

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

САВЧЕНКО АРТЕМ АЛЕКСЕЕВИЧ

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОТЕРАПИЯ АПАТОПОДОБНОГО
СОСТОЯНИЯ У КРЫС**

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Суханов Илья Михайлович,
доктор медицинских наук

Санкт-Петербург – 2025

Оглавление	
ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1 Современные представления о синдроме апатии	13
1.2 Основные методы изучения и моделирования апатоподобных нарушений в эксперименте	17
1.3 Характеристика режима ВС как метода изучения целенаправленной активности.....	19
1.4 Нейрохимические механизмы апатоподобных нарушений целенаправленного поведения	22
1.4.1 Роль дофамина	22
1.4.2 Роль серотонина.....	27
1.4.3 Роль норадреналина.....	29
1.4.4 Роль других нейромедиаторов.....	30
1.5 Перспективы фармакокоррекции апатии.....	31
1.5.1 Применение психостимуляторов	31
1.5.2 Атипичные ингибиторы DAT – перспективная группа средств фармакокоррекции апатии	33
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	35
2.1 Вещества.....	35
2.2 Животные	38
2.2.1 DAT-КО крысы	38
2.2.2 TRH2-КО крысы.....	41
2.2.3 Условия содержания животных	43
2.3 Экспериментальные методики.....	44

2.3.1	Оценка двигательной активности	44
2.3.2	Оценка оперантного поведения.....	45
2.4	Дизайн исследования	49
2.4.1	Изучение влияния нарушения функций белков-регуляторов моноаминергической нейротрансмиссии и действия немонаминергических психостимуляторов на целенаправленное поведение в условиях возрастания затрат усилий.....	49
2.4.2	Анализ эффективности блокады канала NMDA-рецепторного комплекса и ингибирования DAT в условиях снижения моноаминергической нейротрансмиссии.....	51
2.5	Статистическая обработка данных	51
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ		53
3.1	Изучение влияния нарушения функций белков-регуляторов моноаминергической нейротрансмиссии на целенаправленное поведение.....	53
3.1.1	Изучение поведения DAT-KO крыс.....	53
3.1.2	Эффект GBR-12909.....	59
3.1.3	Эффект атомoksetина.....	61
3.1.4	Эффект амфетамина	64
3.1.5	Эффект флуoksetина	68
3.1.6	Изучение поведения TRH2-KO крыс	72
3.1.7	Обсуждение результатов.....	76
3.2	Изучение действия немонаминергических веществ с психостимулирующими свойствами на целенаправленное поведение	84
3.2.1	Эффект никотина	84
3.2.2	Эффект кофеина.....	87

3.2.3 Эффект кетамина	90
3.2.4 Эффект МК-801	93
3.2.5 Обсуждение результатов.....	97
3.3 Моделирование апатоподобного состояния.....	101
3.3.1 Влияние тетрабеназина на двигательную активность крыс	101
3.3.2 Оценка эффекта тетрабеназина в режиме подкрепления ФСЗ-ФИ240 .	103
3.3.3 Оценка влияния тетрабеназина на поведение крыс в режиме подкрепления ВСЗ	103
3.3.4 Обсуждение результатов.....	106
3.4 Фармакокоррекция тетрабеназин-индуцированного апатоподобного состояния.....	109
3.4.1 Эффект СЕ-123.....	109
3.4.2 Эффект МК-801	114
3.4.3 Эффект мемантина.....	117
3.4.4 Обсуждение результатов.....	121
3.5 Общие вопросы для обсуждения	123
ОБСУЖДЕНИЕ.....	126
ВЫВОДЫ	132
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	134
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	135
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	136

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Апатия — один из трансдиагностических феноменов, сопровождающих многие нейropsychические расстройства. Частота встречаемости апатии может превышать 50% среди пациентов с такими социально значимыми заболеваниями как болезнь Альцгеймера, шизофрения, болезнь Паркинсона (БП) [93]. Кроме того, по данным инфекционного госпиталя ФГБУ ФСНКЦ ФМБА России апатия наряду с астенией является наиболее частым (более 80%) из внелегочных проявлений новой коронавирусной инфекции COVID-19 [1], что подчеркивает её распространенность среди пациентов не только неврологического и психиатрического, но и других профилей. Апатия является одной из основных причин снижения качества и продолжительности жизни, ухудшения повседневного функционирования и физического самочувствия, повышения частоты повторных госпитализаций, а также увеличения нагрузки на социальных работников и родственников, осуществляющих уход за больными [54, 71]. При этом эффективность препаратов, используемых в настоящее время в клинической практике для коррекции апатии, остается низкой [4, 172]. Подобная ситуация может быть связана с недостаточной изученностью патофизиологических механизмов апатии, а также с недостатком валидных доклинических моделей апатопоподобных состояний.

Несмотря на имеющиеся разногласия в определении апатии в последние годы в научном сообществе сложилось представление о том, что ключевой характеристикой феномена апатии является снижение целенаправленной активности [93, 168]. Следовательно, именно нарушения целенаправленного поведения можно рассматривать как основные поведенческие корреляты апатии, которые пригодны для объективного изучения и экспериментального

воспроизведения на лабораторных животных. Предполагают, что один из механизмов подобных изменений может быть связан с дисфункцией фронтостриарной системы [115]. На нейромедиаторном уровне основную роль в регуляции целенаправленной активности приписывают дофамину, а нарушения дофаминергической нейротрансмиссии считают ключевыми для развития апатии [81]. Предполагают, однако, что и другие нейромедиаторы-моноамины, в первую очередь серотонин и норадреналин, также могут быть вовлечены в процессы регуляции целенаправленного поведения, и, соответственно, нарушения их баланса также могут сопровождаться развитием апатии [93, 116, 119].

Одним из валидированных экспериментальных подходов к изучению целенаправленного поведения является оперантный режим подкрепления «возрастающее соотношение» (ВС), в котором число оперантных реакций, необходимых для получения подкрепления, постепенно увеличивается [89, 104]. Современные подходы к анализу поведения в режиме ВС позволяют не только выявить изменения целенаправленной активности, но и определить, связаны ли они с уровнем мотивации животного [26]. Известно, что развитие апатии может происходить как за счет повышения чувствительности к количеству усилий, которые необходимо приложить для достижения результата, так и за счет снижения ценности этого результата для организма [25, 125]. Использование режима подкрепления ВС позволяет оценить вклад обоих этих факторов в развитие нарушений целенаправленной активности и поэтому данный метод может быть высокоинформативным инструментом изучения механизмов и моделирования апатоподобного состояния. К настоящему времени опубликовано немало работ, посвящённых исследованию влияния фармакологических и нефармакологических воздействий на поведение крыс в режиме ВС, однако существенные различия в деталях методик и подходах к анализу данных зачастую приводят к противоречивым результатам и затрудняют их обобщение. Кроме того, основное внимание в ряду этих исследований уделено дофамину, в то время как другие нейромедиаторные системы, в том числе серотонин-, норадреналин-,

глутамат- и ацетилхолинергическая, большей частью остаются вне фокуса внимания исследователей.

Учитывая, что развитие апатии сопровождается комплексными нейромедиаторными сдвигами, их воспроизведение на животных моделях может быть целесообразным для изучения нарушений целенаправленного поведения, а также являться оптимальным с точки зрения конструктивной валидности. Одной из перспективных моделей могут служить поведенческие изменения у крыс, находящихся под действием тетрабеназина (ТБЗ) – ингибитора везикулярного транспортера моноаминов 2 типа (англ. vesicular monoamine transporter 2, VMAT2). Действие ТБЗ сопровождается снижением уровня моноаминовых нейромедиаторов в ЦНС [110, 219]. Хорошо известно, что под влиянием ТБЗ животные предпочитают менее трудозатратные поведенческие опции, ассоциированные с меньшим количеством или качеством награды [164, 219]. Этот факт позволяет предположить, что животные под действием ТБЗ могут демонстрировать нарушения целенаправленной активности и в режиме подкрепления ВС.

Теоретически для фармакотерапии апатии могут представлять интерес несколько групп фармакологически активных веществ. Одной из них являются психостимуляторы, большая часть которых по механизму действия относится к ингибиторам обратного захвата моноаминов. Относительно недавно были синтезированы новые модафинил-подобные ингибиторы дофаминавого транспортера (DAT), обладающие высокой селективностью и, как полагают, меньшим аддиктивным потенциалом вследствие атипичного профиля взаимодействия с DAT [99]. Показано, что одно из таких соединений, SE-123, способно устранять ТБЗ-индуцированные поведенческие нарушения в задаче выбора между опциями с высокими и низкими трудозатратами [170]. Стоит, однако, отметить, что в случае таких нейродегенеративных заболеваний как болезнь Паркинсона воздействие на обратный захват дофамина может быть малоэффективным вследствие выраженного дефицита данного нейромедиатора. В

связи с этим особый интерес представляют стимуляторы, основной мишенью которых не является дофаминергическая система. В частности, к таким веществам относятся антагонисты глутаматных рецепторов NMDA-подтипа, обладающие терапевтическим потенциалом при различных нейropsychических расстройствах [6]. Имеются отдельные свидетельства в пользу эффективности мемантина в отношении проявлений апатии при болезни Альцгеймера (БА) [13], а доказанный антидепрессантный эффект других препаратов данной группы, эскетамина и декстрометорфана [120, 208], позволяет предположить, что такие вещества могут сочетать антидепрессантную и «антиапатическую» активность, что является несомненным преимуществом в случае проблемы терапии апатии при депрессии, учитывая способность некоторых антидепрессантов, в частности селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС), провоцировать развитие апатии.

Таким образом, антагонисты глутаматных рецепторов NMDA-подтипа по механизму действия и спектру фармакологических эффектов обладают комплексом свойств, позволяющих рассматривать их в качестве потенциальных средств для фармакотерапии апатии.

Цель исследования: экспериментально изучить влияние веществ с установленной фармакологической активностью (ингибиторов транспортеров моноаминов и немоноаминергических психостимуляторов) на целенаправленное поведение крыс в норме и в условиях экспериментальной гиподофаминергии для выявления соединений с «антиапатическим» действием.

Задачи исследования:

1. Оценить влияние ингибиторов дофаминового, серотонинового и норадреналинового транспортеров на целенаправленное поведение у крыс;
2. Подтвердить изменения целенаправленного поведения, вызванные фармакологическим ингибированием дофаминового транспортера у крыс, на генетически модифицированных животных без данного переносчика;
3. Оценить действие немоноаминергических веществ с

психостимулирующими свойствами, никотина, кофеина, МК-801 и кетамина, на целенаправленное поведение у крыс;

4. Разработать новую тест-систему на основе действия ингибитора везикулярного транспортера моноаминов 2 типа тетрабеназина на целенаправленную активность у крыс для выявления фармакологических соединений с «антиапатическим» действием;

5. Изучить эффекты атипичного высокоселективного ингибитора дофаминового транспортёра CE-123 и антагониста глутаматных рецепторов NMDA подтипа МК-801 на разработанной тест-системе.

Методология и методы исследования

Оценка целенаправленной активности проводилась в режиме подкрепления «возрастающее соотношение 3», в котором животные совершают нажатия на педаль за получение пищевого подкрепления, при этом число необходимых нажатий увеличивается на 3 после каждого полученного подкрепления (начиная с 3: 3, 6, 9 и т.д.). Изучение влияния нарушений моноаминергической нейротрансмиссии на целенаправленное поведение проводили с использованием генетически модифицированных животных — крыс-нокауты по гену DAT (DAT-KO) и крыс-нокауты по гену триптофангидроксилазы 2 подтипа (TRH2-KO), а также психоактивных соединений, влияющих на моноаминергическую нейротрансмиссию (флуоксетин, атомоксетин, GBR-12909, амфетамин, ТБЗ). Кроме того, оценивали эффекты веществ с психостимулирующими свойствами, которые могут представлять интерес в контексте фармакокоррекции апатии (никотин, кофеин, МК-801, кетамин). Для моделирования апатопоподобного состояния и разработки тест-системы использовали ТБЗ, валидация которой осуществлялась с помощью ингибитора DAT CE-123. С целью фармакокоррекции апатопоподобного состояния изучали эффективность антагониста глутаматных рецепторов NMDA-подтипа МК-801 на разработанной тест-системе. Эксперименты проводили в соответствии с рекомендациями «Руководства по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» [5].

Научная новизна

Предложена и валидирована новая тест-система на основе действия ТБЗ для поиска фармакологических агентов с «антипатическим» эффектом, обладающая более высокой по сравнению с описанными в литературе конструктивной валидностью. В работе впервые установлена эффективность антагониста глутаматных рецепторов NMDA-подтипа МК-801 на полученной тест-системе.

В работе впервые показано, что:

1. Генетическое выключение DAT, а также действие высоких доз амфетамина и никотина сопровождаются подавлением целенаправленной активности в условиях низких затрат усилий, а также ее повышением в условиях высоких затрат усилий;

2. Дефицит серотонина в ЦНС не приводит к снижению целенаправленной активности, а нарушение обратного захвата серотонина сопровождается снижением целенаправленной активности за счет уменьшения поощрительной ценности подкрепления;

3. Ингибитор DAT GBR-12909 и кофеин способны повышать целенаправленную активность за счет увеличения ценности подкрепления;

4. Действие кетамина сопровождается снижением целенаправленной активности;

5. Антагонист глутаматных рецепторов NMDA-подтипа МК-801 повышает целенаправленную активность за счет увеличения толерантности к количеству требуемых усилий;

6. Действие ТБЗ сопровождается снижением целенаправленной активности за счет снижения толерантности к количеству требуемых усилий;

7. Атипичный высокоселективный ингибитор DAT CE-123 способен устранять ТБЗ-индуцированные нарушения целенаправленной активности в режиме подкрепления ВСЗ.

Научно-практическая значимость

В рамках настоящего исследования подтверждена ключевая роль

нарушений дофаминергической нейротрансмиссии в развитии апатоподобного состояния. Получены экспериментальные данные, подтверждающие, что один из ключевых белков-регуляторов передачи сигнала в дофаминергических синапсах – DAT – является перспективной фармакологической мишенью для разработки средств фармакотерапии апатии. Кроме того, установлено, что глутаматные рецепторы NMDA-подтипа вовлечены в механизмы регуляции целенаправленной активности и также являются перспективной мишенью для разработки «антиапатических» средств.

Разработана новая тест-система для поиска потенциальных средств фармакокоррекции апатии. По сравнению с аналогами в литературе, предложенная система обладает большей валидностью, в частности, внешней валидностью (воспроизведение основной характеристики апатии – нарушения толерантности к количеству необходимых усилий), конструктивной валидностью (воспроизведение патогенетической основы апатии – нарушения моноаминергической нейротрансмиссии) и предиктивной валидностью (показанный стимулирующий эффект ингибитора DAT и антагониста глутаматных рецепторов NMDA-подтипа).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Нарушение функции дофаминового транспортера приводит к изменению целенаправленной активности в зависимости от требований к затратам усилий. Данный белок-регулятор моноаминергической нейротрансмиссии может являться ключевой мишенью для фармакокоррекции апатии.

2. Параметры поведения крыс под действием тетрабеназина в дозе 0,3 мг/кг в оперантном режиме пищевого подкрепления «Возрастающее соотношение 3» могут использоваться в качестве новой усовершенствованной тест-системы для поиска веществ с «антиапатическим» действием.

3. Неконкурентная блокада глутаматных рецепторов NMDA-подтипа приводит к увеличению целенаправленной активности у крыс в условиях повышенных требований к затратам усилий. Канальные блокаторы NMDA-

рецепторов могут рассматриваться в качестве потенциальных «антиапатических» средств.

Апробация

Материалы диссертации были представлены на 8м Международном молодежном медицинском Конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения – 2019» (Санкт-Петербург, 2019 г.), 26-й и 27-й Междисциплинарной международной конференции по нейробиологии и биологической психиатрии «Стресс и поведение» (Санкт-Петербург, 2019 г.), конгрессе Европейской Коллегии Нейропсихофармакологии (Лиссабон, 2021 г.), LXXIX, LXXX и LXXXIII Научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины» (Санкт-Петербург, 2018, 2019, 2022 г.).

Реализация результатов исследования. Результаты исследования внедрены в практику учебной работы кафедры фармакологии и научной работы Института фармакологии им. А.В. Вальдмана в ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ в рецензируемых журналах перечня ВАК РФ и/или входящих в международные базы Scopus и Web of Science Core Collection, и 12 тезисов в материалах российских и международных научных конференций.

Личный вклад автора состоит в разработке дизайна исследования, проведении экспериментов, систематизации и обработке результатов, сборе и анализе литературных данных. При активном участии автора сформулированы положения, выносимые на защиту и выводы, подготовлены публикации по результатам диссертационного исследования.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 158 страницах, содержит 6 таблиц, иллюстрирована 60 рисунками. Список литературы включает 229 источников, из них 8 – отечественные и 221 – иностранные.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные представления о синдроме апатии

В настоящее время активно обсуждается кризис трансляционных исследований в психофармакологии, проявляющийся прежде всего в малом количестве новых препаратов для лечения нейropsychических расстройств [187]. Обычно эту проблему связывают с отсутствием значимого прогресса в понимании этиологии и патогенеза данных нарушений. Наиболее перспективным способом решения данной проблемы может являться переход к трансдиагностическому подходу, который, в отличие от традиционного диагностического, основан на изучении биологических механизмов, лежащих в основе формирования общих для нейropsychических расстройств поведенческих нарушений [72]. Одним из примеров таких «универсальных» патологических состояний является апатия – синдром в неврологии и психиатрии, который в настоящее время определяют как количественное снижение целенаправленной активности, вызывающее клинически значимые нарушения в личной, социальной, профессиональной и других важных сферах жизнедеятельности и не объясняющееся физическими увечьями, двигательными нарушениями, сниженным уровнем сознания или существенными изменениями в окружении больного [168]. В соответствии с таким определением апатию не следует отождествлять с депрессией, одним из ключевых симптомов которой является ангедония, а также с астенией. Стоит также обозначить связь апатии с термином «мотивация». Мотивация – совокупное действие многих внутренних и внешних факторов (мотивационных факторов), проявляющееся в виде побуждения к осуществлению поведения с определенной направленностью, интенсивностью, упорством [2]. Вполне логичным является тот факт, что изначально апатию определяли как специфическое снижение мотивации

[123, 124], а отказ от этого термина связан с попыткой поиска более объективных и однозначных диагностических критериев апатии. Несмотря на это, в настоящее время для постановки диагноза апатии достаточными критериями могут быть такие субъективные симптомы как снижение интереса к привычным видам активности, а также эмоциональные нарушения [136, 168]. Диагностика таких проявлений апатии у человека может осуществляться с помощью стандартных анкет, содержащих вопросы об активности и эмоциональном состоянии пациента, в то время как попытки изучения и моделирования апатоподобных состояний на животных сталкиваются с трудностями, связанными с невозможностью непосредственной оценки внутренних психических состояний животного. В связи с этим нарушение целенаправленной активности может быть наиболее объективным коррелятом апатоподобного состояния у животных, который можно оценить количественно в эксперименте. Тем не менее, термин «мотивация» может употребляться для удобства интерпретации поведенческих данных, при условии, что уровень мотивации в данном случае оценивается через количественный анализ целенаправленной активности [200].

Синдром апатии может развиваться в рамках клинической картины более чем 30 нейропсихических, соматических и инфекционных заболеваний [3]. Частота встречаемости апатии может значительно варьировать в зависимости от конкретной патологии, а также особенностей методологии отдельных исследований. Однако в большинстве случаев данный показатель составляет не менее 20 %, а верхняя граница зачастую достигает 70-80 % (табл. 1.1). Необходимо отметить, что нарушения такого рода являются самостоятельным фактором значительного ухудшения течения основного заболевания. К примеру, в случае БП наличие апатии ассоциировано с ухудшением качества жизни, повышением частоты повторных госпитализаций и увеличением риска развития деменции [133], а у пациентов со старческой деменцией развитие апатии может быть фактором снижения продолжительности жизни [54]. Более того, апатия может являться одним из основных симптомов со стороны ЦНС в рамках

соматических и инфекционных заболеваний [3]. К примеру, по данным инфекционного госпиталя ФГБУ ФСНКЦ ФМБА России апатия наряду с астенией является наиболее частым (более 80%) из внелегочных проявлений новой коронавирусной инфекции COVID-19 [1], а риск развития апатии у пожилых пациентов с сахарным диабетом 2 типа повышен почти в 10 раз [30]. При этом, несмотря на распространённость и важное медико-социальное значение, в клинической практике до настоящего времени практически нет специфических подходов к лечению апатии. Причинами подобной ситуации может являться недостаточная изученность механизмов развития апатопоподобных нарушений поведения, а также нехватка валидных доклинических моделей таких нарушений.

Таблица 1.1 Частота встречаемости апатии среди пациентов неврологического и психиатрического профилей.

Расстройство	Распространенность апатии (%)	Источники
БА	35,9-72	[19, 93, 118, 132]
Лобно-височная деменция	72-100	[3, 93, 135]
Болезнь Гентингтона	40-82	[3, 42, 93]
Депрессия	38-94	[93, 140]
БП	17-70	[3, 28, 93, 151]
Шизофрения	47-53	[93, 140]
Инсульт	36-42	[3, 32, 93]
Черепно-мозговая травма	20-71	[3, 93, 218]
Сосудистая деменция	19,7-93,6	[3, 93, 188]

Считать снижение целенаправленной активности определяющей чертой апатии было предложено еще более 25 лет назад одним из лидеров её изучения R. Marin [122]. Подобные нарушения, однако, могут быть следствием изменений психологически и биологически различных процессов, которые составляют основу регуляции сложного целенаправленного поведенческого акта (рис. 1.1). На первом этапе происходит генерация (на основе внутренней и внешней для организма информации) возможных поведенческих опций, которые затем

оцениваются и отбираются с учетом потенциальных выгод и затрат (cost-benefit analysis, CBA). Далее выделяют фазу ожидания награды и подготовки к действию, во время которой усиливается «мотивационное возбуждение», после чего происходит инициация и поддержание целенаправленной активности. Наконец, после получения результата действия происходит его оценка и корректировка дальнейшего поведения. Как правило, получаемый результат рассматривается как некая «награда», т. е. положительное для организма событие или ресурс, например пища. При этом в качестве поведенческих издержек наиболее часто выступают усилия, которые необходимо приложить для достижения цели, и количество которых является важным фактором, влияющим на целенаправленное поведение [175–177, 217]. В целом, целенаправленное поведение может рассматриваться как процесс обмена усилий на награду, которую получает организм [174, 211].

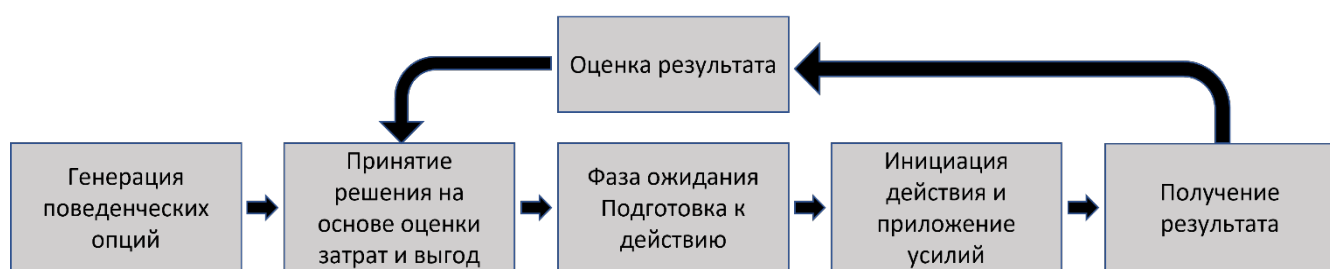


Рисунок 1.1 – Процессы, лежащие в основе целенаправленного поведения [93].

Считается, что нарушения любого из вышеупомянутых процессов, лежащих в основе регуляции целенаправленного поведения, могут приводить к развитию апатии [82], при этом ключевым, вероятно, являются ранние этапы поведенческого акта (генерация поведенческих опций и CBA) [93]. Стоит отметить, что нарушения CBA также выявлены при многочисленных нейропсихических расстройствах и могут рассматриваться как отдельный трансдиагностический симптом [76, 227]. Несмотря на то, что апатия может иметь единую нейробиологическую основу, необходимо учитывать и различия, обнаруженные в рамках изучения механизмов развития апатии в рамках различных патологий. Имеются свидетельства в пользу того, что в целом

проявления апатии в популяции связаны со снижением готовности к приложению усилий [23, 98]. Однако при условии развития патологий нервной системы данная картина может меняться. Так, исследования природы апатии при различных нейропсихических расстройствах показали, что апатия при БП ассоциирована со снижением ценности награды [24, 81], в то время как лобно-височная деменция сопровождается апатией, для которой характерно снижение толерантности к количеству необходимых усилий [25]. Возможно, это связано с различиями в патогенезе данных расстройств: в то время как в случае БП на первый план выходит снижение дофаминергической нейротрансмиссии в нигростриарном и мезолимбическом путях, развитие деменции, как правило, начинается с дегенерации корковых отделов ЦНС.

1.2 Основные методы изучения и моделирования апатоподобных нарушений в эксперименте

Существует несколько подходов к изучению целенаправленного поведения у животных. Наиболее информативными при этом считаются оперантные методики, поскольку они позволяют количественно оценить целенаправленную активность [200]. Как уже отмечалось, двумя основными факторами, влияющими на целенаправленное поведение, являются награда и количество усилий необходимых для ее получения, поэтому экспериментальные подходы сосредоточены в основном на изучении этих факторов. К одному из таких подходов относятся методики, которые основаны на выборе субъектом исследования между «низкозатратной» и «высокозатратной» поведенческими опциями, связанными с получением разной награды. Исторически первой методикой данного типа является выбор между поеданием корма, который находится в свободном доступе на полу оперантной камеры, и нажатиями на педаль за получение более предпочитаемой пищи. Данная методика введена в экспериментальную практику в лаборатории J. Salamone (факультет психологических наук, университет Коннектикута) в 1991 году [173]. Ещё одна

методика, созданная той же группой исследователей – модификация Т-образного лабиринта, где крысам необходимо выбирать между «низкозатратным» отсеком, содержащим «малое» подкрепление (2 пищевые пеллеты в соответствии с первой публикацией), и «высокозатратным», в котором для доступа к большему подкреплению необходимо преодолеть вертикальный барьер [178]. Другой пример – оперантная методика, основанная на выборе между двумя педалями: нажатие на первую («низкозатратную») позволяет получить 1 пищевую пеллету, на вторую («высокозатратную») – большее число пеллет, но за большее число нажатий. Первая работа с описанием данной методики опубликована в 2008 году S. Floresco с коллегами из университета Британской Колумбии [68]. Впоследствии аналогичная методика была использована группой исследователей из Оксфордского университета во главе с профессором D. Bannerman [212]. Довольно интересная современная модификация такой методики представлена в недавней статье Ольги Бабаев и коллег из фармацевтической компании «Boehringer Ingelheim», использовавших прикосновения к сенсорному экрану как оперантные реакции у мышей [14].

