

Влияние транскраниальной низкочастотной электростимуляции головного мозга на спектральные характеристики ультразвуковой вокализации мини-свиней светлогорской популяции

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

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 приведен сравнительный анализ параметров ультразвуковой вокализации мини-свиней светлогорской популяции в состоянии спокойного бодрствования и под воздействием электросна. Сходной характеристикой обоих состояний является преобладание спектральной плотности мощности ультразвука на частотах 15-20 кГц. Состояния спокойного бодрствования и электросна различаются спектральной плотностью мощности в интервалах 20-30 и 32-38 кГц. Эти эффекты могут отражать взаимосвязь ультразвуковой вокализации и цикла дыхания. Анализ ультразвуковой вокализации животных при действии электросна может быть рекомендован в качестве модельного метода оценки гипногенных эффектов фармакологических средств, а также доклинических исследований средств, обладающих снотворным и другими сходными действиями.

Ключевые слова: ультразвуковая вокализация, электросон, низкочастотная ритмическая электростимуляция, спектральная плотность мощности, мини-свиньи.

Введение

Наличие феномена ультразвуковой вокализации (УЗВ) экспериментально подтверждено у разных млекопитающих: как у относительно мелких животных (крыс, мышей, морских свинок, летучих мышей) [12], так и у более крупных, например, у кроликов, мини-свиней и обезьян; у человека УЗВ регистрируется, в основном, при физических и эмоциональных нагрузках [2].

Феномен УЗВ состоит в том, что животные генерируют УЗВ-сигналы в диапазоне, неслышимом для человеческого уха, и, как показывают иссле-

дования, способны воспринимать и реагировать на такие сигналы от своих сородичей, а также воспроизводить или повторять их [8].

Наиболее широко изучен феномен УЗВ у грызунов – в частности, у крыс. Способность производить УЗВ-сигналы, по мнению исследователей, связана с особенностями устройства гортани грызунов и с наличием в ней специфического свистящего механизма [6], а также с особенностями модуляции дыхательного цикла [12]. Восприятие ультразвука, связанное с возможностью распознавать УЗВ сородичей, обусловлено наличием

нейронов, избирательно настроенных на характеристики (частота и интенсивность) ультразвукового сигнала, в первичной слуховой коре крыс [10]. Таких нейронов, как отмечают авторы работы, в первичной слуховой коре этих животных – множество, и интенсивность их ответа напрямую зависит от частотных характеристик естественного ультразвукового сигнала.

Экспериментально было доказано, что УЗВ может использоваться как метод оценки положительных и отрицательных эмоциональных и мотивационных состояний животных, уровня стрессового воздействия, а также особенностей коммуникативного поведения. Такие характеристики ультразвука, как узконаправленность, быстрое затухание и рассеивание сигнала уменьшают успешность локализации его источника, что делает данный механизм удобным приспособлением для близкой коммуникации в условиях опасности [6].

Тестирование УЗВ лабораторных крыс в различных стрессовых состояниях показало зависимость динамики ее изменений от уровня стрессорного воздействия [5]. Исходное комфортное состояние животных характеризуется преобладанием спектральной плотности мощности (СПМ) УЗВ в частотном диапазоне 30-60 кГц и изменяется под воздействием стресс-факторов. Например, состояние полной иммобилизации вызывает смещение максимальной СПМ УЗВ в диапазон 20-30 кГц, а электрокожное раздражение приводит к расширению частотного диапазона УЗВ от 20 до 80 кГц).

УЗВ мини-свиней в состоянии спокойного бодрствования характеризуется максимальными значениями СПМ на

частоте около 21-22 кГц, наличием дополнительных пиков на 27-28 и 35 кГц. Далее СПМ УЗВ снижается по мере возрастания частоты, т.е. ультразвук частотой более 58 кГц у мини-свиней выражен плохо [2]. Забегая вперед, отметим, что результаты настоящей работы в целом подтверждают эти данные, полученные ранее.

Выполняя коммуникативные функции, УЗВ также является и индикатором психоэмоционального состояния животных. В частности, максимальные значения СПМ УЗВ крыс в диапазоне частот 20-30 кГц являются показателем дискомфорта с признаками тревоги, волнения и дистресса, а полоса 35-45 кГц – показателем комфортного состояния [4, 14]. Эти исследования согласуются с многочисленными экспериментами по изучению УЗВ взрослых крыс, у которых были выделены два паттерна УЗВ, характеризующиеся разными частотами. Первый паттерн УЗВ частотой 22 кГц является реакцией взрослой особи на появление опасного или отрицательного стимула и соответствует «крику опасности», второй паттерн характеризуется частотой 50 кГц и соответствует позитивному или нейтральному состоянию животного и обозначается как «крик желания» и покоя [8, 13]. Более подробные исследования второго паттерна показали, что УЗВ частотой 50 кГц возникает на гедонические стимулы и подавляется отрицательными воздействиями. Эту вокализацию, в отличие от первого паттерна, животные охотно воспроизводят, и периодичность ее воспроизведения определяется ценностью ожидаемой награды [9]. Рассмотренные типы, или паттерны, УЗВ крыс различаются акустическими параметрами, их

