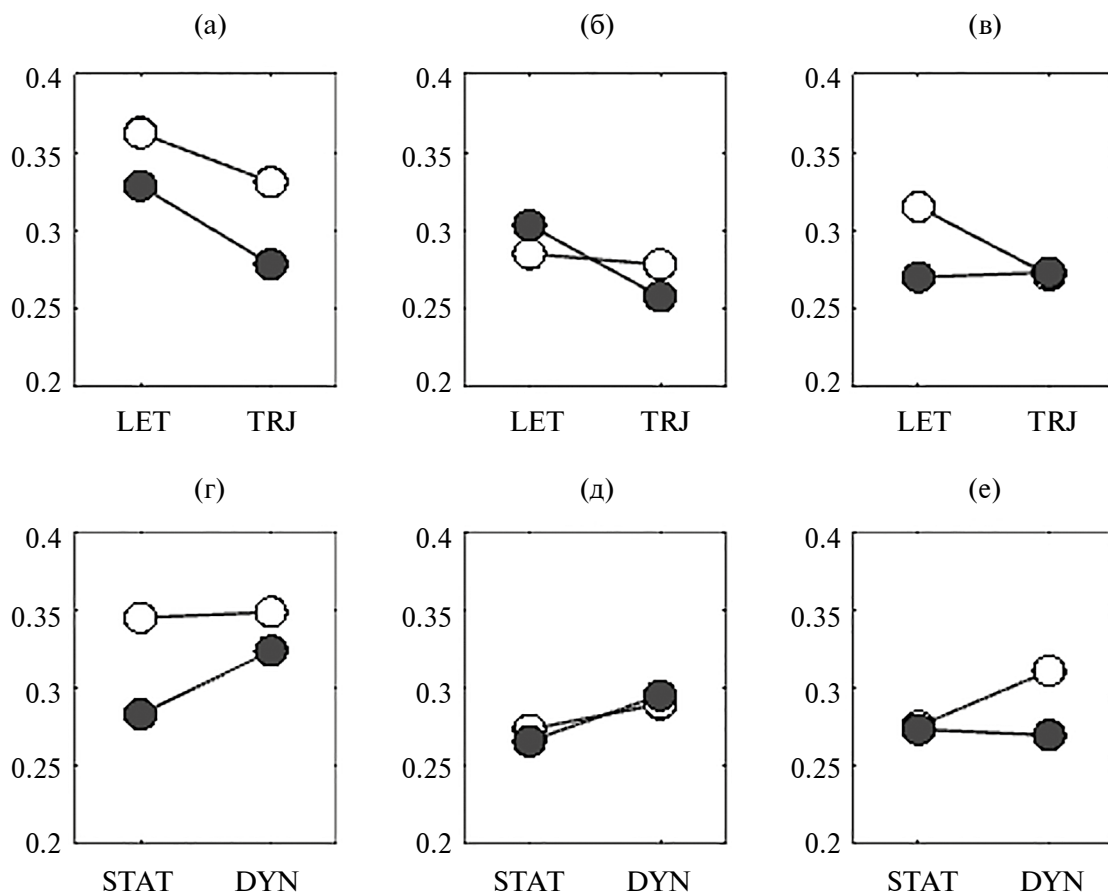
Значимое влияние режима предъявления – фактора MODE – обнаружено только в одной паре ОИ: в гамма2-диапазоне частот в паре, образованной dIPFC в правом полушарии, и левой зрительной корой v2, в задаче TRJ величина COH в статическом режиме значимо меньше ( $t(18) = -3.952$ ;  $p = 0.000787$ ), чем в динамическом (0.22476 против 0.28971). Этому сравнению соответствует вертикальная полоса в гамма2-диапазоне на рис. 4 (в).

На рис. 4 для каждой пары усредненных по группе кривых  $COH(f)$  на панелях (а), (б) и (в) в нижнем ряду приведены примеры соответствующих ((г) для (а), (д) для (б) и (е) для (в)) типичных индивидуальных кривых для трех разных испытуемых, дающих представление о том, как выглядят индивидуальные данные.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Данные настоящей работы указывают на существенные различия мозговой организации РП в задаче LET и TRJ: обнаружено статистически значимое влияние задачи и режима предъявления на силу функциональных и эффективных связей между дорсолатеральной префронтальной корой и областями височной, теменной и затылочной коры.

Можно было бы ожидать, что связь дорсолатеральной префронтальной коры с затылочными областями существенно важнее в задаче TRJ, по сравнению с задачей LET, поскольку сохранение ломаной линии в РП предполагает запоминание контуров, т.е. операций, с которыми функционально связаны зрительные специфические зоны коры, в то время как запоминание букв скорее ос-



**Рис. 2.** Усредненные по группе испытуемых значения величины COH для связей F-T, F-P и F-O. ((a), (б), (в)) – величины COH в двух задачах: LET и TRJ (усреднены по уровням факторов FBAND, HEM\_F, MODE); ((г), (д), (е)) – величины COH в двух режимах предъявления последовательностей: STAT и DYN (усреднены по уровням факторов FBAND, HEM\_F, TASK). Белые кружочки соответствуют расположению височных (Т), теменных (Р) и затылочных (О) ОИ в левом полушарии, а черные – в правом.

**Fig. 2.** Shown are the COH values averaged over the group of subjects for the F-T, F-P and F-O links. ((a), (б), (в)) in two tasks: LET and TRJ (averaged over the levels of factors FBAND, HEM\_F, MODE); ((г), (д), (е)) – COH values in two modes of sequence presentation: STAT and DYN (averaged over the levels of factors FBAND, HEM\_F, TASK).

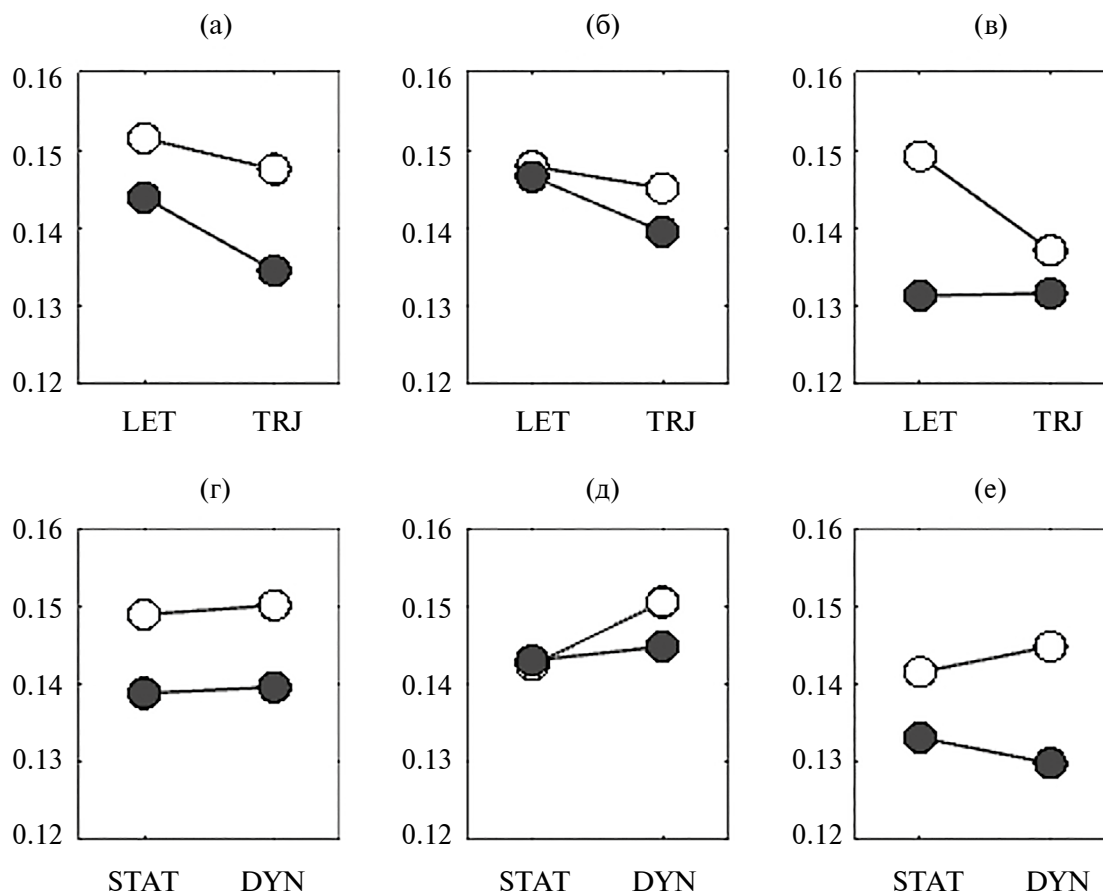
White circles correspond to the location of the temporal (T), parietal (P) and occipital (O) ROIs in the left hemisphere, and black circles correspond to the location in the right hemisphere.

новано на фонологическом кодировании (Absatova et al., 2016).

Однако полученные в настоящей работе данные не подтверждают это ожидание; напротив, как видно из рис. 2, величина когерентности в задаче LET была систематически больше, чем в задаче TRJ, для всех трех видов связей: фронто-височных, фронто-теменных и фронто-затылочных. Сопоставление этого факта с полученными ранее поведенческими данными (Корнеев и др., 2022) показывает, что сила функциональной связи не может однозначно определяться ни трудностью задачи, ни загрузкой РП. Действительно, нагрузка на рабочую память в случае TRJ

была выше за счет большей длины последовательности (4–5–6 элементов против 3–4–5 элементов), а успешность решения задач LET и TRJ в статическом режиме практически одинакова (см. рис. 3 (а) в работе (Корнеев и др., 2022)), хотя именно в этом режиме  $COH(f)$  в задаче LET существенно больше, чем в задаче TRJ.

Учитывая также, что при увеличении нагрузки на РП ожидается увеличение когерентности (Babiloni et al., 2004), можно утверждать, что неравенство длин последовательностей LET и TRJ не могло быть причиной наблюдаемых различий и что меньшая длина буквенных последовательностей, если и могла повлиять на величину об-



**Рис. 3.** Усредненные по группе испытуемых значения величины DTF для связей F-T, F-P и F-O. ((a), (б), (в)) – величины DTF в двух задачах: LET и TRJ (усреднены по уровням факторов FBAND, DIR, HEM\_F, MODE); ((г), (д), (е)) – величины DTF в двух режимах предъявления последовательностей: STAT и DYN (усреднены по уровням факторов FBAND, DIR, HEM\_F, TASK). Белые кружочки соответствуют расположению височных (Т), теменных (Р) и затылочных (О) ОИ в левом полушарии, а черные – в правом.

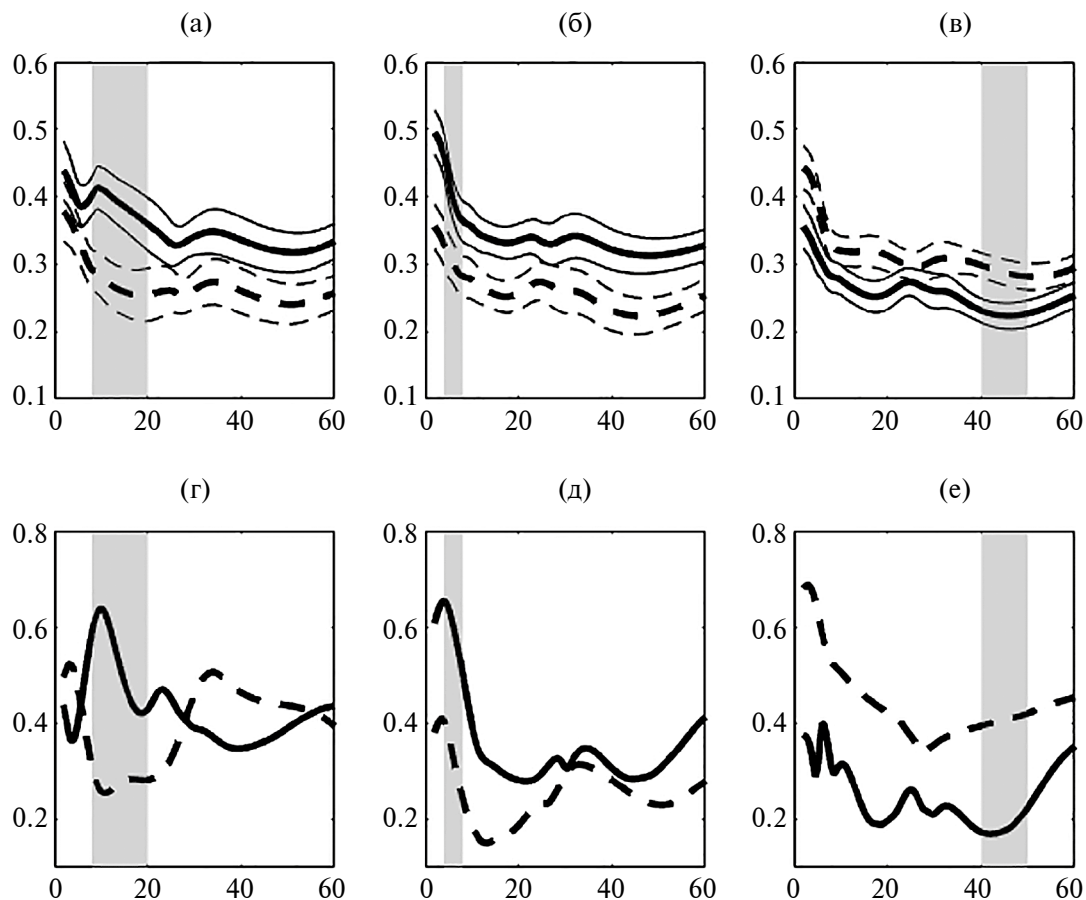
**Fig. 3.** Shown are the DTF values averaged over the group of subjects for the F-T, F-P and F-O links. ((a), (б), (в)) in two tasks: LET and TRJ (averaged over the levels of factors FBAND, DIR, HEM\_F, MODE); ((г), (д), (е)) – COH values in two modes of sequence presentation: STAT and DYN (averaged over the levels of factors FBAND, DIR, HEM\_F, TASK). White circles correspond to the location of the temporal (T), parietal (P) and occipital (O) ROIs in the left hemisphere, and black circles correspond to the location in the right hemisphere.