Как нетрудно заметить, в методиках данного типа «трудозатратные» поведенческие варианты ассоциированы с большим количеством или качеством награды [15, 47, 48]. Следовательно, при таком подходе влияние количества усилий не может быть оценено отдельно от характеристик награды, так как увеличение затрат усилий всегда компенсируется повышением качества/количества награды. Снижение доли выбора трудозатратных опций в таком случае может быть связано как со снижением способности прилагать усилия, так и со снижением предпочтительности награды, ассоциированной с «высокозатратным» вариантом.

Альтернативным подходом является использование оперантного режима подкрепления «возрастающее соотношение» (ВС), при котором число оперантных реакций, которое необходимо совершить испытуемому для получения подкрепления (соотношение реакции / подкрепление, далее - соотношение),

постепенно увеличивается по той или иной закономерности [88]. Данный режим подкрепления широко применяется для анализа влияния различных факторов на мотивацию животных и человека, а также для изучения аддиктивных свойств различных психоактивных веществ, которые могут сами выступать в качестве подкрепления в режимах ВС [167]. В отличие от вышеупомянутых методик выбора между высоко- и низкокзатратными опциями, при использовании режима ВС, как правило, количество и качество подкрепления остается постоянным, а изменяется только количество необходимых усилий, в связи с чем данный тип методик, вероятно, является более рациональным выбором для изучения влияния требований к затратам усилий на целенаправленное поведение. Это подтверждается и клиническими данными. Например, пациенты с шизофренией демонстрируют снижение готовности к совершению усилий в режиме подкрепления ВС [199], при этом, как отмечают авторы, размер получаемого вознаграждения не влияет на максимальное количество усилий, которое готовы прилагать испытуемые. В других работах также было показано, что апатия у пациентов с шизофренией ассоциирована с нарушением оценки необходимых затрат усилий [65, 79]. Кроме того, у пациентов с лобно-височной деменцией выраженность апатии также связана со снижением толерантности к усилиям, а не ценности награды [25]. Таким образом, для создания доклинических моделей апатии, обладающих высокой трансляционной ценностью, представляется целесообразным воспроизведение поведенческих проявлений нарушения оценки необходимых затрат усилий.

1.3 Характеристика режима ВС как метода изучения целенаправленной активности

Существует большое количество вариантов методик, основанных на оперантном режиме подкрепления ВС, что существенно затрудняет возможность обобщения и интерпретации результатов. В частности, данные режимы подкрепления могут различаться по закономерности увеличения соотношения:

оно может увеличиваться по арифметической прогрессии [49], геометрической прогрессии [157], экспоненциально [191]. Кроме того, существуют варианты методик, в которых соотношение увеличивается с интервалом в 24 часа [73]. Еще одним параметром, по которому могут различаться режимы ВС, может быть скорость увеличения соотношения, что наиболее характерно для режимов с арифметической прогрессией [104].

Другая сложность заключается в особенностях анализа поведения в режиме ВС. Основным показателем, который обычно используют для оценки мотивации испытуемого, является «точка перелома» (ТП), английское «*breaking point*», которая чаще всего определяется как последнее соотношение, которого достиг субъект исследования [88]. Данный параметр, однако, высокочувствителен к изменению критериев завершения экспериментальной сессии, которые выбираются произвольно. Как правило, таким критерием является определенное время, в течение которого не фиксируются оперантные реакции [195] или получение подкрепления [205]. Также существуют варианты методики, при которых экспериментальная сессия завершается после истечения фиксированного времени вне зависимости от действий испытуемого [139]. Кроме того, само понятие ТП может быть различным. Так наряду с вышеупомянутым определением данный термин может обозначать максимальное число подкреплений, полученных в течение сессии [89], а также число оперантных реакций, совершенных после получения последнего подкрепления [207]. Следовательно, имеется потребность в более объективных показателях для оценки поведения в режиме ВС. В дополнение к ТП режим подкрепления ВС также предоставляет и другие показатели, позволяющие оценить мотивацию животного. В частности, считается, что латентный период до совершения первой оперантной реакции и время, затрачиваемое на совершение всех необходимых для получения подкрепления реакций, удлиняются при снижении мотивации [200]. При этом более удобным для интерпретации показателем в режиме ВС может являться локальная частота оперантной реакции (ЛЧОР), которая рассчитывается

для каждого промежутка между получением подкреплений по формуле соотношение / время, затраченное на получение подкрепления. В ряде исследований было продемонстрировано, что анализ этого показателя позволяет получить дополнительную ценную информацию при изучении целенаправленного поведения в режиме ВС [114, 144, 191]. Однако стоит обратить внимание на относительно небольшое число работ, в которых проводился анализ ЛЧОР, по сравнению с общим количеством работ с использованием режима ВС. Кроме того, интерпретация результатов такого анализа может также значительно различаться. К примеру, в работе LeSage и соавторов, исследовавших влияние отмены никотина на мотивацию крыс, отсутствие различий в ЛЧОР между экспериментальными группами трактовалось как отсутствие двигательных нарушений [114]. Однако такая интерпретация является достаточно спорной, поскольку считается, что ЛЧОР отражает «мотивационное возбуждение» животного [82].

Относительно недавно в работах Р. Killeen на основе теории о математических принципах подкрепления (англ. «Mathematical principles of reinforcement») был представлен новый подход к анализу ЛЧОР в режиме подкрепления ВС с помощью построения математической модели, описывающей зависимость данного показателя от соотношения [26, 145]. Согласно данному методу, выделяют 2 основных параметра такой модели: α («специфическая активация») и δ (минимальное время оперантной реакции). Первый позволяет оценить поощрительную силу подкрепления, т.е. его способность вызывать повышение целенаправленной активности животного. Вторым параметром позволяет выявить изменения физической способности животного к совершению оперантной реакции. Таким образом, с помощью данного подхода к анализу ЛЧОР в режиме ВС появляется возможность определить, связаны ли изменения поведения в режиме ВС с изменением ценности награды или двигательными нарушениями.

1.4 Нейрохимические механизмы апатоподобных нарушений целенаправленного поведения

На молекулярном уровне патогенез апатии связывают прежде всего с нарушениями моноаминергической нейротрансмиссии [93, 111]. При этом основное внимание уделяют дофамину, как главному нейромедиатору системы регуляции процессов, связанных с целенаправленной активностью [40]. В то же время появляется всё больше данных о вкладе других нейромедиаторных нарушений в патогенез апатии. Так, результаты исследований свидетельствуют о наличии нарушений серотонин- и норадренергической нейротрансмиссии при апатии [93, 116, 119]. Остается, однако, неясным, являются ли эти изменения основной причиной нарушений целенаправленной активности или вторичными по отношению к патогенезу апатии феноменами.

1.4.1 Роль дофамина

Дофамин синтезируется в специализированных нейронах среднего мозга, формирующих мезокортиколимбический и нигростриарный дофаминергические пути, нормальное функционирование которых необходимо для инициации и поддержания целенаправленной активности [44]. Известно, что дофамин участвует в регуляции всех процессов, лежащих в основе целенаправленного поведения [40], однако имеются неразрешенные вопросы о роли дофаминергической системы в нарушениях того или иного механизма регуляции целенаправленного поведения. Дофаминергические нейроны имеют два хорошо установленных типа активности, сопровождающихся соответственно различной динамикой выброса дофамина, - тонический («медленный») и фазовый («быстрый»). Хотя фазовый уровень дофамина считают в наибольшей степени ответственным за передачу информации о потенциальной награде, чем о затратах усилий, роль «медленного» дофамина в этом отношении менее изучена [213].

С высокой степенью достоверности установлено, что под действием веществ, уменьшающих дофаминергическую нейротрансмиссию, например, в случае

системного введения ингибитора VMAT2 ТБЗ животные выбирают менее трудозатратные поведенческие опции [164, 219, 220]. Однако, как уже отмечалось выше, такой эффект в методиках данного типа может быть связан с влиянием как на ценность награды, так и на чувствительность к усилиям. Ранее у пациентов с БП, патогенетический механизм которой связан с гибелью дофаминергических нейронов, выявлена повышенная чувствительность к затратам в виде физических усилий, что авторы работы определяют как снижение «двигательной мотивации» [127]. Важно при этом подчеркнуть, что в данной работе не оценивали связь подобных нарушений с развитием апатии. Хотя ее возникновение при БП и связывают со снижением дофаминергической нейротрансмиссии, а именно с дегенерацией нейронов прилежащего ядра перегородки [36], имеются свидетельства диссоциации влияния уровня дофамина и выраженности апатии на СВА у пациентов с БП: в то время как апатия ассоциирована с меньшим предпочтением маловыгодных и одновременно низкзатратных вариантов, снижение уровня дофамина связано в первую очередь со снижением выбора более выгодных и при этом трудозатратных опций [81]. Таким образом, можно с высокой степенью уверенности утверждать, что снижение дофаминергической нейротрансмиссии сопровождается уменьшением готовности организма к совершению усилий для получения награды, однако это не может полностью объяснить развитие апатии, патогенез которой, вероятно, включает и другие механизмы.

В свою очередь повышение уровня тонического дофамина, например, под действием метилфенидата, амфетамина и модафинила, сопровождается как предпочтением «высокозатратных» реакций у интактных животных, так и устранением нарушений, вызванных ТБЗ [195]. Интересно, что действие метилфенидата и амфетамина у людей аналогичным образом ассоциировано со сдвигом выбора в сторону «высокозатратных» поведенческих альтернатив [193, 216], при этом количество награды не оказывает значимого влияния на выбор [215].

Результаты исследования влияния изменения дофаминергической нейротрансмиссии на поведение в режиме ВС в целом также соответствуют вышеописанным представлениям о роли дофамина в регуляции целенаправленной активности. Например, после локального введения нейротоксина 6-OHDA в прилежащее ядро перегородки, крысы получали меньшее число подкреплений в данном режиме подкрепления [9]. Другое исследование, в котором также изучали последствия вызванного введением 6-OHDA разрушения аксонов дофаминовых нейронов прилежащего ядра перегородки, позволило обнаружить, что подобные поведенческие нарушения сохраняются дольше при использовании режима подкрепления ВС5 по сравнению с режимом ВС1, что свидетельствует о зависимости данного эффекта от количества необходимых усилий [78]. Введение веществ, увеличивающих синаптическую концентрацию дофамина, таких как амфетамин, кокаин и метилфенидат, напротив, ассоциировано с увеличением ТП и числа оперантных реакций в режиме ВС [157, 224]. Однако в некоторых работах сообщали об обратном эффекте амфетамина или его отсутствии [139, 195], что может быть связано с различиями в используемых дозировках и методиках, а также с недостаточно тщательным анализом поведения.

Показано, что, помимо влияния на общее число оперантных реакций и ТП, действие дофаминомиметиков, в частности кокаина, сопровождается специфическими изменениями ЛЧОР: происходит её снижение при низких и увеличение при высоких соотношениях [191]. Это может свидетельствовать в пользу гипотезы об изменении влияния количества необходимых затрат усилий на целенаправленную активность при повышении уровня синаптического «медленного» дофамина, открытым, однако, остается вопрос о специфичности такого эффекта кокаина в начале экспериментальной сессии, поскольку множество психоактивных веществ могут вызывать нарушения оперантного поведения. В работе Jones и соавторов также проанализировано действие широкого диапазона доз (0,56–23,7 мг/кг) кокаина на ТП и среднюю частоту оперантных реакций у голубей, при этом выявлено, что действие низких доз

ассоциировано с повышением ТП, в то время как введение высоких доз имело обратный эффект. Интересно, что на среднюю частоту нажатий при этом влияли только высокие дозы [97]. Схожая дозозависимость изменений ТП под действием кокаина ранее продемонстрирована в работе Thompson [205]. Кроме того, в данном исследовании дополнительно проанализирована частота оперантных реакций и выявлено, что действие высоких доз кокаина, сопровождающееся снижением ТП, также ассоциировано с увеличением паузы после получения подкрепления (ППП), тогда как поведение под действием доз, увеличивающих ТП, характеризовалось периодами низкой частоты оперантной реакции без больших пауз в оперантной активности. В другом исследовании кокаин в дозе 5 мг/кг не влиял на ТП, однако при введении вещества в дозе 15 мг/кг происходило ее увеличение [29]. При этом, как подчеркивают авторы данной работы, кокаин снижал предпочтение и потребление раствора сахарозы, использовавшегося в качестве подкрепления. Данный факт, по мнению авторов, свидетельствует о том, что повышение ТП под действием кокаина не связано с увеличением ценности награды.

Важная роль дофамина в регуляции оценки затрат усилий также подтверждена результатами непосредственного измерения уровня этого нейромедиатора, а также ключевых внутриклеточных посредников дофаминергической нейротрансмиссии. В частности, установлено, что внеклеточная концентрация дофамина обратно пропорциональна количеству усилий необходимых для получения подкрепления [146]. Кроме того, в конкурентной задаче между нажатием на педаль в режиме ВС и поеданием свободно доступного корма показано, что животные, совершающие больше нажатий и съедающие меньше корма, имеют более высокий уровень белка DARPP32 (PPP1R1B) [163], который является одним из важнейших посредников внутриклеточной передачи сигнала от дофаминовых рецепторов [74].

Передача сигнала с помощью дофамина осуществляется через специфические рецепторы, которые подразделяются на 2 типа: D1-подобные

(D1PR), включающие D1 и D5 подтипы, и D2-подобные (D2PR), включающие D2, D3 и D4 подтипы [17], роль которых в регуляции целенаправленной активности может быть различной. Например, показано, что для процессов оценки затрат усилий, вероятно, большее значение имеют D2PR [66, 92]. Оптогенетические исследования позволили установить, что снижение передачи сигнала как через D1PR, так и через D2PR приводит к торможению инициации целенаправленной активности [142]. Такая картина согласуется с результатами многочисленных работ, показавших, что режиме подкрепления ВС действие антагонистов как D1PR, так и D2PR сопровождается снижением ТП и/или средней частоты оперантной реакции [9, 11, 38, 64, 190]. Кроме того, зафиксировано снижение числа нажатий на педаль в режиме ВС у мышей, нокаутных по гену D1 рецепторов [60]. При этом стоит отметить, что такие мыши меньше нажимали на педаль и в режиме «фиксированное соотношение», что может свидетельствовать о неспецифическом снижении оперантной активности.

Несмотря на установленную роль дофамина как важнейшего нейромедиатора, регулирующего мотивацию, имеются неоднозначные результаты анализа его значения в патогенезе апатии. Хотя показано, что снижение дозировки дофаминомиметиков при терапии БП приводит к усилению проявлений апатии [28, 37], а увеличение – к обратному эффекту [22], результаты некоторых работ указывают на то, что апатия при этом заболевании связана со снижением выбора опций с меньшей наградой, особенно при низких требованиях к затратам усилий, в то время как восполнение дефицита дофамина было ассоциировано с повышением выбора трудозатратных опций с большим количеством награды вне зависимости от наличия апатии [81].

Важным также является вопрос о влиянии дофамина на когнитивные функции, поскольку патогенез апатии связан с нарушением функции фронтостриарной системы, а ее проявления могут включать когнитивный компонент [115, 168]. Хотя известно, что дофамин играет не последнюю роль в регуляции когнитивных функций [103, 201], существует предположение, что

дофаминергической модуляции подвержены не все когнитивные процессы, а только когнитивный компонент поведения, связанного с поиском и получением награды. Так, в частности, имеются свидетельства того, что дофамин опосредует передачу информации о затратах в виде когнитивных усилий, а также регулирует способность к когнитивному контролю [45, 129, 216]. Кроме того, некоторые работы показали, что при повышенном уровне базального (тонического) дофамина происходит снижение способности применять информацию, полученную в ходе инструментального обучения, для изменения поведенческой стратегии [18].

Таким образом, в настоящее время не подлежит сомнению, что дофамин является основным медиатором, принимающим участие в регуляции мотивации. Снижение дофаминергической нейротрансмиссии приводит к уменьшению готовности к приложению усилий ради получения какого-либо результата, в то время как ее усиление имеет обратный эффект. Однако существует немало противоречивых результатов изучения дофаминергических механизмов регуляции мотивации, в связи с чем имеется насущная потребность в новых исследованиях.

1.4.2 Роль серотонина

Значительно меньшее число исследований направлено на изучение роли серотонина в процессах регуляции целенаправленного поведения. В работе, выполненной в Оксфордском университете группой Баннерман, продемонстрировано, что введение р-хлорфенилаланина, ингибитора триптофангидроксилазы (ТРН), снижающего уровень серотонина, не влияет на выбор «высокозатратного» рукава Т-образного лабиринта, но при этом снижает выбор рукава с «отсроченным» подкреплением, в случае, когда в качестве затрат выступает время ожидания [52]. Необходимо, однако, учитывать, что р-хлорфенилаланин влияет как на центральную, так и на периферическую изоформы ТРН, что не позволяет исключить, что представленные результаты

опосредованы снижением уровня серотонина на периферии. Также стоит отметить проведенные исследователями из группы J. Salamone эксперименты с СИОЗС. Действие больших доз флуоксетина сопровождалось дозозависимым снижением выбора «высокозатратных» поведенческих опций [35, 160, 222]. Это может частично объяснять, почему при применении СИОЗС существует риск развития апатии [7, 16, 148, 149]. Однако стоит отметить, что в упомянутых экспериментах оценивалось действие флуоксетина при остром введении, тогда как в клинической практике эффекты данной группы препаратов развиваются через несколько дней после начала лечения. В режиме подкрепления ВС действие СИОЗС пароксетина сопровождалось снижением ТП при подкреплении поведения раствором сахарозы, а также водой и раствором аверсивного вещества хирина у предварительно депривированных от воды животных [126]. Такой результат, как полагают авторы, свидетельствует о том, что повышение синаптического уровня серотонина снижает целенаправленную активность животных независимо от степени «желанности» получаемого результата. Напротив, снижение уровня серотонина в ЦНС под действием токсина, разрушающего серотониновые нейроны, приводило к увеличению ТП в режиме подкрепления ВС. Однако, как подчеркивают авторы, такой эффект также является скорее неспецифическим, так как он сохранялся и в условиях угашения оперантной реакции, когда пищевое подкрепление больше не предоставлялось [169].

Также имеется ряд исследований, изучавших роль различных подтипов серотониновых рецепторов в регуляции целенаправленной активности. Вновь стоит отметить работу группы из университета Коннектикута, в которой авторы безуспешно пытались обратить угнетающее действие флуоксетина на выбор «высокозатратного» поведения с помощью введения селективных антагонистов серотониновых рецепторов 2А (MDL 100907) и 2С (SB 242084) подтипов [160]. Исследование последствий активации рецепторов этих же подтипов в режиме ВС показали, что системное и локальное (в вентральную область покрышки среднего

мозга) введение агониста 2С рецепторов Ro60-0175 сопровождалось снижением ТП и числа оперантных реакций, а введение агониста 2А рецепторов не имело значимого эффекта [67, 159]. При этом агонисты 2С рецепторов, снижающие ТП, как предполагается, оказывают такой эффект за счет двигательных нарушений [20]. Эти результаты позволяют предположить, что действие флуоксетина на целенаправленное поведение, может быть опосредовано активацией других подтипов рецепторов, а также частично может наблюдаться за счет двигательных нарушений. Неоднозначные результаты демонстрируют исследования, направленные на изучение роли 1А рецепторов: в одной работе показано, что их агонист 8-ОН-ДРАТ вызывал снижение ТП и числа нажатий на педаль, в то время как другое исследование выявило увеличение «специфической активации» (параметр α) при анализе математической модели зависимости ЛЧОР от соотношения [87, 159]. Стоит, однако, отметить, что данное вещество обладает активностью также в отношении серотониновых рецепторов 7 подтипа и серотонинового транспортера [12, 196], что может усложнять интерпретацию результатов.

В целом, исследования роли серотонина в СВА-зависимых процессах показывают, что данный нейромедиатор имеет угнетающее влияние на готовность к совершению усилий для получения награды, однако, вполне вероятно, что такое действие может быть неспецифическим и не связанным с изменением мотивации. Кроме того, также имеются данные о важной роли серотонин-опосредованного подавления активности гиппокампа в поддержании целенаправленного поведения [223]. В связи с этим необходимы дальнейшие исследования функции серотонина с использованием новых экспериментальных подходов.

1.4.3 Роль норадреналина

Кроме дофамина и серотонина в регуляции целенаправленного поведения могут принимать участие и другие моноамины. В частности, предполагают, что снижение норадренергической нейротрансмиссии может быть также связано с

развитием апатии [55, 84, 116]. Кроме того, некоторые авторы приводят аргументы в пользу применения метилфенидата для терапии апатии, ссылаясь на его способность к выраженному повышению уровня норадреналина в префронтальной коре, нарушения функционирования которой выявлены при апатии [57]. При этом результаты изучения роли этого моноамина в регуляции целенаправленной активности на животных достаточно противоречивы. Так, например, показано, что стимулирующий эффект амфетамина в режиме подкрепления ВС частично блокируется антагонистом бета-адренорецепторов пропранололом, что может свидетельствовать об участии норадреналина в механизме активирующего действия амфетамина [157]. Однако введение ингибитора обратного захвата норадреналина дезипрамина не восстанавливало нарушения, вызванные снижением моноаминергической нейротрансмиссии под действием ТБЗ, в задаче выбора между низко- и высокочастотными поведенческими опциями и даже приводило к усугублению этих нарушений [221].

1.4.4 Роль других нейромедиаторов

Вещества, действующие на ацетилхолинергическую нейротрансмиссию также способны влиять на целенаправленное поведение. В частности, при анализе эффектов антагониста М-холинорецепторов скополамина наблюдалась инвертированная U-образная кривая доза-эффект при оценке его влияния на ТП у крыс в режиме ВС с геометрической прогрессией [198]. Действие ингибитора ацетилхолинэстеразы пиридостигмина и антагониста М2-холинорецепторов сопровождалось снижением ТП [46, 77], а действие никотина – ее повышением [85, 158].

Введение агониста мю-опиоидных рецепторов в прилежащее ядро приводило к повышению ТП и числа оперантных реакций у крыс в режиме ВС, подкрепляемом сахарными пеллетами [224], в то время как системное введение морфина приводило к снижению ТП у голубей [156].

Неоднозначные данные получены при изучении влияния ГАМК-ергических веществ (в первую очередь позитивных аллостерических модуляторов ГАМК_A-рецепторов из групп барбитуратов и бензодиазепинов) на поведение в режиме ВС. Пентобарбитал снижал ТП у обезьян [63], в то время как диазепам, фенобарбитал и хлордиазепоксид увеличивали данный показатель [51, 204]. При этом в другой работе эффектов диазепама не выявлено [64].

1.5 Перспективы фармакокоррекции апатии

В настоящее время среди специалистов нет представления о едином подходе к фармакотерапии апатии, и конкретная лечебная тактика по большей части зависит от основной этиологии и фоновых заболеваний. К примеру, дофаминомиметики считаются оптимальными для коррекции апатии при БП, в то время как атипичные антипсихотики и ингибиторы ацетилхолинэстеразы могут быть рекомендованы для коррекции апатии при БА [96]. Остается открытым вопрос о том, эффективны ли данные препараты в случае терапии апатии в рамках других нозологий. Хотя эффективность вышеупомянутых средств недостаточно удовлетворительная [4], по разным оценкам наиболее перспективными средствами фармакокоррекции апатии могут быть психостимуляторы и ингибиторы ацетилхолинэстеразы [4, 96, 111]. По последним данным для терапии апатии при БА наиболее эффективными препаратами в настоящее время являются такие средства как метилфенидат, донепезил, галантамин и мемантин, а метилфенидат, ротиготин и ривастигмин рассматриваются как препараты выбора для терапии апатии при БП [13, 111, 203]. При этом важно отметить, что количество исследований, подтверждающих эффективность тех или иных препаратов, в ряду БА – БП – лобно-височная деменция – болезнь Гентингтона значительно снижается [203].

1.5.1 Применение психостимуляторов

Психостимуляторы являются неоднородной по механизму действия группой веществ, включающих как дофаминергические соединения, так и

вещества других подгрупп. Исследования эффективности дофаминергических психостимуляторов демонстрируют противоречивые результаты. Так, в некоторых работах сообщалось о положительном эффекте метилфенидата [83, 102], в то время как другие авторы отмечают отсутствие терапевтического действия метилфенидата и модафинила [10, 70, 147]. Альтернативой могут являться недофаминергические психостимуляторы. Одна из таких подгрупп – антагонисты глутаматных рецепторов NMDA-подтипа. Известный препарат из данной подгруппы мемантин, хотя и не обладает стимулирующим действием в терапевтическом диапазоне доз, применяется для лечения БА и имеет также некоторую эффективность в отношении апатии [13]. Еще один потенциально эффективный препарат данной подгруппы – эскетамин, относительно недавно одобренный FDA для терапии резистентной депрессии [208]. Учитывая способность наиболее популярных антидепрессантов – СИОЗС – усугублять течение апатии, поиск «антиапатических» средств среди веществ с принципиально другим механизмом действия является особенно актуальной задачей. Одним из наиболее активных стимуляторов из группы антагонистов глутаматных рецепторов NMDA-подтипа является высокоаффинный канальный блокатор дизоцилпин (МК-801). Как и у других антагонистов NMDA-рецепторов на доклиническом уровне ранее показаны потенциальные антидепрессантные свойства данного вещества [192, 206]. При этом не совсем однозначные данные получены при анализе эффектов МК-801 в режиме ВС. В то время как действие данного вещества сопровождалось повышением ТП у крыс при самовведении кокаина [162], введение МК-801 обезьянам приводило к снижению ТП в режиме ВС, подкрепляемом пищей [31]. Таким образом, антагонисты глутаматных рецепторов NMDA-подтипа представляют особый интерес в качестве потенциальных средств фармакокоррекции апатопоподобных нарушений, однако, требуется дополнительное изучение их действия на целенаправленную активность. Результаты предыдущих исследований позволяют предположить о возможности фармакокоррекции апатопоподобного состояния с помощью данной

группы веществ.