возникновение определяется активацией разных восходящих путей переднего мозга: УЗВ частотой 22 кГц связана с активацией холинергической системы, а УЗВ частотой 50 кГц сопровождается возбуждением дофаминергической системы [7, 11]. Следовательно, формирование этих специфических паттернов УЗВ провоцируется активацией соответствующих нейрхимических систем мозга, что, в частности, указывает на их связь с разными эмоциональными состояниями животного.

Изучение УЗВ других млекопитающих, кроме мелких грызунов, пока не получило широкого распространения. Экспериментальные исследования, проведенные на базе НЦБМТ ФМБА России, показали, например, определенные графические сходства в картине УЗВ кроликов и мини-свиней, состоящие в снижении СПМ генерируемой УЗВ с нарастанием ее частоты, а также в прямой взаимосвязи частоты встречаемости УЗВ-сигнала с его спектральной мощностью.

Целью настоящей работы явился анализ характеристик УЗВ мини-свиней светлогорской популяции под влиянием транскраниальной низкочастотной электростимуляции головного мозга для дальнейшего применения данной модели в качестве метода оценки гипногенных эффектов фармакологических средств, а также доклинических исследований средств, в т.ч. обладающих снотворным и другими сходными действиями.

Материалы и методы

Лабораторные животные. Исследования проводили на базе НЦБМТ ФМБА России. Запись эксперименталь-

ных данных осуществлялась на самцах мини-свиней светлогорской популяции в возрасте 1-1,5 года. В эксперименте принимали участие четыре особи, из которых по результатам анализа отобрали трех (от четвертой мини-свиньи не было получено убедительных данных по УЗВ).

Все мини-свиньи содержались в индивидуальных станках при температуре воздуха 18-22°C и относительной влажности 60-70%. Животных кормили комбикормом ПК-58 и давали очищенную водопроводную воду.

Регистрация УЗВ. Запись волн ультразвукового диапазона осуществлялась с помощью специальных микрофонов системы Sonotrack (Metris B.V., Нидерланды), установленных на расстоянии 20-25 см от головы животного. В процессе записи информативных параметров УЗВ в данном исследовании было учтено наличие ультразвуковых шумов, производимых системами отопления, вентиляции и сопряженных с работой компьютера, были применены способы устранения этих ультразвуковых шумов [3]. Ультразвуковые сигналы записывались в цифровом формате, частота дискретизации – 200 кГц. УЗВ-показатели каждого животного фиксировали отдельно. Регистрация УЗВ осуществлялась в два этапа, продолжительность каждого из которых составляла 30 мин. Первый этап записи УЗВ осуществляли у животного, находящегося в состоянии спокойного бодрствования, второй этап – у животного, подвергавшегося воздействию электросна.

Процедура электросна. Состояние электросна у мини-свиней светлогорской популяции достигалось с помощью низкочастотной (6 Гц) ритмической электрической стимуляции,

осуществлявшейся через глазничные и затылочные электроды, по которым на мозг подавались импульсы прямоугольной формы [1]. Переход животного в состояние сна подтверждали на основе изменения его физиологических и поведенческих реакций. Ритмическая стимуляция мозга осуществлялась с помощью бытового прибора «Электросон – ЭГСАФ-01».

Обработка данных. Первичная обработка полученных данных УЗВ заключалась в удалении физических артефактов, представленных монотонными шумами, и проведении спектрального анализа ультразвука путем быстрого преобразования Фурье, осуществляемого в частотной полосе 15-100 кГц (эпоха анализа – 10 мс, размерность быстрого преобразования Фурье – 2000 интервалов). Обработку проводили с помощью пакета программ SKILAB-5.4 методом Уэлча (функция *pwelch*). В результате получали значения СПМ по каждой частоте УЗВ.

Результаты и их обсуждение

В результате усреднения данных, полученных от всех животных отдельно по каждому этапу исследования, были построены графики зависимости СПМ от частоты УЗВ в состоянии спокойного бодрствования и во время электросна, представленные на рисунке. Сравнительный анализ показал практически их слияние в области 15-19 кГц и некоторые различия в остальном анализируемом диапазоне, выражающиеся, в основном, в увеличении СПМ УЗВ под воздействием электросна при схожем графическом характере двух кривых. Иными словами, воздействие низкочастотной ритмической электростимуля-

ции улучшает способность мини-свиней генерировать УЗВ-сигналы во время электросна по сравнению с состоянием спокойного бодрствования. Значимые различия в СПМ УЗВ двух этапов исследования были выявлены для диапазонов частот 20-30 и 32-38 кГц, являющихся типичными для УЗВ мини-свиней [2].