наруженных различий, то только в сторону их уменьшения.

Тем не менее полученные результаты можно объяснить, если учесть наличие фонологической репрезентации букв, а также предположить, что не только для пространственных, но и для вербальных стимулов в РП сохраняется информация о пространственном контуре каждого из элементов последовательности – отдельных букв. Тогда большая величина когерентности в фронто-височных связях в случае LET отражает вклад фонологических процессов (Binder, 2015), которые не требуются в случае TRJ, а большая величина когерентности в фронто-затылочных связях –

большой объем удерживаемой информации о пространственном контуре в случае нескольких букв, по сравнению с контуром ломаной, которая по сложности эквивалентна или даже проще контура всего одной буквы.

Что касается зависимости мозговой организации РП от режима предъявления, то мы смогли относительно надежно установить только тот факт, что когерентность в паре ОИ, составленной правополушарной dIPFC и левополушарной зрительной корой v2, выше в динамическом режиме, по сравнению со статическим режимом предъявления. Сам факт различий в организации РП для статически и динамически предъявляемой инфор-



**Рис. 4.** Усредненные по всем испытуемым графики зависимости когерентности от частоты  $COH(f)$  для двух условий и примеры индивидуальных зависимостей для этих условий ((г), (д), (е)). В верхнем ряду панелей ((а), (б), (в)) показаны графики усредненной по группе испытуемых зависимости  $COH(f)$ . (а) – в паре ОИ, образованной dIPFC в левом полушарии и правополушарной STG, при статическом зрительном предъявлении; сплошная кривая соответствует задаче LET, а штриховая – задаче TRJ; (б) – в паре ОИ, образованной dIPFC в правом полушарии и левой зрительной корой v2, при статическом зрительном предъявлении; сплошная кривая соответствует задаче LET, а штриховая – задаче TRJ; (в) – в паре, образованной dIPFC в правом полушарии и левой зрительной корой v2, в задаче TRJ; сплошная кривая соответствует статическому режиму предъявления STAT, а штриховая – динамическому DYN.

В верхнем ряду панелей ((а), (б), (в)) жирная кривая (сплошная или штриховая) означает среднюю по группе испытуемых зависимость, а соответствующими сплошными или штриховыми тонкими линиями выше и ниже нее обозначен коридор (среднее  $\pm$  стандартная ошибка). В нижнем ряду панелей ((г), (д), (е)) показаны примеры соответствующих верхним кривым индивидуальных зависимостей  $COH(f)$ : (г) содержит индивидуальный пример для (а), (д) – для (б) и (е) – для (в). Светло-серая вертикальная полоса отмечает частотные области, в которых две кривые, показанные на панелях ((а), (б), (в)), отличаются статистически значимо. Эти же вертикальные полосы воспроизведены на соответствующих примерах индивидуальных кривых ((г), (д), (е)).

**Fig. 4.** Coherence versus frequency  $COH(f)$  function averaged over all subjects for two conditions (upper row) and examples of individual functions for these conditions (lower row). The top row of panels ((а), (б), (в)) shows graphs of the dependence averaged over the group of subjects. (а)  $COH(f)$  in a pair of ROIs formed by the dIPFC in the left hemisphere and the right hemisphere STG in static visual presentation condition; The solid curve corresponds to the LET task, and the dashed curve corresponds to the TRJ task; (б)  $COH(f)$  in a pair of ROIs formed by the dIPFC in the right hemisphere and the left visual cortex v2, with a static visual presentation; The solid curve corresponds to the LET task, and the dashed curve corresponds to the TRJ task; (в)  $COH(f)$  in the pair formed by dIPFC in the right hemisphere and the left visual cortex v2, in the TRJ task; The solid curve corresponds to the static STAT presentation mode, and the dashed curve corresponds to the dynamic DYN.

In the top row of panels ((а), (б), (в)), the thick curve (solid or dashed) indicates the average function for the group of subjects, and the corresponding solid or dashed thin lines above and below it indicate the corridor (mean  $\pm$  standard error). The bottom row of panels ((г), (д), (е)) shows examples of individual functions corresponding to the upper curves: (г) contains an individual example for (а), (д) for (б) and (е) for (в). The light gray vertical bar marks the frequency regions in which the two curves shown in panels ((а), (б), (в)) differ statistically significantly. The same vertical stripes are reproduced in the corresponding examples of individual curves ((г), (д), (е)).

мации согласуется с данными работы (Robert et al., 2023). В этой работе на основе регистрируемой BOLD-активности декодировали принадлежность стимула к статической или динамической категории. Было обнаружено, что, хотя декодирование двух форматов стимулов было возможно во всех исследованных регионах зрительных путей, все же наблюдались различия в точности декодирования вдоль осей posterior-anterior и ventral-dorsal: более высокую точность декодирования статических стимулов показали задние затылочно-височные и вентральные области, а более высокую точность декодирования динамических стимулов — передние затылочно-височные и дорсальные области. Напрямую сопоставить результаты этой работы с нашими данными затруднительно, поскольку разделение на дорсальный и вентральный зрительные пути фактически начинается выше вторичной зрительной коры (Sheth, Young, 2016).

Как мы видели, ни один из выполненных статистических анализов не выявил зависимости различий в величине СОН от частотной полосы. Хотя омнибус-тест величины DTF показал наличие значимого взаимодействия, включающее фактор частотной полосы, как видно из таб. 4, фактор частотного диапазона не фигурировал ни в одном из *post hoc* тестов. Это отсутствие выраженной зависимости от частотного диапазона различий в величине СОН между LET и TRJ, а также между STAT и DYN хорошо иллюстрирует рис. 4 ((а), (б), (в)), где показаны частные случаи таких различий. Усредненные по испытуемым кривые нигде не пересекаются, и кривая  $COH(f)$  для задачи LET всегда проходит над кривой для задачи TRJ, а кривая для режима DYN — над кривой для режима STAT. Вообще, отсутствие частотной специфичности различий свидетельствует о том, что нет оснований говорить о доминировании какого-то одного ритма во взаимодействии между корковыми узлами крупномасштабной нейронной сети, обеспечивающей функционирование РП.

Следует отметить, что все основные эффекты в настоящей работе были получены при анализе функциональных связей, а анализ эффективных связей фактически не прибавил ничего нового. Более того, фактор направления эффективной связи DIR участвовал только в двух сложных четверных взаимодействиях, полученных в омнибус-тесте величины DTF.

Одним из результатов настоящей работы является наличие существенного числа взаимо-

действий факторов, включающих как фактор принадлежности к левому или правому полушарию дорсолатеральной префронтальной коры (HEM\_F), так и фактор полушарной принадлежности корковых зон в височной, теменной и затылочной областях (HEM\_TPO). Хотя эти данные вполне ожидаемо указывают на специализацию полушарий, в организации РП участвуют оба полушария, о чем, в частности, говорит тот факт, что наибольшие различия между двумя задачами и двумя режимами предъявления наблюдаются в кросс-полушарных связях (рис. 4).

Может возникнуть вопрос: могла ли существенная разница в характере воспроизведения двух типов последовательностей повлиять на полученные результаты? Испытуемые воспроизводили буквенные последовательности LET путем выбора нужной буквы из случайным образом перетасованной строки, состоящей только из тех букв, что были предъявлены для запоминания. В этих условиях не было возможности заранее приготовить двигательную последовательность, поскольку испытуемый не мог знать, в каком порядке будут показаны буквы. Оставалось только строить последовательность движений на этапе воспроизведения — искать нужную букву в предъявленной строке и потом касаться ее пальцем. Ломаные линии TRJ испытуемые воспроизводили, рисуя их на сенсорном экране. В этом случае теоретически можно подготовить заранее последовательность движений. Однако предыдущие наши исследования указывают на то, что запомненная последовательность сохраняется в РП в немоторной форме, а преобразование в моторную форму происходит только на этапе воспроизведения последовательности (Корнеев, Курганский, 2014). В цитируемой работе показано, что замена исходного порядка следования сегментов ломаной линии на противоположный не оказывает влияния на длительность латентной фазы, но приводит к возрастанию длительности движений за счет более долгих пауз, возникающих в вершинах траектории.

Таким образом, маловероятно, чтобы наблюдаемые различия в функциональных и эффективных взаимодействиях во время удержания информации в РП были связаны с различием в подготовке к двигательному воспроизведению запомненной последовательности.

Однако различие в способе воспроизведения LET и TRJ могло повлиять на результаты опосредованно. В случае LET испытуемый не может



ошибиться в том, какие элементы были показаны и каково их число; необходимо помнить только правильную их последовательность. Это облегчает задачу воспроизведения. При этом испытуемый не знает, где в предъявленной строке будет расположена очередная буква, и это подразумевает необходимость осуществлять ее зрительный поиск. В случае TRJ испытуемый может допустить ошибку, запомнив не те сегменты ломаной и/или неправильное их число.

## ВЫВОДЫ

1. Исследование структуры частотно-специфических функциональных и эффективных (направленных) связей между дорсальной префронтальной корой dIPFC, с одной стороны, и локусами в височной, теменной и затылочной коре, с другой, показало, что мозговая организация РП при удержании последовательности букв отличается от таковой при удержании последовательности сегментов ломаной линии.

2. Мозговая организация РП зависит также от режима предъявления последовательностей букв: сила функциональной связи различна при динамическом и статическом предъявлении последовательности.

3. Различия в структуре функциональных и эффективных связей не носят выраженный частотно-избирательный характер и наблюдаются во всех исследованных энцефалографических частотных диапазонах от тета (4–8 Гц) до высокочастотного гамма (50–60 Гц).

4. Наиболее надежные различия между задачей удержания последовательности букв и задачей удержания последовательности сегментов ломаной линии наблюдаются в альфа- и бета-диапазонах частот при статическом зрительном предъявлении последовательностей в измеряемой с помощью когерентности силе функциональной связи между левополушарной dIPFC и правополушарной STG, а также в тета-диапазоне между правополушарной dIPFC и левой зрительной корой v2.

5. Наиболее надежное различие между статическим и динамическим режимами предъявления наблюдается в задаче на удержание последовательности сегментов ломаной в гамма-диапазоне частот (50–60 Гц) между dIPFC в правом полушарии и левой зрительной корой v2.

## ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

К числу явных ограничений относится использование нами стандартного структурного МРТ и усредненного положения электродов шлема HCGSN на поверхности головы вместо соответствующих индивидуальных данных. Возникающая при этом ошибка в определении положения источника существенно возрастает (Shirazi et al., 2019), и можно ожидать рассогласования с истинным его положением вплоть до 2 см (Akalin Acar, Makeig, 2013). В силу достаточно большого числа испытуемых использование шаблонов вместо индивидуальных данных приведет, скорее всего, не к систематической ошибке, а к эффективному расширению области, из которой извлекаются индивидуальные сигналы источников, так что для каждой выбранной из атласа ОИ действительные положения областей, в которых оценивается активность источников, будут разбросаны приблизительно в пределах 1–2 см вокруг центра ОИ. Для того чтобы в этих условиях повысить вероятность “захватить” интересующую нас активность источников, в качестве ОИ мы использовали шары с радиусом 1 см, причем рассматривали нескольких таких шарообразных ОИ для полей Бродмана большой площади или протяженности.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Величковский Б.Б.* Рабочая память человека: структура и механизмы. М.: Когито-центр Москва, 2015. 247.
- Величковский Б.М.* Когнитивная наука: Основы психологии познания в 2 т. Т. 1. М: “Смысл”, 2006. 488.
- Корнеев А.А., Ломакин Д.И., Курганский А.В.* Отсроченное копирование незнакомых контурных изображений: отражает ли убывание времени реакции с ростом задержки изменение внутреннего представления будущего движения? Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2016а. 66 (1): 51–61.
- Корнеев А.А., Ломакин Д.И., Курганский А.В., Мачинская Р.И.* Отсроченное копирование незнакомых контурных изображений: анализ потенциалов, связанных с предъявлением стимулов. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2016б. 66 (4): 470–483.
- Корнеев А.А., Ломакин Д.И., Курганский А.В., Мачинская Р.И.* Удержание вербальной и невербальной серийной информации в рабочей памяти. Психология. Журнал Высшей школы экономики. 2022. 19 (2): 87–106.
- Корнеев А.А., Курганский А.В.* Преобразование порядка движений в серии, заданной зрительным образцом. Вестник Московского университета. Серия 14. Психология. 2014. 2: 61–74.

- Курганский А.В., Ломакин Д.И., Корнеев А.А., Мачинская Р.И. Мозговая организация рабочей памяти при отсроченном копировании ломаной линии: анализ потенциалов, связанных с императивным сигналом. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2022. 72 (3): 387–404.
- Курганский А.В. Некоторые вопросы исследования кортико-кортикальных функциональных связей с помощью векторной авторегрессионной модели многоканальной ЭЭГ. Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2010. 60 (6): 740–759.
- Курганский А.В., Григал П.П. Направленные кортико-кортикальные функциональные взаимодействия на ранних стадиях серийного научения у взрослых и детей 7–8 лет. Физиология человека. 2010. 36 (4): 44–56.
- Фарбер Д.А., Бетелева Т.Г. Формирование мозговой организации рабочей памяти в младшем школьном возрасте. Физиология человека. 2011. 37 (1): 5–15.
- Absatova K.A., Kurgansky A.V., Machinskaya R.I. The recall modality affects the source-space effective connectivity in the  $\theta$ -band during the retention of visual information. Psychology & Neuroscience. 2016. 9 (3): 344–361.
- Ahveninen J., Uluç I., Raji T., Nummenmaa A., Mamashli F. Spectrotemporal content of human auditory working memory represented in functional connectivity patterns. Commun Biol. 2023 Mar 20; 6 (1): 294.  
<https://doi.org/10.1038/s42003-023-04675-8>
- Akalin Acar Z., Makeig S. Effects of forward model errors on EEG source localization. Brain Topogr. 2013. 26 (3): 378–396. <https://doi.org/10.1007/s10548-012-0274-6>
- Babloni C., Babloni F., Carducci F., Cincotti F., Vecchio F., Cola B. et al. Functional frontoparietal connectivity during short-term memory as revealed by high-resolution EEG coherence analysis. Behav Neurosci. 2004. 118 (4): 687–697.  
<https://doi.org/10.1037/0735-7044.118.4.687>
- Baccalá L.A., Sameshima K. Partial directed coherence: a new concept in neural structure determination. Biol Cybern. 2001. 84 (6): 463–474.  
<https://doi.org/10.1007/PL00007990>
- Baddeley A.D., Hitch G. Working Memory. Psychology of Learning and Motivation, edited by G.H. Bower, Academic Press 1974. 8: 47–89.  
[https://doi.org/10.1016/S0079-7421\(08\)60452-1](https://doi.org/10.1016/S0079-7421(08)60452-1)
- Baddeley A.D. Developing the Concept of Working Memory: The Role of Neuropsychology I. Arch Clin Neuropsychol. 2021. 36 (6): 861–873.  
<https://doi.org/10.1093/arclin/acab060>
- Barbey A.K., Koenigs M., Grafman J. Orbitofrontal contributions to human working memory. Cereb Cortex. 2011. 21 (4): 789–795.  
<https://doi.org/10.1093/cercor/bhq153>
- Barrouillet P., Camos V. Working Memory and Executive Control: A Time-based Resource-sharing Account. Psychologica Belgica. 2010. 50 (3–4): 353–382.  
<https://doi.org/10.5334/pb-50-3-4-353>
- Bezdicek O., Ballarini T., Albrecht F., Libon D.J., Lamar M., Růžička F. et al. Serial-order recall in working memory across the cognitive spectrum of Parkinson's disease and neuroimaging correlates. J. Neuropsychol. 2021. 15 (1): 88–111. <https://doi.org/10.1111/jnp.12208>
- Binder J.R. The Wernicke area: Modern evidence and a reinterpretation. Neurology. 2015. 85 (24): 2170–2175. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002219>
- Carpenter A.F., Baud-Bovy G., Georgopoulos A.P., Pellizzer G. Encoding of serial order in working memory: neuronal activity in motor, premotor, and prefrontal cortex during a memory scanning task. J. Neurosci. 2018. 38 (21): 4912–4933.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3294-17.2018>
- Carreiras M., Quiñones I., Hernández-Cabrera J.A., Duñabeitia J.A. Orthographic coding: brain activation for letters, symbols, and digits. Cereb. Cortex. 2015. 25 (12): 4748–4760. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu163>
- Cui J., Xu L., Bressler S.L., Ding M., Liang H. BSMART: a Matlab/C toolbox for analysis of multichannel neural time series. Neural. Netw. 2008. 21 (8): 1094–104.  
<https://doi.org/10.1016/j.neunet.2008.05.007>
- D'Esposito M., Postle B.R. The cognitive neuroscience of working memory. Annu. Rev. Psychol. 2015. 66: 115–142. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010814-015031>
- Eickhoff S.B., Stephan K.E., Mohlberg H., Grefkes C., Fink G.R., Amunts K., Zilles K. A new SPM toolbox for combining probabilistic cytoarchitectonic maps and functional imaging data. Neuroimage. 2005. 25 (4): 1325–1335. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.12.034>
- Eriksson J., Vogel E.K., Lansner A., Bergström F., Nyberg L. Neurocognitive architecture of working memory. Neuron. 2015. 88 (1): 33–46.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.020>
- Fougnie D., Marois R. Working memory capacity is modality-specific: Evidence of separate stores for auditory and visuospatial stimuli [Abstract]. J. Vision. 2008. 8 (6): 1169, 1169a.
- Freunberger R., Fellingner R., Sauseng P., Gruber W., Klimesch W. Dissociation between phase-locked and non-phase-locked alpha oscillations in a working memory task. Hum. Brain Mapp. 2009. 30 (10): 3417–3425.:  
<https://doi.org/10.1002/hbm.20766>
- Frost A., Moussaoui S., Kaur J., Aziz S., Fukuda K., Niemeier M. Is the n-back task a measure of unstructured working memory capacity? Towards understanding its connection to other working memory tasks. Acta Psychol. (Amst). 2021. 219: 103398.  
<https://doi.org/10.1016/j.actpsy.2021.103398>
- Gazzaley A., Rissman J., D'Esposito M. Functional connectivity during working memory maintenance. Cogn. Affect. Behav. Neurosci. 2004. 4 (4): 580–599.  
<https://doi.org/10.3758/cabn.4.4.580>

- Ikkai A., Curtis C.E.A.* Common neural mechanisms supporting spatial working memory, attention and motor intention. *Neuropsychologia*. 2011. 9 (6): 1428–1434. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2010.12.020>
- Jackson J.B., Feredoes E., Rich A.N., Lindner M., Woolgar A.* Concurrent neuroimaging and neurostimulation reveals a causal role for dlPFC in coding of task-relevant information. *Commun. Biol.* 2021. 4 (1): 588. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02109-x>
- Johnson E.L., Chang W.K., Dewar C.D., Sorensen D., Lin J.J., Solbakk A.K. et al.* Orbitofrontal cortex governs working memory for temporal order. *Curr. Biol.* 2022. 32 (9): R410–R411. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.03.074>
- Kawasaki M., Kitajo K., Yamaguchi Y.* Dynamic links between theta executive functions and alpha storage buffers in auditory and visual working memory. *Eur. J. Neurosci.* 2010. 31 (9): 1683–1689. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3706-09.2009>
- Koenigs M., Barbey A.K., Postle B.R., Grafman J.* Superior parietal cortex is critical for the manipulation of information in working memory. *J. Neurosci.* 2009. 29 (47): 14980–14986. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3706-09.2009>
- Lenartowicz A., McIntosh A.R.* The role of anterior cingulate cortex in working memory is shaped by functional connectivity. *J. Cogn. Neurosci.* 2005. 17 (7): 1026–1042. <https://doi.org/10.1162/0898929054475127>
- Li J., Cao D., Yu S., Xiao X., Imbach L., Stieglitz L. et al.* Functional specialization and interaction in the amygdala-hippocampus circuit during working memory processing. *Nat. Commun.* 2023. 14 (1): 2921. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38571-w>
- Li Y., Cowan N.* Constraints of attention, stimulus modality, and feature similarity in working memory. *Atten. Percept. Psychophys.* 2022. 84 (8): 2519–2539. <https://doi.org/10.3758/s13414-022-02549-5>
- Mackey W.E., Devinsky O., Doyle W.K., Golfinos J.G., Curtis C.E.* Human parietal cortex lesions impact the precision of spatial working memory. *J. Neurophysiol.* 2016. 116 (3): 1049–1054. <https://doi.org/10.1152/jn.00380.2016>
- Nystrom L.E., Braver T.S., Sabb F.W., Delgado M.R., Noll D.C., Cohen J.D.* Working memory for letters, shapes, and locations: fMRI evidence against stimulus-based regional organization in human prefrontal cortex. *Neuroimage*. 2000. 11 (5 Pt 1): 424–446. <https://doi.org/10.1006/nimg.2000.0572>
- Pascual-Marqui R.D., Lehmann D., Koukkou M., Kochi K., Anderer P., Sauter B. et al.* Assessing interactions in the brain with exact low-resolution electromagnetic tomography. *Philos. Trans. A Math. Phys. Eng. Sci.* 2011. 369 (1952): 3768–3784. <https://doi.org/10.1098/rsta.2011.0081>
- Postle B.R.* Cognitive neuroscience of visual working memory. In R.H. Logie, V. Camos, & N. Cowan (Eds.) *Working memory: State of the science* (pp. 333–357). Oxford University Press. 2021. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198842286.003.0012>
- Pratte M.S., Tong F.* Spatial specificity of working memory representations in the early visual cortex. *J. Vis.* 2014. 14 (3): 22. <https://doi.org/10.1167/14.3.22>
- Ren Z., Zhang Y., He H., Feng Q., Bi T., Qiu J.* The different brain mechanisms of object and spatial working memory: voxel-based morphometry and resting-state functional connectivity. *Front. Hum. Neurosci.* 2019. 13: 248. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2019.00248>
- Robert S., Ungerleider L.G., Vaziri-Pashkam M.* Disentangling object category representations driven by dynamic and static visual input. *J. Neurosci.* 2023. 43 (4): 621–634. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0371-22.2022>
- Sauseng P., Klimesch W., Heise K.F., Gruber W.R., Holz E., Karim A.A. et al.* Brain oscillatory substrates of visual short-term memory capacity. *Curr. Biol.* 2009. 19 (21): 1846–1852. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.08.062>
- Sheth B.R., Young R.* Two visual pathways in primates based on sampling of space: exploitation and exploration of visual information. *Front. Integr. Neurosci.* 2016. 10: 37. <https://doi.org/10.3389/fnint.2016.00037>
- Shirazi S.Y., Huang H.J.* More reliable EEG electrode digitizing methods can reduce source estimation uncertainty, but current methods already accurately identify Brodmann areas. *Front. Neurosci.* 2019. 13: 1159. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01159>
- Wager T.D., Smith E.E.* Neuroimaging studies of working memory: a meta-analysis. *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* 2003. 3 (4): 255–274. <https://doi.org/10.3758/cabn.3.4.255>
- Webler R.D., Fox J., McTeague L.M., Burton P.C., Dowdle L., Short E.B. et al.* DLPFC stimulation alters working memory related activations and performance: An interleaved TMS-fMRI study. *Brain Stimul.* 2022. 15 (3): 823–832. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.05.014>
- Working memory: State of the science. H. Logie, V. Camos & N. Cowan (Eds.) Oxford University Press., 2021.
- Yu Q., Postle B.R.* The neural codes underlying internally generated representations in visual working memory. *J. Cogn. Neurosci.* 2021. 33 (6): 1142–1157. [https://doi.org/10.1162/jocn\\_a\\_01702](https://doi.org/10.1162/jocn_a_01702)
- Zhao Y.J., Kay K.N., Tian Y., Ku Y.* Sensory recruitment revisited: ipsilateral V1 involved in visual working memory. *Cereb. Cortex.* 2022. 32 (7): 1470–1479. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhab300>

## RETENTION OF VERBAL AND NONVERBAL INFORMATION IN THE WORKING MEMORY. AN ANALYSIS OF FUNCTIONAL AND EFFECTIVE CONNECTIVITY

A. V. Kurgansky<sup>a, c, d, #</sup>, A. A. Korneev<sup>a, b</sup>, D. I. Lomakin<sup>a</sup>, R. I. Machinskaya<sup>a, d</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Child Development, Moscow, Russia*

<sup>b</sup>*Moscow State University, Moscow, Russia*

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

<sup>d</sup>*The Presidential Academy (RANEP), Moscow, Russia*

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

In this work we estimated differences in the structure of brain systems that ensure encoding and retention in working memory (WM) of two types of information: verbal (letters) and non-verbal (segments of an open broken line) sequences presented either statically or dynamically. Brain systems were characterized by the strength of functional and effective connections between eight approximately bilaterally symmetrical cortical loci, including the dorsolateral prefrontal cortex (dlPFC) and regions of the temporal (STG), parietal (IPS), and occipital (v2) cortices.

