

Исследование влияния низкочастотной ритмической электростимуляции подкорковых структур головного мозга кролика на его способность к ультразвуковой вокализации

В.Н. Каркищенко¹, Ю.В. Фокин¹, Ю.А. Чудина², А.Е. Емельянова^{1,2},
А.А. Николаев^{1,2}, Д.Б. Чайванов²

¹ – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская область

² – НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Контактная информация: к.б.н. Фокин Юрий Владимирович, fokin-yuri@ya.ru;
к.ф.-м.н. Чайванов Дмитрий Борисович, chaivanov@ya.ru

В работе на основе экспериментального исследования проведен сравнительный анализ ультразвуковой вокализации кролика в состоянии спокойного бодрствования и во время воздействия низкочастотной ритмической электростимуляции (электросна). Состояние покоя характеризуется типичной двухпиковой формой ультразвукового сигнала: первый пик УЗВ, с большей спектральной плотностью мощности, возникает в диапазоне частот 20-25 кГц, а второй пик – в диапазоне 33-38 кГц. В состоянии электросна способность генерировать ультразвук у кролика сохраняется, как и форма ультразвукового сигнала остается схожей с таковой в состоянии покоя. Низкочастотная ритмическая стимуляция приводит к смещению первого пика ультразвуковой вокализации по частоте и незначительному уменьшению спектральной плотности мощности второго пика.

Ключевые слова: ультразвуковая вокализация, электросон, низкочастотная ритмическая электрическая стимуляция, кролики.

Введение

Обнаруженный у млекопитающих феномен ультразвуковой вокализации (УЗВ) в настоящее время широко исследуется в состоянии спокойного бодрствования [2] или в процессе активного социального взаимодействия между особями [7, 13-15]. В этих работах объектом исследования являлись разные животные: грызуны (крысы, мыши, хомяки, морские свинки), летучие мыши, кролики, мини-свиньи и обезьяны. Наибольшее количество исследований в этой области посвящено изучению УЗВ крыс и мышей, поиску ее поведенче-

ских коррелятов [8, 12, 15] и возможных физиологических механизмов [9-11].

Исследованию феномена УЗВ у других, более крупных животных было посвящено относительно немного работ. Кроме того, существует проблема выбора лабораторного животного, которое можно было бы использовать в качестве наиболее адекватной модели для изучения функционального состояния нервной системы человека, в частности, под воздействием электросна [2]. В результате тестовых экспериментальных проверок таких животных, как крысы, кролики, кошки, мини-свиньи и макаки, было

установлено, что наиболее удобными животными-моделями для исследования функциональных состояний являются мини-свиньи и кролики [6]. С учетом описанных обстоятельств, была исследована УЗВ у мини-свиней в состоянии спокойного бодрствования и во время электросна [4]. Результаты этой экспериментальной работы позволили утверждать, что способность мини-свиньи генерировать УЗВ во время электросна не утрачивается. Было установлено, что низкочастотное ритмическое электрическое воздействие, вызывающее состояние электросна, приводит к изменению спектральных характеристик ультразвукового сигнала, при этом не влияя на его частотные характеристики.

С целью продолжения изучения УЗВ животных было проведено настоящее экспериментальное исследование, направленное на сравнение способности кроликов генерировать УЗВ в состоянии спокойного бодрствования и в состоянии электросна. Выбор в качестве изучаемого животного кролика определили два обстоятельства, обнаруженные экспериментально [3]: во-первых, наличие у кролика феномена УЗВ в покое, во-вторых, сходство частотных характеристик УЗВ кролика и мини-свиньи. В этом смысле описанное здесь экспериментальное исследование является подобным исследованию, проведенному ранее на мини-свиньях [4] и повторяющему формально-методические его особенности, состоящие в общей организации экспериментальной процедуры.

Материалы и методы

Лабораторные животные

Эксперименты с животными проводили на базе ФГБУН НЦБМТ ФМБА

России. Запись данных осуществлялась на самках кроликов породы советская шиншилла в возрасте 6-10 мес. Были обследованы 8 особей, из которых для анализа отобрали 4-х. Все животные содержались в индивидуальных клетках при температуре воздуха 18-22°C и относительной влажности 60-70%. В качестве пищи для кроликов использовали комбикорм ПК-90 и водопроводную очищенную воду.

