

УДК 612.822.3+612.825.5

**СВЯЗЬ МЕЖДУ АКТИВНОСТЬЮ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ
ЯДЕР ШВА И СПЕКТРАЛЬНОЙ МОЩНОСТЬЮ РИТМОВ ЭЭГ
БОДРСТВУЮЩЕЙ КОШКИ**

Куличенко А.М., Павленко В.Б., Дягилева Ю.О.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: alexander.kulichenko@gmail.com*

Анализировали связь между частотой фоновой импульсной активности серотонинергических нейронов ствола мозга и спектральной плотностью мощности частотных компонентов электроэнцефалограммы бодрствующей кошки. Выявлено, что импульсная активность серотонинергических нейронов ядер шва чаще (в 47,6% случаев) коррелировала со спектральной плотностью мощности бета-ритма электроэнцефалограммы. Результаты настоящей работы указывают на возможность рассматривать специфические паттерны ЭЭГ как индикатор активности серотонинергической системы.

Ключевые слова: серотонинергические нейроны, импульсная активность, электроэнцефалограмма.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на развитие современных методов диагностики, включая электронно-эмиссионную и магнитнорезонансную томографию, метод электроэнцефалограммы (ЭЭГ) сохраняет определенные преимущества: дешевизну, неинвазивность и возможность отражения согласованности работы структур мозга. Ритмы ЭЭГ, являясь информативными компонентами оценки функционального состояния мозга, генерируются теми же нейрональными системами возбуждения и торможения, которые участвуют в генезе эмоциональных состояний и обработке информации [1–3]. По мнению ряда авторов [4, 5] существенный вклад в паттерн ЭЭГ могут вносить аминергические системы головного мозга. Широко иннервируя различные регионы мозга, а также цепь: кора – базальные ганглии – таламус – кора [6], данные системы модулируют их активность, меняя эффективность синаптической передачи в ее звеньях [7–10]. В проведенных ранее исследованиях обнаружены корреляции частоты фоновой импульсной активности (ФИА) дофаминергических нейронов вентрального тегмента кошки с СМ альфа- и бета- ритмов ЭЭГ [11]. Дофаминергические нейроны ВТ и компактной области черной субстанции и серотонинергические (СТ) клетки дорсальной области ЯШ влияют друг на друга и их взаимодействие, зависящее от типов рецепторов, определяет уровень бодрствования [12]. СТ-система ядер шва (ЯШ), являясь критически важным объединением, в существенной степени участвует в регуляции функций головного мозга, запуске и переключении различных поведенческих состояний [13]. Считается, что главной функцией СТ-системы является активация коры, в конечном итоге обеспечивающая двигательный или иной

поведенческий ответ [14–16]. Однако функциональные особенности упомянутой системы, в том числе связь активности СТ нейронов с амплитудно-частотными характеристиками ЭЭГ, а также возможность использовать паттерн ЭЭГ в качестве индикатора состояния СТ системы остаются недостаточно изученными.

Поэтому целью настоящего исследования явилось изучение особенностей связи между активностью СТ нейронов и спектральной мощностью (СМ) ритмов ЭЭГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все эксперименты были проведены согласно существующим международным требованиям и нормам гуманного отношения к животным.

Активность нейронов изучали на 3 кошках обоего пола, весом 2.5–4 кг. Перед каждой серией опытов животных обучали спокойно сидеть в течение длительного времени в специальном фиксирующем гамаке, расположенном в звукоизолированной камере. Животных предварительно оперировали под наркозом (нембутал 40 мг/кг, внутривенно). Все оперативные действия проводили с соблюдением принципов асептики и антисептики. Сквозь трепанационное отверстие (диаметр 2,5 мм) в соответствии с координатами атласа Рейнозо-Суареца [17] в мозг животных вводили направляющую канюлю из нержавеющей стали, через которую в дальнейшем выдвигался микроэлектрод. Кончик направляющей канюли в зависимости от задачи исследования располагался в 3-5 мм от дорзального ядра шва (V_7) (ЯШ). Данное расстояние выбиралось с целью минимизации повреждений структур-мишеней. Канюля вводилась в мозг соответственно стереотаксическим координатам ЯШ наклонно, чтобы избежать попадания в костный намет (20° по отношению к фронтальной плоскости и 15° – по отношению к сагиттальной). Зона отведения нейронной активности ЯШ соответствовала стереотаксическим координатам и $P=-1...-2$; $L=2...0$; $H=5...9$ мм, соответственно. В лобную кость черепа вкручивали винт, который служил индифферентным электродом при отведении нейронной активности.