Повышение СПМ УЗВ во время сна, вызванного низкочастотной ритмической электростимуляцией, может быть связано с изменениями параметров дыхания, которое во сне углубляется и перестает зависеть от необходимости передавать коммуникативные сигналы.

В работах некоторых исследователей у млекопитающих была обнаружена связь между УЗВ и дыхательным циклом, которая может проявляться в виде встраивания УЗВ в нормальный цикл дыхания или в виде модуляции (изменения) дыхательного цикла со стороны УЗВ для передачи ультразвукового сигнала нужной длительности. Первый тип взаимосвязи УЗВ и дыхания характерен для летучих мышей и др. млекопитающих, производящих УЗВ с той же частотой, что и крысы [14], второй тип обнаружен у мышей, человекообразных и нечеловекообразных обезьян [12]. Сравнительный анализ временных паттернов УЗВ и дыхания у летучих и лабораторных мышей показал наличие существенных различий. У летучих мышей механизм формирования эхолокационных УЗВ-сигналов высоко коррелирует с циклом дыхания. Напротив, у лабораторных мышей формирование УЗВ оказывается практически не зависимым от цикла дыхания, что позволяет предположить сходство механизмов генерации паттернов УЗВ мышей с таковыми у приматов [12].

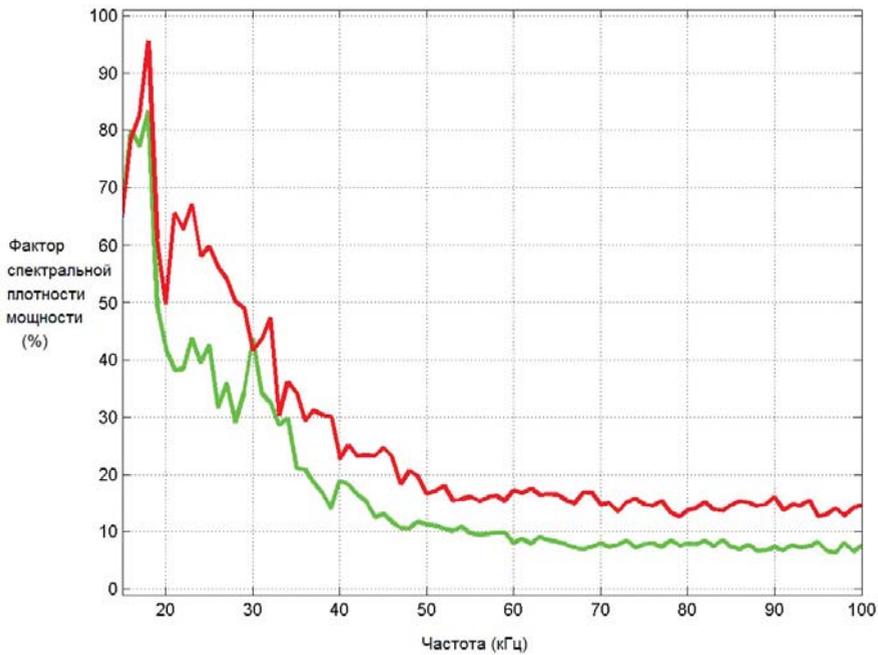


Рис. УЗВ мини-свиней в состоянии спокойного бодрствования (зеленая кривая) и электросна (красная кривая). По оси абсцисс – частота (кГц), по оси ординат – СПМ (%).

В проведенной работе показано, что в состоянии электросна СПМ УЗВ мини-свиней в целом растет и значимо увеличивается для определенного диапазона частот, что может быть следствием торможения систем взаимодействия с окружающей средой, в т.ч. обеспечивающих передачу социальной информации с помощью УЗВ. Другими словами, в состоянии электросна УЗВ мини-свиней появляется как результат прохождения воздуха через гортань, которое не несет коммуникативной или другой социальной информации. Интересным является сравнение отдельных частот УЗВ спящей и бодрствующей мини-свиньи. Для состояния спокойного бодрствования этих животных характерно наличие наибольших зна-

чений СПМ УЗВ на частотах 18, 23-25 и 30 кГц, в то время как для состояния электросна наибольшие значения СПМ УЗВ появляются для частот 17 и 21-23 кГц. Это, предположительно, может указывать на то, что УЗВ частотой 17-25 кГц является следствием дыхательных движений гортани и поэтому проявляется в обоих состояниях, а УЗВ частотой 30 кГц, которая возникает только во время бодрствования, отражает процесс собственно вокализации, связанной с биосоциальными условиями обитания. Полученные результаты, возможно, свидетельствуют о том, что мини-свиньи являются животными вторым типом взаимосвязи УЗВ и дыхания, предполагающим наличие модуляционных эффектов УЗВ.