Регистрация УЗВ

Волны ультразвукового диапазона записывали с помощью специальных микрофонов системы Sonotrack (Metris B.V., Нидерланды), которые устанавливали на расстоянии 20-25 см от головы животного. Запись сигнала, частота дискретизации которого составляла 200 кГц, осуществляли в цифровом формате. Регистрацию УЗВ проводили в два этапа, продолжительность каждого из которых составляла 30 мин. На первом этапе запись УЗВ осуществляли у животного, находящегося в состоянии покоя (фоновые данные), затем следовал второй этап, на котором УЗВ фиксировали у животного, подвергавшегося воздействию электросна.

Процедура электросна

Состояние электросна у кроликов инициировали с помощью низкочастотной (6 Гц) ритмической электрической стимуляции, осуществлявшейся через глазные и затылочные электроды, по которым подавались импульсы прямоугольной формы [1]. Переход животного в состояние сна контролировали путем учета изменений его физиологических и поведенческих реакций. Ритмическую стимуляцию мозга проводили с помощью бытового прибора «Электросон – ЭГСАФ-01». В течение всего воз-

действия низкочастотной стимуляции (30 мин) осуществлялась запись УЗВ.

Обработка данных

Полученные ультразвуковые данные обрабатывали путем первоначального удаления физических артефактов, представленных монотонными шумами, и последующего проведения спектрального анализа ультразвука путем быстрого преобразования Фурье (эпоха анализа составляла 10 мс, размерность преобразования – 2000 интервалов) в полосе частот 15 до 100 кГц с помощью пакета программ MATLAB методом Уэлча (функция `pwelch`). В результате были получены значения спектральной плотности мощности (СПМ) для всего выбранного диапазона частот, которые нормировали к СПМ фона окружающей среды, в результате получали вектор-строку изменений ультразвука, в котором

находили максимум, приравнивая его к 100%, остальные значения изменяли пропорционально максимуму, после чего вычисляли медианы по каждой частоте.

Результаты и их обсуждение

В результате усреднения данных отобранных для исследования животных получили два графика зависимости СПМ от частоты ультразвука, отражающие, соответственно, УЗВ кролика в состоянии спокойного бодрствования (рис. 1) и под воздействием низкочастотной ритмической стимуляции, вызывающей у животных состояние электросна (рис. 2). Полученные в этой работе данные указывают на способность кроликов генерировать сигналы в ультразвуковом диапазоне частот, которая проявляется как в состоянии покоя, так и в состоянии электросна.

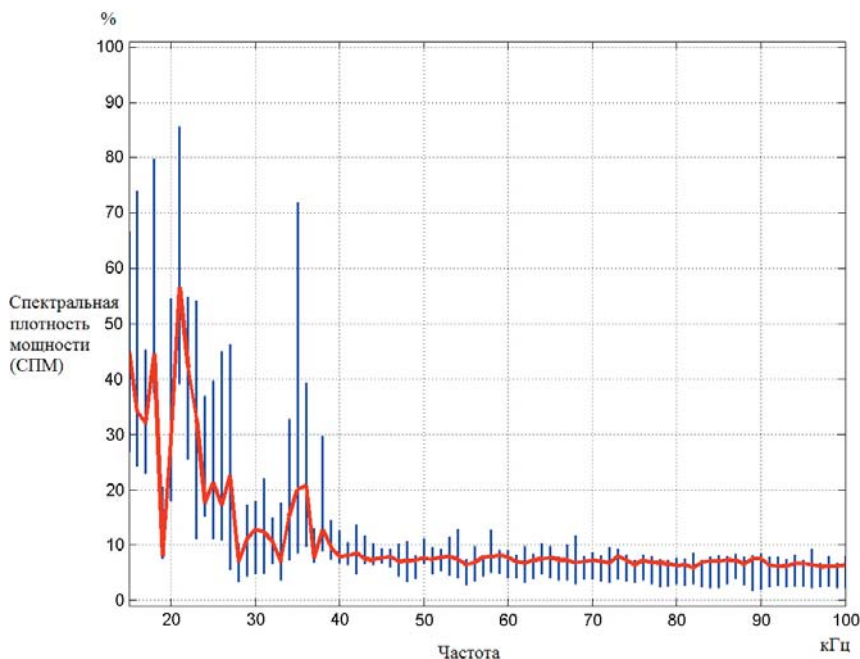


Рис. 1. График зависимости СПМ УЗВ мини-свиней от ее частоты в состоянии спокойного бодрствования. Красная кривая – медианы частот, синие вертикальные линии – 95% доверительный интервал. По оси абсцисс отложена частота (кГц), по оси ординат – СПМ УЗВ (%).