1.5.2 Атипичные ингибиторы DAT – перспективная группа средств фармакокоррекции апатии

Принимая во внимание тот факт, что апатия связана с нарушением функционирования фронтостриарной системы [115], можно предположить, что данный синдром может поддаваться терапии с помощью дофаминергических агентов. Одной из популярных подгрупп среди веществ такого рода являются ингибиторы обратного захвата дофамина, мишенью которых является дофаминовый транспортер (DAT). Однако классические ингибиторы DAT, такие как кокаин и метилфенидат, имеют высокий потенциал пристрастия и чрезмерно выраженный стимулирующий эффект. Альтернативой являются «атипичные» ингибиторы, такие как бензтропин, модафинил, GBR-12909 и их аналоги, которые имеют более безопасный профиль, как считается, за счет стабилизации DAT в другом конформационном состоянии (рис. 1.2) [185]. Одно из таких веществ – производное модафинила SE-123 (константа ингибирования DAT, $IC_{50}=4,6 \mu M$). По сравнению с исходным соединением, фармакокинетика SE-123 характеризуется достижением более высоких концентраций в ЦНС и меньшей скоростью элиминации [99]. В исследованиях *in vivo* показано, что действие SE-123 сопровождается улучшением пространственной памяти и когнитивной гибкости животных без повышения импульсивности в задачах с подкреплением пищей [106, 117, 143]. Кроме того, введение SE-123 способно устранять ТБЗ-индуцированные поведенческие нарушения в задаче выбора между опциями с высокими и низкими затратами в виде усилий [170], что позволяет предположить о потенциальной эффективности атипичных ингибиторов DAT в случае фармакотерапии апатии.

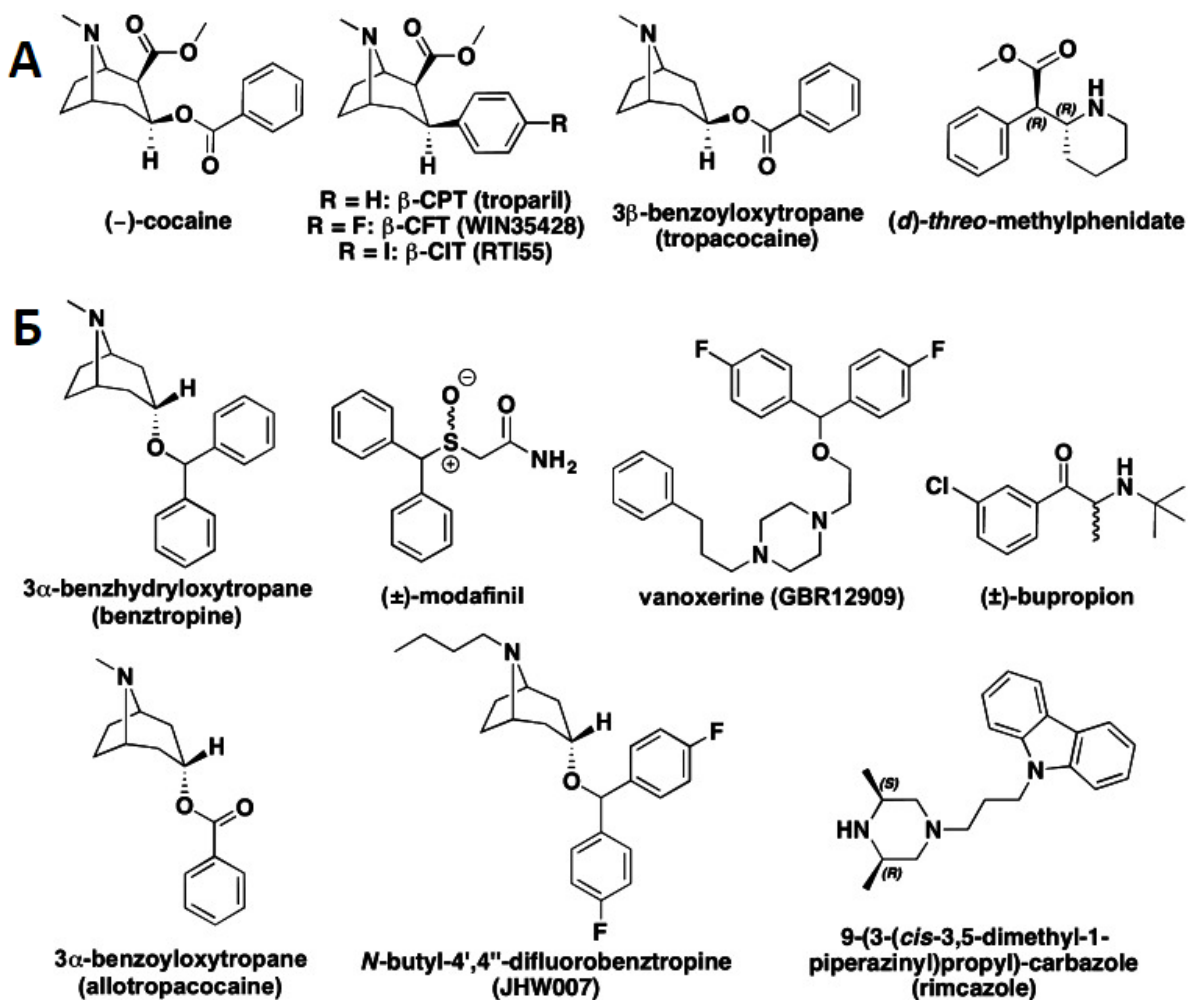


Рисунок 1.2 Химическая структура примеров типичных и атипичных ингибиторов DAT [185]. В то время как классические кокаиноподобные ингибиторы DAT (А) стабилизируют транспортер в состоянии открытия наружу («open-to-out»), атипичные вещества (Б) фиксируют конформационное состояние, более обращенное внутрь клетки («closed-to-out»). β -CFT, 2 β -карбометокси-3 β -(4-фторфенил)тропан; β -CPT, 2 β -карбометокси-3 β -фенилтропан.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Вещества

Таблица 2.1. Вещества, использованные в работе.

Вещество	Механизм действия	Производитель	Растворитель	Путь введения	Время введения, мин до начала теста	Дозы, мг/кг	Объем введения, мл/кг
Тетрабензин ((SS,RR)-3-изобутил-9,10-диметокси-1,3,4,6,7,11b-гексагидропиридо[2,1-a]изохинолин-2-он)	Ингибитор VMAT2	Biosynth Carbo-synth, Staad, Switzerland	0,9% NaCl + 1-2 капли 0,1M HCl (pH=3)	В/б	30	0,1; 0,3; 1,0; 3,0	2
(+)МК-801 (дизоциллин; (+)-5-метил-10,11-дигидро-5H-добензо-[a,d]-циклогептенин-5,10-имина малеат)	Блокатор глутаматных рецепторов NMDA подтипа	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA	0,9% NaCl	В/б	15	0,01; 0,03; 0,1	1

CE-123 (S-CE-123(5-((бензгидрилсульфинил)метил)триазол)	Ингибитор дофаминового транспортера	Lubec laboratory, University of Vienna, Vienna, Austria	0,9% NaCl (75%) + диметилсульфоксид (10%) + Tween 80 (15%)	В/б	30	6; 12; 24	4
Флуоксетина гидрохлорид (RS)-N-метил-3-фенил-3-[4-(трифторметил)фенокси]пропан-1-амин)	Ингибитор транспортера серотонина	Sequoia Research Products Ltd, Pangbourne, United Kingdom	Дистиллированная H ₂ O	В/б	10	1; 3; 10	2
(-)-Никотина гидротартрат (S)-3-(1-метил-2-пирролидинил)пиридин)	Агонист Н-холинорецепторов	Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, MO, USA	0,9% NaCl	П/к	5	0,1; 0,2; 0,4	1
Мемантин (1-амино-3,5-диметиладамантан)	Блокатор глутаматных рецепторов NMDA подтипа	Merz, Frankfurt am Main, Germany	0,9% NaCl	В/б	15	1; 3; 10	1
Кетамин (±)-2-(метилами	Блокатор глутаматных	Merz, Frankfurt am Main,	Дистиллированная	В/б	10	5; 10; 20	1

но)-2-(2-хлорфенил)циклогексанон (в виде гидрохлорида))	рецепторов NMDA подтипа	Germany	H ₂ O				
Амфетамин ((±)-1-фенилпропан-2-амин)*	Неселективный ингибитор обратного захвата и стимулятор выброса моноаминов	Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, MO, USA	0,9% NaCl	В/б	30	0,3; 1; 3	1
Атомoksetин ((R)-N-метил-3-фенил-3-(о-толилокси)пропан-1-амин)	Ингибитор транспортера норадреналина	СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия	0,9% NaCl	В/б	30	0,1; 0,3; 1,0	1
Кофеин (1,3,7-триметил-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион)	Антагонист аденозиновых рецепторов	ОАО «Дальхимфарм», Хабаровск, Россия	0,9% NaCl	В/б	20	5, 10, 20	1
GBR-12909 дигидрохлорид (Ваноксерин; 1-[2-[бис(4-фторфенил)метокси]этил]-4-(3-фенилпропил)пипераз	Ингибитор дофаминового транспортера	Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, MO, USA	0,9% NaCl	В/б	30	2,5; 5; 10	1

ин))							
------	--	--	--	--	--	--	--

В/б – внутривенно; П/к – подкожно; 0,9% NaCl – изотонический раствор натрия хлорида.

* - эксперименты с использованием амфетамина проводились за пределами территории РФ.

2.2 Животные

Эксперименты выполнены на самцах крыс (возраст: 2–4 месяца, масса: не менее 200 г в начале экспериментов) из локальных колоний отдела психофармакологии Института фармакологии им. А. В. Вальдмана: крысы стока Wistar, TRH2-КО крысы и DAT-КО крысы.

Таблица 2.2. Животные, использованные в работе.

Вид	Сток	Генетическая модификация	Число животных
Крысы	Wistar	Нет	291
	Wistar Han	Нокаут гена DAT	93
	Dark Agouti	Нокаут гена TRH2	53

Молекулярно-генетическое исследование DAT-КО и TRH2-КО крыс выполняли в отделе молекулярно-генетических и нанобиологических технологий НИЦ ПСПБГМУ им. И.П. Павлова. Биоматериалом для анализа являлись биоптаты наружного уха, полученные с помощью ушного перфоратора (FST, США) у детенышей в возрасте 28 дней (день отъема от матери). Место перфорации уха одновременно являлось индивидуальной меткой особи. Таким образом, отсутствие отдельной инвазивной процедуры по забору биоматериала позволило минимизировать стресс у животных. Выявление нокаутов гена DAT и TRH2 выполняли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим рестрикционным анализом.

2.2.1 DAT-КО крысы

Первая линия животных с нарушением функции DAT (мыши, у которых

полностью отсутствует DAT, DAT-KO), была создана более 20 лет назад [75]. Исследования на этих мышах и грызунах других линий со сниженной экспрессией DAT позволили значительно расширить представления о базовых принципах дофаминовой нейротрансмиссии, механизмах действия различных психотропных препаратов, взаимодействии важнейших нейромедиаторов центральной нервной системы (ЦНС), а также о патофизиологических механизмах расстройств, связанных с нарушением дофаминовой нейротрансмиссии [58, 112]. В нескольких клинических исследованиях было показано, что уровень DAT в базальных ганглиях снижен у пациентов с апатией при БП и отрицательно коррелирует с выраженностью апатии у пациентов с БА [180, 209]. В связи с этим можно предположить, что животных без функционального DAT можно использовать для изучения роли DAT в развитии апатопоподобных нарушений.

DAT-KO крысы созданы на основе аутбредных крыс линии Вистар Хан с использованием методики «цинковых пальцев» редактирования генома в SAGE Labs (Сент-Луис, Миссури, США) при финансовой поддержке фармацевтической компании Hoffmann-La Roche. У данной линии генетически модифицированных крыс нет функционального DAT благодаря делеции 5 нуклеотидов и вставлению раннего стоп-кодона в ген Slc6a3 (NCBI Gene ID: 24898; Genomic NCBI Ref Seq: NC_005100.3; mRNA NCBI Ref Seq: NM_012694.2) [113]. Схема изменений гена представлена на Рисунке 2.1.

Снижение функционального DAT закономерно приводит к повышению внеклеточной концентрации дофамина в базальных ганглиях [112, 226], что сопровождается нарушением функционирования фронтостриарной системы [225]. Повышение внеклеточного дофамина сопровождается снижением его тканевого уровня в синаптических терминалях и уменьшением стимулированного высвобождения этого нейромедиатора [112, 226].

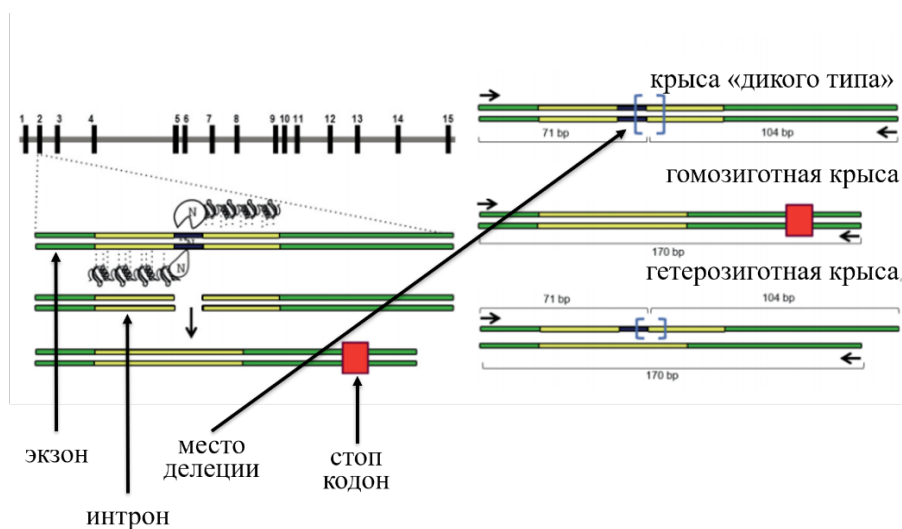


Рисунок 2.1 – Схема изменений гена Slc6a3.

Локальная колония DAT-КО крыс была заложена в 2019 г. путем скрещивания четырех DAT-КО-самцов (СПбГУ, Институт трансляционной биомедицины) и самок стока Wistar (исходно – питомник лабораторных животных «Рапполово»).

Выявление нокаута гена DAT.

Из биоптатов наружного уха крыс выделяли геномную ДНК стандартным фенол-хлороформным способом. ПЦР проводили в смеси объемом 15 мкл, содержащей 0,15 мкл раствора Taq М полимеразы (арт. 751-50, Алкор Био); 1,5 мкл ПЦР-буфера и 2,25 мкл раствора MgCl₂ 25 мМ (поставляются в комплекте с полимеразой); 1,5 мкл смеси дезоксинуклеозидтрифосфатов по 25мМ каждого (арт. R1121, ThermoScientific); 6,1 мкл деионизированной воды; 1,5 мкл раствора ДНК; по 10 пмоль прямого (5'-TCCTGGTCAAGGAGCAGAAC-3') и обратного (5'-CACAGGTAGGGAAACCTCCA-3') праймеров (Синтол). ПЦР проводили в амплификаторе T100 Thermal Cycler (Bio-Rad) по протоколу: 950С — 15 мин; 35 циклов (950С — 30 сек, 600С — 30 сек, 720С — 45 сек); 720С — 5 мин. Получали ПЦР-продукт длиной 170 или 175 пар оснований (п.о.) в случае наличия или отсутствия мутации, соответственно, поскольку нокаут гена Slc6a3 является результатом делеции 5 п.о., приводящей к образованию стоп-кодона. Рестрикционный анализ проводили при 550С в течение 20 часов в смеси объемом

20 мкл, содержащей 0,3 мкл эндонуклеазы рестрикции BtsIMutI (арт. R0664S, New England BioLabs); 2,0 мкл буфера CutSmart (поставляется в комплекте с BtsIMutI); 12,7 мкл деионизированной воды; 5,0 мкл ПЦР-продукта. Продукты рестрикционного анализа подвергали электрофоретическому разделению в 6% полиакриламидном геле, окрашивали в водном растворе этидия бромидом и визуализировали в приборе Gel Doc XR Plus (Bio-Rad). Вариантам гена DAT соответствовали длины фрагментов ДНК: WT — 104 и 71 п.о.; DAT-KO — 170 п.о.; НТ — 170, 104 и 71 п.о. (Рисунок 2.2).

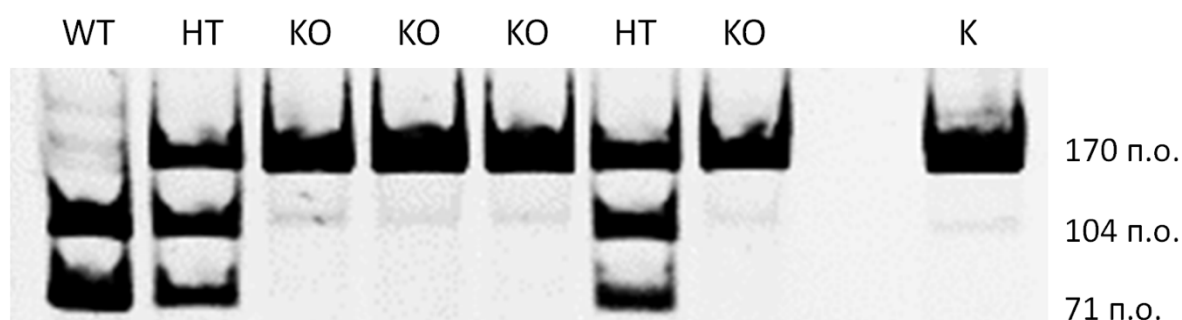


Рисунок 2.2 – Выявление нокаута гена дофаминового транспортера (DAT): пример электрофореграммы продуктов рестрикционного анализа. Условные обозначения: WT — "дикий тип"; НТ — гетерозигота; КО — нокаут гена DAT; К — контрольный ПЦР-продукт, не подвергавшийся воздействию эндонуклеазы рестрикции BtsIMutI; п.о. — пары оснований.

2.2.2 TRH2-KO крысы

Другой линией животных с генетическими изменениями нейромедиаторного баланса, которые могут иметь отношение к патогенезу апатии, являются животные с нарушенным синтезом серотонина вследствие выключения гена триптофангидроксилазы 2 типа (TRH2-KO). Исследования поведения подобной линии мышей выявили повышение количества поведенческих элементов, считающихся проявлением компульсивности и агрессии, однако не было выявлено различий в отношении локомоторной активности и тревожности, при этом противоречивые данные были получены

относительно влияния мутации в гене TRH2 на депрессивноподобное поведение [107]. У TRH2-КО крыс были выявлены признаки повышения агрессивности [134, 153] и снижения тревожности [134], однако целенаправленное поведение этих животных не изучалось.

Локальная колония TRH2-КО крыс Института фармакологии им. А.В. Вальдмана была заложена в январе 2020 года путем скрещивания 5 TRH2-КО самцов и 5 TRH2-WT самок, полученных из Института трансляционной биомедицины СПбГУ.

Выявление нокаута гена TRH2-КО.

У крыс фермент триптофангидроксилаза 2-го типа кодируется геном Trh2 [228]. Искусственно были созданы различные генетические модификации крыс с выключенным (нокаутированным) геном Trh2 (TRH2-КО). У изученных нами крыс нокаут гена Trh2 обусловлен делецией 11 пар оснований в его экзоне 7 (del 1027-1037). Схема изменений гена представлена на Рисунке 2.3.

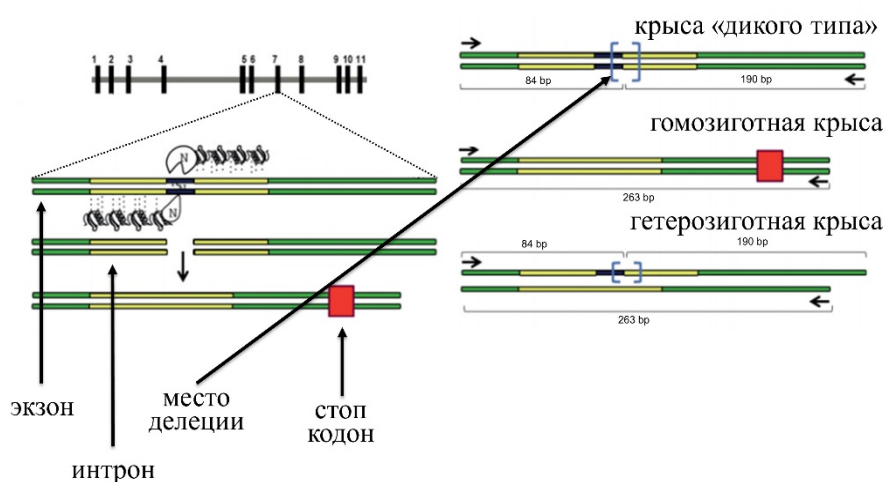


Рисунок 2.3 – Схема изменений гена Trh2.

Выявление нокаута гена Trh2 проводили на основе метода, описанного ранее [101], с собственными модификациями. Из биоптатов выделяли геномную ДНК стандартным фенол-хлороформным способом. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в смеси объемом 20 мкл, содержащей 0,25 мкл раствора Taq М полимеразы (арт. 751-50, Алкор Био); 2,0 мкл ПЦР-буфера и 2,0

мкл раствора MgCl₂ 25 мМ (поставляются в комплекте с полимеразой); 2,0 мкл смеси дезоксинуклеозидтрифосфатов по 25мМ каждого (арт. R1121, ThermoScientific); 0,8 мкл диметилсульфоксида (DMSO); 9,45 мкл деионизированной воды; 1,5 мкл раствора ДНК; по 10 пмоль прямого (5'-ACCTGAGCCCAAGAGACTTCC-3') и обратного (5'-GCTACGCTATCAAAGGCCCG -3') праймеров (ДНК-Синтез). ПЦР проводили в амплификаторе T100 Thermal Cycler (Bio-Rad) по протоколу: 950С – 15 мин; 35 циклов (950С – 30 сек, 620С – 30 сек, 720С – 30 сек); 720С – 5 мин. Получали ПЦР-продукт длиной 263 – 274 пары оснований (п.о.) в случае наличия или отсутствия ТРН2-КО, соответственно.

Рестрикционный анализ проводили при 370С в течение 20 часов в смеси объемом 20 мкл, содержащей 0,3 мкл эндонуклеазы рестрикции MnlII (арт. R0163S, New England BioLabs); 2,0 мкл буфера CutSmart (поставляется в комплекте с MnlII); 12,7 мкл деионизированной воды; 5,0 мкл ПЦР-продукта.

Продукты рестрикционного анализа подвергали электрофоретическому разделению в 6% полиакриламидном геле, окрашивали в водном растворе этидия бромида и визуализировали в приборе Gel Doc XR Plus (Bio-Rad). Сайт рестрикции для MnlII присутствует только в аллеле, не содержащем делеции, поэтому вариантам гена Trh2 соответствовали длины фрагментов ДНК: дикий тип (WT) – 190 и 84 п.о.; полный нокаут (ТРН2-КО) – 263 п.о.; гетерозигота (НТ) – 263, 190 и 84 п.о. (Рис. 2.4).

2.2.3 Условия содержания животных

В экспериментах использовали животных разного генетического статуса: нокауты – КО, гетерозиготные крысы – НТ, и крысы «дикого типа» – WT. Животных для оперантных тестов содержали индивидуально в клетках ТПН (Tecniplast, Италия) в связи с необходимостью пищевой депривации и, как следствие, точного контроля количества употребленного корма (полнорационный экструдированный комбикорм, ООО «Лабораторкорм», Москва, Россия), так,

чтобы поддерживать сниженную на 10–15 % от исходной массу тела. Животных для оценки двигательной активности содержали в группах по 2-4 особи в клетках ТИВ (Tecniplast) с неограниченным доступом к корму. В комнатах содержания животных поддерживался регулируемый световой режим (12 ч свет – с 8 часов утра/12 ч темнота), температура 20-22°C и влажность 30-70%. Животные имели неограниченный доступ к фильтрованной воде (фильтр «Аквафор», Россия). В качестве подстилочного материала использовали беспылевой кукурузный подстил для грызунов (ООО «Золотой кот», Россия, Воронежская область, Павловский район, село Александровка Донская).

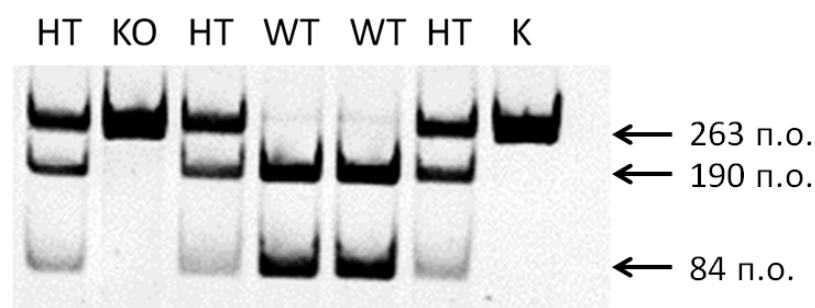


Рисунок 2.4 – Выявление нокаута гена TRH2: пример электрофореграммы продуктов рестрикционного анализа. Условные обозначения: WT — "дикий тип"; NT — гетерозигота; KO — нокаут гена TRH2; К — контрольный ПЦР-продукт, не подвергавшийся воздействию эндонуклеазы рестрикции MnlI; п.о. — пары оснований.

Все экспериментальные процедуры выполняли в светлую фазу светового цикла в соответствии с рекомендациями «Руководства по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» [5]. После окончания исследований проведена эвтаназия экспериментальных животных путем затравки в камере с CO₂.

2.3 Экспериментальные методики

2.3.1 Оценка двигательной активности

Двигательную активность животных оценивали в звукоизолирующей

вентилируемой установке «Актометр», содержащей 2 блока по 5 идентичных боксов из оргстекла (25 × 35,5 × 34 см), размещённых в гнездах стойки с 3 парами инфракрасных фотодатчиков на высоте 5 см. Освещенность внутри установки составляла 30-40 лк.

Длительность экспериментальной сессии составляла 60 минут. Показателем двигательной активности животных являлось количество горизонтальных перемещений (последовательных пересечений двух фотодатчиков). Экспериментальные сессии каждого животного проходили в одном и том же боксе. Данные эксперимента записывали и сохраняли с помощью специальной программы (MED-PC, MED Associates, США).