Using an 8-channel vector autoregressive model in the space of cortical EEG sources, it was shown in a group of subjects in whom high-density EEG was recorded that: (1) the brain organization of the WM when holding a sequence of letters differs from that when holding a sequence of broken line segments; (2) the brain organization of the WM depends on the mode of presentation of sequences: the strength of the functional connection is different during dynamic and static presentation of the sequence; (3) differences in the structure of functional and effective connections are not of a pronounced frequency-selective nature and are observed in all studied EEG frequency ranges from theta (4–8 Hz) to high-frequency gamma (50–60 Hz); (4) the most reliable differences between the task of retaining a sequence of letters and the task of retaining a sequence of broken line segments are observed in the alpha and beta frequency ranges during static visual presentation of sequences in the strength of functional connectivity measured using coherence between the left hemisphere dlPFC and the right hemisphere STG, as well as in theta range between the right hemisphere dlPFC and the left visual cortex v2; (5) the most reliable difference between static and dynamic presentation modes is observed in the task of holding broken line segments in the gamma frequency range (50–60 Hz) between the dlPFC in the right hemisphere and the left visual cortex v2.

*Keywords:* working memory, verbal and nonverbal sequences, EEG, functional and effective connectivity

## АКТИВНОСТЬ ЛЕВОЙ НИЖНЕЙ ЛОБНОЙ ИЗВИЛИНЫ И МЕХАНИЗМ ДЕТЕКЦИИ ОШИБОК ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ ЛОЖНЫХ ДЕЙСТВИЙ В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНОЙ МОНЕТАРНОЙ ВЫГОДЫ

© 2024 г. А. Д. Коротков<sup>1,\*</sup>, М. А. Желтякова<sup>1</sup>, Р. С. Машарипов<sup>1</sup>, М. Д. Дидур<sup>1</sup>,  
Д. В. Чередниченко<sup>1</sup>, М. В. Киреев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФБГУН Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия  
<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: korotkov@ihb.spb.ru

Поступила в редакцию 28.10.2023 г.

После доработки 01.12.2023 г.

Принята к публикации 01.12.2023 г.

Настоящее исследование посвящено изучению характеристик активности зон мозга, вовлекаемых в обеспечение процессов управления действиями и испытывающих модулирующее влияние со стороны механизма детекции ошибок в условиях различной потенциальной монетарной выгоды манипулятивных правдивых и ложных действий. Показано, что реализация потенциально менее выгодных ложных действий характеризуется относительно большим уровнем функциональной активности структуры, получающей информацию от структур мозга, связанных с обеспечением детекции ошибок, — левой нижней лобной извилины. Данный эффект выявлен для экспериментальных условий с менее подкрепляемыми ложными действиями как по сравнению с относительно более вознаграждаемой ложью, так и с манипулятивными правдивыми действиями вне зависимости от характера их поощрения. Более того, повышение выгоды ложных действий сопровождается исчезновением статистически значимой разницы в активности вендролатеральной префронтальной коры, которая наблюдалась в сравнении одинаково низковыгодных правдивых и ложных действий. Полученный результат указывает на возможный механизм влияния ожидаемой монетарной выгоды на принятие манипулятивного решения солгать, в соответствии с которым префронтальные структуры, обеспечивающие управление поведением, демонстрируют относительно меньшую восприимчивость к вовлечению детектора ошибок в обеспечение ложных действий.

*Ключевые слова:* детектор ошибок, монетарная выгода, префронтальная кора

DOI: 10.31857/S0044467724020081

### ВВЕДЕНИЕ

Изучение мозговых механизмов реализации сознательных ложных действий получило существенное развитие в последние годы в связи с применением т.н. экологической исследовательской парадигмы, предполагающей свободное принятие испытуемым самостоятельного решения — солгать или нет. Развитие данного направления исследований позволило экспериментально учитывать известный аспект социальных взаимодействий человека, в соответствии с которым средством достижения цели при манипулятивных действиях может служить не только ложь, но и манипулятивное использование правды. Такой подход позволил выявить участие в обеспечении манипулятивных действий структур мозга, входящих в состав универсальной (т.е. участвующей в обеспечении широкого спектра видов деятельности) лобно-теменной нейро-

нальной системы (Abe et al., 2006; Christ et al., 2009; Ito et al., 2011; Kireev et al., 2013). На основании данных об особенностях функционального состояния структур лобно-теменной системы и функциональных взаимодействий между ними при ложных действиях, сформировано доминирующее в современной литературе представление о том, что ложное действие предполагает торможение автоматизированного, “дефолтного” правдивого действия, что проявляется дополнительной (относительно правдивого действия) активацией участвующих в обеспечении когнитивного контроля структур префронтальной коры (Abe et al., 2006; Christ et al., 2009; Kireev et al., 2013). Именно с торможением конкурирующей доминантной реакции, т.е. правдивого ответа при реализации ложных действий, ассоциируют функции левой вендролатеральной префронтальной коры (далее — левой нижней лобной извилины) (Miller, Cohen, 2001). Это соответствует

классическим представлениям о нисходящем (top-down) механизме торможения действий, который обеспечивается фронто-стриарной системой мозга (Hannah, Aron, 2021; Morein-Zamir, Robbins, 2015). Считается, что области лобной коры (нижняя лобная извилина и пре-дополнительная моторная кора) инициируют тормозное влияние и усиливают тормозные эфферентные влияния базальных ганглий на моторные ядра таламуса. Результатом является снижение активации моторных областей коры и снижение вероятности совершить некорректное действие (реализация доминантного правдивого ответа).

Однако ранее, при изучении функциональных взаимовлияний между структурами фронто-стриарной системы мозга с помощью динамического причинно-следственного моделирования, было установлено, что при манипулятивных ложных действиях усиливается воздействие хвостатых ядер на области латеральной префронтальной коры, включая левую нижнюю лобную извилину (Киреев и др., 2018). При этом установленный восходящий характер взаимовлияний на области префронтальной коры при реализации ложных действий подтверждает гипотезу о ведущей роли мозгового механизма детекции ошибок (ДО, (Kireev et al., 2013; Киреев и др., 2015)), мониторинга конфликта и когнитивного контроля в реализации ложных действий (Wu et al., 2022). Известно, что мозговой механизм ДО является механизмом оптимизации деятельности (Bechtereva et al., 2005, 1991; Bechtereva, Gretchin, 1969), а не ее непосредственного управления. Сигнал ДО не вызывает автоматического прекращения “некорректной” деятельности, т.е. механизм ДО не блокирует ошибочные действия. ДО сигнализирует о “непорядке”, что является важным компонентом вовлечения процессов когнитивного контроля, направленных на работу с выявленным “непорядком”. Более того, согласно модели мониторинга конфликта, сигнал ДО может отражать не столько сигнал об ошибке, сколько сигнал об обнаружении конфликта, связанного с наличием нескольких конкурирующих вариантов ответа (Botvinick et al., 2001; Yeung et al., 2004). В рамках данных предположений вовлечение областей, обеспечивающих обнаружение конфликта или ошибки (задняя и передняя поясная кора (Cieslik et al., 2023; Fu et al., 2022)), оказывает восходящее модулирующее влияние на области латеральной префронтальной коры (MacDonald et al., 2000; Masina et al., 2019), связанные с процессом разрешения конфликта (выбор между двумя дей-

ствиями). По данным фМРТ, данное влияние на нейрофизиологическом уровне проявляется как усиление функциональных взаимодействий между указанными областями мозга.

Исходя из этих представлений и как было показано в наших предыдущих исследованиях, оптимизирующая роль ДО в условиях ложных действий проявляется модулирующим влиянием хвостатых ядер на активность нижней лобной извилины левого полушария (Киреев и др., 2018). Вместе с тем остается открытым вопрос о влиянии размера материальной выгоды на характер взаимодействия между этими звеньями систем управления поведением и ДО. Известно, что увеличение размера материальной выгоды может сопровождаться увеличением количества ложных действий (Zhou et al., 2014). Также в игре с монетарным вознаграждением за победу испытуемые с большей вероятностью лгут после поражения, чем после победы (Sun et al., 2017). При исследовании нейрональных коррелятов выбора между вариантами денежного вознаграждения, которые варьировались в зависимости от времени ожидания его получения, McClure и соавт. (McClure et al., 2004) показали участие двух отдельных нейроанатомических систем. А именно, звенья лимбической системы активируются решениями, предполагающими немедленно доступные вознаграждения. Напротив, области латеральной префронтальной коры и задней теменной коры вовлекаются вне зависимости от времени получения вознаграждения, что указывает на преимущественное влияние размера материальной выгоды. Судя по вышеописанным литературным данным, нижняя лобная извилина левого полушария, с одной стороны, является “мишенью” для модулирующего влияния ДО, а с другой – чувствительна к выгодности действий, что указывает на важную роль этой структуры в обеспечении процессов управления поведением. Однако остается неясным, как именно повышение выгодности действия сказывается на характеристиках активности в нижней лобной извилине левого полушария, которая испытывает влияние со стороны механизма ДО, срабатывающего на ложь как на некорректное действие.

Опираясь на вышесказанное, можно предположить, что при увеличении монетарной выгоды информация от ДО при ложных действиях будет учитываться в меньшей степени, что будет сопровождаться меньшим уровнем активности в левой нижней лобной извилине. Учитывая, что фактор монетарной выгоды может способ-

ствовать формированию мотивации реализовать ложное действие (Cannito et al., 2023; Gino, Pierce, 2009; Kouchaki et al., 2013), принять решение о реализации выгодного действия может быть относительно проще, чем о реализации менее выгодного, хоть оно и характеризуется срабатыванием ДО. В конечном итоге ожидается, что на процесс принятия решения и реализацию действий вовлечение ДО будет оказывать относительно меньшее влияние в условиях более высокого вознаграждения. Следовательно, в менее выгодных условиях такая мотивация будет относительно снижена, а значит, принятие решения и реализация относительно маловыгодного действия, при сигнализации от ДО, будет требовать больших ресурсов. Если такие рассуждения корректны, то на нейрофизиологическом уровне можно ожидать повышенную активность левой нижней лобной извилины в условиях относительно маловыгодных действий. В связи с этим настоящее исследование посвящено изучению функциональной активности левой нижней лобной извилины в условиях различной потенциальной монетарной выгоды ложных действий как префронтального звена фронто-стриарной системы, вовлечение которой в их обеспечение было продемонстрировано нами ранее.

## МЕТОДИКА

### *Испытуемые*

Для проверки гипотезы исследования были использованы данные функциональной МРТ (фМРТ), полученные у 24 здоровых праворуких испытуемых (14 женщин и 10 мужчин) в возрасте 19–44 лет ( $26.4 \pm 5.3$  лет). Праворукость оценивалась по вопроснику Олдфилда (Oldfield, 1971). Проведение исследования было одобрено Комитетом по этике Института мозга человека им. Н.П. Бехтеревой Российской академии наук. Все участники исследования подписали информированное согласие на участие в исследовании.