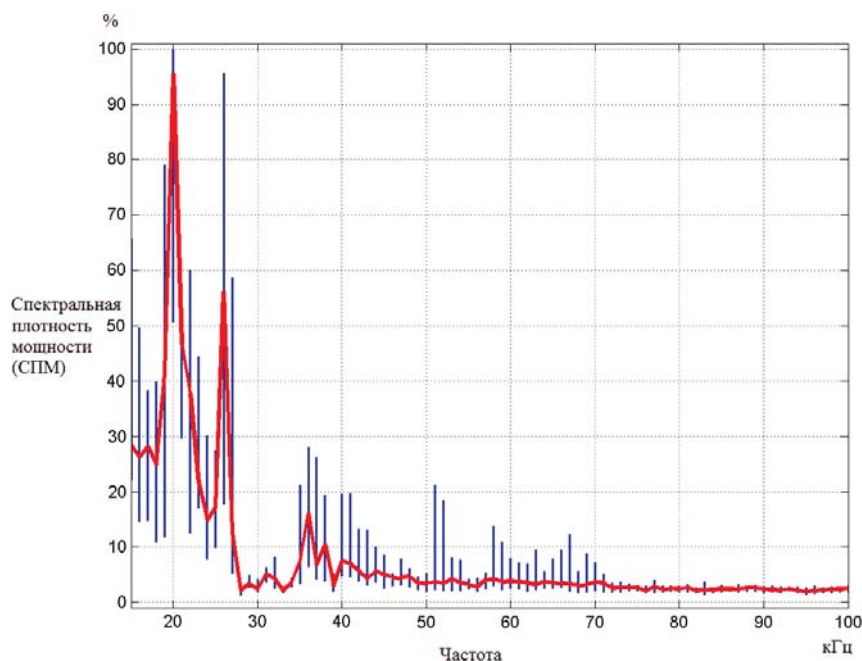


Рис. 2. График зависимости СПМ УЗВ мини-свиней от ее частоты в состоянии электросна. Обозначения – как на рис.1.

В состоянии покоя (рис. 1) УЗВ кроликов характеризуется наличием четко выделяющихся двух пиков, обнаруживающихся в диапазонах частот 20-25 и 33-38 кГц, максимальные значения СПМ для которых появляются на частоте, соответственно, 21 и 36 кГц. Этот результат согласуется с полученными ранее данными [3] о том, что для УЗВ кролика характерно появление двух пиков на частоте 23-24 и 35 кГц. Результаты настоящего исследования и работы [3] указывают на то, что первый пик характеризуется СПМ, превышающей более чем в два с половиной раза СПМ для второго пика. Следовательно, для УЗВ кролика в состоянии покоя типичным является своеобразный паттерн УЗВ, представленный двумя четко выделяющимися максимумами, среди которых

СПМ первого максимума превышает СПМ второго примерно в 2,5 раза.

В состоянии электросна УЗВ кролика (рис. 2) характеризуется схожим паттерном, в котором четко выделяются два диапазона частот, где обнаруживаются наибольшие значения СПМ. Один из экстремумов появляется в диапазоне 24-29 кГц с пиком на частоте 26 кГц, второй экстремум обнаруживается в диапазоне 32-39 кГц с пиком на 36 кГц. СПМ первого выделенного пика характеризуется величиной примерно в 3,5 раза большей, чем у второго пика.

Сравнительный анализ двух полученных графиков СПМ УЗВ кроликов в состоянии покоя и в состоянии электросна позволил выявить их сходства и различия. Сходства состоят в том, что УЗВ кролика в обоих состояниях харак-

теризуется ограниченным диапазоном частот от 20 до 40 кГц, одинаковой формой паттерна УЗВ, а также постепенным нарастанием значений СПМ. Различия УЗВ в состояниях покоя и электросна связаны с разными диапазонами частот, характерными для первого максимума СПМ. В состоянии покоя этот диапазон представлен областью 20-25 кГц с пиком на частоте около 21 кГц, а в состоянии электросна – он смещается примерно на 5 кГц и составляет 24-29 кГц с пиком на частоте 26 кГц. Также необходимо отметить некоторое уменьшение СПМ УЗВ второго пика в состоянии электросна по сравнению с состоянием покоя при неизменности значения СПМ первого экстремума.

Следовательно, на УЗВ кролика переход из состояния покоя в состояние электросна отражается, во-первых, в смещении частотного диапазона и пикового значения первого максимума примерно на 5 кГц, а, во-вторых, – в уменьшении значения СПМ второго максимума (примерно на 5%).

В предыдущих исследованиях было установлено, что типичным для УЗВ мини-свиньи, находящейся в состоянии покоя, является паттерн, представленный двумя максимумами в диапазонах частот 20-30 и 35-38 кГц [3], СПМ первого из которых примерно в 2 раза больше второго. В состоянии электросна типичный паттерн УЗВ мини-свиньи практически не меняется, происходит только относительное увеличение значений СПМ ее максимумов [4].