2.3.2 Оценка оперантного поведения

Исследования выполняли в десяти оперантных камерах (30,5×24,1×29,2 см; ENV-007, MED Associates Inc., East Fairfield, VT, США), помещенных в звукоизолирующую оболочку. Оболочка оснащена вентилятором, который обеспечивает циркуляцию воздуха и «белый» шум. На центральной панели боковой стенки камеры на высоте 2 см от пола помещен лоток для пищевых гранул, снабженный парой инфракрасных датчиков (ENV254-CB) для фиксации заглядываний в него животных. Лоток соединен с автоматически управляемым устройством (ENV-203-45), поставляющим пищевые гранулы 45 мг (P. J. Noyes Inc., Lancaster, NH, США). Над лотком находился источник звука (ENV-223AM) и лампа (ENV-215M, 2,5 Вт) внутреннего (общего) освещения камеры. Справа или слева от лотка находились выдвигающиеся педали, нажатия на которые фиксировались системой. Для сбора и записи данных использовали компьютер IBM, оборудованный интерфейсом MED-PC (MED Associates, США).

2.3.2.1 Оперантный режим подкрепления «возрастающее соотношение 3» (BC3)

Перед началом обучения оперантному навыку животных приучали к потреблению пищевых пеллет. Во время сессий животных помещали в камеру с

постоянно включенным освещением. Перед началом сессии в поддон для корма помещали 15 пеллет. Длительность сессии составляла 30 минут. После окончания каждой сессии крыс возвращали в домашнюю клетку и подсчитывали оставшиеся пеллеты. В дальнейшем использовали только тех крыс, которые съедали во время второй тренировочной сессии все пеллеты. Животных обучали оперантной реакции нажатия на педаль для получения пищевого подкрепления в режиме «фиксированное соотношение 1» (ФС1), при котором животное получает подкрепление после каждого нажатия. На следующей стадии соотношение было увеличено до 3, а затем до 5; переход на каждую следующую стадию осуществляли после успешного получения животными 50 подкреплений в течение 30 минут на протяжении как минимум двух экспериментальных сессий подряд. После успешного обучения в режиме подкрепления ФС5 животных тестировали в режиме подкрепления ВС3. В этом режиме в течение сессии количество нажатий, необходимых для получения каждого последующего подкрепления (соотношение) увеличивалось на 3, начиная с 3: 3, 6, 9 и т. д. Длительность сессии составляла 120 минут. В качестве поведенческих показателей фиксировали число полученных подкреплений, число выгладываний в лоток для пеллет, а также время, затраченное животными на получение каждого подкрепления (время между подкреплениями, ВМП).

Для оценки поведения в режиме ВС3 анализировали локальную частоту оперантной реакции (ЛЧОР) в каждом интервале между получением подкреплений, рассчитываемую по формуле: текущее соотношение / ВМП. Поскольку животные получали разное количество подкреплений, не во всех экспериментальных группах имелись данные по всем наблюдаемым соотношениям. В связи с этим устанавливалось максимальное анализируемое соотношение, для которого в каждой экспериментальной группе имелось не менее 2 значений ЛЧОР. Данные, относящиеся к соотношениям выше этого порога, были исключены из анализа. Дальнейший анализ ЛЧОР проводился по блокам из 5 подкреплений (1-й блок включал соотношения 3, 6, 9, 12 и 15, 2-й блок -

соотношения 18, 21, 24, 27 и 30 и т. д.). Для каждой крысы были рассчитаны средние значения ЛЧОР в пределах каждого блока, которые подлежали дальнейшей статистической обработке.

Также для оценки общего паттерна изменений ЛЧОР в течение сессии анализировали параметры математической модели зависимости ЛЧОР от числа требуемых оперантных реакций. Как правило, в режиме ВС наблюдается увеличение ЛЧОР на протяжении первых нескольких соотношений, которая затем, достигая пика, начинает снижаться до конца экспериментальной сессии. Такая зависимость может быть описана математической моделью, представляющей из себя систему 2 уравнений (рис. 2.5): для описания стандартной ЛЧОР (уравнение 1) и ЛЧОР, рассчитанную без учета ППП (уравнение 2).

$$R_{OVERALL,i} = N_i / T_{TOT,i} \quad (1)$$

$$R_{RUN,i} = \frac{1}{\delta(1 + T_{TOT,i-1}/a)} \quad (2)$$



Рисунок 2.5 – Математическая модель зависимости ЛЧОР от соотношения [26]. $R_{OVERALL}$ – ЛЧОР; R_{RUN} – ЛЧОР без учета ППП; N – соотношение; T_{TOT} – время, затраченное на получение подкрепления; i – порядковый номер подкрепления.

Параметры данной модели могут нести информацию о различных

компонентах, лежащих в основе наблюдаемого поведения [26]. Так, параметр α данной модели равен теоретически предсказываемой продолжительности (в секундах) оперантной активности, стимулированной одним подкреплением («специфическая активация») и может служить мерой поощрительной силы подкрепления. Параметр δ равен минимальному времени, которое требуется животному для совершения оперантной реакции и, следовательно, позволяет оценить физическую способность животного к совершению оперантных реакций. Кроме того, еще 2 параметра, T_0 и k , несут информацию о ППП и ее динамике в зависимости от соотношения. На рисунке 2.6 представлено, как изменяется форма кривых, описываемых уравнениями 1 и 2, при изолированном увеличении значений параметров δ , T_0 и k и снижении значения параметра α .

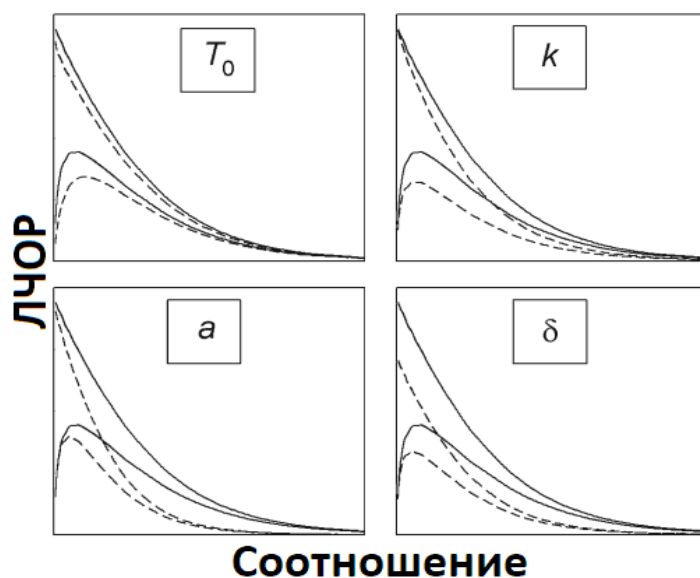


Рисунок 2.6 – Изменение кривых, предсказываемых моделью, при разных значениях параметров. Сплошная линия – исходная кривая, пунктирная линия – кривая после изменения параметра.

В настоящем исследовании для значений ЛЧОР и ППП каждого животного осуществляли подбор наилучших параметров модели с помощью надстройки «Поиск решения» в программе MS Excel, после чего вычисленные значения параметров сравнивали статистическими методами.

2.3.2.2 Оперантный режим подкрепления «фиксированное соотношение 3 + фиксированный интервал 240» (ФС3+ФИ240)

Животных обучали нажатием на педаль в режиме подкрепления ФС3 аналогично вышеописанному алгоритму (п. 2.3.2.1). После успешного обучения (получения животными 50 подкреплений в течение 30 минут на протяжении как минимум двух экспериментальных сессий подряд) режим подкрепления дополняли введением фиксированного интервала между получением двух последовательных подкреплений, который был равен 10 с. В дальнейшем интервал постепенно увеличивали до финального значения 240 секунд с промежуточными значениями 60, 120 и 180 секунд, и двумя экспериментальными сессиями на каждой стадии. Данное целевое значение интервала было подобрано так, чтобы при одинаковой длительности экспериментальных сессий число подкреплений, получаемых животными в режиме ФС3+ФС240, было сопоставимо с таковым в режиме ВС3. Это позволило использовать режим подкрепления ФС3+ФС240 как контрольную методику для оценки специфичности угнетающего действия изучаемых веществ на поведение в режиме ВС3. В режиме ФС3+ФС240 фиксировали число полученных подкреплений.

2.4 Дизайн исследования

2.4.1 Изучение влияния нарушения функций белков-регуляторов моноаминергической нейротрансмиссии и действия немонаминергических психостимуляторов на целенаправленное поведение в условиях возрастания затрат усилий

Для изучения особенностей целенаправленного поведения в режиме подкрепления ВС3 в условиях изменения синаптического уровня моноаминов использовали соединения с установленной фармакологической активностью и стоки генетически модифицированных животных. В частности, для изучения последствий повышения синаптического содержания дофамина использовали DAT-КО крыс и ингибитор обратного захвата дофамина GBR-12909. Влияние

снижения серотонинергической нейротрансмиссии изучали на TRH2-КО крысах, а повышения синаптического содержания серотонина на лабораторных животных, находящихся под действием ингибитора обратного захвата серотонина флуоксетина. Повышение уровня норадреналина вызывали введением атомоксетина – ингибитора норадреналинового транспортера. Кроме того, изучали влияние комбинированного повышения и снижения уровня моноаминов с помощью введения, соответственно, неселективного ингибитора обратного захвата моноаминов амфетамина и ингибитора VMAT2 ТБЗ, действие которого сопровождается снижением синаптической концентрации данных нейромедиаторов [110].

В отличие от действия фармакологических агентов, изменение синаптического уровня нейромедиаторов у DAT-КО и TRH2-КО крыс сохраняется на протяжении всего жизненного цикла животного, что позволяет изучать процессы адаптации поведения в течение относительно длительного промежутка времени. С этой целью в настоящей работе тестировали DAT-КО и TRH2-КО крыс в режиме подкрепления ВСЗ на протяжении 8 последовательных ежедневных сессий, после чего также исследовали угашение оперантной реакции в течение 5 ежедневных сессий, во время которых в качестве подкрепления сохранялся только условный стимул (звуковой сигнал), ранее сигнализировавший о получении пищевого подкрепления.

Изучение влияния недофаминергических психостимуляторов на поведение в режиме ВСЗ проводили с использованием никотина, антагонистов глутаматных рецепторов NMDA-подтипа МК-801 и кетамина, а также кофеина.

Фармакологические тесты проводили на крысах стока Wistar (в случае амфетамина и МК-801 – на DAT-WT крысах) по схеме «Латинский квадрат», при которой каждое животное последовательно получает все исследуемые дозы вещества и растворитель. Минимальный интервал между тестами составлял 72 часа и включал 2 промежуточные экспериментальные сессии в режиме подкрепления ФС5. При изучении эффектов ТБЗ до тестирования в режиме ВСЗ

изучали влияние введения вещества в дозах 0,3; 1 и 3 мг/кг на локомоторную активность животных. Введение ТБЗ в данном эксперименте также осуществлялось по схеме «Латинский квадрат» с перерывом 72 ч. В дальнейших экспериментах не использовали дозировки ТБЗ, введение которых сопровождалось выраженным снижением двигательной активности. Для ТБЗ и флуоксетина проводилась также оценка эффектов данных веществ в режиме ФСЗ+ФИ240 на дополнительной группе крыс. В данных экспериментах животные также получали вещества по схеме «Латинский квадрат» с перерывом между тестами 72 ч, во время которого продолжались экспериментальные сессии в режиме ФСЗ+ФИ240.

2.4.2 Анализ эффективности блокады канала NMDA-рецепторного комплекса и ингибирования DAT в условиях снижения моноаминергической нейротрансмиссии

С целью поиска потенциальных средств фармакологической коррекции апатоподобных нарушений целенаправленного поведения, вызванных снижением уровня моноаминов, тестировали высоко- (МК-801) и низкоаффинный (мемантин) антагонисты глутаматных рецепторов NMDA-подтипа и высокоселективный атипичный ингибитор DAT CE-123. Эксперименты проводили на независимых группах крыс стока Wistar, которым вводили ТБЗ в дозе 0,3 мг/кг в сочетании с МК-801, мемантином или CE-123 в одной из используемых дозировок или растворителем.

2.5 Статистическая обработка данных

Анализ и визуализацию полученных данных производили с использованием языка программирования R (версия 4.2.1). Статистическую значимость влияния исследуемых факторов на поведенческие показатели оценивали с помощью тестов Краскела-Уоллиса и Фридмана (пакет «PMCMRplus») или смешанной модели дисперсионного анализа (mixed ANOVA, пакеты «lmerTest» [109], «emmeans») на ранжированных данных. Парные сравнения (mixed ANOVA: тесты Даннетта и

Тьюки; тест Краскела-Уоллиса; тест Данна; тест Фридмана; точный тест Eisinga и соавт. [59], EMC тест) проводили только при условии, что статистически значимые различия были выявлены процедурой дисперсионного анализа. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Изучение влияния нарушения функций белков-регуляторов моноаминергической нейротрансмиссии на целенаправленное поведение

3.1.1 Изучение поведения DAT-KO крыс

При анализе поведения DAT-KO крыс в режиме подкрепления ВСЗ между животными различных генотипов различия по количеству полученных подкреплений не выявлено (тест Краскела-Уоллиса: $H=1,456$, $df=2$, $p=0,48$; рис. 3.1).

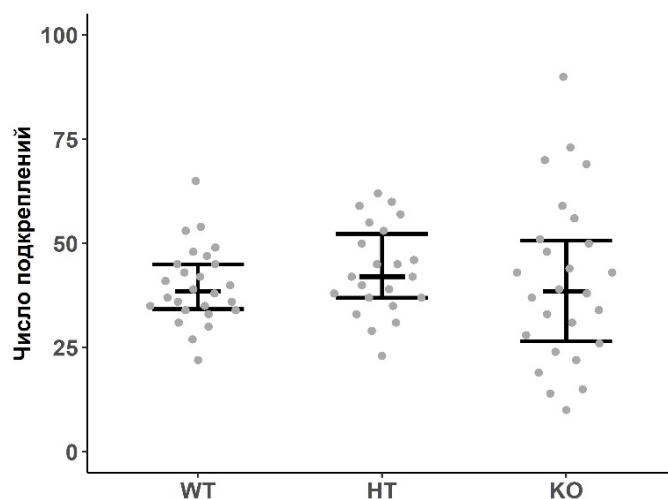


Рисунок 3.1 — Число подкреплений, полученных в режиме ВСЗ DAT-WT, DAT-NT и DAT-KO крысами. $n=26$ (WT), 22 (NT), 26 (KO). Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений.

Последующий анализ ЛЧОР, однако, позволил обнаружить значительные отклонения в поведении DAT-KO крыс. При минимальных соотношениях в режиме ВСЗ у крыс-нокаутов наблюдалась низкая частота нажатий на педаль, которая затем возрастала по мере увеличения количества необходимых оперантных реакций, в то время как у DAT-WT и DAT-NT животных, напротив,

этот показатель был выше в начале сессии и закономерно снижался на её протяжении (рис. 3.2А). При проведении статистического анализа выявлено значимое влияние на ЛЧОР факторов «генотип» и «блок», а также их взаимодействия (фактор «генотип»: $F_{(2,74)}=4,890$, $p<0,05$; фактор «блок»: $F_{(9,498)}=14,907$, $p<0,001$; взаимодействие: $F_{(18,498)}=30,478$, $p<0,001$). В результате попарных сравнений обнаружено, что ЛЧОР DAT-KO крыс была значимо ниже по сравнению с крысами «дикого типа» в блоках 1-3 (соотношения 3-45) и по сравнению с гетерозиготными крысами в блоке 4 (соотношения 48-60). При этом в блоках с более высокими соотношениями (93-138), поведение DAT-KO крыс характеризовалось большей ЛЧОР по сравнению с DAT-WT (блоки 7-10) и DAT-НТ (блок 9) крысами (рис. 3.2Б).

Между экспериментальными группами также обнаружены статистически значимые различия по всем параметрам регрессионной модели ЛЧОР (тест Краскела-Уоллиса - параметр α : $H=21,9$, $df=2$, $p<0,001$; параметр δ : $H=22,8$, $df=2$, $p<0,001$; параметр k : $H=20,3$, $df=2$, $p<0,001$; параметр T_0 : $H=28,0$, $df=2$, $p<0,001$). При проведении апостериорных сравнений установлено, что по сравнению с DAT-WT и DAT-НТ крысами у нокаутных животных выше значения параметров α , δ и T_0 , и ниже значение параметра k (рис. 3.3). Также выявлена тенденция к меньшему значению параметра δ у гетерозиготных крыс по сравнению с животными «дикого типа» ($p<0,06$; рис. 3.3Б).

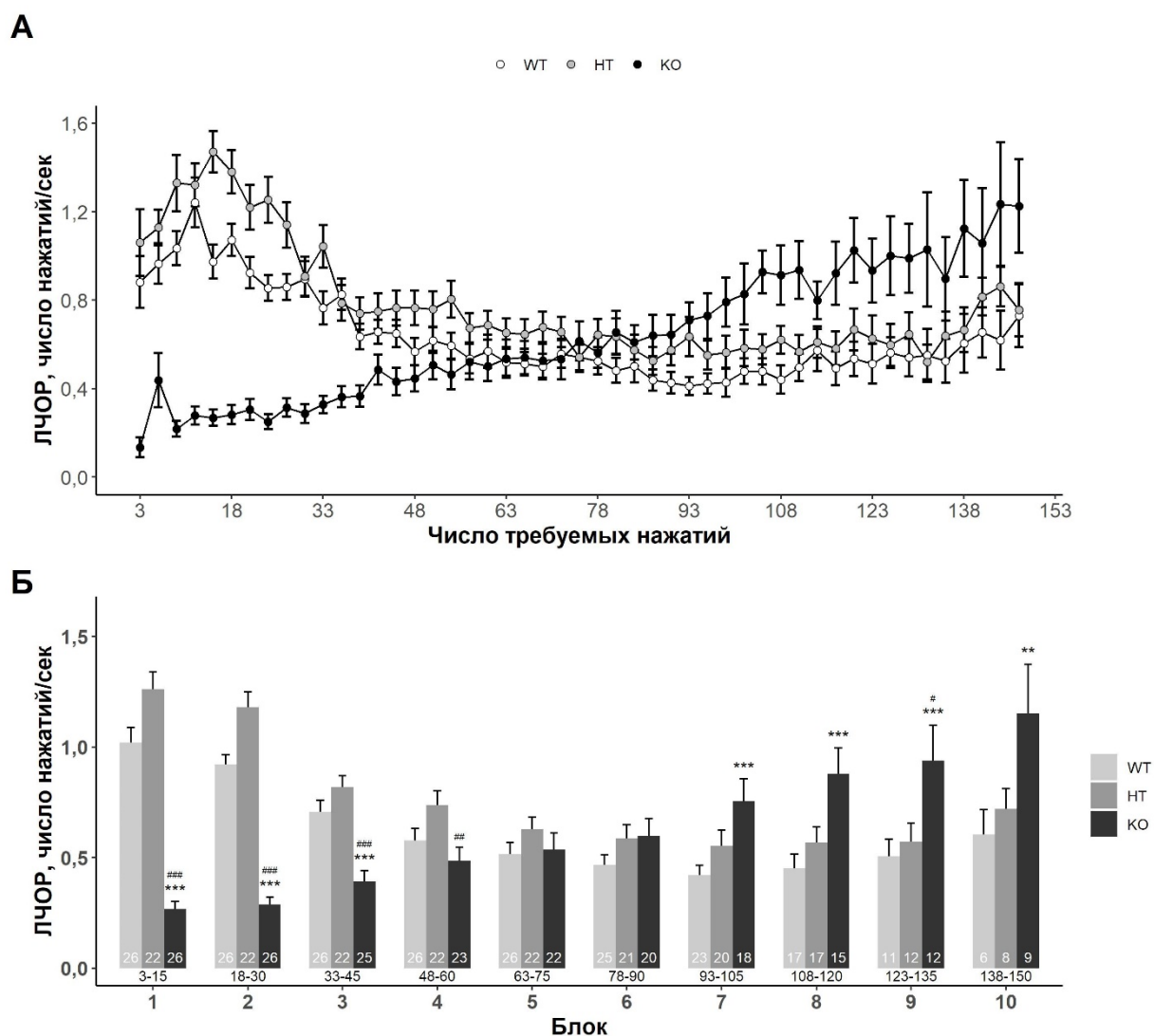


Рисунок 3.2 — Влияние нокаута гена DAT на ЛЧОР в режиме ВСЗ. **А** – ЛЧОР DAT-WT, DAT-HT и DAT-KO крыс; **Б** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами. ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, тест Тьюки (DAT-KO vs DAT-WT); # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$, тест Тьюки (DAT-KO vs DAT-HT).

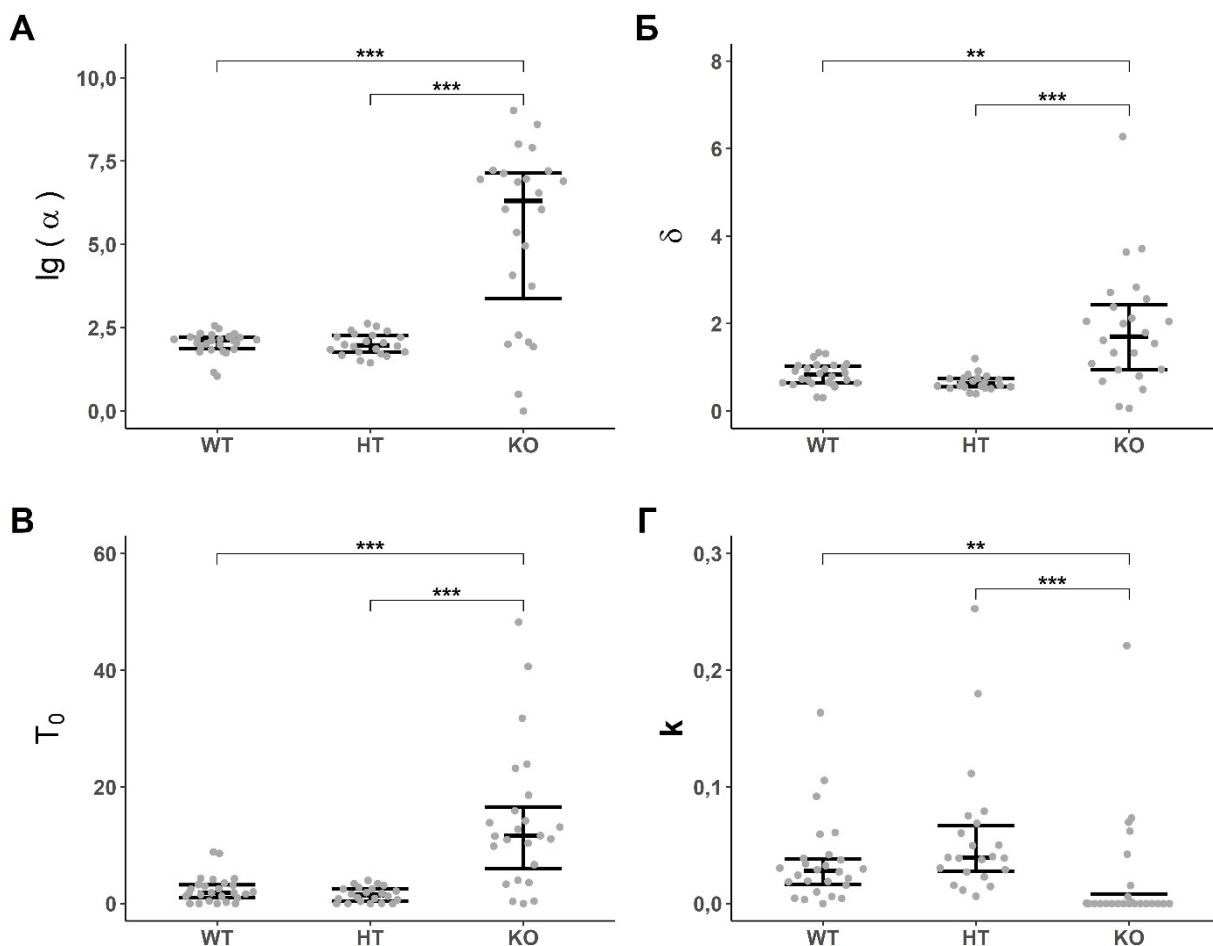


Рисунок 3.3 — Параметры регрессионной модели ЛЧОР DAT-KO, DAT-HT и DAT-WT крыс. **А** – параметр α (представлены значения десятичного логарифма от исходной величины); **Б** – параметр δ ; **В** – параметр T_0 ; **Г** – параметр k . $n=24$ (WT), 22 (HT), 25 (KO). Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$, тест Данна.

В то время как выявленное повышение ЛЧОР при высоких соотношениях, наиболее вероятно, обусловлено более высокой активностью животных, снижение данного показателя может происходить как вследствие общего угнетения способности животного совершать какие-либо действия, так и «переключением» на другую активность. Для уточнения природы снижения ЛЧОР в начале сессии дополнительно оценивали локальную частоту выглядываний в лоток для pellets (ЛЧВП) в промежутках между получением подкреплений. В результате

проведения статистического анализа выявлено значимое влияние факторов «генотип», «блок» и их взаимодействия на данный показатель (фактор «генотип»: $F_{(2,31)}=8,399$, $p<0,01$; фактор «блок»: $F_{(7,200)}=14,862$, $p<0,001$; взаимодействие: $F_{(14,200)}=4,428$, $p<0,001$). При осуществлении апостериорных сравнений обнаружено, что DAT-KO крысы совершали больше выглядываний в блоках 3-8 по сравнению с DAT-WT и гетерозиготными крысами (рис. 3.4).