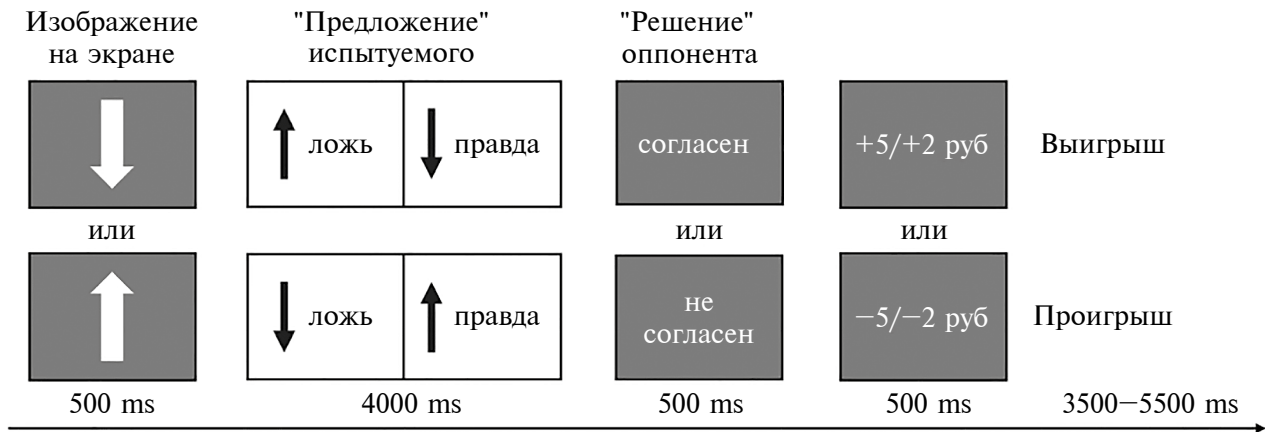
### *Процедура исследования*

Данные фМРТ были получены при выполнении испытуемыми тестового задания, разработанного нами ранее для ЭЭГ-исследований (Киреев и др., 2007) и модифицированного впоследствии для условий функциональной МРТ (Kireev et al., 2013) (см. рис. 1). Во время фМРТ-сканирования испытуемые играли с оппонентом (компьютерной программой) в игру – аналог карточной игры “верю –

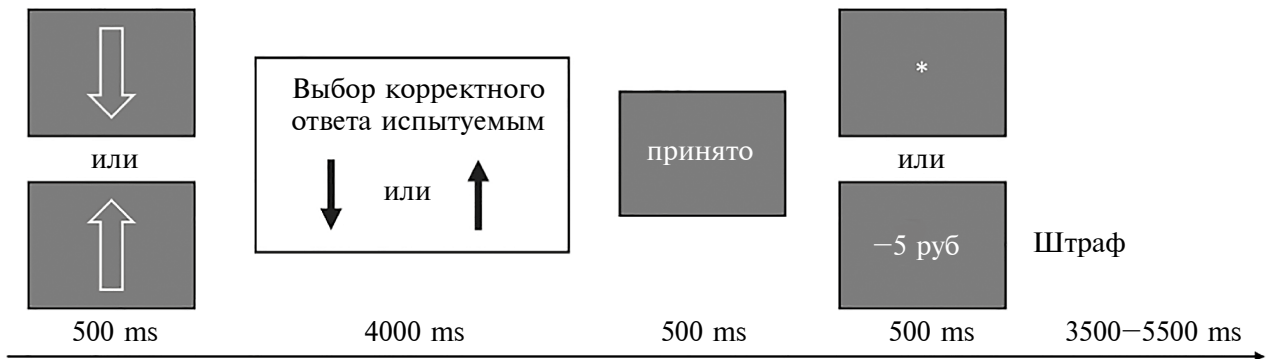
не верю”. Во время игры испытуемые сообщали оппоненту направление стрелки (предлагали вариант ориентации – вверх или вниз), которая предъявлена на экране монитора. Данное сообщение “рассматривалось” оппонентом на предмет – верить или не верить такому предложению. Результат “решения” предъявлялся испытуемому путем предъявления слов “согласен” или “не согласен”. Испытуемые инструктировались свободно выбирать между двумя вариантами действий – солгать о направлении стрелки или осуществить правдивое предложение. В свою очередь, оппонент мог поверить или не поверить в предложение испытуемого путем обратной связи в виде предъявленного слова. “Предложение” о направлении стрелки направлялось оппоненту путем нажатия кнопок МР-совместимого манипулятора с фиксированным отношением между определенной кнопкой и сообщаемой информацией – нажатие правой кнопки указательным пальцем правой руки соответствовало направлению “вверх”, а нажатие левой кнопки указательным пальцем левой руки – направлению “вниз”.

Таким образом, моделировалось четыре экспериментальных условия: 1) испытуемый солгал о направлении предъявленной стрелки и оппонент “поверил” (успешная ложь); 2) испытуемый солгал о направлении стрелки, но оппонент “не поверил” такому предложению (неуспешная ложь); 3) испытуемый сообщил правдивую информацию о направлении стрелки и оппонент поверил такому предложению (неуспешная манипулятивная правда); 4) испытуемый сообщил правдивую информацию, но оппонент не поверил такому предложению (успешная манипулятивная правда). В каждой конкретной пробе испытуемый выигрывал только в том случае, если оппонент не верил правдивому предложению и верил ложному. Информация о вознаграждении или штрафе при выигрышных и проигрышных пробах соответственно предъявлялась на экране монитора сразу после “решения” оппонента. Вознаграждения и штрафы имели монетарный характер, т.е. добавлялись или отнимались суммы от вознаграждения, полагавшегося за участие в исследовании. Использовались два типа монетарного подкрепления, равного 5 и 2 рублям. Все тестовое задание состояло из двух исследовательских сессий, отличающихся “стоимостью” ложных и правдивых предложений. В одной из сессий “стоимость” ложных действий (как удачных, так и неудачных) была равна 5 рублям, а “стои-

(а) Игровые пробы



(б) Контрольные пробы



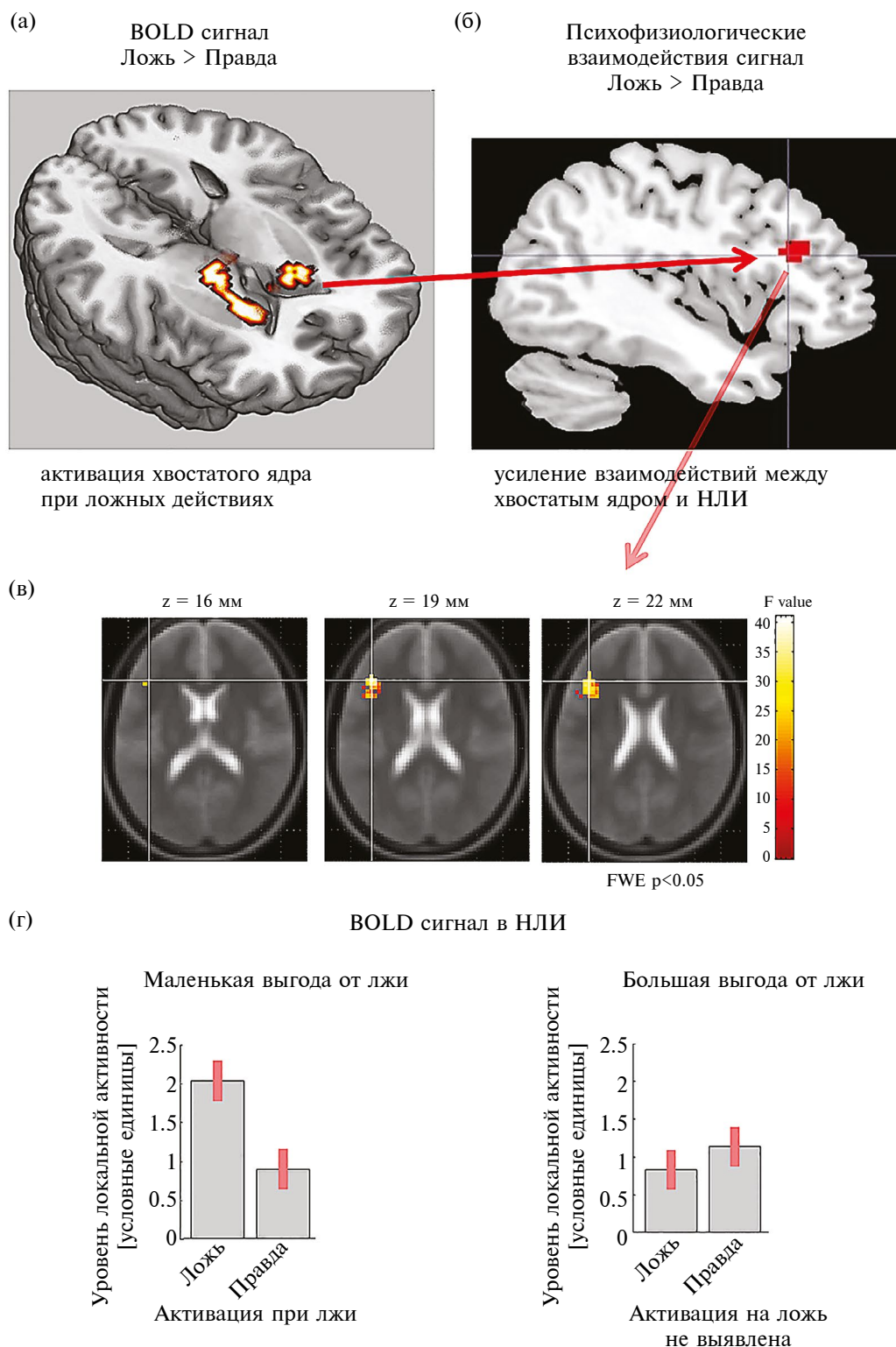
**Рис. 1.** Схема тестового задания. Регистрация BOLD-сигнала (сигнала, зависящего от содержания кислорода в крови) осуществлялась с использованием МР-томографа Philips Achieva 3 Тесла. Структурные T1-взвешенные МРТ-изображения, используемые впоследствии для пространственной нормализации функциональных МРТ-изображений, регистрировались со следующими параметрами: поле обзора – 240 × 240 (FOV); TR – 25 мс; срезы – 130 аксиальных срезов толщиной 1 мм и размером пикселя размером 1 × 1 мм; угол отклонения вектора намагниченности – 30°. BOLD-сигнал регистрировался с помощью эхопланарных одноимпульсных последовательностей со следующими параметрами (т.н. динамические сканы): время регистрации 32 аксиальных срезов составляло 2 сек (TE = 35 мс), с полем обзора 208 × 208, углом отклонения вектора намагниченности (flip angle) 90° и размером пикселя 3 × 3 мм. Толщина срезов равнялась 3 мм.

**Fig. 1.** Diagram of the test task. Registration of the BOLD-signal (a signal dependent on the oxygen content in the blood) was performed using a Philips Achieva 3 Tesla MRIr. Structural T1-weighted images, which were used for spatial normalization of functional images, were recorded with the following parameters: field of view – 240 × 240 (FOV); TR – 25 MS; slices – 130 axial slices with a thickness of 1 mm and a pixel size of 1 × 1 mm; the angle of deviation of the magnetization vector – 30°. The BOLD-signal was registered using echoplanar single-pulse sequences with the following parameters (dynamic scans): the time of registration of 32 axial slices was 2 seconds (TE = 35 MS), with a field of view of 208 × 208, the angle of deviation of the magnetization vector (flip angle) of 90° and the pixel size of 3 × 3 mm. The thickness of the slices was 3 mm.

мость” правдивых действий составляла 2 рубля. Другая сессия характеризовалась обратным соотношением монетарной выгоды для ложных и правдивых действий – 2 рубля для ложных и 5 рублей для правдивых. Таким образом, создавались условия для манипуляции размером монетарной выгоды реализуемых ложных и правдивых действий.