ЭЭГ-электроды изготавливали из позолоченной проволоки диаметром 1,0 мм, сгибая ее в виде кольца диаметром 4,0 мм. Активные электроды располагали на костях черепа над лобной, правой и левой височными и затылочной областями коры (лобный и затылочный электроды размещались по сагиттальной линии). Референтный электрод располагался в лобной пазухе. Отводящую поверхность каждого ЭЭГ-электрода помещали в небольшое углубление на кости черепа, сделанное бором; электроды фиксировали с помощью акрилоксида и соединяли с контактами миниатюрного разъема, также закрепленного на черепе. Разъем мог соединяться со входами электроэнцефалографа тонким гибким кабелем, что позволяло регистрировать ЭЭГ у бодрствующего животного. После размещения канюли и ЭЭГ электродов поверхность черепа заливалась акрилоксидом.

Во время каждого опыта параллельную регистрацию импульсной активности СТ нейронов с отведением ЭЭГ у бодрствующих кошек проводили в условиях, приближенных к свободному поведению (в состоянии двигательного покоя). Для внеклеточной регистрации импульсной активности нейронов использовали подвижный электрод из серебряного микропровода (диаметр 12 мкм) в стеклянной изоляции (общая толщина 70 мкм). Сопротивление микроэлектрода не превышало 5 МОм. Перед

каждым опытом микроманипулятор фиксировали на основании направляющей канюли. Затем в исследуемую область погружали микроэлектрод. При этом момент соприкосновения микроэлектрода с мозгом фиксировали по уменьшению электрических помех на экране осциллографа. Глубину погружения электрода в мозг определяли по шкале, нанесенной на корпус оригинального микроманипулятора [18].

Потенциалы действия нейронов, поступали на вход предварительного усилителя. Затем сигналы фильтровались и усиливались с помощью установки УФУ-БК (производства ЭПМ НИИЭМ РАМН, Санкт-Петербург). Полоса пропускания тракта импульсной активности нейронов и ЭМГ составляла 10-10000 Гц. Сигнал поступал на вход звуковой карты компьютера (частота оцифровки до $4 \cdot 10^4$ Гц) и параллельно на монитор для визуального контроля.

ЭЭГ отводили монополярно с помощью электроэнцефалографа Bioscrypt BST-112 (Германия), сигнал от которого через лабораторный интерфейс SDI-ADC16-16 (выполнен на базе сдвоенного трехканального 10-разрядного аналого-цифрового преобразователя со временем оцифровки 30 мкс, фирма-производитель «Saturn data international») поступал на вход IBM PC. Частота оцифровки суммарной электрической активности неокортекса составляла 200 с^{-1} .

Указанная методика позволяла проводить записи импульсной активности отдельных аминергических нейронов и суммарной электрической активности неокортекса у каждого животного в течение одного – двух месяцев. По окончании всех опытов производили морфологический контроль локализации кончиков электродов на серии фронтальных срезов мозга толщиной 30 мкм; предварительно производили коагуляцию через вживленные электроды (2 мА, 60 с). На сериях срезов (рис. 1) проводили верификацию в соответствии с расположением ядер и структур по стереотаксическому атласу мозга кошки [17].



Рис. 1. Фронтальный срез ствола мозга, проходящий через область локализации серотонинергических нейронов ядер шва. (Область локализации метки соответствует области отведения импульсной активности клеток).