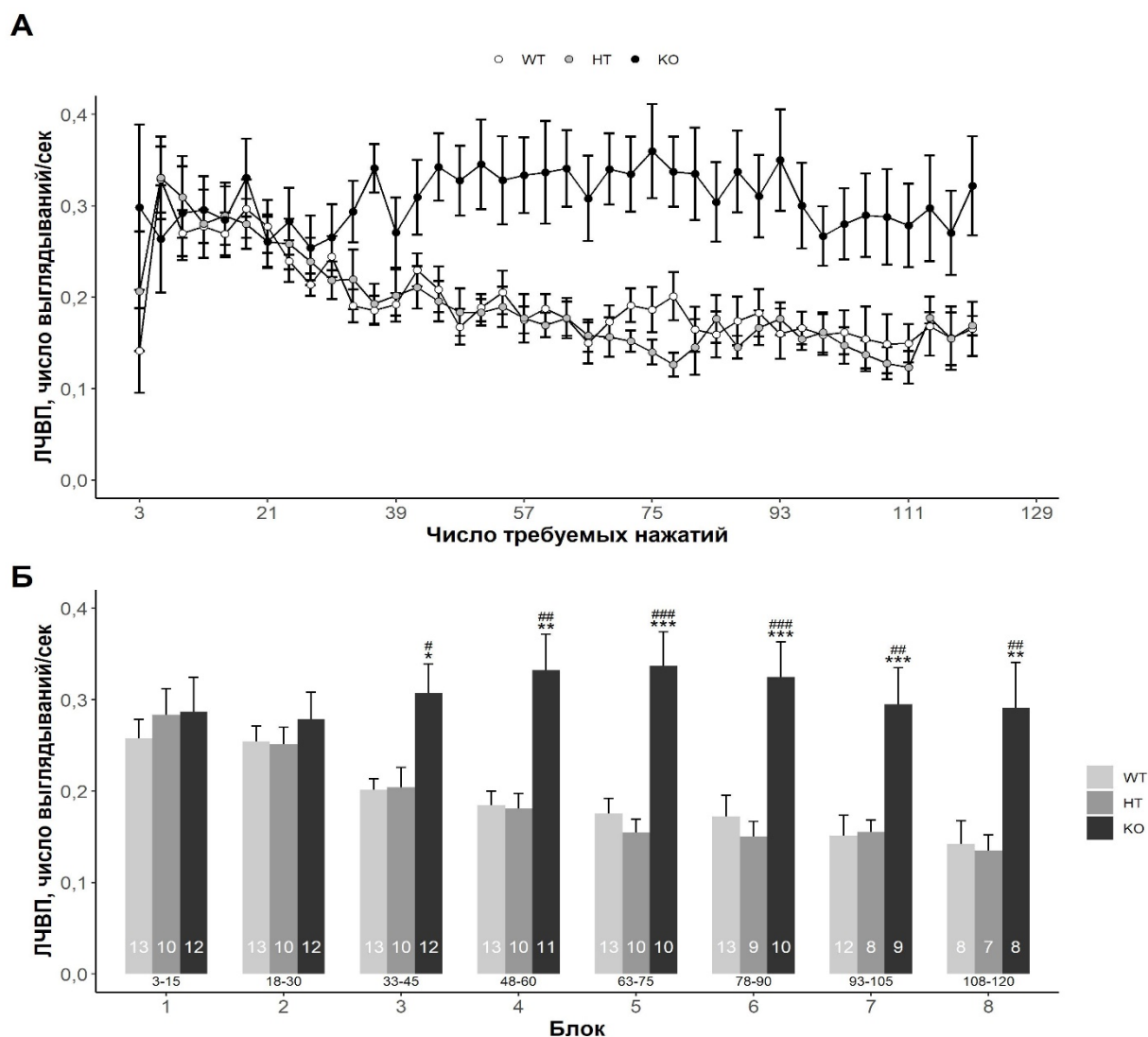


Рисунок 3.4 — Сравнение ЛЧВП DAT-WT, DAT-HT и DAT-KO крыс. Данные представлены в виде среднего значения + ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами. * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$, тест Тьюки (DAT-KO vs

DAT-WT); # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$, тест Тьюки (DAT-KO vs DAT-НТ).

При тестировании DAT-KO крыс в режиме ВСЗ в течение 8 дней выявлено значимое влияние фактора «день» на число полученных подкреплений, а также взаимодействия факторов «день» и «генотип», в то время как фактор «генотип» сам по себе не оказывал значимого влияния, что согласуется с результатами однократного теста (фактор «генотип»: $F_{(2,16)}=0,050$, $p=0,95$; фактор «день»: $F_{(7,111)}=11,626$, $p < 0,001$; взаимодействие: $F_{(14,111)}=2,438$, $p < 0,01$). У DAT-WT и DAT-НТ крыс наблюдалось снижение числа подкреплений во время 6-й – 8-й экспериментальных сессий (при сравнении с данными первой сессии), в случае же DAT-KO крыс не было выявлено разницы между первой и последующими сессиями (рис. 3.5А). При последующем анализе угашения оперантной реакции не выявлено статистически значимого влияния фактора «генотип» или взаимодействия факторов «генотип» и «день» (фактор «генотип»: $F_{(2,16)}=0,586$, $p=0,57$; фактор «день»: $F_{(4,64)}=62,155$, $p < 0,001$; взаимодействие: $F_{(8,64)}=1,215$, $p=0,3$; рис. 3.5Б).

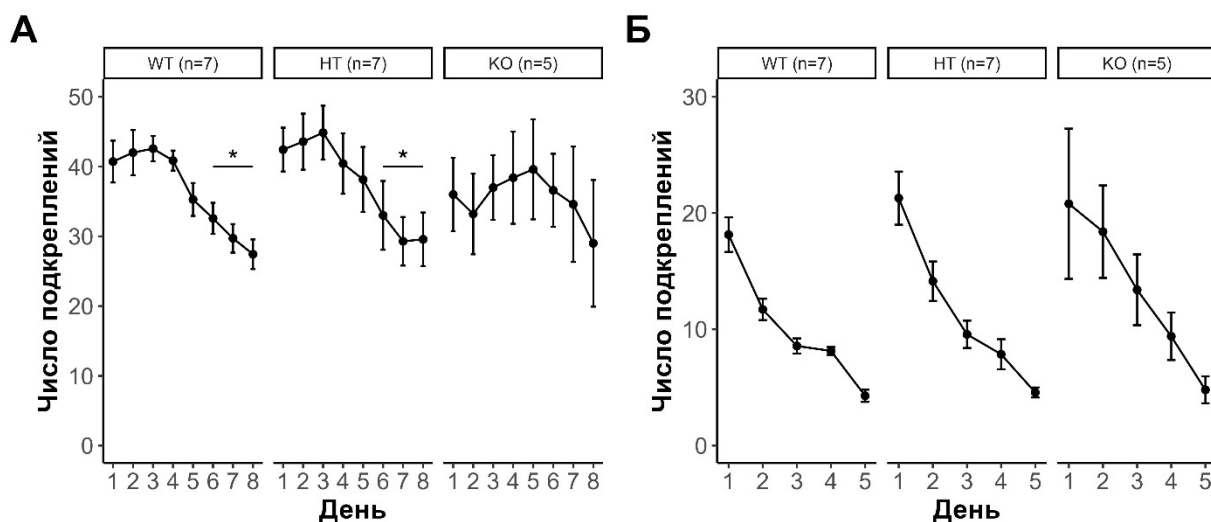


Рисунок 3.5 — Сравнение динамики поведения DAT-WT, DAT-НТ и DAT-KO крыс в режиме ВСЗ в течение 8 последовательных сессий (А) и угашения оперантной реакции (Б). Данные представлены в виде среднего значения ±

стандартной ошибки среднего значения. * – $p < 0,05$, тест Даннетта (при сравнении с данными 1-го дня).

3.1.2 Эффект GBR-12909

Действие GBR-12909 сопровождалось значимым влиянием на число полученных подкреплений (тест Фридмана: $\chi^2=18,4$, $df=3$, $p < 0,001$). Результаты попарных сравнений с данными растворителя подтвердили статистически значимое увеличение данного показателя после введения вещества в дозах 5 и 10 мг/кг (рис. 3.6).

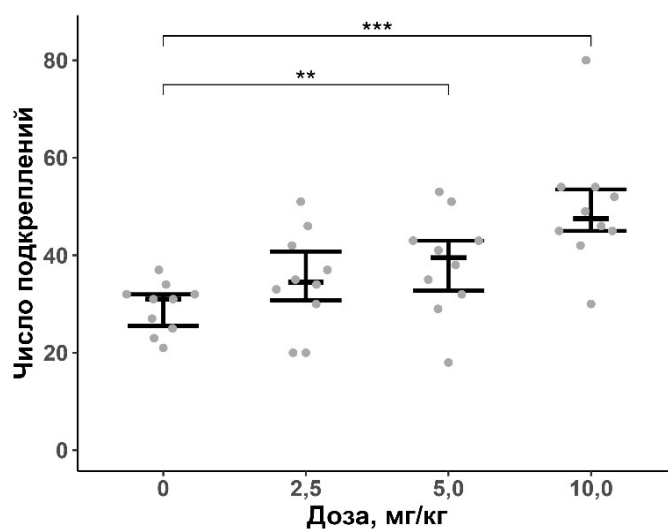


Рисунок 3.6 — Влияние GBR-12909 на число подкреплений, полученных в режиме ВСЗ. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. $n=10$. ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, ЕМС тест.

При анализе ЛЧОР выявлен статистически значимый эффект факторов «доза» и «блок», при этом их значимого взаимодействия обнаружено не было (фактор «доза»: $F_{(3,28)}=6,122$, $p < 0,01$; фактор «блок»: $F_{(5,173)}=29,546$, $p < 0,001$; взаимодействие: $F_{(15,173)}=0,925$, $p=0,54$). В результате проведения попарных сравнений показано, что введение самой высокой дозы вещества (10 мг/кг) приводило к повышению ЛЧОР (рис. 3.7).

Введение GBR-12909 приводило также к статистически значимым изменениям параметра α математической модели ЛЧОР (тест Фридмана –

параметр α : $\chi^2=8,04$, $df=3$, $p<0,05$; параметр δ : $\chi^2=0,96$, $df=3$, $p=0,81$; параметр T_0 : $\chi^2=1,32$, $df=3$, $p=0,72$; параметр k : $\chi^2=4,7$, $df=3$, $p=0,2$). В результате дальнейших апостериорных сравнений обнаружено, что данный параметр статистически значимо повышался под действием GBR-12909 в дозе 10 мг/кг (рис. 3.8).

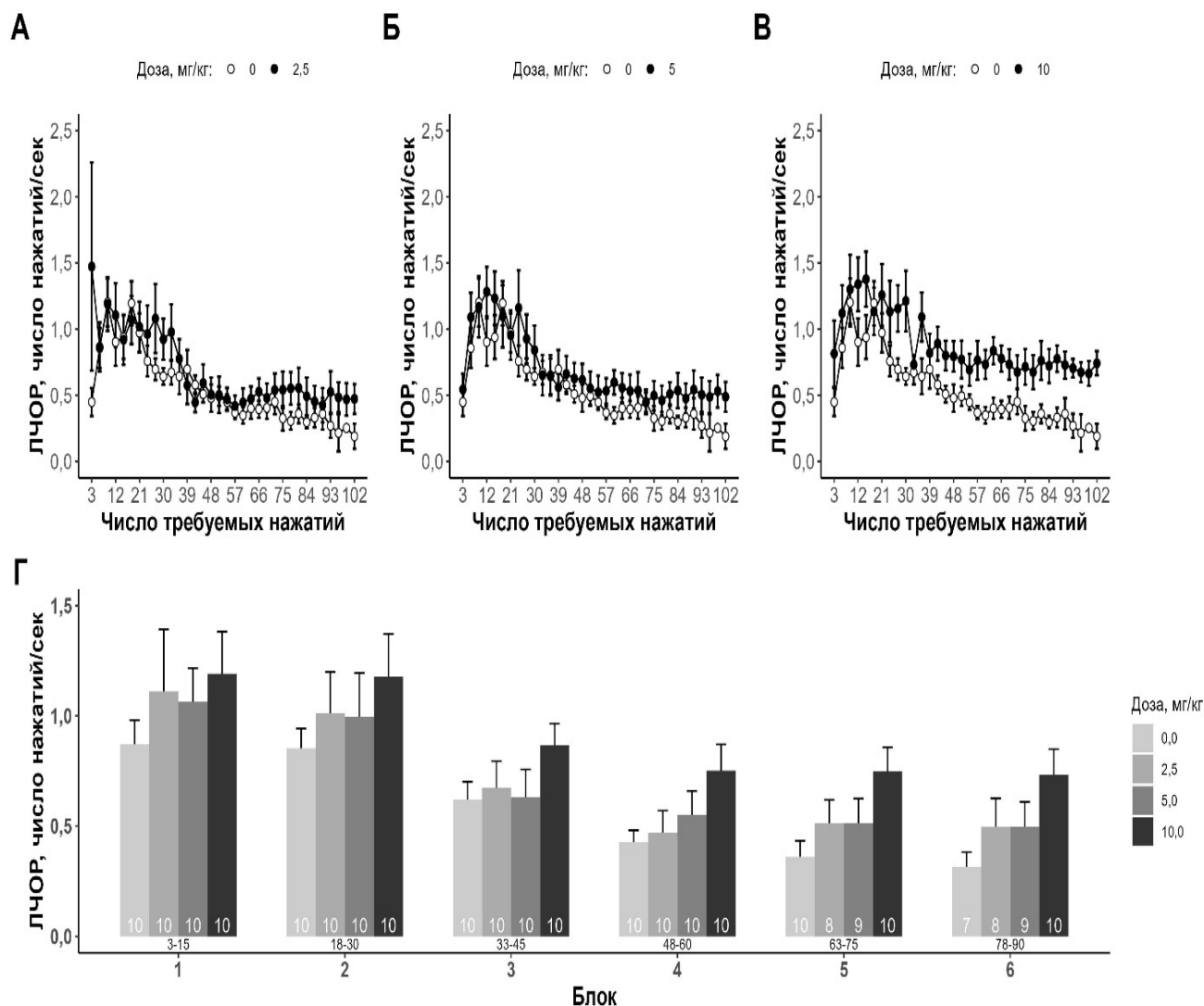


Рисунок 3.7 — Влияние GBR-12909 на ЛЧОР. **А** – сравнение дозы 2,5 мг/кг с растворителем ; **Б** – сравнение дозы 5 мг/кг с растворителем; **В** – сравнение дозы 10 мг/кг с растворителем; **Г** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами.

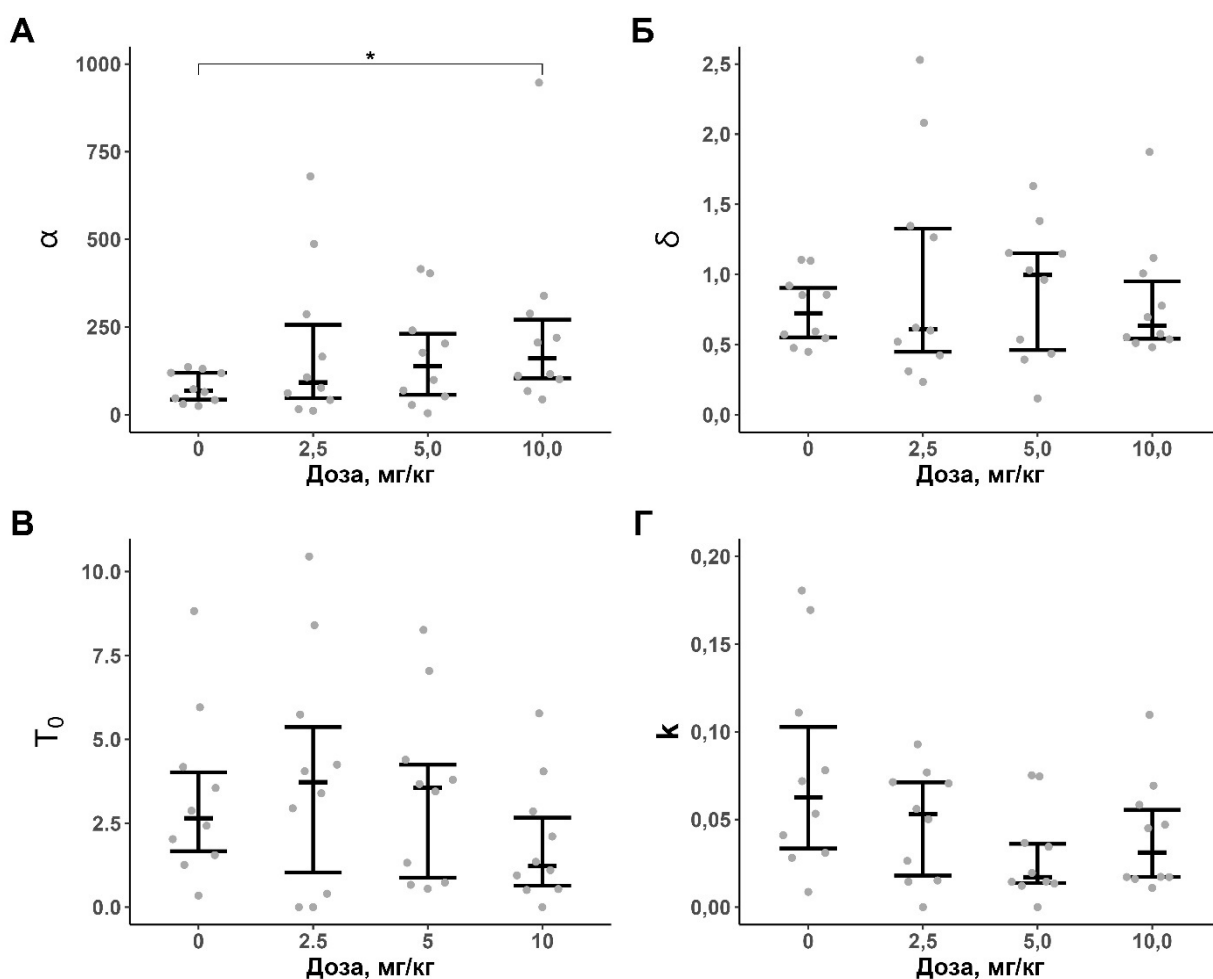


Рисунок 3.8 — Влияние GBR-12909 на параметры регрессионной модели ЛЧОР. **А** – параметр α ; **Б** – параметр δ ; **В** – параметр T_0 ; **Г** – параметр k . $n=10$. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. * – $p<0,05$; ЕМС тест.

3.1.3 Эффект атомоксетина

Действие атомоксетина сопровождалось дозозависимым влиянием на число полученных подкреплений (тест Фридмана: $\chi^2=8,71$, $df=3$, $p<0,05$). Попарные сравнения с данными растворителя подтвердили значимое снижение данного показателя у крыс под действием вещества в дозе 1 мг/кг (рис. 3.9).

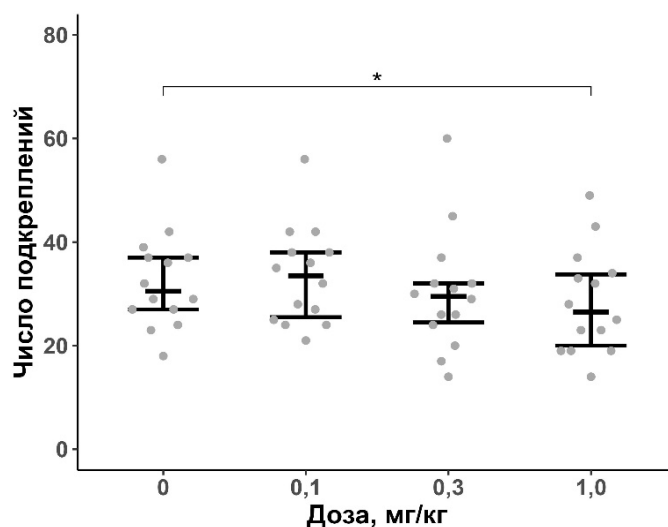


Рисунок 3.9 — Влияние атомоксетина на число подкреплений, полученных в режиме ВСЗ. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. $n=14$. * – $p<0,05$, ЕМС тест.

Однако при анализе ЛЧОР не выявлено статистически значимого эффекта фактора «доза» или взаимодействия факторов «доза» и «блок» (фактор «доза»: $F_{(3,47)}=1,886$, $p=0,14$; фактор «блок»: $F_{(7,274)}=51,482$, $p<0,001$; взаимодействие: $F_{(21,276)}=0,989$, $p=0,45$; рис. 3.10). Действие вещества также не сопровождалось статистически значимым изменением параметров модели ЛЧОР (тест Фридмана – параметр α : $\chi^2=3,2$, $df=3$, $p=0,37$; параметр δ : $\chi^2=1,63$, $df=3$, $p=0,65$; параметр k : $\chi^2=2,4$, $df=3$, $p=0,49$; параметр T_0 : $\chi^2=0,7$, $df=3$, $p=0,87$; рис. 3.11).

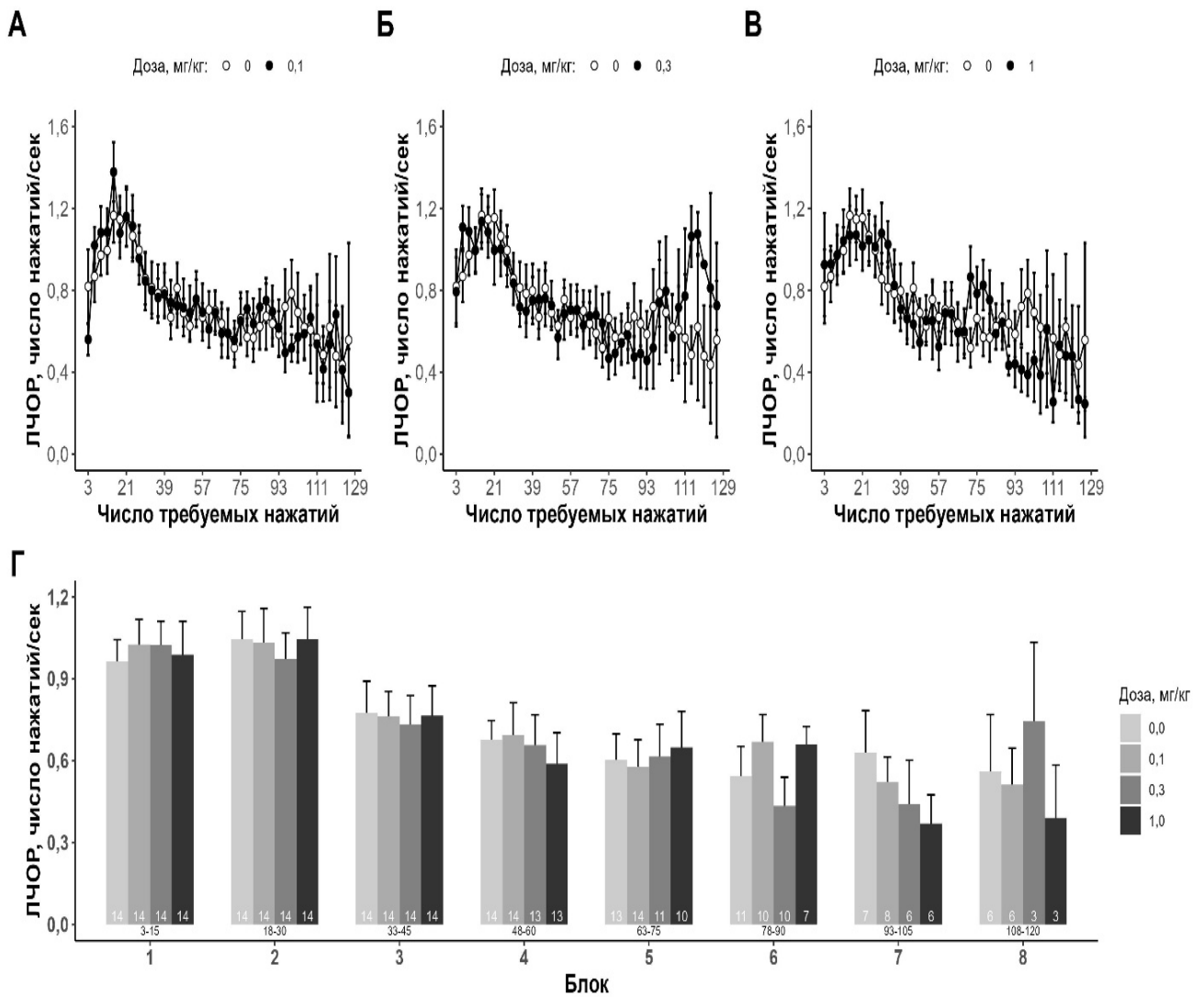


Рисунок 3.10 — Влияние атомоксетина на ЛЧОР. **А** – сравнение дозы 0,1 мг/кг с растворителем; **Б** – сравнение дозы 0,3 мг/кг с растворителем; **В** – сравнение дозы 1 мг/кг с растворителем; **Г** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами.

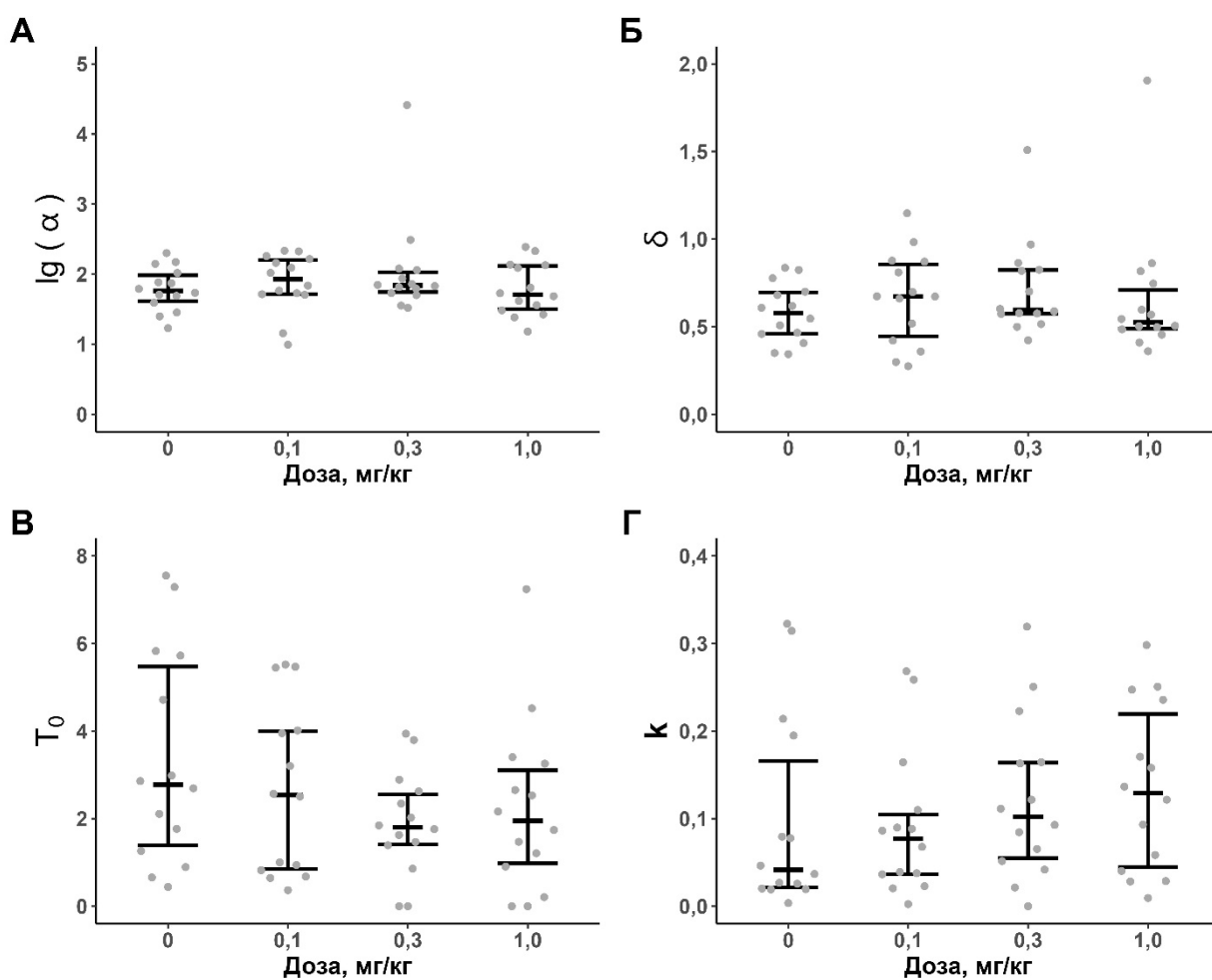


Рисунок 3.11 — Влияние атомоксетина на параметры регрессионной модели ЛЧОР. **А** – параметр α (представлены значения десятичного логарифма); **Б** – параметр δ ; **В** – параметр T_0 ; **Г** – параметр κ . $n=14$. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений.