Выводы

Проведенное исследование подтверждает наличие у мини-свиней светлогорской популяции феномена УЗВ, максимальные значения СПМ которой принадлежат частотному диапазону 17-35 кГц и затем снижаются по мере возрастания частоты.

Сравнительный анализ УЗВ в состоянии спокойного бодрствования и при воздействии низкочастотной электростимуляции выявил различия в частотно-спектральных характеристиках УЗВ. СПМ УЗВ во время электросна на всем анализируемом частотном диапазоне больше, чем в состоянии спокойного бодрствования. Кроме того, в состоянии спокойного бодрствования обнаруживается пик СПМ УЗВ на частоте около 30 кГц, отсутствующий в УЗВ при электросне. Возможно, данный эффект является характерным признаком состояния спокойного бодрствования и следствием модуляции ультразвуковой вокализацией дыхательного цикла.

Анализ информативных параметров УЗВ мини-свиней под влиянием транскраниальной низкочастотной электростимуляции головного мозга может быть рекомендован в качестве метода оценки гипногенных эффектов фармакологических средств, а также доклинических исследований средств, в т.ч. обладающих снотворным и другими сходными действиями.

Список литературы

1. *Гиляровский В.А., Ливенцев Н.М., Сегаль Ю.Е., Кириллова З.А.* Электросон. - М.: Медгиз, 1958. 172 с.
2. *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.

3. *Каркищенко Н.Н., Чайванов Д.Б., Фокин Ю.В.* Рекомендации по устранению шумов при записи параметров ультразвуковой вокализации животных и человека // Вестник Психофизиологии. 2012. № 1. С. 45-47.
4. *Фокин Ю.В.* Влияние пептидов и низкомолекулярных белков природного происхождения на вокализацию крыс в ультразвуке // Биомедицина. 2012. № 2. С. 84-91.
5. *Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н.* Вокализация крыс в ультразвуковом диапазоне как модель оценки стрессового влияния обездвиживания, электрокожного раздражения и физической нагрузки фармакодинамики лекарств // Биомедицина. 2010. № 5. С. 17-21.
6. *Brudzynski S.M., Neville H.* Fletcher Rat ultrasonic vocalization: short-range communication // Handbook of mammalian vocalization. 2010. No. 3. P. 69-76.
7. *Brudzynski S.M.* Communication of adult rats by ultrasonic vocalization: biological, sociobiological, and neuroscience approaches // ILAR J. 2009 Vol. 50 Iss. 1. P. 43-50.
8. *Burgdorf J., Kroes R.A., Moskal J.R., Pfau 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. Vol. 122(4). P. 357-67.
9. *Burgdorf J., Moskal J.R.* Frequency modulated 50 kHz ultrasonic vocalizations reflect a positive emotional state in the rat: neural substrates and therapeutic implications // Handbook of mammalian vocalization. - Oxford: Academic Press. 2009. P. 209-214.
10. *Carruthers I.M., Natan R.G., Geffen M.N.* Encoding of ultrasonic vocalizations in the auditory cortex // J. Neurophysiol. 2013. Vol. 109. P. 1912-1927.
11. *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. Vol. 123(2). P. 328-336.
12. *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. Vol. 14. P. 99.

13. *Portfors C.V.* Types and functions of ultrasonic vocalizations in laboratory rats and mice // J. of the American Association for laboratory animal science. 2007. No 1. Vol. 46. P. 28-34(7).

14. *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, Art. 399. P. 1-12.

Influence of low-frequency transcranial electrostimulation of the brain on the spectral characteristics of ultrasonic vocalizations of mini-pigs of Svetlogorsk population

**V.N. Karkischenko, Yu.V. Fokin, D.B. Chayvanov, Yu.A. Chudina,
A.A. Nikolaev**

The article presents a comparative analysis of the parameters of ultrasonic vocalizations of mini-pigs of Svetlogorsk population in the state of wakefulness and when exposed to electric sleep. Similar characteristics of both conditions is the prevalence of the power spectral density of ultrasound at frequencies of 15-20 kHz. The states of wakefulness and electric sleep have different spectral power density in the intervals 20-30 and 32-38 kHz. These effects may reflect the relationship of ultrasonic vocalizations and breathing cycle. The analysis of ultrasonic vocalization of animals when exposed to electric sleep can be recommended as a modeling method of evaluating of the hipnogen effects of pharmacological means, and also preclinical researches of the means possessing sleeping pill and other similar actions.

Key words: ultrasonic vocalization, electric sleep, low-frequency rhythmical electrical stimulation, spectral power density, mini-pigs of Svetlogorsk population.