Проведение настоящего исследования позволило сравнить характеристики УЗВ кролика с УЗВ мини-свиньи в состоянии покоя и в состоянии электросна. Было обнаружено принципиальное

сходство паттернов УЗВ этих животных, проявляющееся в наличии двух максимумов, СПМ первого из которых является большим по сравнению со вторым. У обоих животных первый экстремум появляется в диапазоне частот 20-30 кГц, а второй – 32-39 кГц. Различия УЗВ кролика и мини-свиньи относятся к преобразованиям общей формы ультразвукового сигнала в состоянии электросна. Для мини-свиньи характерно увеличение СПМ ультразвукового сигнала под действием низкочастотной ритмической электростимуляции, а для кроликов – незначительное (на 5%) уменьшение СПМ. При этом, если у мини-свиней частотные характеристики УЗВ в покое и во время электросна остаются неизменными, то для кроликов характерно некоторое смещение (на 5 кГц) первого максимума в сторону увеличения частоты. Следовательно, воздействие низкочастотной ритмической электростимуляции приводит к различным изменениям паттернов УЗВ рассматриваемых животных.

Необходимо отметить, что кролики и мини-свиньи относятся к высшим млекопитающим, которые имеют общий план строения головного мозга с одинаковым набором его гомологичных образований [5]. Возможно, в состоянии покоя и у кроликов, и у мини-свиней мозговая активность протекает в т.н. «автоматизированном режиме», т.к. не требуется адаптивного поведения. Этим может объясняться сходство паттернов УЗВ в покое.

В отличие от состояния покоя, состояние электросна не является фоновой активностью мозга, а создается с помощью низкочастотной ритмической электростимуляции, которая воздействует

на корковые и подкорковые мозговые образования [2]. Мозг кролика от мозга мини-свиньи отличается различной долей структур новой коры от общей поверхности корковых образований: у кролика поверхность новой коры составляет примерно 56% от всей коры, у свиньи на новую кору приходится около 70% [1]. Кроме того, поверхность новой коры свиньи при визуальном анализе обнаруживает борозды и извилины, в то время как поверхность коры кролика – гладкая.

Важно отметить, что увеличение объема новой коры у млекопитающих происходит за счет усложнения структуры ее связей, уменьшения плотности нейронов и увеличения глиального индекса, вычисляемого как отношение количества глиальных клеток к числу нейронов в данном объеме мозгового вещества [1]. Приведенные данные позволяют нам предположить, что мозг мини-свиньи от мозга кролика отличается скорее не количественно, а качественно. Качественные изменения проявляются в том, что по мере усложнения новая кора берет на себя не только реализацию высшей нервной деятельности, но и выполняет многие функции, принадлежавшие ранее стволовым структурам мозга и базальным ядрам [5]. Следовательно, сравниваемые животные характеризуются не только разным вкладом образований новой коры в общую мозговую активность, но – главное – тем, как происходит реализация «корковых» и «подкорковых» функций.

Другими словами, доля функций, реализуемых корковыми образованиями, у мини-свиньи больше, чем у кролика. Низкочастотная ритмическая электро-

стимуляция оказывает различное действие на мозговую деятельность этих животных, которое, в частности, приводит к разным изменениям ультразвукового сигнала. У мини-свиньи происходит увеличение СПМ всего паттерна УЗВ, что может быть связано с уменьшением вклада корковой составляющей, приводящим к подавлению всех ее функций. У кролика происходит смещение первого максимума УЗВ и СПМ второго максимума. Это может быть связано с подавлением корковых отделов на фоне сохранения активности подкорковых структур, реализующих соответствующие функции.

Выводы

На основе анализа полученных результатов проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1) была экспериментально подтверждена способность кролика генерировать УЗВ не только в состоянии покоя, но и под воздействием низкочастотной ритмической электростимуляции (состояние электросна);

2) сравнительный анализ параметров и паттернов УЗВ кролика показал сходство общей формы УЗВ, ее частотных и спектральных характеристик в исследуемых состояниях;

3) смена состояния спокойного бодрствования состоянием электросна у кролика проявляется в смещении частотного диапазона и пикового значения первого экстремума примерно на 5 кГц и в уменьшении значения СПМ второго экстремума (примерно на 5%);

4) сравнение УЗВ кролика и мини-свиньи показало их принципиальное сходство в состоянии покоя и некоторые различия в состоянии электросна.