3.1.4 Эффект амфетамина

Введение амфетамина статистически значимо влияло на число полученных подкреплений (тест Фридмана: $\chi^2=13,7$, $df=3$, $p<0,01$). Результаты попарных сравнений показали, что действие вещества в дозе 1 мг/кг сопровождалось повышением данного показателя (рис. 3.12).

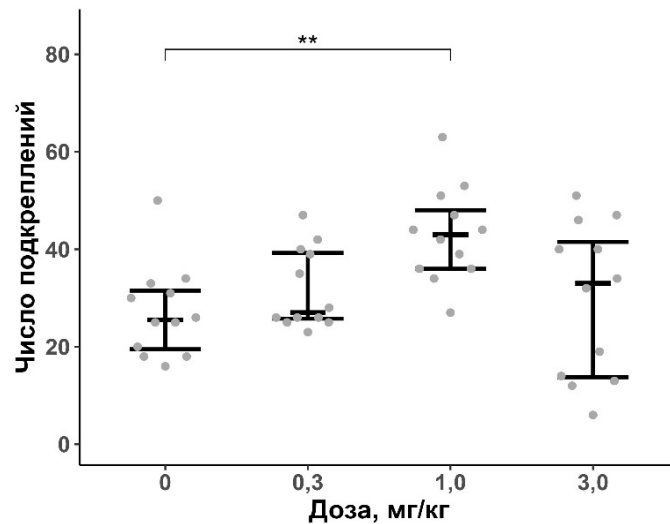


Рисунок 3.12 – Влияние амфетамина на число подкреплений, полученных в режиме ВСЗ. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. $n=12$. ** – $p<0,01$, ЕМС тест.

В результате анализа ЛЧОР выявлено статистически значимое влияние факторов «доза» и «блок», а также их взаимодействия (фактор «доза»: $F_{(3,33)}=7,254$, $p<0,001$; фактор «блок»: $F_{(5,193)}=22,214$, $p<0,001$; взаимодействие: $F_{(15,193)}=9,727$, $p<0,001$). Согласно результатам апостериорных сравнений, после введения самой низкой дозы вещества (0,3 мг/кг) ЛЧОР статистически значимо повышалась при сравнительно невысоких значениях соотношения (18–45) во 2-м и 3-м блоках (рис. 3.13). Напротив, действие более высоких доз — 1 и 3 мг/кг — сопровождалось увеличением ЛЧОР при более высоких соотношениях (63–90 – блоки 5 и 6, рис. 3.13). Примечательно, что введение самой высокой дозы (3 мг/кг) также сопровождалось снижением ЛЧОР в начале экспериментальной сессии при минимальных соотношениях (3–30, рис. 3.13).

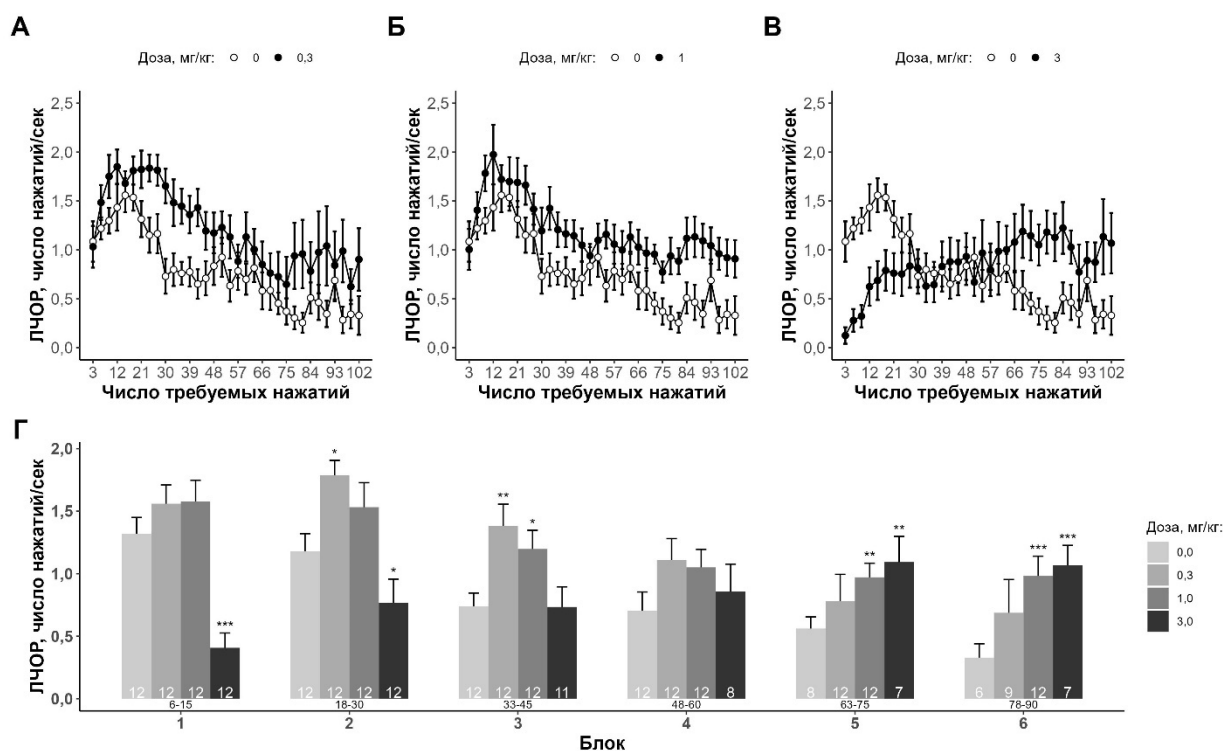


Рисунок 3.13 – Влияние амфетамина на ЛЧОР. **А** – эффект амфетамина в дозе 0,3 мг/кг; **Б** – эффект амфетамина в дозе 1 мг/кг; **В** – эффект амфетамина в дозе 3 мг/кг; **Г** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, тест Даннетта (амфетамин vs растворитель).

Выявленные изменения ЛЧОР сопровождалось также статистически значимым влиянием амфетамина на все параметры регрессионной модели (тест Фридмана – параметр α : $\chi^2=21,4$, $df=3$, $p < 0,001$; параметр δ : $\chi^2=19,9$, $df=3$, $p < 0,001$; параметр T_0 : $\chi^2=19,7$, $df=3$, $p < 0,001$; параметр k : $\chi^2=20,7$, $df=3$, $p < 0,001$). При проведении попарных сравнений с данными растворителя выявлено, что параметр α повышался под действием амфетамина в дозе 3 мг/кг (рис. 3.14А), параметр T_0 повышался после введения амфетамина в дозе 3 мг/кг (рис. 3.14В), а параметр k снижался под действием вещества в дозах 1 и 3 мг/кг (рис. 3.14Г). Также

наблюдалась тенденция к снижению параметра δ в дозе 0,3 мг/кг ($p < 0,1$) и повышению в дозе 3 мг/кг ($p < 0,07$, рис. 3.14Б).

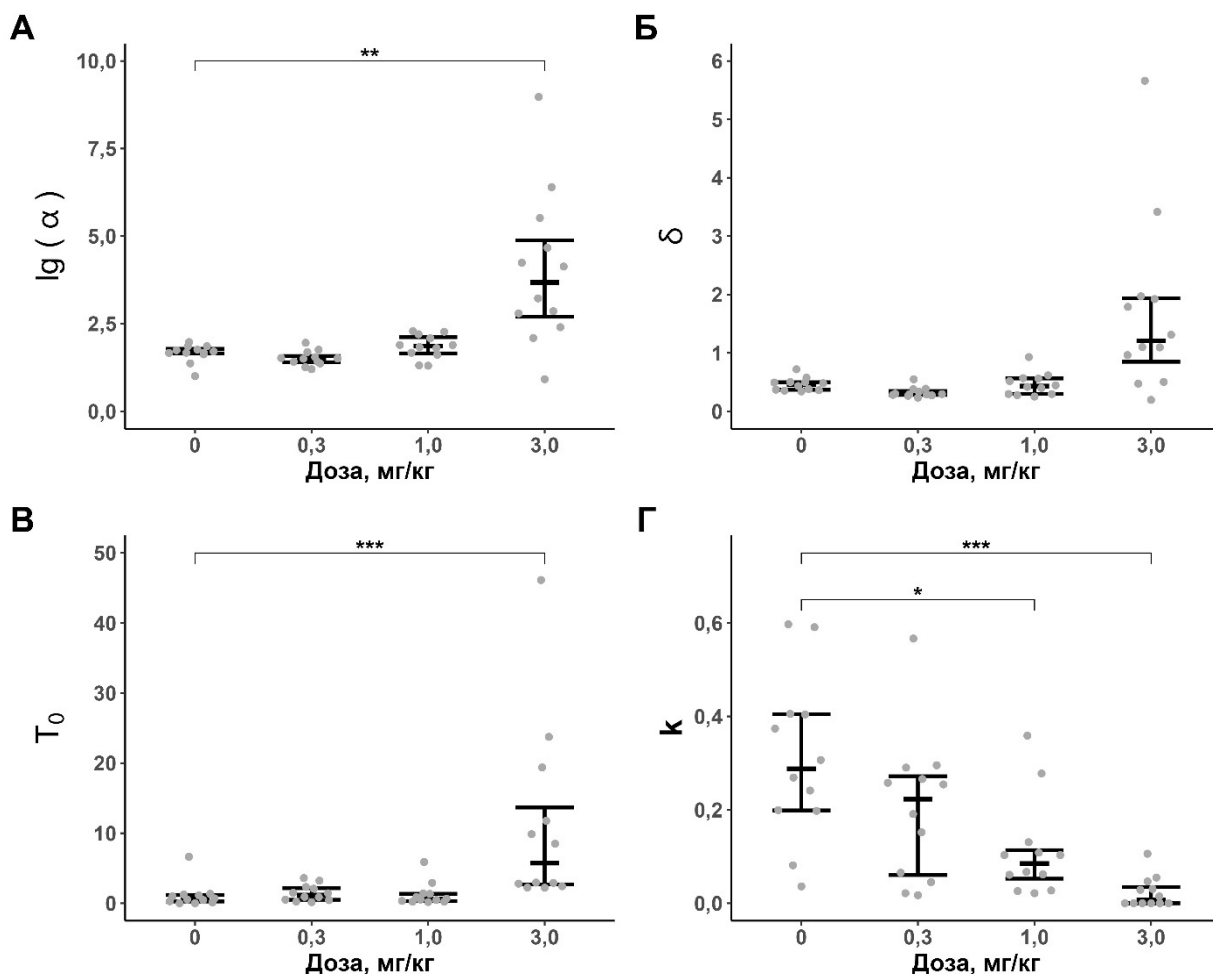


Рисунок 3.14 – Влияние амфетамина на параметры регрессионной модели ЛЧОР. **А** – параметр α (представлены значения десятичного логарифма от исходной величины); **Б** – параметр δ ; **В** – параметр T_0 ; **Г** – параметр κ . $n=12$. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, ЕМС тест.

Введение амфетамина также статистически значимо влияло на ЛЧВП (фактор «доза»: $F_{(3,33)}=6,265$, $p < 0,01$; фактор «блок»: $F_{(5,193)}=86,700$, $p < 0,001$; взаимодействие: $F_{(15,193)}=8,194$, $p < 0,001$). По результатам апостериорных сравнений ЛЧВП повышалась под действием амфетамина в дозе 0,3 мг/кг в блоке 3, в дозе 1 мг/кг – в блоках 3-6 и в дозе 3 мг/кг – в блоках 5-6 (рис. 3.15). Однако, в

отличие от DAT-КО крыс, действие вещества в дозе 3 мг/кг сопровождалось также снижением данного показателя в блоке 1, что может подтверждать неспецифическое угнетающее действие в начале экспериментальной сессии.

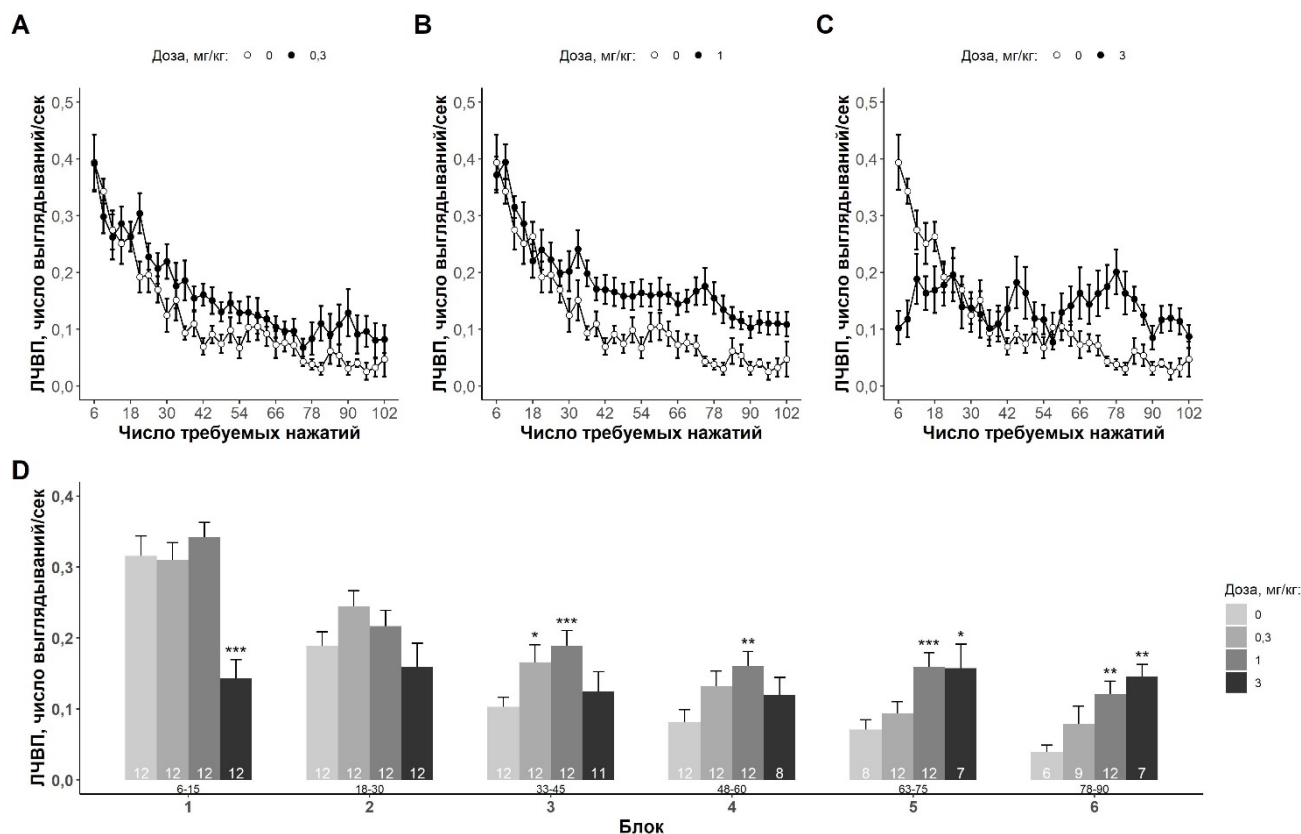


Рисунок 3.15 – Влияние амфетамина на ЛЧВП в режиме ВС3. Данные представлены в виде среднего значения + ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, тест Даннетта (амфетамин vs растворитель).

3.1.5 Эффект флуоксетина

Действие флуоксетина характеризовалось дозозависимым снижением числа полученных подкреплений (тест Фридмана: $\chi^2=20,8$, $df=3$, $p < 0,001$). Статистически значимые различия выявлены между данными растворителя и вещества в дозе 10 мг/кг (рис. 3.16).

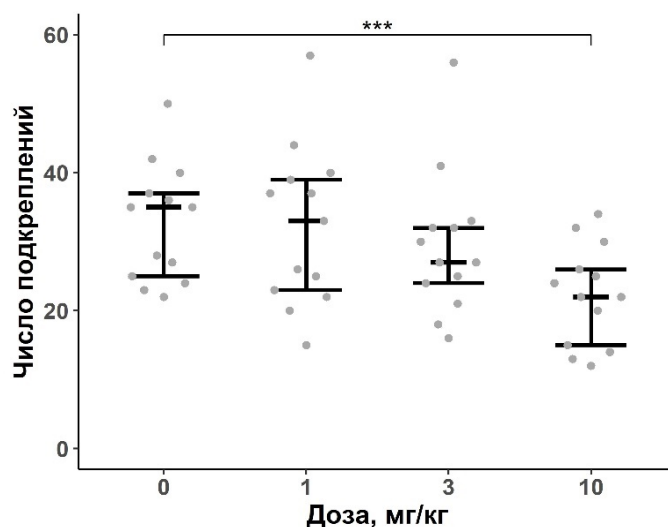


Рисунок 3.16 — Влияние флуоксетина на число подкреплений, полученных в режиме ВСЗ. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. $n=13$. *** – $p<0,001$, ЕМС тест.

Дальнейший анализ ЛЧОР крыс под действием флуоксетина позволил выявить статистически значимый эффект факторов «доза» и «блок», но не их взаимодействия (фактор «доза»: $F_{(3,37)}=9,833$, $p<0,001$; фактор «блок»: $F_{(5,204)}=52,775$, $p<0,001$; взаимодействие: $F_{(15,205)}=0,485$, $p=0,95$). При проведении попарных сравнений выявлены значимые отличия от растворителя для дозы 10 мг/кг (рис. 3.17).

Кроме того, под действием флуоксетина наблюдалось дозозависимое снижение значения параметра α модели ЛЧОР (тест Фридмана – параметр α : $\chi^2=9,3$, $df=3$, $p<0,05$; параметр δ : $\chi^2=2,1$, $df=3$, $p=0,56$; параметр T_0 : $\chi^2=1,7$, $df=3$, $p=0,64$; параметр k : $\chi^2=1,3$, $df=3$, $p=0,72$). Апостериорные сравнения выявили значимое снижение значения данного параметра после введения флуоксетина в дозе 10 мг/кг (рис. 3.18). При этом действие флуоксетина не сопровождалось снижением числа подкреплений, полученных в режиме ФСЗ-ФИ240 (тест Фридмана: $\chi^2=5,87$, $df=3$, $p=0,12$; рис. 3.19).

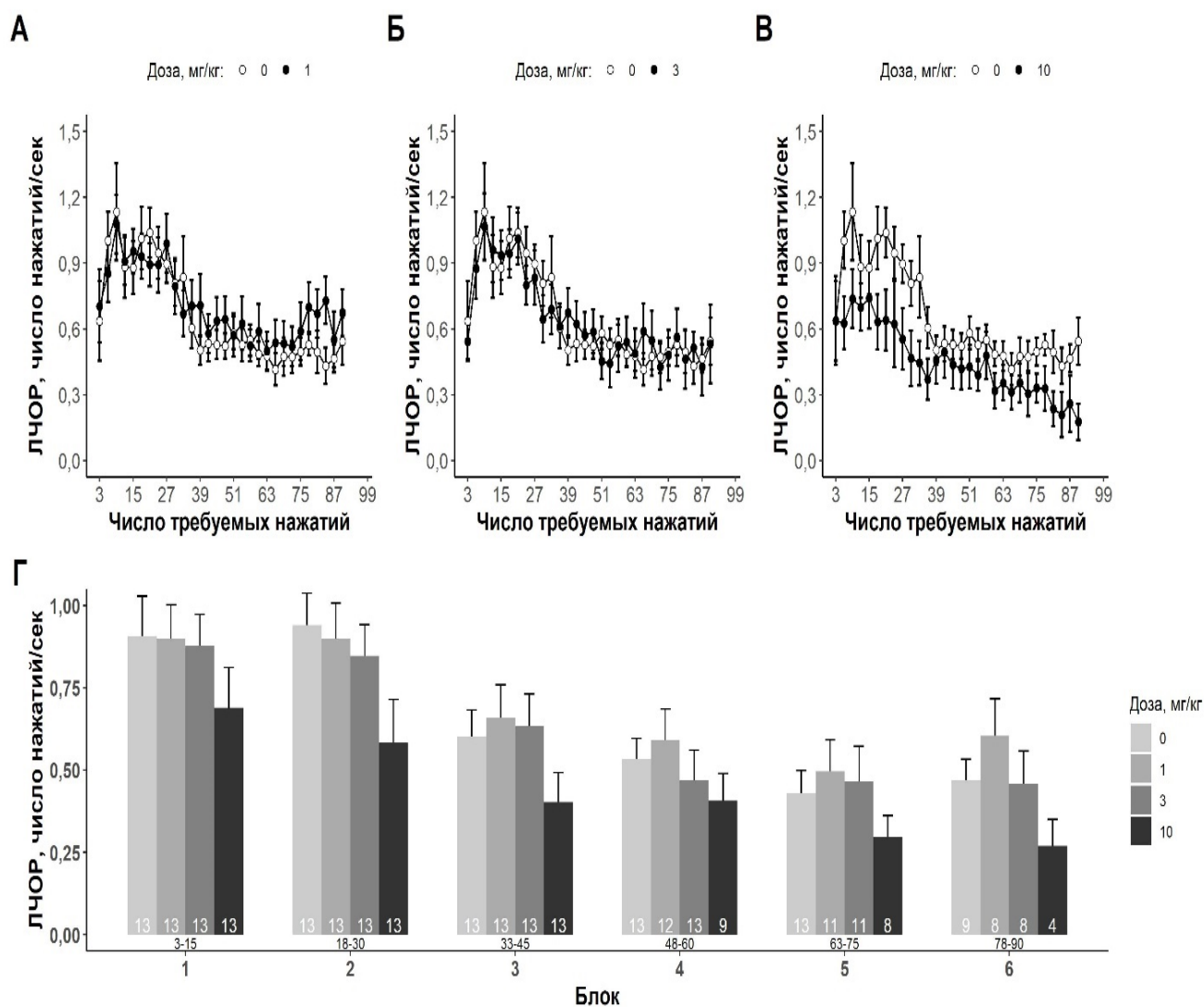


Рисунок 3.17 – Влияние флуоксетина на ЛЧОР. **А** – сравнение дозы 1 мг/кг с растворителем ; **Б** – сравнение дозы 3 мг/кг с растворителем; **В** – сравнение дозы 10 мг/кг с растворителем; **Г** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами.

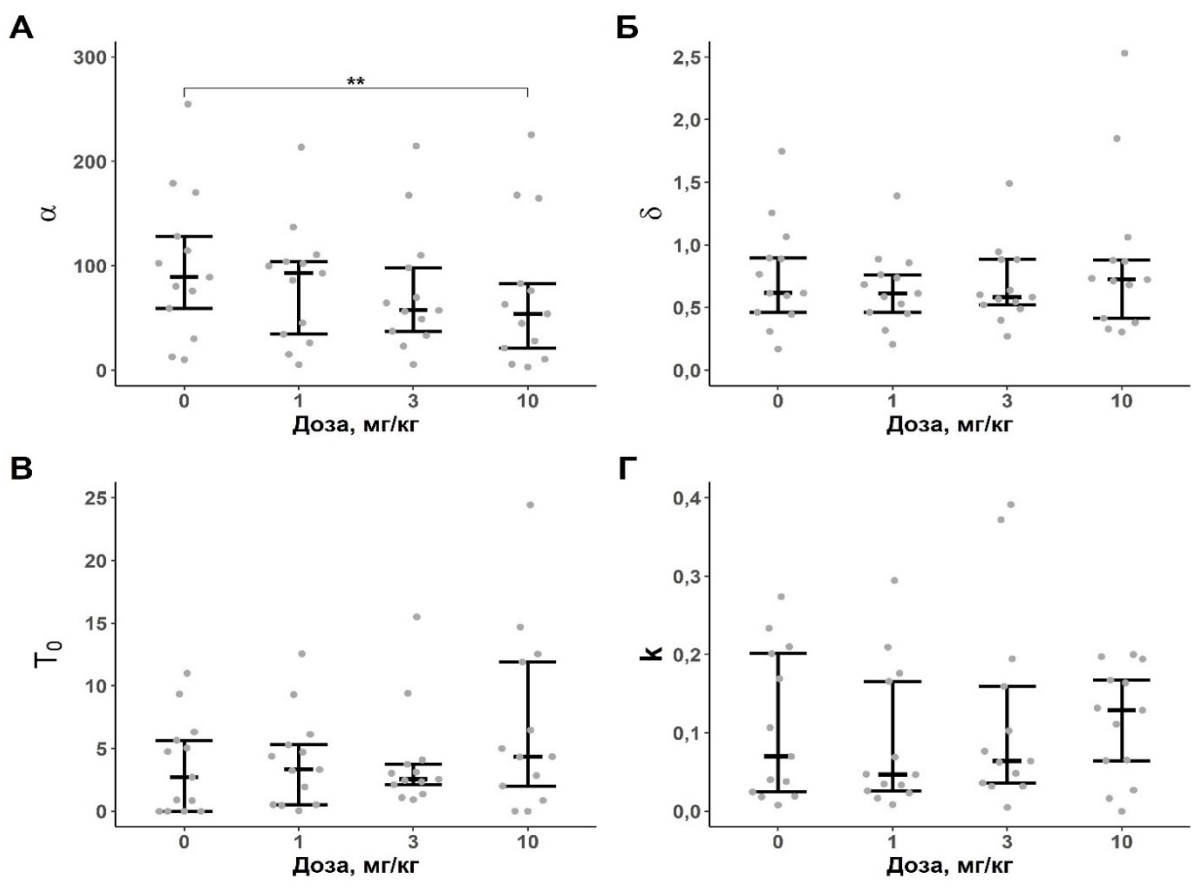


Рисунок 3.18 – Влияние флуоксетина на параметры регрессионной модели ЛЧОР. А – параметр α ; Б – параметр δ ; В – параметр T_0 ; Г – параметр k . $n=13$. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. ** – $p<0,01$, ЕМС тест.