К СТ относили клетки на основании локализации коагуляционных меток в стволе мозга и электрофизиологических критериев идентификации, включающих учет длительности (2.0–5.0 мс) и полифазности потенциалов действия, а также частоты разрядов $< 4 \text{ с}^{-1}$ [19].

Данные эксперимента записывались и обрабатывались off-line с помощью компьютерной программы “EEG Mapping 3”, разработанной программистом Зинченко Е.М. Для обработки выбирали безартефактные записи длительностью 60 сек. В процессе обработки записей нейронной активности выделялись потенциалы действия нейронов. Затем компьютерная программа, разбивая запись на 30 эпох величиной 2,0 с, подсчитывала в каждой из них число потенциалов действия. ЭЭГ этих же эпох подвергали спектральному анализу на основе быстрого преобразования Фурье. Выделяли следующие частотные компоненты: 1–3, 4–7, 8–13, 14–30 и 31–48 Гц (дельта-, тета-, альфа-, бета- и гамма-ритмы соответственно) по которым рассчитывали их значения СПМ ($\text{мкВ}^2/\text{Гц}$).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакетов программ Statistica 6.0. Для описания связей между частотой ФИА аминергических нейронов и значениями СПМ отдельных ритмов ЭЭГ на основе данных по 30 эпохам одновременной записи ЭЭГ и ФИА нейронов рассчитывали коэффициенты ранговой корреляции Спирмена (r). При анализе связи частоты импульсации СТ нейронов со СПМ различных ритмов ЭЭГ оценивали относительные количества случаев, в которых частота ФИА этих нейронов значимо ($p < 0,05$) коррелировала со значениями СПМ данных ритмов в каждом из четырех отведений. Наряду с этим, оценивали степень тесноты связи, выделяя следующие уровни статистически значимых корреляций [20]: если значение r находилось в пределах 0,31–0,50, связь рассматривалась как умеренная, при $r = 0,51–0,70$ – как значительная, при $r = 0,71–0,90$ – как тесная и при $r \geq 0,91$ – как очень тесная. Остальные подробности методики были описаны ранее [13].

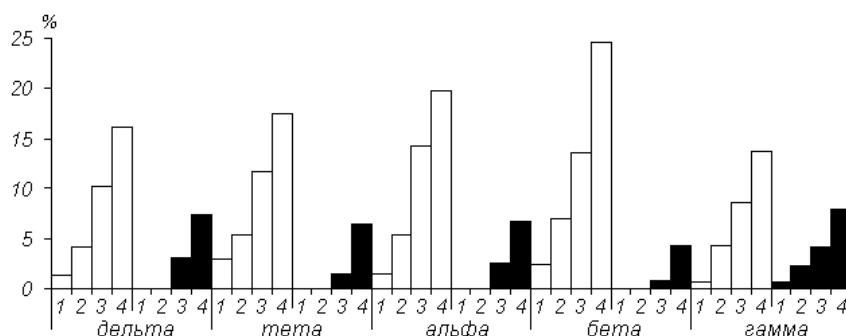
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе экспериментов была зарегистрирована активность 86 СТ нейронов. Параллельно с отведением активности таких нейронов, ПД которых были, как правило, трехфазными и длительными (не менее 2.5 мс), регистрировалась активность единиц с короткими (порядка 1 мс) двухфазными или практически однофазными ПД. Записи активности таких клеток не включались в исследованную группу предположительно СТ нейронов.

В результате анализа полученных данных обнаружено, что ФИА СТ нейронов ЯШ чаще положительно коррелировала со СПМ бета-ритма ЭЭГ. Доля таких нейронов составила 47,6 % (рис. 2). Также нами выявлено, что частота 41,0 % СТ нейронов положительно и значимо коррелировала с альфа-активностью, 37,4 % – с тета-ритмом, 31,8 % – с дельта-ритмом и 27,3 % – с гамма-ритмом.

В результате анализа полученных записей выявлено, что активность СТ нейронов характеризуется тесной связью со всеми ритмами ЭЭГ. Это может объясняться большей по сравнению с другими медиаторными системами позвоночных степенью разветвленности СТ системы в мозге позвоночных [21].