Список литературы

1. *Блинков С.М., Глезер И.И.* Мозг человека в цифрах и таблицах. – Л.: Медицина, 1964.
2. *Гиляровский В.А., Ливенцев Н.М., Сегаль Ю.Е., Кириллова З.А.* Электросон. – М.: Медгиз, 1958. – 172 с.
3. *Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Сахаров Д.С., Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Чайванов Д.Б.* Ультразвуковая вокализация и ее информативные параметры у животных и человека // Биомедицина. – 2011. – № 1. – С. 4-23.
4. *Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Чайванов Д.Б., Чудина Ю.А., Николаев А.А.* Влияние транскраниальной низкочастотной электро-стимуляции головного мозга на спектральные характеристики ультразвуковой вокализации мини-свиней светлогорской популяции // Биомедицина. – 2015. – № 3. – С. 20-26.
5. *Ромер А., Парсонс Т.* Анатомия позвоночных. Т. 2 / Пер. с англ. – М.: Мир, 1992. – С. 308-313.
6. *Чайванов Д.Б., Станкова Н.В.* Анализ ограничений моделирования на животных физических методов модуляции и диагностики функционального состояния нервной системы человека с целью выбора животного-модели // Биомедицина. – 2013. – № 4. – С. 164-168.
7. *Brudzynski S.M., Neville H.* Fletcher Rat ultrasonic vocalization: short-range communication // Handbook of mammalian vocalization. – 2010. – No. 3. – Pp. 69-76.
8. *Burgdorf J., Kroes R.A., Moskal J.R., Pfaus J.G., Brudzynski S.M., Panksepp J.* Ultrasonic vocalizations of rats (*Rattus norvegicus*) during mating, play, and aggression: Behavioral concomitants, relationship to reward, and self-administration of playback // J. Comp. psychol. – 2008. – No. 122(4). – Pp. 357-67.
9. *Carruthers I.M., Natan R.G., Geffen M.N.* Encoding of ultrasonic vocalizations in the auditory cortex // J. Neurophysiol. – 2013. – No. 109. – Pp. 1912-1927.
10. *Ciucci M.R., Ahrens A.M., Ma S.T., Kane J.R., Windham E.B., Woodlee M.T., Schallert T.* Reduction of dopamine synaptic activity: Degradation of 50-kHz ultrasonic vocalization in rats // Behav. neurosci. – 2009. – No. 123(2). – Pp. 328-336.
11. *Hage S.R., Gavrilov N., Salomon F., Stein A.M.* Temporal vocal features suggest different call-pattern generating mechanisms in mice and bats // BMC Neuroscience. – 2013. – No. 14. – P. 99.
12. *Portfors C.V.* Types and functions of ultrasonic vocalizations in laboratory rats and mice // J. of the Am. Association for laboratory animal science. – 2007. – Vol. 46. – No. 1. – Pp. 28-34.
13. *Ramsier M.A., Cunningham A.J., Moritz G.L., Finneran J.J., Williams C.V., Ong P.S., Gursky-Doyen S.L., Dominy N.J.* Primate communication in the pure ultrasound // Biology Letters. – 2012. [Epub ahead of print].
14. *Schuh D., Hoy S.T., Selzer D.* Vocalization of rabbit pups in the mother-young relationship. // Proceedings of the 8th World Rabbit Congress, Puebla, Mexico. – 2004. – Pp. 1266-1270.
15. *Sirotnin Y.B., Costa M.E., Laplagne D.A.* Rodent ultrasonic vocalizations are bound to active sniffing behavior // Frontiers in behavioral neuroscience. – 2014. – Vol. 8. – Article 399. – Pp. 1-12.

Research of influence of low-frequency rhythmic electro-stimulation of subcrustal structures of rabbit brain on its ability to ultrasonic vocalization

V.N. Karkischenko, Yu.V. Fokin, Yu.A. Chudina, A.E. Emel'yanova,
A.A. Nikolaev, D.B. Chayvanov

In work on the basis of experimental research, a comparative analysis of ultrasonic vocalizations of rabbits in a state of rest and during exposure to low-frequency rhythmic electrical stimulation (electric sleep) was carried out. The rest characterized typical two-peak shape of the ultrasonic signal: first peak of USV with greater power spectral density occurs in the frequency range of 20-25 kHz, while the second peak – in the range of 33-38 kHz. In the state of the ability to generate rabbit's ultrasound electric sleep stored as ultrasonic waveform is similar to that of the rest. Low-frequency repetitive stimulation leads to a shift of the first peak of ultrasonic vocalizations in frequency and a slight decrease of the power spectral density of the second peak.

Key words: ultrasonic vocalization, electric sleep, low-frequency rhythmic electrical stimulation, rabbits.