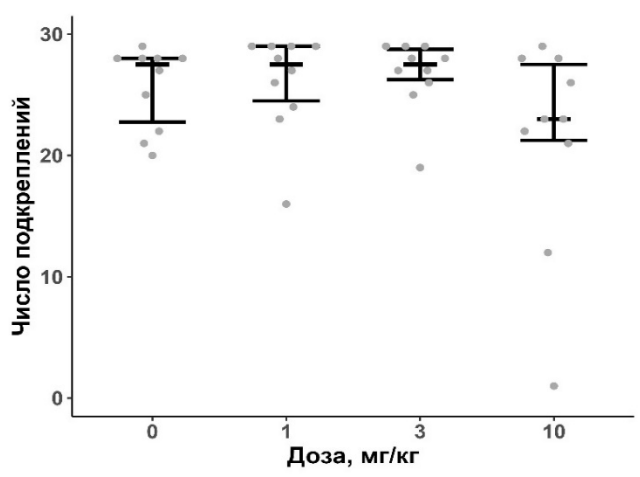


Рисунок 3.19 – Влияние флуоксетина на число подкреплений, полученных в режиме ФСЗ-ФИ240. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей

и индивидуальных значений. $n=10$.

3.1.6 Изучение поведения ТРН2-КО крыс

При анализе поведения ТРН2-КО крыс в режиме подкрепления ВСЗ между экспериментальными группами не выявлено различий как по количеству полученных подкреплений (тест Краскела-Уоллиса: $H=0,164$, $df=2$, $p=0,92$; Рис. 3.20), так и по ЛЧОР (фактор «генотип»: $F_{(2,50)}=0,720$, $p=0,49$; фактор «блок»: $F_{(6,261)}=40,814$, $p<0,001$; взаимодействие: $F_{(12,260)}=1,12$, $p=0,34$; рис. 3.21).

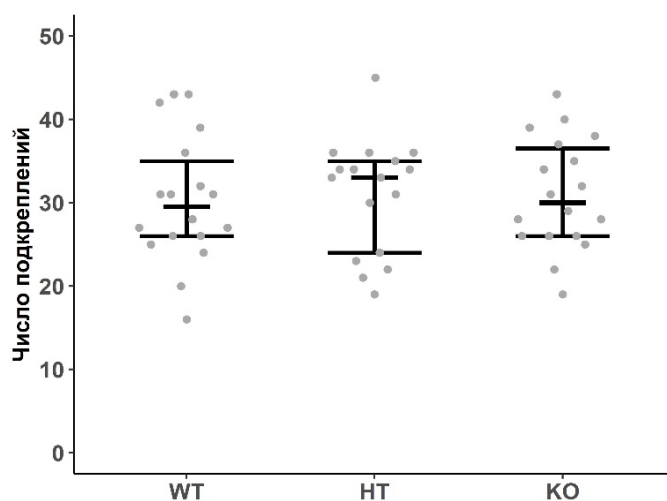


Рисунок 3.20 — Число подкреплений, полученных в режиме ВСЗ ТРН2-WT, ТРН2-НТ и ТРН2-КО крысами. $n=18$ (WT), 17 (НТ), 18 (КО). Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений.

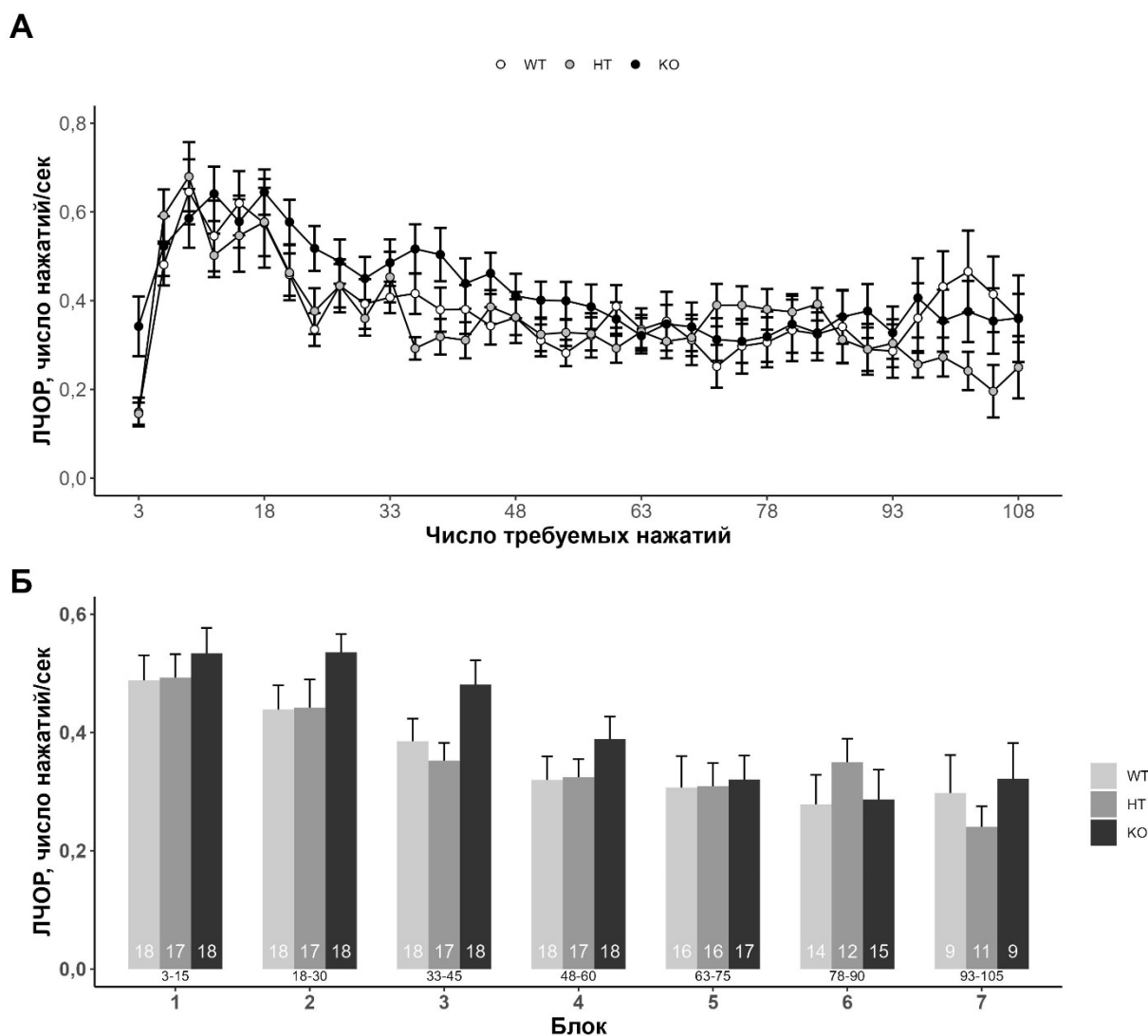


Рисунок 3.21 — Влияние нокаута гена TRN2 на ЛЧОР в режиме ВСЗ. **А** – ЛЧОР TRN2-WT, TRN2-HT и TRN2-KO крыс; **Б** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами.

Также не обнаружено статистически значимого влияния генотипа на параметры регрессионной модели ЛЧОР, однако близкие к уровню значимости p значения получены для параметров ППП T_0 и k с тенденцией к снижению параметра T_0 у TRN2-KO и повышению параметра k у TRN2-HT крыс по сравнению с крысами «дикого типа» (тест Краскела-Уоллиса - параметр α :

$H=0,78$, $df=2$, $p=0,68$; параметр δ : $H=2,7$, $df=2$, $p=0,26$; параметр k : $H=5,85$, $df=2$, $p=0,054$; параметр T_0 : $H=5,6$, $df=2$, $p=0,06$; рис. 3.22).

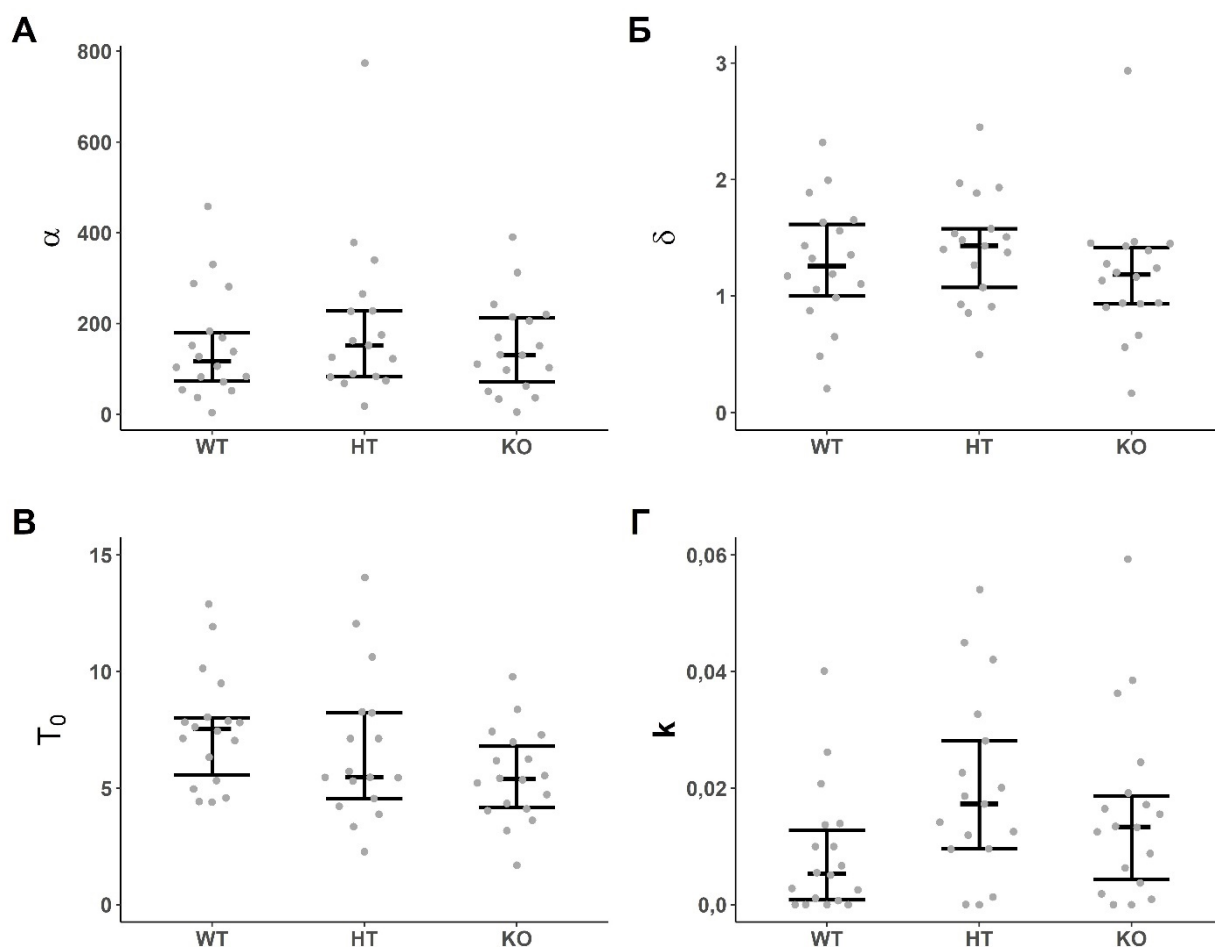


Рисунок 3.22 — Параметры регрессионной модели ЛЧОР TRH2-KO, TRH2-HT и TRH2-WT крыс. **А** – параметр α ; **Б** – параметр δ ; **В** – параметр T_0 ; **Г** – параметр k . $n=18$ (WT), 17 (HT), 18 (KO). Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений.

При тестировании TRH2-KO крыс в режиме ВСЗ в течение 8 дней выявлено статистически значимое влияние факторов «день», «генотип» и их взаимодействия на число полученных подкреплений (фактор «генотип»: $F_{(2,28)}=5,646$, $p<0,01$; фактор «день»: $F_{(7,196)}=5,068$, $p<0,001$; взаимодействие: $F_{(14,196)}=2,423$, $p<0,01$). При этом число подкреплений, полученных нокаутными крысами, возрастало во время 5-й – 8-й экспериментальных сессий (при

сравнении с данными 1-й сессии), в случае же животных других генотипов не выявлено статистически значимой разницы между первой и последующими сессиями (рис. 3.23А). При последующем анализе угашения оперантной реакции выявлено значимое влияние факторов «генотип» и «день», но не их взаимодействия (фактор «генотип»: $F_{(2,28)}=11,959$, $p<0,001$; фактор «день»: $F_{(4,112)}=148,327$, $p<0,001$; взаимодействие: $F_{(8,112)}=1,086$, $p=0,38$; рис. 3.23Б).

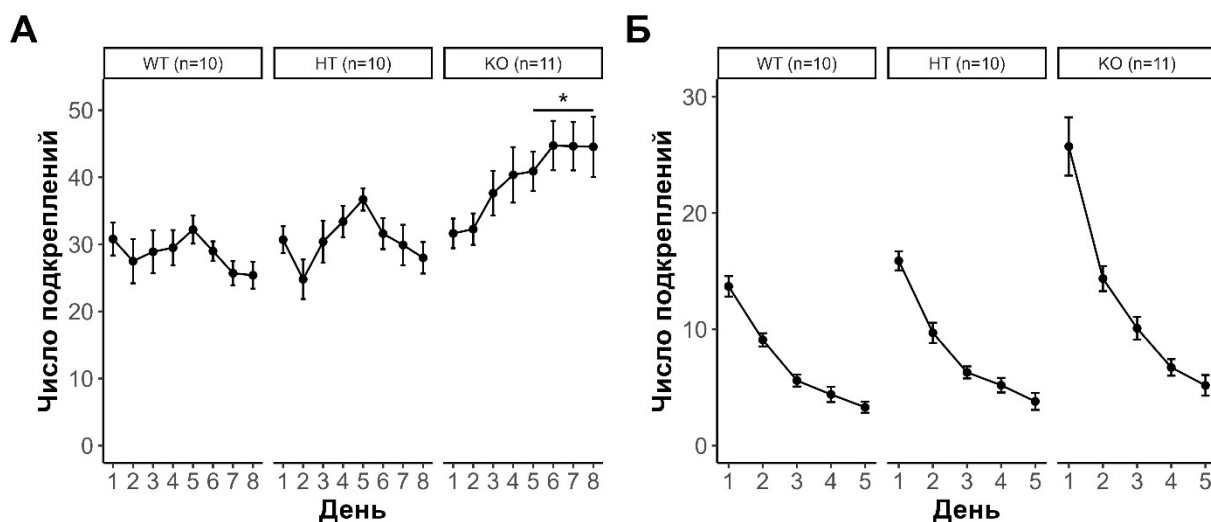


Рисунок 3.23 — Сравнение динамики поведения ТРН2-WT, ТРН2-НТ и ТРН2-КО крыс в режиме ВСЗ в течение 8 последовательных сессий (А) и угашения оперантной реакции (Б). Данные представлены в виде среднего значения ± стандартной ошибки среднего значения. * – $p<0,05$, тест Даннетта (при сравнении с данными 1-го дня).

3.1.7 Обсуждение результатов

Основные результаты изучения влияния изменений синаптического уровня моноаминов на целенаправленное поведение в режиме подкрепления ВСЗ представлены в таблице.

Таблица 3.1. Влияние изменения синаптической концентрации моноаминов на поведение в режиме подкрепления ВСЗ.

	ЧП	ЛЧОР	Параметры математической модели ЛЧОР			
			α	δ	T_0	K
DAT-KO	-	↓ при низких соотношениях, ↑ при высоких соотношениях	↑	↓” (НТ) ↑ (КО)	↑	↓
GBR-12909	↑	↑	↑	-	-	-
Атомоксетин	↓	-	-	-	-	-
Флуоксетин	↓	↓	↓	-	-	-
Амфетамин	↑ (1 мг/кг)	↓ при низких соотношениях (3 мг/кг), ↑ при высоких соотношениях	↑	↓” (0,3 мг/кг) ↑” (3 мг/кг)	↑	↓
ТРН2-KO	-	-	-	-	↓” (ТРН2-KO)	↑” (ТРН2-НТ)

«↑» - увеличение показателя; «↓» - снижение показателя; «-» - отсутствие эффекта; «”»- эффект на уровне тенденции к статистически значимым различиям ($p < 0,1$).

Результаты проведенных экспериментов позволили установить, что повышение синаптических уровней дофамина и серотонина приводит к значительным изменениям целенаправленной активности животных. В режиме

подкрепления ВС наблюдается стабильная взаимосвязь между количеством требуемых оперантных реакций и активностью животных: ЛЧОР достигает пика в начале экспериментальной сессии при низких значениях соотношения, после чего снижается вплоть до полного угашения оперантной активности. Установлено, что у DAT-KO крыс и животных под действием амфетамина в дозе 3 мг/кг происходит изменение данной зависимости в обратном порядке: ЛЧОР минимальна при низких соотношениях и максимальна при высоких. Такой результат согласуется с ранее описанным действием кокаина, сильного ингибитора DAT, в аналогичном режиме ВСЗ [191]. Действие более низких доз амфетамина характеризовалось только повышением ЛЧОР в отдельных блоках. При этом действие GBR-12909 и флуоксетина сопровождалось изменением ЛЧОР вне зависимости от числа требуемых нажатий, а введение атомоксетина не влияло на ЛЧОР. Дальнейший анализ параметров математической модели ЛЧОР и дополнительных поведенческих показателей позволил выявить возможные причины наблюдаемых изменений оперантной активности животных.

Гетерозиготные (DAT-НТ) крысы в целом не отличались от крыс «дикого типа» по поведенческим показателям в режиме ВСЗ, несмотря на то что у этих животных концентрация синаптического дофамина, как полагают, увеличена в 2 раза [112]. Одной из возможных причин этого могут являться компенсаторные механизмы дофаминергической нейротрансмиссии, например, интернализация дофаминовых рецепторов [56]. Подобные механизмы могут быть достаточно эффективными в случае перманентного умеренного повышения уровня дофамина. С другой стороны, в нескольких работах продемонстрированы поведенческие различия между DAT-НТ и DAT-WT животными [50, 121, 152], в связи с чем необходимы дальнейшие исследования мотивационных процессов у DAT-НТ крыс. В настоящем исследовании также была зафиксирована близкая к статистически значимой разница между DAT-НТ и DAT-WT крысами по параметру δ модели ЛЧОР, что может указывать на некоторые различия на уровне моторного компонента оперантного поведения у данных животных.

В настоящей работе выявлено повышение параметра α («специфическая активация») математической модели ЛЧОР в условиях увеличения синаптического уровня дофамина вследствие генетического выключения DAT (DAT-KO крысы), действия амфетамина в дозе 3 мг/кг и GBR-12909. В целом, данные результаты согласуются с представлениями о том, что усиление дофаминергической нейротрансмиссии приводит к повышению мотивации животных. Так, например, сообщалось об увеличении ТП в режиме ВСЗ у мышей-нокадаунов по гену DAT (DAT-KD) [33], а также хорошо известным фактом является «активирующий» эффект амфетамина, метилфенидата и кокаина в данном режиме подкрепления [157]. Однако, действие амфетамина качественно отличалось в зависимости от дозы. Так, введение вещества в дозе 1 мг/кг сопровождалось повышением ЧП и ЛЧОР в 3, 5 и 6 блоках, при этом анализ модели ЛЧОР выявил только значимое снижение параметра k . Данный результат свидетельствует о том, что такое повышение ЧП и ЛЧОР связано со снижением влияния ППП на ЛЧОР, а не с увеличением «специфической активации». Также не выявлено значимого эффекта введения амфетамина в дозе 0,3 мг/кг на ЧП и параметры модели ЛЧОР, хотя ЛЧОР была при этом выше в блоках 2 и 3, а также наблюдалась тенденция к снижению параметра δ модели. Таким образом, действие амфетамина на целенаправленное поведение сильно зависит от дозы: в низких дозах (0,3 мг/кг) повышение ЛЧОР обусловлено, по-видимому, моторными эффектами, в средних (1 мг/кг) – изменением паттернов постпрандиальных перерывов в оперантной активности, а в высоких (3 мг/кг) – комбинированным влиянием на мотивационный («специфическая активация»), моторный (минимальное время реакции) и темпоральный (паузы в оперантной активности) аспекты оперантного поведения.

В настоящее время в литературе имеются противоречивые данные о влиянии амфетамина на «специфическую активацию» и ТП. В частности, сообщалось о том, что введение вещества в дозе 0,2 мг/кг вызывало уменьшение параметра α , а в дозе 0,8 мг/кг – его увеличение [139]. Однако стоит учитывать,

что в данной работе использовали упрощенную модель, разработанную для режимов с фиксированным соотношением, а также другой тип режима ВС (экспоненциальный прирост соотношения). Sommer и соавторы отмечали отсутствие эффекта амфетамина в дозе 1 мг/кг на ТП [195], что косвенно согласуется с результатом настоящей работы, однако другие исследования выявили снижение ТП под действием вещества в дозах 0,3; 0,8 и 1 мг/кг [139, 186]. Эти расхождения могут быть объяснены различиями в методиках и анализе данных (другие разновидности режима ВС и критерии ТП), лабораторных животных (различия между линиями и стоками крыс, а также между локальными колониями), препаратах (разные производители и качество) и т.д. Результаты настоящего исследования подчеркивают преимущества анализа ЛЧОР, который является более универсальным и информативным, чем оценка ТП.

Хорошо известно, что, как генетическое выключение DAT, так и его ингибирование амфетамином и другими веществами приводит к возникновению стереотипных моторных реакций, например облизываний, кусаний, быстрых движений головой и т.п. [41, 53]. Такие эффекты могут быть ответственны за снижение ЛЧОР. Другим возможным поведением, конкурирующим с оперантной активностью, может быть проверка лотка для пищевых пеллет. Для оценки данной поведенческой активности анализировали ЛЧВП в интервалах между получением подкреплений. Интересно, что снижение ЛЧОР при низких соотношениях сопровождалось уменьшением ЛЧВП только у крыс под действием амфетамина, что может быть связано с хорошо известным анорексигенным эффектом этого вещества [69, 179]. Примечательно также, что, в отличие от серотонинергического препарата фенфлурамина, амфетамин вызывает задержку начала употребления пищи у депривированных крыс [21]. Одной из причин различий между эффектом амфетамина и поведением DAT-КО крыс в данном случае может являться тот факт, что механизм действия амфетамина включает значительное повышение синаптического уровня не только дофамина, но и норадреналина. В то же время повышение ЛЧВП при высоких требованиях к

затратам усилий наблюдалось как у DAT-КО крыс, так и на фоне действия амфетамина. Данный результат исключает предположение, что животные с повышенным уровнем дофамина демонстрируют более высокую ЛЧОР исключительно из-за неспособности прекратить нажатие на педаль вследствие нарушения процессов торможения. Однако выявленное резкое снижение параметра k математической модели ЛЧОР у DAT-КО крыс и у животных под действием амфетамина может свидетельствовать о нарушении поведенческой гибкости, что также подтверждается поведенческой ригидностью DAT-КО крыс при анализе адаптации к режиму ВСЗ. При этом результаты анализа угашения оперантной реакции подтверждают, что обнаруженные различия в поведенческих паттернах связаны со специфическими изменениями мотивации, а не с другими возможными механизмами, такими как, например, переход поведения в разряд привычки. Полученные данные согласуются с другими результатами изучения поведения DAT-КО крыс, также продемонстрировавшими нарушение поведенческой гибкости у подобных животных [86, 108, 131, 181].

Амфетамин является преимущественным ингибитором обратного захвата дофамина и норадреналина [62], однако результаты тестирования DAT-КО крыс, продемонстрировавших сходный паттерн поведения в режиме ВСЗ, а также анализа эффекта атомоксетина, позволяют предположить, что именно увеличение уровня дофамина приводит к развитию наблюдаемых поведенческих изменений. Помимо проверки гипотезы о главенствующей роли изменения уровня дофамина в выявленных эффектах амфетамина, использование DAT-КО крыс позволяет исключить влияние других факторов, влияющих на интерпретацию эффектов данного вещества, в частности, особенностей фармакокинетики (период полувыведения амфетамина в плазме крови крыс составляет около 60 минут [90, 94], что может играть значимую роль, так как в исследовании продолжительность экспериментальной сессии составляла 120 минут). Результаты изучения эффектов амфетамина также согласуются с известным фактом, что действие данного вещества на частоту оперантной реакции зависит от ее исходного уровня

(феномен пропорциональности эффекта) [80]: низкая частота увеличивается, а высокая снижается в различных режимах подкрепления. Однако поведенческие и нейрохимические процессы, лежащие в основе этого явления, остаются малоизученными. Результаты тестирования DAT-КО крыс позволяют считать дофамин ответственным за такое явление. Более того, отсутствие у DAT-КО какого-либо «базального» уровня оперантной активности свидетельствует о том, что эффект амфетамина зависит скорее от количества требуемых оперантных реакций, а не от исходной частоты. В то же время данные результаты не позволяют полностью исключать вклад повышения норадренергической нейротрансмиссии в эффекты амфетамина. Например, в работе Poncelet и соавторов ранее установлено, что стимулирующий эффект амфетамина (0,5 мг/кг) в режиме ВС способны частично снижать антагонисты адренорецепторов празозин и пропранолол [157]. Учитывая результаты анализа поведения крыс под действием данного вещества в дозах ниже 3 мг/кг, можно предположить, что частичное снижение активности животных на фоне блокады адренорецепторов может происходить за счет влияния на моторный и темпоральный компоненты оперантного поведения в режиме ВС.