Помимо игровых проб, дополнительно, в качестве контрольной пробы, использовалась проба-ловушка (catch-проба), при которой испытуемый должен был нажимать кнопку манипулятора, строго соответствующую направлению стрелки. В случае ошибки испытуемые штрафовались в размере 5 рублей. Таким образом, в каждой отдельной сессии предъявлялось





**Рис. 2.** Влияние размера монетарной выгоды на уровень активности в области левой нижней лобной извилины. (а) Кластеры значимого увеличения BOLD-сигнала при реализации ложных действий, по сравнению с правдивыми (Kireev et al., 2013); (б) Кластер, локализующийся в левой нижней лобной извилине, отражающий зону этой структуры, с которой усиливались функциональные взаимодействия левого хвостатого ядра (обозначено красной стрелкой) (Kireev et al., 2015). Данный кластер в левой нижней лобной извилине выбран в качестве области интереса для анализа; (в) Воксели в анализируемой области интереса, в которых выявлено значимое взаимодействий факторов “тип действия” и “размер монетарной выгоды”; (г) Изменения BOLD-сигнала в этой области левой нижней лобной извилины при сравнении ложных и правдивых “предложений” в условиях отличающегося размера монетар-

ной выгоды. Обозначения: BOLD-сигнал, зависимый от уровня насыщения крови кислородом (blood oxygen level dependent signal), Ложь – ложное “предложение” об ориентации стрелки, Правда – правдивое “предложение” об ориентации стрелки, НИИ – нижняя лобная извилина левого полушария мозга человека.

**Fig. 2.** Influence of size of monetary benefit on the level of activation in the left inferior lower frontal gyrus. (a) Clusters of significant increase of BOLD-signal during deceptive actions compared to truthful (Kireev et al., 2013); (б) The cluster located in the inferior frontal gyrus, reflecting the area which enhances functional interaction with the left caudate nucleus (marked with a red arrow) (Киреев et al., 2015). This cluster in the inferior frontal gyrus was chosen as a region of interest for the current paper; (в) Voxels in the analyzed region of interest, which revealed significant interactions of the factors “type of actions” and “size of monetary benefit”; (г) Changes in BOLD-signal in left inferior frontal gyrus when comparing deceptive and truthful “suggestions” in conditions of different size of monetary benefit. BOLD-blood oxygenation level dependent signal, Deception – deceptive “offer” about the orientation of the arrow, Truth – truthful “offer” about the orientation of the arrow, IFG – inferior frontal gyrus of the left hemisphere of the human brain.

60 игровых и 30 контрольных проб, отличающихся типом предъявляемой стрелки, инструктирующей испытуемых о типе пробы. Общее время фМРТ-исследования составляло около 40 мин.

Каждая отдельная проба состояла из трех последовательно предъявляемых стимулов: 1) первый стимул – изображение стрелки сплошного белого цвета, ориентированной вверх или вниз, на черном фоне и длительностью 500 мс; 2) второй стимул – предъявлялся через 4.5 сек – стимул обратной связи от “оппонента” в виде слов “согласен” или “не согласен”, длительностью 500 мс; 3) третий стимул – значение выигрыша или штраф (в зависимости от исхода и сессии предъявлялись цифры: “+2” / “+5” / “-2” / “-5”). Испытуемые инструктировались предлагать свой вариант ориентации стрелки в интервале между первым и вторым стимулами проб. Чтобы, с одной стороны, стимулировать испытуемых реализовывать ложные предложения, а с другой, не стимулировать лгать чаще, чем реализовывать правдивые предложения, слово “согласен” предъявлялось в 60% игровых проб. Тем самым испытуемые вводились в заблуждение, что с ними “играет” оппонент, тогда как слова “согласен” и “не согласен” предъявлялись в случайном порядке с заданной вероятностью. Как показали результаты предыдущих исследований, при таком соотношении проб групповые показатели количества ложных и правдивых предложений значимо не отличались (Киреев и др., 2007, 2011).

#### *Параметры сканирования и предварительной обработки*

В работе использовались фМРТ-данные, полученные нами ранее (Kireev et al., 2013) с использованием томографа Philips Achieva, с напряженностью поля 3 Тесла. Структурные T1-взвешенные изображения регистрировались до проведения функционального исследова-

ния (T1W3DTFE), со следующими параметрами: поле обзора – 240 × 240 (FOV); TR – 25 мс; срезы – 130 аксиальных срезов толщиной 1 мм и размером пикселя 1 × 1 мм; угол отклонения вектора намагниченности (flip angle) – 30°. Для регистрации BOLD-сигнала использовалась эхо-планарная одноимпульсная последовательность. Время, за которое происходила регистрация данных со всех 32 аксиальных срезов (TR), составляло 2 сек (TE = 35 мс). Поле обзора составляло 208 × 208, а угол отклонения вектора намагниченности (flip angle) – 90°. Размер пикселя составлял 3 × 3 мм. Толщина срезов равнялась 3 мм, с промежутком между ними в 0.3 мм. Таким образом, после трехмерной реконструкции изображения размер единицы объема (воксел, от volume cell) составлял 3 × 3 × 3 мм.

Перед статистической обработкой набор индивидуальных динамических сканов (функциональные изображения BOLD-сигнала) преобразовывался в несколько последовательных этапов: 1) выравнивание всех изображений относительно первого полученного динамического скана (realignment) с расчетом соответствующих параметров смещения; 2) коррекция разницы времени в получении планарных изображений (slice-time correction); 3) нормализация функциональных изображений в стандартное стереотаксическое пространство MNI – Montreal Neurological Institute (normalization) с корегистрацией (coregistration) анатомического структурного T1-изображения с динамическим первым сканом и его сегментацией; 4) гауссовское сглаживание (smoothing, 8 мм (FWHM)).

#### *Статистический анализ данных*

Предварительная обработка данных и статистический анализ осуществлялись с использованием программного пакета SPM12 (Statistical parametric mapping 12) на базе среды Matlab (2012b, Mathworks Inc., Natick, MA, USA).

В соответствии с гипотезой исследования статистический анализ данных проводился для области интереса – кластера в зоне нижней лобной извилины левого полушария (см. рис. 2 (а–б); координаты MNI:  $x = -39, y = 17, z = 19$ ; размер = 64 воксела). Данный кластер был выбран на основе области, которая по полученным ранее для данной выборки результатам: 1) демонстрировала усиление взаимодействий с левым хвостатым ядром при реализации ложных действий по сравнению с правдивыми (по данным анализа психофизиологических взаимодействий (Киреев и др., 2015), см. рис. 2 (б)); 2) испытывала активирующее влияние со стороны левого хвостатого ядра при реализации как ложных действий, так и правдивых действий (Киреев и др., 2018).

Статистический анализ проводился в два этапа с использованием общей линейной модели множественной регрессии. На первом этапе для каждого испытуемого строилась линейная модель, где в качестве регрессоров использовались времена действия (нажатия на кнопку) в следующих экспериментальных пробах: 1) ложное действие при относительно высокой монетарной выгоде; 2) правдивое действие при относительно низкой монетарной выгоде; 3) ложное действие при относительно низкой монетарной выгоде; 4) правдивое действие при относительно высокой монетарной выгоде; 5) контрольная проба (catch-пробы). Кроме того, в статистическую модель включались регрессоры, моделирующие игнорируемые переменные: регрессоры стимулов обратной связи (“решение” оппонента), регрессоры, моделирующие эффект сессии, а также 6 регрессоров, моделирующих изменения сигнала, связанные со смещением головы испытуемого относительно первого динамического скана. Исследование проводилось в режиме, связанном с событием (event-related), где каждое событие моделировалось отдельно путем свертки времени нажатия на кнопку со стандартной функцией гемодинамического ответа. Стандартная функция гемодинамического ответа описывает то, как BOLD-сигнал, отражающий изменения нейрональной активности, изменяется в связи с одним экспериментальным событием. Таким образом, в результате первого этапа анализа была создана модель изменений BOLD-сигнала в ответ на нажатия на кнопку в 5 типах экспериментальных проб, соответствующих 5 регрессорам.

В качестве переменных для второго, группового этапа статистического анализа данных ис-

пользовались получаемые на индивидуальном этапе разности бета-коэффициентов (линейный контраст) между регрессорами вида “тип экспериментальной пробы” и “контрольная проба (catch)” (далее просто “тип экспериментальной пробы”). Полученная разность отражает разницу BOLD-сигнала в интересующих условиях (в относительных единицах). Групповой анализ данных проводился в режиме повоксельного анализа для области интереса объемом 64 воксела, которая локализовалась в левой нижней лобной извилине, а также для средних значений BOLD-сигнала 64 вокселов анализируемой области интереса. Эффект влияния размера монетарной выгоды на изменения BOLD-сигнала, связанные с типом действия (ложного или правдивого), оценивался с помощью модели двухфакторного дисперсионного анализа со следующими факторами: тип действия (ложный или правдивый), размер монетарной выгоды (высокий или низкий). Для проверки гипотезы исследования оценивалось взаимодействие двух факторов с использованием соответствующего F-контраста. Для выяснения характера взаимодействия двух факторов рассчитывались t-контрасты между интересующими пробами. Для контроля ошибки первого рода применялась коррекция на множественные сравнения с применением воксельного порога  $pFWE < 0.05$ . Данный, довольно строгий вариант коррекции на множественность сравнений использовался исходя из того, что поиск значимых изменений осуществлялся в малой, заранее выбранной области интереса. Усреднение изменений сигнала в области интереса, групповое сравнение на уровне всей области интереса и определение направления изменений BOLD-сигнала проводилось с использованием программного пакета REX (<https://www.nitrc.org/projects/rex/>).

Для сравнения “Ложь > Правда” при высокой монетарной выгоде на уровне всей области интереса рассчитывались Байесовские факторы (Bayes Factor, BF) согласно подходу, предложенному в Dienes (Dienes, 2014). Байесовские факторы позволяют количественно оценить, свидетельствуют ли полученные данные в пользу нулевой или альтернативной гипотезы. Согласно нулевой гипотезе, разность между двумя условиями равна нулю, т.е. отсутствует. Согласно альтернативной гипотезе, разность распределена между предположительными значениями. Предположения о возможных значениях разности для интересующего сравнения были сделаны на основе другого сравнения: “Ложь > Правда” при низкой мо-

нетарной выгоде. Предположение заключалось в том, что разность в уровне BOLD-сигнала при ложных действиях, по сравнению с правдивыми действиями, в условии высокой монетарной выгоды должна быть больше нуля и примерно соответствовать (быть такой же или меньше) аналогичной разности в условии низкой монетарной выгоды. Использовались два распределения для альтернативной гипотезы (Dienes, 2014): 1) разность нормально распределена, наиболее вероятное значение разности “Ложь > Правда” при высокой выгоде равно среднему значению разности при низкой выгоде, стандартное отклонение равно половине среднего значения разности при низкой выгоде; 2) разность имеет полунормальное распределение, наиболее вероятное значение разности “Ложь > Правда” при высокой выгоде равно нулю, стандартное отклонение равно среднему значению при низкой выгоде. Две возможные альтернативные гипотезы позволяют проверить чувствительность Байесовского анализа к обнаружению наличия или отсутствия значимой разности. В отличие от классической статистики использование Байесовской статистики позволяет не только найти статистически значимые различия, но и принять нулевую гипотезу об отсутствии различий. Если  $BF > 3$  (Jeffreys, 1961), то получено сильное свидетельство в пользу наличия различий, если  $BF < 1/3$ , то получено свидетельство в пользу отсутствия различий, промежуточные значения не позволяют с уверенностью сделать вывод в пользу отсутствия или наличия различий.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Статистический анализ взаимодействия факторов “тип действия” и “размер монетарной выгоды” оказался значимым для 51 из 64 вокселей, составляющих анализируемую область интереса (см. рис. 2 (в)). Выявленный кластер содержал два максимума со следующими координатами: 1)  $x = -42, y = 26, z = 19, Z = 5.67, pFWE < 0.001$ ; 2)  $x = -48, y = 23, z = 10, Z = 3.54, pFWE < 0.01$ . Анализ разности средних значений коэффициентов регрессии, соответствующих каждому типу анализируемых проб, представлен на рис. 2 (г) и показывает, что в условиях низкой монетарной выгоды ложные действия, по сравнению с правдивыми, характеризуются повышенным энергопотреблением (по данным уровня BOLD-сигнала) в анализируемой области интереса в нижней лобной извилине левого полушария. При этом при увеличении монетарной выгоды значимой разницы в энергопотреблении между ложными

и правдивыми действиями не обнаруживается. Дополнительно при сравнении ложных действий при низкой монетарной выгоде с ложными действиями при высокой монетарной выгоде с использованием соответствующего  $t$ -контраста выявлено увеличение BOLD-сигнала в 30 вокселях в анализируемой области интереса ( $x = -42, y = 32, z = 22 - Z = 5.67, pFWE < 0.001$ ). Расчет обратного  $t$ -контраста не выявил значимого увеличения BOLD-сигнала при реализации ложных действий в условиях высокой монетарной выгоды, по сравнению с относительно маловыгодными ложными действиями.