Предполагается, что нейроны данной системы, посылая эфферентные волокна к многочисленным структурам, участвующим в механизмах генерации и регуляции ритмов ЭЭГ, модулируют их функции.



1 – очень тесная ($r > 0.91$), 2 – тесная ($r = 0.71-0.90$), 3 – значительная ($r = 0.51-0.70$) и 4 – умеренная корреляция ($r = 0.31-0.50$).

Рис. 2. Относительные количества исследованных серотонинергических нейронов (%), проявляющих статистически значимые положительные (белые столбики) и отрицательные (черные столбики) корреляционные связи разной интенсивности со спектральной мощностью ритмов ЭЭГ по всей совокупности отведений.

Как было указано выше 47,6 % СТ нейронов ЯШ проявляли статистически значимую положительную взаимосвязь собственной ФИА с СПМ бета-ритма ЭЭГ. Было показано, что ДА нейроны ВТ и компактной области черной субстанции и СТ клетки дорсальной области ЯШ влияют друг на друга и их взаимодействие, зависящее от типов рецепторов, определяет уровень бодрствования [12]. В экспериментах на крысах [22] показано, что внутриталамическое введение агониста 5-HT₂ рецепторов 1-(2,5-диметокси-4-йодофенил)-2-аминопропана снижает высоковольтную веретеновидную активность, что указывает на способность серотонинергической системы модулировать таламокортикальные осцилляции. Эти результаты согласуются с тем, что повышение уровня ФИА СТ нейронов сопровождается переходом от фазы глубокого сна к состоянию бодрствования и, как следствие, десинхронизацией ЭЭГ [23]. Другими авторами выявлена связь активности СТ нейронов ЯШ как с поведенческой активацией [24, 25], так и состоянием внимания [26]. В экспериментальной модели болезни Альцгеймера на крысах при использовании колхицина вместе со снижением уровня НА, ДА и СТ в коре, гиппокампе и хвостом ядре наблюдалась редукция альфа- и бета-активности [27]. При лечении животных экстрактом *Moringa oleifera* вместе с увеличением содержания моноаминов в мозге и увеличением правильных условно-рефлекторных актов в ЭЭГ наблюдалось увеличение бета- волн.

На основании полученных результатов и литературных данных мы не исключаем, что наблюдаемый на данном уровне активности животного (состояние бодрствования) бета-ритм может быть обусловлен с одной стороны – соответствующим состоянием животного содержанию СТ в ключевых структурах мозга и с другой – относительно высокой активностью СТ нейронов ЯШ.

Обнаруженные корреляции частоты ФИА СТ нейронов со СПМ ритмов ЭЭГ свидетельствуют о том, что данная система нейронов вносит заметный вклад в формирование характерного паттерна ЭЭГ, который, по-видимому, отражает как текущее состояние животного, так и уровень активности системы СТ нейронов. Результаты настоящей работы указывают на возможность использования специфических паттернов ЭЭГ-активности как индикатора состояния системы СТ нейронов ствола головного мозга.

ВЫВОД

Активность серотонинергических нейронов ядер шва характеризуется взаимосвязью со всеми ритмами ЭЭГ кошки. Несколько чаще, по сравнению с другими ритмами, фоновая импульсация этих клеток позитивно коррелирует со спектральной плотностью мощности бета-ритма ЭЭГ.

Список литературы

1. Hariri A.R. Genetics of emotional regulation: The role of the serotonin transporter in neural function / A.R. Hariri, A. Holmes // *Trends Cogn. Sci.* – 2006. – Vol. 10, № 4. – P. 182-191.
2. Martino B. Noradrenergic neuromodulation of human attention for emotional and neutral stimuli / B. Martino, B.A. Strange, R.J. Dolan // *Psychopharmacology.* – 2008. – Vol. 197. – P. 127-136.
3. Dopaminergic Contribution to the Regulation of Emotional Perception / P. Salgado-Pineda, P. Delaveau, O. Blin, A. Nieoullon // *Clin. Neuropharmacol.* – 2005. – Vol. 28, № 5. – P. 228-237.
4. The effect of lesions of catecholamine-containing neurons upon monamine content of the brain and EEG and behavioral waking in the cat / B.E. Jones, P. Bobillier, C. Pinand, M. Jouvet // *Brain Res.* – 1973. – Vol. 58, № 1 – P. 157-177.
5. Lubar J.F. Neocortical dynamics: implication for understanding the role of neurofeedback and related techniques for the enhancement of attention / J.F. Lubar // *App. Psychophys. and Biofeedback.* – 1997. – Vol. 22, № 2. – P. 111-126.
6. Foote S.L. Extrathalamic modulation of cortical function / S.L. Foote, J.H. Morrison // *Ann. Rev. Neurosci.* – 1987. – № 10. – P. 67-95.
7. Berridge C.W. Locus coeruleus-induced modulation of forebrain electroencephalographic (EEG) state in halothane-anesthetized rat / C.W. Berridge, S.L. Foote // *Brain Res. Bull.* – 1994. – Vol. 35, № 5-6 – P. 597-605.
8. Ganguly R. Alteration of brain monoamines and EEG wave pattern in rat model of Alzheimer's disease and protection by *Moringa oleifera* / R. Ganguly, D. Guha // *Indian J. Med. Res.* – 2008. – Vol. 128, № 6. – P. 744-751.
9. Sterman B. Physiological origins and functional correlates of EEG rhythmic activities: implication for self-regulation / B. Sterman // *Biofeedback and self-regul.* – 1996. – Vol. 21, № 1. – P. 3-33.
10. Locus coeruleus neuronal activity in awake monkeys: relationship to auditory P300-like potentials and spontaneous EEG / D. Swick, J.A. Pineda, S. Schacher, S.L. Foote // *Exp. Brain Res.* – 1994. – Vol. 101, No 1. – P. 86-92.
11. Фокина Ю.О. Связь между активностью дофаминергических нейронов вентрального тегмента и спектральной мощностью ритмов ЭЭГ бодрствующей кошки / Ю.О. Фокина, А.М. Куличенко, В.Б. Павленко // *Нейрофизиология / Neurophysiology.* – 2008. – Т. 40, № 4. – С. 359-365.
12. Monti J.M. The roles of dopamine and serotonin, and of their receptors, in regulating sleep and waking / J.M. Monti, H. Jantos // *Prog. Brain Res.* – 2008. – Vol. 172. – P. 625-646.
13. Куличенко А.М. Активность нейронов ядер шва мозга кошки при реализации самоиницируемого поведенческого акта / А.М. Куличенко, В.Б. Павленко // *Нейрофизиология / Neurophysiology.* – 2004. – Т. 36, № 1. – С. 56-64.
14. Brain structures involved in the behavioral stimulant effect of central serotonin release / C.H. Vanderwolf, M. McLaughlin, H.C. Dringenberg [et al.] // *Brain Res.* – 1997. – Vol. 772, №. 1/2. – P. 121-134.