Анализ средних значений BOLD-сигнала в области интереса также выявил значимое взаимодействие факторов “тип действия” и “размер монетарной выгоды” ( $F = 42.12, p < 0.0001$ ). Обнаружены статистически значимые различия в  $t$ -контрасте “Ложь > Правда” при низкой монетарной выгоде ( $t = 9.6, p < 0.001$ ), размер эффекта Cohen’s  $d = 1.96$ , что соответствует “очень большому” размеру эффекта (Sawilowsky, 2009). При этом не удалось обнаружить статистически значимых различий в  $t$ -контрасте “Ложь > Правда” при высокой монетарной выгоде ( $t = -1.39, p = 0.168$ ), размер эффекта Cohen’s  $d = -0.28$ , что соответствует “небольшому” размеру эффекта. Байесовский фактор для этого сравнения с альтернативной гипотезой, имеющей нормальное распределение, —  $BF = 0.04$ , а с альтернативной гипотезой, имеющей полунормальное распределение, —  $BF = 0.05$ . В обоих случаях  $BF < 1/3$ , что позволяет говорить о “сильном” свидетельстве в пользу отсутствия различий, т.е. можно принять нулевую гипотезу.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, в результате настоящего исследования показано, что в ситуации меньшей ожидаемой выгоды ложного действия вовлечение механизма ДО сопровождается увеличением локальной активности левой нижней лобной извилины. Однако, как показал байесовский анализ практической эквивалентности, при большей монетарной выгоде ложного действия BOLD-сигнал в нижней лобной извилине статистически значимо не отличается от ситуации правдивого действия. При этом повышение монетарной выгоды сопровождается снижением BOLD-сигнала в области нижней лобной извилины при реализации ложных действий (до уровня BOLD-сигнала при правдивых действиях).

Вовлечение префронтальной коры в обеспечение ложных действий является одной из наиболее частых находок при нейровизуализационных исследованиях вне зависимости от особенностей исследовательской парадигмы и тестовых заданий (Abe et al., 2006; Lee et al., 2002; Nuñez et al., 2005; Spence et al., 2004). Большинство авторов связывают функции вентролатеральной префронтальной коры при реализации ложных действий с обеспечением торможения конкурирующей доминантной реакции – правдивого ответа (Miller, Cohen, 2001). Метаанализ, проведенный Christ и др. (Christ et al., 2009), показал, что при лжи вовлечение вентролатеральной префронтальной коры (включающей отделы нижней лобной извилины) связано со всеми тремя исследованными аспектами когнитивного контроля: тормозным контролем, процессами рабочей памяти и переключением между заданиями. В свете таких представлений выявленное нами снижение уровня функциональной активности в нижней лобной извилине при большей выгоде может означать снижение конкуренции с доминантной правдивой реакцией.

Рассматривая полученный результат с позиции представлений о механизме ДО, можно предположить, что при лжи меньшая реактивность относительных изменений локальной активности нижней лобной извилины при большей выгоде является отражением меньшей реактивности этой структуры в ответ на информацию об ошибке. Информация от ДО о несоответствии действия матрице нормы (т.е. некорректности действия) в меньшей степени учитывается в процессе принятия решения и реализации ложного действия, обеспечиваемого нижней лобной извилиной, т.е. при большей ожидаемой выгоде становится менее значимой для принятия решения. Данный эффект дополнительно демонстрирует, почему механизм ДО, по своей сути, является механизмом оптимизации реализации деятельности, а не ее управления. В ряде ситуаций срабатывание механизма ДО может учитываться управляющими системами мозга в меньшей степени или игнорироваться.

Различия в реактивности левой нижней лобной извилины могут быть объяснены и с точки зрения ее роли в использовании абстрактных правил или закономерностей и обнаружении отклонений от них (Winkler, Czigler, 1998). Ее активация связана с обнаружением несогласия

с имеющимися в памяти “стандартными” конструкциями (Deouell, 2007; Fitzgerald, Todd, 2020; Paavilainen, 2013; Schönwiesner et al., 2007). Также левая вентролатеральная префронтальная кора ассоциируется с хранением и воспроизведением правил, состоящих из соответствий действий их результатам и моральному контексту (Badre et al., 2005; Bhanji et al., 2010; Bunge, 2004; Carlson, Crockett, 2018; Souza et al., 2009). Более того, левая латеральная префронтальная кора вносит вклад в сопоставление данных правил с возможной монетарной выгодой от их использования, вступая в функциональные взаимодействия с областями системы вознаграждения (Dixon, Christoff, 2014; Parro et al., 2018).

В заданиях, допускающих сообщение лжи ради получения монетарной выгоды, может возникать моральный конфликт, разрешение которого требует вовлечения когнитивного контроля и обеспечивается дорсолатеральной и передней префронтальной корой (Dogan et al., 2016; Karim et al., 2010; Shalvi et al., 2012; Sun et al., 2017; Zhu et al., 2014). Важно, что испытуемые в норме могут подавить эгоистичные мотивы и воздержаться от лжи, так как при нарушении работы указанных структур мозга или их экспериментальной деактивации происходит так называемое “растормаживание”, проявляясь в более частом обмане, снижении времени реакции, возбуждения и оценок вины при реализации лжи (Karim et al., 2010; Priori et al., 2008; Zhu et al., 2014). Таким образом, связанная с обеспечением процессов применения правил поведения, нижняя лобная извилина при реализации лжи предположительно занимает роль связующего звена, усиливая взаимодействия как с областями системы вознаграждения, так и с левой дорсолатеральной префронтальной корой (Yin, Weber, 2019). Анализ направленности функциональных взаимодействий при принятии решения о сообщении правды или лжи показал, что данная область мозга получает модулирующее влияние от областей, связанных с обнаружением конфликта, и влияет на активность в дорсолатеральной префронтальной коре, ассоциирующейся с вовлечением когнитивного контроля для разрешения конфликта (Dogan et al., 2016; Киреев и др., 2018). Таким образом, роль левой нижней лобной извилины в управлении поведением при выборе между ложью и правдой может заключаться в актуализации и воспроизведении правил, необходимых для выбора правды, соответствующей нормам поведения.

В подтверждение такой функциональной роли этой структуры, когда испытуемые были готовы отказаться от своих моральных принципов в обмен на деньги, наблюдалось относительное снижение активности в нижней лобной извилине (Berns et al., 2012). При этом в определенном контексте следование правилам может являться невыгодным. К таким условиям можно отнести в том числе наличие более высокого монетарного вознаграждения и так называемую финансовую депривацию, которые оправдывают использование лжи (Cannito et al., 2023). После потери денег в сравнении с выигрышем денег испытуемые чаще говорили ложь (Sharma et al., 2014), и снижалась связанная с ней активность в дорсолатеральной префронтальной коре (Sun et al., 2017). В пробах с высоким в сравнении с низким монетарным вознаграждением за ложь снижались функциональные взаимодействия между левой нижней лобной извилиной и другими областями префронтальной коры (дорсолатеральная и дорсомедиальная), правда, только у менее склонных к честности испытуемых (Dogan et al., 2016). Интерпретируя полученные нами результаты в совокупности с цитируемыми выше литературными данными, можно предположить, что снижение относительных изменений активности левой нижней лобной извилины при возможности получить более высокое монетарное вознаграждение отражает меньшее вовлечение процесса воспроизведения абстрактных правил поведения или меньшее рассогласование с нормами поведения, несмотря на сигнал ДО о некорректности действия.

Выявленный нейрофизиологический эффект, на наш взгляд, заслуживает целенаправленного изучения, поскольку ставит новые вопросы. В частности, остается невыясненным, где и как происходит обработка информации о величине выгоды – участвует ли в ней именно эта область нижней лобной извилины или она испытывает модулирующие влияния других структур лобно-теменной системы. Возникает вопрос и о специфичности выявленных изменений именно для монетарной выгоды, или имеет место более универсальный характер, связанный с любой персональной выгодой вообще (например, социально значимой и т.д.). Возможно, именно с выявленным нами нейрофизиологическим эффектом связан механизм постепенных изменений внутренних представлений о допустимом – повторяющиеся некорректные действия, несмотря на сигнал ДО о его некорректности, приводят к изменению матрицы нормы. Использован-

ный нами подход, предполагающий совместный анализ данных о дистантных функциональных взаимодействиях и уровнях активации звеньев изучаемых нейроанатомических систем с учетом ведущей роли мозгового механизма ДО и его взаимодействия со структурами лобно-теменной нейроанатомической системы, открывает новые возможности для исследования мозгового обеспечения манипулятивных действий. В частности, такой подход представляется эффективным для получения новых данных о степени автоматизации, осознанности манипулятивных действий.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе показано, что сигнализирующее о некорректности ложного действия модулирующее влияние хвостатого ядра на зону левой нижней лобной извилины, которое наблюдалось нами ранее (Киреев и др., 2015), может сопровождаться разным уровнем ее активности в зависимости от потенциальной выгоды ложных действий: при более высокой выгоде лжи уровень активации этой зоны ниже, чем при относительно меньшей выгоде. Полученный результат раскрывает возможный механизм влияния ожидаемой монетарной выгоды на принятие манипулятивного ложного решения: размер монетарной выгоды при принятии решений предопределяет степень влияния информации о некорректности планируемого действия от ДО. Иными словами, в условиях повышения возможной монетарной выгоды влияние работы ДО на выработку решения о лжи может ослабевать. Таким образом, изучение мозговых механизмов обеспечения деятельности человека с позиций представлений о ДО позволяет по-новому взглянуть на работу мозговых систем при принятии решений.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Данные, используемые в данной работе, были получены в рамках государственного задания Минобрнауки ИМЧ РАН, а сама работа была выполнена при поддержке гранта РНФ 23-18-00521.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Киреев М.В., Старченко М.Г., Пахомов С.В., Медведев С.В. Этапы мозгового обеспечения заведомо ложных ответов. Физиология человека. 2007. 33: 5.
- Киреев М.В., Коротков А.Д., Поляков Ю.И., Аничков А.Д., Медведев С.В. Мозговой механизм детекции оши-

- бок — ПЭТ исследование. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2011. 97: 1060.
- Куреев М.В., Медведева Н.С., Коротков А.Д., Медведев С.В.* Особенности функционального взаимодействия хвостатого ядра и нижней лобной извилины в процессе обеспечения сознательных ложных действий. Физиология человека. 2015. 41: 29–34.
- Куреев М.В., Коротков А.Д., Котомин И., Медведев С.В.* Особенности системной организации мозговых систем, вовлекаемые в обеспечение подготовки действий. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2018. 104: 300–311.
- Abe N., Suzuki M., Tsukiura T., Mori E., Yamaguchi K., Itoh M., Fujii T.* Dissociable roles of prefrontal and anterior cingulate cortices in deception. *Cereb. Cortex* 2006. 16(2): 192–199. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhi097>
- Badre D., Poldrack R.A., Juliana Paré-Blagoev E., Insler R.Z., Wagner A.D.* Dissociable Controlled Retrieval and Generalized Selection Mechanisms in Ventrolateral Prefrontal Cortex. *Neuron* 2005. 47: 907–918. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.07.023>
- Bechtereva N.P., Gretchin V.B.* Physiological Foundations of Mental Activity. *Int. Rev. Neurobiol.* 1969. 11: 329–352. [https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(08\)60392-X](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(08)60392-X)
- Bechtereva N.P., Medvedev S. V., Abdullaev Y.G.* Neural correlate of mental error detection in the human brain cortex. *Biomed. Sci.* 1991. 2 (3): 301–305.
- Bechtereva N.P., Shemyakina N.V., Starchenko M.G., Danko S.G., Medvedev S.V.* Error detection mechanisms of the brain: Background and prospects. *Int. J. Psychophysiol.* 2005. 58 (2–3): 227–234. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2005.06.005>
- Berns G.S., Bell E., Capra C.M., Prietula M.J., Moore S., Anderson B. et al.* The price of your soul: neural evidence for the non-utilitarian representation of sacred values. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 2012. 367 (1589): 754–762. <https://doi.org/10.1098/RSTB.2011.0262>
- Bhanji J.P., Beer J.S., Bunge S.A.* Taking a gamble or playing by the rules: Dissociable prefrontal systems implicated in probabilistic versus deterministic rule-based decisions. *Neuroimage* 2010. 49 (2): 1810–1819. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2009.09.030>
- Botvinick M.M., Carter C.S., Braver T.S., Barch D.M., Cohen J.D.* Conflict monitoring and cognitive control. *Psychol. Rev.* 2001. 108 (3): 624–652. <https://doi.org/10.1037/0033-295X.108.3.624>
- Bunge S.A.* How we use rules to select actions: A review of evidence from cognitive neuroscience. *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* 2004. 4 (4): 564–579. <https://doi.org/10.3758/CABN.4.4.564>
- Cannito L., Palumbo R., Sacco P.L.* Measure for measure: Effects of money exposure, reward size and loss aversion on cheating. *Curr. Res. Behav. Sci.* 2023. 4: 100110. <https://doi.org/10.1016/J.CRBEHA.2023.100110>
- Carlson R.W., Crockett M.J.* The lateral prefrontal cortex and moral goal pursuit. *Curr. Opin. Psychol.* 2018. 24: 77–82. <https://doi.org/10.1016/J.COPSYC.2018.09.007>
- Christ S.E., Van Essen D.C., Watson J.M., Brubaker L.E., McDermott K.B.* The Contributions of Prefrontal Cortex and Executive Control to Deception: Evidence from Activation Likelihood Estimate Meta-analyses. *Cereb. Cortex* 2009. 19 (7): 1557–1566. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhn189>
- Cieslik E.C., Ullsperger M., Gell M., Eickhoff S.B., Langner R.* Success versus failure in cognitive control: meta-analytic evidence from neuroimaging studies on error processing. *bioRxiv.* 2023. <https://doi.org/10.1101/2023.05.10.540136>
- Deouell L.Y.* The frontal generator of the mismatch negativity revisited. *J. Psychophysiol.* 2007. 21 (3–4): 188–203. <https://doi.org/10.1027/0269-8803.21.34.188>
- Dienes Z.* Using Bayes to get the most out of non-significant results. *Front. Psychol.* 2014. 5: 85883. <https://doi.org/10.3389/FPSYG.2014.00781>
- Dixon M.L., Christoff K.* The lateral prefrontal cortex and complex value-based learning and decision making. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2014. 45: 9–18. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2014.04.011>
- Dogan A., Morishima Y., Heise F., Tanner C., Gibson R., Wagner A.F., Tobler P.N.* Prefrontal connections express individual differences in intrinsic resistance to trading off honesty values against economic benefits. *Sci. Reports* 2016. 6 (1): 1–12. <https://doi.org/10.1038/srep33263>
- Fitzgerald K., Todd J.* Making Sense of Mismatch Negativity. *Front. Psychiatry* 2020. 11: 468. <https://doi.org/10.3389/FPSYT.2020.00468>
- Fu Z., Beam D., Chung J.M., Reed C.M., Mamelak A.N., Adolphs R., Rutishauser U.* The geometry of domain-general performance monitoring in the human medial frontal cortex. *Science* 2022. 376 (6593): eabm9922. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABM9922>
- Gino F., Pierce L.* The abundance effect: Unethical behavior in the presence of wealth. *Organ. Behav. Hum. Decis. Process.* 2009. 109 (2): 142–155. <https://doi.org/10.1016/J.OBHDP.2009.03.003>
- Hannah R., Aron A.R.* Towards real-world generalizability of a circuit for action-stopping. *Nat. Rev. Neurosci.* 2021. 22 (9): 538–552. <https://doi.org/10.1038/s41583-021-00485-1>
- Ito A., Abe N., Fujii T., Ueno A., Koseki Y., Hashimoto R. et al.* The role of the dorsolateral prefrontal cortex in deception when remembering neutral and emotional events. *Neurosci. Res.* 2011. 69 (2): 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2010.11.001>
- Jeffreys H.* The theory of probability. 3rd. Ed. Oxford, Engl. Oxford Univ. Press 1961. 470.
- Karim A.A., Schneider M., Lotze M., Veit R., Sauseng P., Braun C., Birbaumer N.* The truth about lying: Inhibition of the anterior prefrontal cortex improves deceptive behavior. *Cereb. Cortex* 2010. 20 (1): 205–213.



- <https://doi.org/10.1093/cercor/bhp090>  
*Kireev M., Korotkov A., Medvedeva N., Medvedev S.* Possible role of an error detection mechanism in brain processing of deception: PET-fMRI study. *Int. J. Psychophysiol.* 2013. 90 (3): 291–299.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2013.09.005>
- Kouchaki M., Smith-Crowe K., Brief A.P., Sousa C.* Seeing green: Mere exposure to money triggers a business decision frame and unethical outcomes. *Organ. Behav. Hum. Decis. Process.* 2013. 121 (1): 53–61.  
<https://doi.org/10.1016/J.OBHDP.2012.12.002>
- Lee T.M.C., Liu H.L., Tan L.H., Chan C.C.H., Mahankali S., Feng C.M. et al.* Lie detection by functional magnetic resonance imaging. *Hum. Brain Mapp.* 2002. 15 (3): 157–164. <https://doi.org/10.1002/HBM.10020>
- MacDonald A.W., Cohen J.D., Andrew Stenger V., Carter C.S.* Dissociating the role of the dorsolateral prefrontal and anterior cingulate cortex in cognitive control. *Science* 2000. 288 (5472): 1835–1838.  
<https://doi.org/10.1126/SCIENCE.288.5472.1835>
- Masina F., Tarantino V., Vallesi A., Mapelli D.* Repetitive TMS over the left dorsolateral prefrontal cortex modulates the error positivity: An ERP study. *Neuropsychologia* 2019. 133: 107153.  
<https://doi.org/10.1016/J.NEUROPSYCHOLOGIA.2019.107153>
- McClure S.M., Laibson D.I., Loewenstein G., Cohen J.D.* Separate neural systems value immediate and delayed monetary rewards. *Science.* 2004. 306 (5695): 503–507.  
<https://doi.org/10.1126/science.1100907>
- Miller E.K., Cohen J.D.* An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu. Rev. Neurosci.* 2001. 24: 167–202.  
<https://doi.org/10.1146/ANNUREV.NEURO.24.1.167>
- Morein-Zamir S., Robbins T.W.* Fronto-striatal circuits in response-inhibition: Relevance to addiction. *Brain Res.* 2015. 1628: 117–129.  
<https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2014.09.012>
- Nuñez J.M., Casey B.J., Egner T., Hare T., Hirsch J.* Intentional false responding shares neural substrates with response conflict and cognitive control. *Neuroimage* 2005. 25 (1): 267–277.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.10.041>
- Oldfield R.C.* The assessment and analysis of handedness: The Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 1971. 9 (1): 97–113.  
[https://doi.org/10.1016/0028-3932\(71\)90067-4](https://doi.org/10.1016/0028-3932(71)90067-4)
- Paavilainen P.* The mismatch-negativity (MMN) component of the auditory event-related potential to violations of abstract regularities: a review. *Int. J. Psychophysiol.* 2013. 88 (2): 109–123.  
<https://doi.org/10.1016/J.IJPSYCHO.2013.03.015>
- Parro C., Dixon M.L., Christoff K.* The neural basis of motivational influences on cognitive control. *Hum. Brain Mapp.* 2018. 39 (12): 5097.  
<https://doi.org/10.1002/HBM.24348>
- Priori A., Mameli F., Cogiamanian F., Marceglia S., Tiriticco M., Mrakic-Spota S. et al.* Lie-specific involvement of dorsolateral prefrontal cortex in deception. *cereb. Cortex* 2008. 18 (2): 451–455.  
<https://doi.org/10.1093/CERCOR/BHM088>
- Sawilowsky S.S.* New effect size rules of thumb. *J. Mod. Appl. Stat. Methods* 2009. 8 (2): 26.  
<https://doi.org/10.22237/jmasm/1257035100>
- Schönwiesner M., Novitski N., Pakarinen S., Carlson S., Tervaniemi M., Näätänen R.* Heschl’s gyrus, posterior superior temporal gyrus, and mid-ventrolateral prefrontal cortex have different roles in the detection of acoustic changes. *J. Neurophysiol.* 2007. 97 (3): 2075–2082.  
<https://doi.org/10.1152/JN.01083.2006>
- Shalvi S., Eldar O., Bereby-Meyer Y.* Honesty requires time (and lack of justifications). *Psychol. Sci.* 2012. 23 (10): 1264–1270.  
<https://doi.org/10.1177/0956797612443835>
- Sharma E., Mazar N., Alter A.L., Ariely D.* Financial deprivation selectively shifts moral standards and compromises moral decisions. *Organ. Behav. Hum. Decis. Process.* 2014. 123 (2): 90–100.  
<https://doi.org/10.1016/J.OBHDP.2013.09.001>
- Souza M.J., Donohue S.E., Bunge S.A.* Controlled retrieval and selection of action-relevant knowledge mediated by partially overlapping regions in left ventrolateral prefrontal cortex. *Neuroimage* 2009. 46 (1): 299–307.  
<https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2009.01.046>
- Spence S.A., Hunter M.D., Farrow T.F.D., Green R.D., Leung D.H., Hughes C.J., Ganesan V.* A cognitive neurobiological account of deception: Evidence from functional neuroimaging. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 2004.  
<https://doi.org/10.1098/rstb.2004.1555>
- Sun P., Ling X., Zheng L., Chen J., Li L., Liu Z., Cheng X., Guo X.* Modulation of financial deprivation on deception and its neural correlates. *Exp. Brain Res.* 2017. 235 (11): 3271–3277.  
<https://doi.org/10.1007/S00221-017-5052-Y>
- Winkler I., Czigler I.* Mismatch negativity: deviance detection or the maintenance of the “standard.” *Neuroreport* 1998. 9 (17): 3809–3813.  
<https://doi.org/10.1097/00001756-199812010-00008>
- Wu J., Huang J., Li J., Chen X., Xiao Y.* The role of conflict processing mechanism in deception responses. *Sci. Rep.* 2022. 12 (1): 18300.  
<https://doi.org/10.1038/S41598-022-21569-7>
- Yeung N., Botvinick M.M., Cohen J.D.* The neural basis of error detection: Conflict monitoring and the error-related negativity. *Psychol. Rev.* 2004. 111 (4): 931–959.  
<https://doi.org/10.1037/0033-295X.111.4.931>
- Yin L., Weber B.* I lie, why don’t you: Neural mechanisms of individual differences in self-serving lying. *Hum. Brain Mapp.* 2019. 40 (4): 1101–1113.  
<https://doi.org/10.1002/hbm.24432>
- Zhou Y., Wang Y., Rao L.L., Yang L.Q., Li S.* Money talks: Neural substrate of modulation of fairness by monetary incentives. *Front. Behav. Neurosci.* 2014. 8 (MAY): 80319.



<https://doi.org/10.3389/FNBEH.2014.00150/ABSTRACT>  
*Zhu L., Jenkins A.C., Set E., Scabini D., Knight R.T., Chiu P.H.*  
*et al.* Damage to dorsolateral prefrontal cortex affects

tradeoffs between honesty and self-interest. *Nat. Neurosci.* 2014 17(10): 1319–1321.  
<https://doi.org/10.1038/nn.3798>

## THE ACTIVITY OF THE LEFT INFERIOR FRONTAL GYRUS AND THE ERROR DETECTION BRAIN MECHANISM DURING DECEPTION UNDER CONDITIONS OF DIFFERENT MONETARY BENEFIT

**A. D. Korotkov<sup>a, #</sup>, M. A. Zheltyakova<sup>a</sup>, R. S. Masharipov<sup>a</sup>, M. D. Didour<sup>a</sup>,  
D. V. Cherednichenko<sup>a</sup>, M. V. Kireev<sup>a, b</sup>**

<sup>a</sup>*N.P. Bechtereva Institute of the Human Brain, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

<sup>b</sup>*Saint-Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: korotkov@ihb.spb.ru*

This research is aimed at investigating the characteristics of activity of brain areas that underlie action execution and are modulated by the error detection mechanism under conditions of various potential monetary benefits of manipulative truthful and false actions. It is shown that the implementation of potentially less profitable deceptive actions is associated with a relatively higher level of functional activity of the inferior frontal gyrus, a structure that receives information from structures associated with the error detection mechanism. This effect was revealed in experimental conditions with less reinforced deceptive actions, both in comparison with relatively more rewarded deception, and with manipulative truthful actions, regardless of their reward. Moreover, the increase in the profit of deceptive actions is accompanied by the disappearance of a statistically significant difference in the activity of the ventrolateral prefrontal cortex, which has been observed in the comparison of equally low profitable truthful and false actions. These results indicate a possible mechanism of expected monetary benefit influence on the manipulative decision to lie, according to which, the prefrontal structures underlying control of behavior show less susceptibility to the involvement of the error detection mechanism in maintaining deceptive actions.

*Keywords:* error detection, monetary benefit, prefrontal cortex