15. Dringenberg H.C. Involvement of direct and indirect pathways in electrocorticographic activation / H.C. Dringenberg, C.H. Vanderwolf // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 1998. – Vol. 22, № 2 – P. 243-257.
16. Peck B.K. Effects of raphe stimulation on hippocampal and neocortical activity and behavior / B.K. Peck, C.H. Vanderwolf // *Brain Res.* – 1991. – Vol. 568, №. 1/2. – P. 244-252.
17. Reinoso-Suárez F. *Topographischer Hirnatlas der Katze für experimental-physiologische Untersuchungen* / F. Reinoso-Suárez. – Darmstadt: 1961. – 24 p.
18. Устрійство для хронічної внклеточної реєстрації нейронної активності у вільнопоходжних животних / А.М. Куличенко, В.Б. Павленко, Ю.О. Фокина, А.Г. Ильичев // *Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия»* – 2010. – Т. 23 (62), № 1. – С. 52-57.
19. The ventral tegmental area revisited: is there an electrophysiological marker for dopaminergic neurons? / E.B. Margolis, H. Lock, G.O. Hjelmstad, H.L. Fields // *J. Physiology.* – 2006. – Vol. 577. – P. 907-924.
20. Дворецкий М.Л. *Пособие по вариационной статистике* / М.Л. Дворецкий. – М.: Лесн. пром-сть. 1971. – 104 с.
21. Pineyro G. Autoregulation of serotonin neurons: role in antidepressant drug action Autoregulation of Serotonin Neurons: Role in Antidepressant Drug Action / G. Pineyro, P. Blier // *Pharmacol Rev.* – 1999. – Vol. 51, № 3. – P. 533-591.
22. Modulation of rat neocortical high-voltage spindle activity by 5-HT1/5-HT2 receptor subtype specific drugs / P. Jäkälä, J. Sirviö, E. Koivisto [et al] // *Eur J Pharmacol.* – 1995. Vol. 282, № 1-3. – P. 39-55.
23. In vivomicrodialysis measures of extracellular serotonin in the rat hippocampus during sleep-wakefulness / S.P. Park, A. Lopes-Rodriguez, C.L. Wilson [et al.] // *Brain Res.* – 1999. – Vol. 833, № 2. – P. 291–296.
24. Jacobs B.L. Serotonin and behavior. A general hypothesis. in *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress* / B.L. Jacobs, C.A. Fornal // NY. Raven Press. – 1995. – P. 461-469.
25. Rueter L.E. A critical review of 5-HT brain microdialysis and behavior / L.E. Rueter, C.A. Fornal, B.L. Jacobs // *Rev. Neurosci.* – 1997. – Vol. 8, № – P. 117-137.
26. On the role of serotonin and effort in voluntary attention: Evidence of genetic variation in N1 modulation / S. Enge, M. Fleischhauer, K.-P. Lesch, A. Strobel // *Behav. Brain Res.* – 2011. –Vol. 216, № 1. – P. 122-128.
27. Ganguly R. Alteration of brain monoamines and EEG wave pattern in rat model of Alzheimer's disease and protection by Moringa oleifera / R. Ganguly, D. Guha // *Indian J. Med. Res.* – 2008. – Vol. 128, № 6. – P. 744-751.

Куличенко О.М. Зв'язок між активністю серотонінергічних нейронів ядер шва і спектральної потужністю ритмів ЕЕГ кішки / О.М. Куличенко, В.Б. Павленко, Ю.О. Дягілева // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2012. – Т. 25 (64), № 2. – С. 100-106.

Аналізували зв'язок між частотою фонові імпульсної активності серотонінергічних нейронів стовбура мозку і спектральної щільності потужності частотних компонентів електроенцефалограми кішки. Виявлено, що імпульсна активність серотонінергічних нейронів ядер шва частіше (в 47.6% випадків) корелювала зі спектральної щільності потужності бета-ритму електроенцефалограми. Результати цієї роботи вказують на можливість розглядати специфічні патерни електроенцефалограми як індикатор активності серотонінергічної системи.

Ключові слова: серотонінергічні нейрони, імпульсна активність, електроенцефалограма, спектральний склад.

Kulichenko A.M. A link between the activity of serotonergic neurons in raphe nuclei and the spectral power of EEG rhythms awake cats / A.M. Kulichenko, V.B. Pavlenko, Y.O. Dyagileva // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2012. – Vol. 25 (64), No 2. – P. 100-106.

We analyze the relationship between the frequency of background impulse activity of serotonin neurons in the brain stem and the power spectral density of the frequency components of electroencephalogram awake cats. Revealed that the impulse activity of serotonin neurons in raphe nuclei frequently (in 47.6% of cases) correlated with the spectral power density of beta-rhythm electroencephalogram. The results of this work indicate the possibility of considering the specific patterns of EEG activity as an indicator of serotonin systems.

Keywords: serotonin neurons, impulse activity, electroencephalogram, spectral composition.

Поступила в редакцію 29.04.2012 г.