Повышение синаптического уровня серотонина приводило к снижению ЛЧОР независимо от соотношения, а также к снижению «специфической активации». Данный результат согласуется с имеющимися данными о способности флуоксетина снижать ТП при самовведении кокаина в режиме ВС [166] и предпочтении «трудозатратного» поведения [160]. Кроме того, не было выявлено значимого влияния флуоксетина на поведение в контрольном режиме ФСЗ-ФИ240, что свидетельствует об отсутствии неспецифического угнетающего действия этого вещества на оперантное поведение.

Действие ингибитора обратного захвата норадреналина атомоксетина не сопровождалось значимыми изменениями целенаправленной активности. Однако было обнаружено слабое, но статистически значимое снижение числа подкреплений, полученных в режиме ВСЗ, что может указывать на возможные

неспецифические нарушения оперантного поведения. В предыдущей работе Higgins и соавторы отмечали снижение ТП под действием атомоксетина в дозах 0,5 и 1 мг/кг [85]. Однако величина эффекта в данном исследовании также была довольно низкой ($8,1 \pm 0,6$ в дозе 1 мг/кг vs $11,8 \pm 1,0$ после введения растворителя). Кроме того, атомоксетин не показал эффективности в отношении симптомов апатии у пациентов с БП [197], что также подтверждает полученный результат. Дальнейшие исследования эффектов норадренергических препаратов в более широком диапазоне доз могут быть полезными для уточнения полученных данных.

Результаты изучения поведения ТРН2-КО крыс могут свидетельствовать о том, что снижение серотонинергической нейротрансмиссии не сопровождается изменением целенаправленной активности в условиях возрастания необходимых затрат усилий. Эти данные находятся в соответствии с результатами предыдущей работы, показавшей, что введение р-хлорфенилаланина, ингибитора триптофангидроксилазы, снижающего уровень серотонина, не влияет на выбор «высокозатратной» поведенческой опции [52]. При этом анализ поведения в режиме ВС в течение 8 дней показал, что у ТРН2-КО крыс происходит увеличение общей активности. Данный результат может свидетельствовать о том, что снижение серотонинергической нейротрансмиссии в ЦНС влияет на процессы адаптации поведения к возрастанию количества усилий.

Флуоксетин – наиболее популярный и первый антидепрессант из группы СИОЗС [154, 229]. Причины апатии, индуцированной приемом СИОЗС, в настоящее время остаются слабоизученными [7]. В настоящем исследовании показано, что действие флуоксетина сопровождается снижением числа подкреплений и ЛЧОР в режиме ВС3. При этом эффект вещества не зависит от количества требуемых оперантных реакций. При анализе параметров модели ЛЧОР под действием флуоксетина выявлено снижение параметра α («специфической активации»), что свидетельствует об уменьшении ценности подкрепления. Таким образом, можно заключить, что повышение синаптического

содержания серотонина приводит к нарушению целенаправленной активности за счет снижения ценности получаемого результата (награды), но не увеличения чувствительности к повышению затрат усилий. Хорошо известно, что применение флуоксетина сопровождается снижением аппетита [189], что может также косвенно подтверждать такой вывод. Стоит, однако, отметить, что ограничением настоящего исследования является тот факт, что эффект вещества оценивался при остром введении, в то время как терапевтическая эффективность СИОЗС проявляется при длительном применении. В то же время нежелательные реакции могут развиваться сразу после начала приема препарата, что не позволяет исключать и раннее развитие апатии.

DAT-КО крысы - генетическая модель нарушения функции DAT. Изменение содержания DAT в тканях зафиксировано при многих заболеваниях, сопровождающихся в том числе апатией [180, 209]. В настоящем исследовании, однако, показано, что генетическое выключение DAT сопровождается увеличением целенаправленной активности при повышении количества требуемых усилий, что не характерно для клинической картины апатии. Более того, углубленный анализ ЛЧОР выявил увеличение «специфической активации» у DAT-КО крыс, что косвенно свидетельствует о повышении мотивации. Таким образом, результаты изучения поведения DAT-КО крыс не позволяют заключить о наличии у них апатопоподобных нарушений целенаправленного поведения. Однако обнаруженные нарушения адаптации к повышению затрат усилий подтверждают, что DAT-КО крысы и другие линии животных с нарушением функции DAT могут быть перспективным инструментом исследования нарушений целенаправленного поведения в условиях перманентной гипердофаминергии [8, 182].

В целом результаты изучения влияния повышения синаптического уровня моноаминов подтверждают имеющиеся свидетельства того, что повышение уровня дофамина, а не серотонина или норадреналина приводит к увеличению мотивации животных в трудозатратных условиях [222], что может являться

аргументом в пользу целесообразности применения веществ, повышающих синаптический уровень дофамина, для фармакокоррекции апатии. Однако стоит отметить, что гипердофаминергия, вызванная генетическим исключением DAT и действием амфетамина, помимо влияния на мотивацию сопровождается моторными нарушениями (повышение параметра δ модели ЛЧОР), а также изменением темпоральных паттернов оперантной активности (параметры T_0 и k), что может свидетельствовать о наличии серьезных нежелательных эффектов в случае чрезмерного повышения уровня дофамина. Напротив, эффект высокоселективного ингибитора DAT GBR-12909, способного вызывать длительное умеренное повышение концентрации внеклеточного дофамина [61, 141], характеризовался селективным повышением параметра α без влияния на другие аспекты оперантной активности, что указывает на потенциально более безопасный профиль данного вещества.

3.2 Изучение действия моноаминергических веществ с психостимулирующими свойствами на целенаправленное поведение

3.2.1 Эффект никотина

Введение никотина дозозависимо повышало число полученных подкреплений в режиме ВСЗ (тест Фридмана: $\chi^2=23,8$, $df=3$, $p<0,001$). При проведении попарных сравнений выявили статистически значимые различия при сравнении данных растворителя и доз 0,2 и 0,4 мг/кг (рис. 3.29).

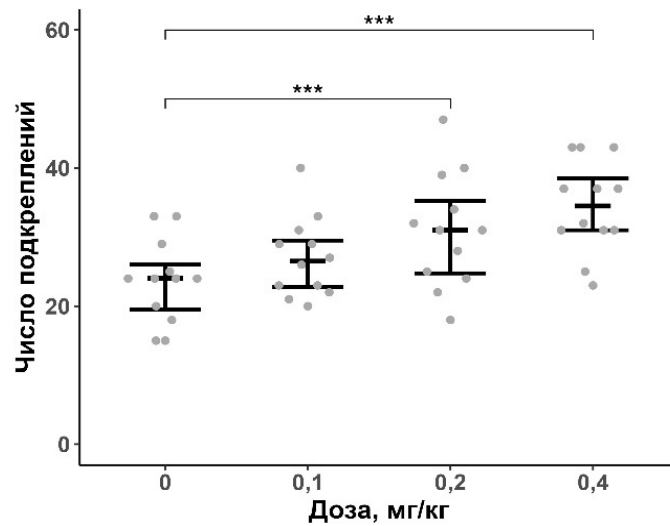


Рисунок 3.24 – Влияние никотина на число подкреплений, полученных в режиме ВСЗ. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. $n=12$. *** – $p<0,001$, ЕМС тест.

В результате анализа ЛЧОР выявлен статистически значимый эффект факторов «блок» ($F_{(5, 198)}=41,619$, $p<0,001$), «доза» ($F_{(3, 38)}= 4,096$, $p<0,05$) и их взаимодействия ($F_{(15, 199)}= 4,674$, $p<0,001$). В результате проведения попарных сравнений выявлено, что введение вещества в дозе 0,1 мг/кг не влияет на ЛЧОР, в дозе 0,2 мг/кг – сопровождается повышением ЛЧОР в блоках 3 и 5, а в дозе 0,4 мг/кг – повышением ЛЧОР в блоках 3, 4 и 5 и ее снижением в блоках 1 и 2 (рис. 3.30).

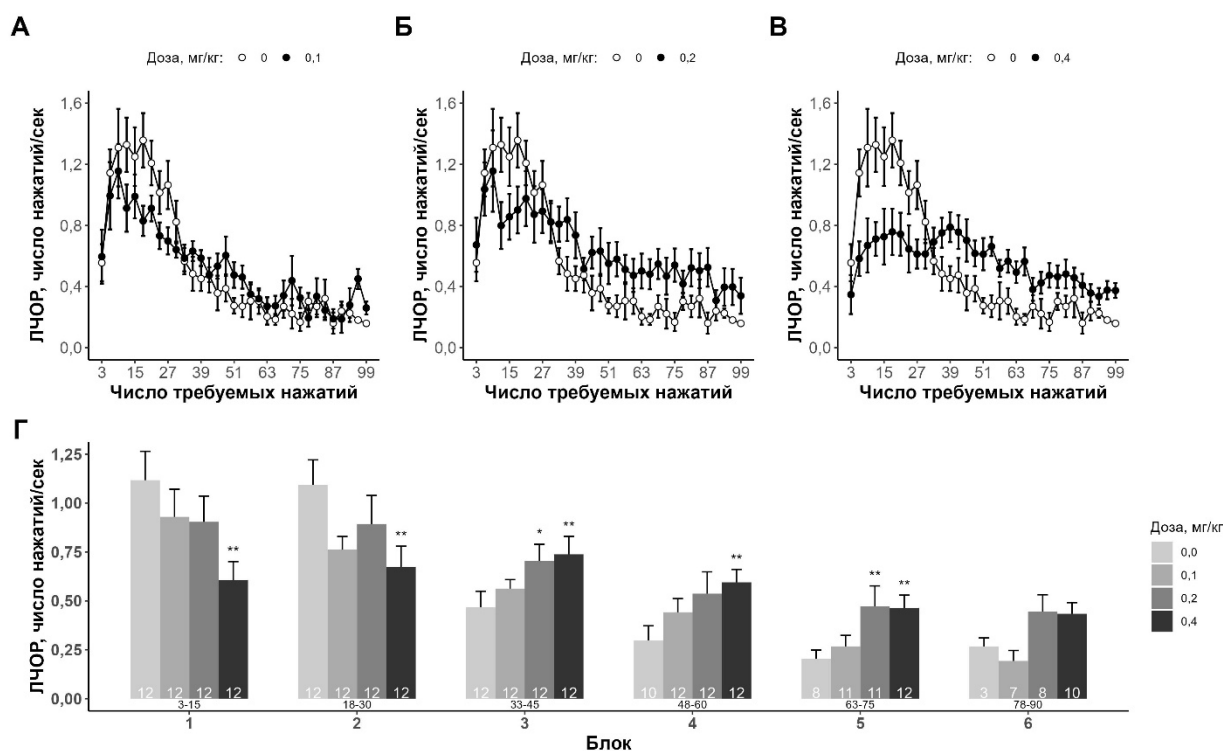


Рисунок 3.25 – Влияние никотина на ЛЧОР в режиме ВСЗ. **А** – эффект никотина в дозе 0,1 мг/кг; **Б** – эффект никотина в дозе 0,2 мг/кг; **В** – эффект никотина в дозе 0,4 мг/кг; **Г** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, тест Даннетта (никотин vs растворитель).

Также установлено, что введение никотина статистически значимо повышает параметры α и δ математической модели ЛЧОР (тест Фридмана: параметр α : $\chi^2=19,4$, $df=3$, $p < 0,001$; параметр δ : $\chi^2=12,3$, $df=3$, $p < 0,01$; параметр k : $\chi^2=4,09$, $df=3$, $p=0,25$; параметр T_0 : $\chi^2=13,3$, $df=3$, $p < 0,01$; рис. 3.31). Результаты проведения попарных сравнений показали, что введение никотина во всех исследуемых дозировках повышало параметр α , при этом действие самой высокой дозы (0,4 мг/кг) также сопровождалось увеличением параметра δ .

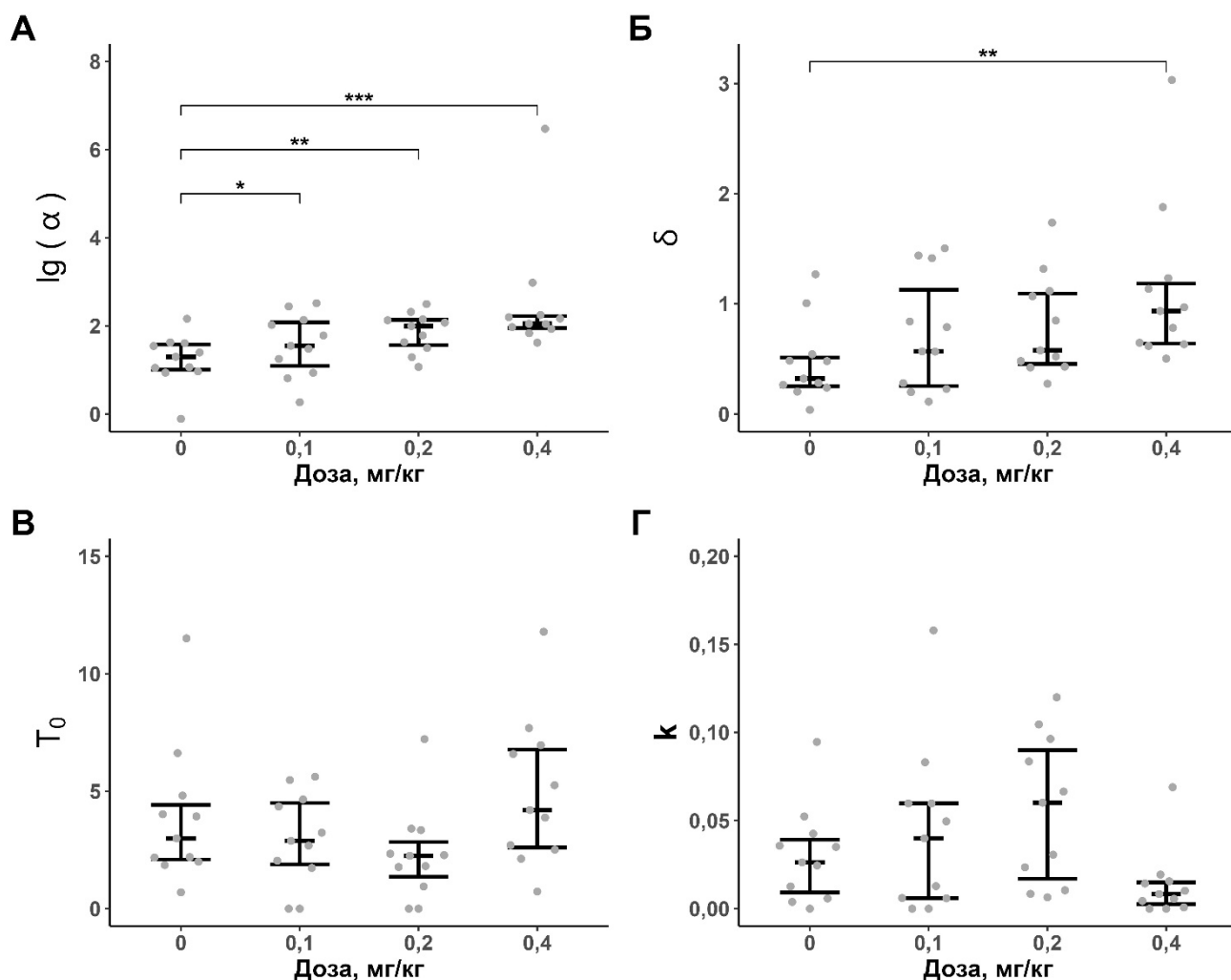


Рисунок 3.26 – Влияние никотина на параметры регрессионной модели ЛЧОР. А – параметр α (представлены значения десятичного логарифма от исходной величины); Б – параметр δ ; В – параметр T_0 ; Г – параметр κ . $n=11$. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений.

3.2.2 Эффект кофеина

Введение кофеина дозозависимо повышало число полученных подкреплений в режиме ВСЗ (тест Фридмана: $\chi^2=18,9$, $df=3$, $p<0,001$). При проведении попарных сравнений выявили статистически значимые различия при сравнении данных растворителя и доз 5 и 10 мг/кг (рис. 3.32).

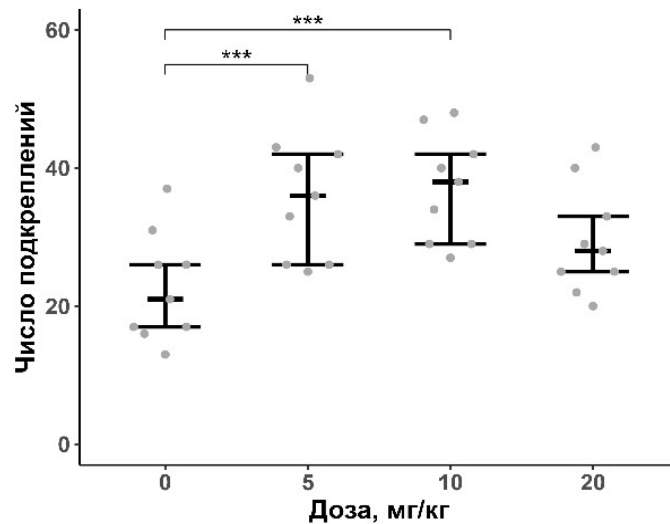


Рисунок 3.27 – Влияние кофеина на число подкреплений, полученных в режиме ВСЗ. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. n=9. *** – $p < 0,001$, ЕМС тест.

В результате анализа ЛЧОР выявлен статистически значимые эффекты факторов «блок» ($F_{(5, 145)}=29,425$, $p < 0,001$) и «доза» ($F_{(3, 24)}= 4,676$, $p < 0,05$), но не их взаимодействия ($F_{(15, 145)}= 0,802$, $p=0,67$). После проведения попарных сравнений данных кофеина и растворителя установлено, что ЛЧОР повышалась под действием вещества в дозах 5 и 10 мг/кг (рис. 3.33).

Также обнаружено, что введение кофеина статистически значимо влияет на параметр α математической модели ЛЧОР (тест Фридмана: параметр α : $\chi^2=10,6$, $df=3$, $p < 0,05$; параметр δ : $\chi^2=1,8$, $df=3$, $p=0,62$; параметр k : $\chi^2=4,95$, $df=3$, $p=0,18$; параметр T_0 : $\chi^2=4,26$, $df=3$, $p=0,23$; рис. 3.34). Результаты проведения попарных сравнений показали, что данный показатель был выше после введения кофеина в любой из исследуемых дозировок.

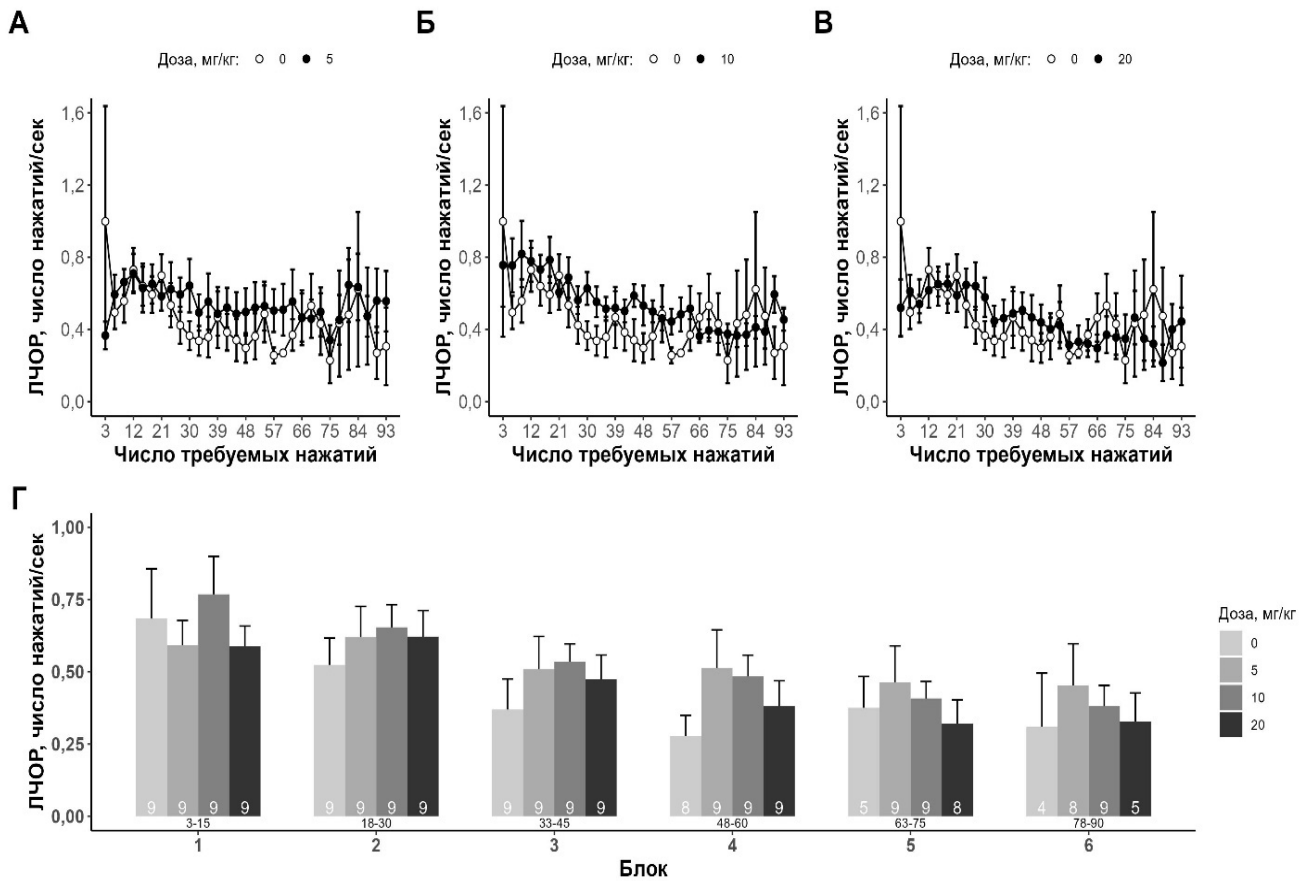


Рисунок 3.28 – Влияние кофеина на ЛЧОР в режиме ВС3. **А** – эффект кофеина в дозе 5 мг/кг; **Б** – эффект кофеина в дозе 10 мг/кг; **В** – эффект кофеина в дозе 20 мг/кг; **Г** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами.

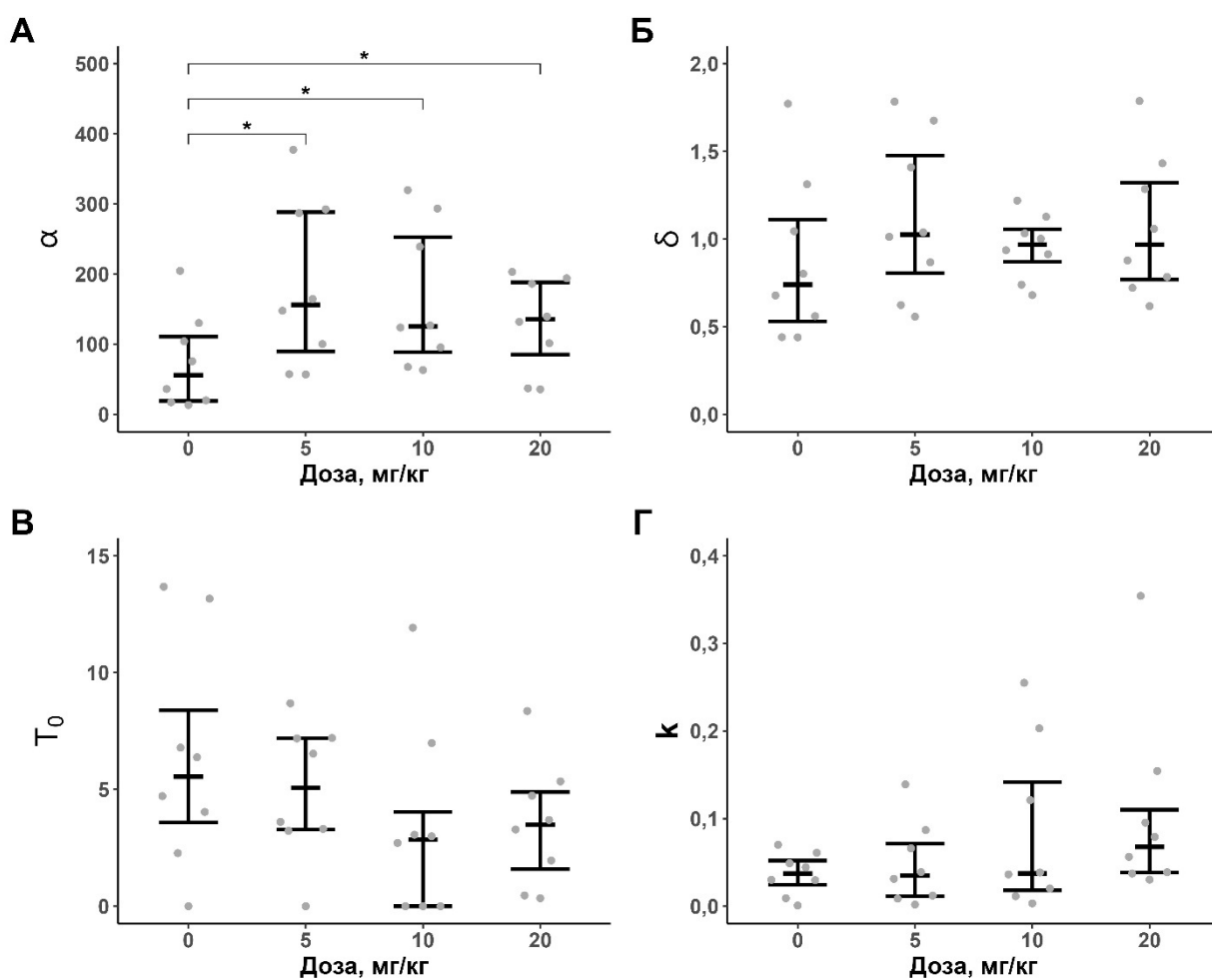


Рисунок 3.29 – Влияние кофеина на параметры регрессионной модели ЛЧОР. **А** – параметр α ; **Б** – параметр δ ; **В** – параметр T_0 ; **Г** – параметр κ . $n=8$. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. * – $p<0,05$, ЕМС тест.

3.2.3 Эффект кетамина

Введение кетамина не влияло на число полученных подкреплений в режиме ВСЗ (тест Фридмана: $\chi^2=3,34$, $df=3$, $p=0,34$; рис. 3.35).

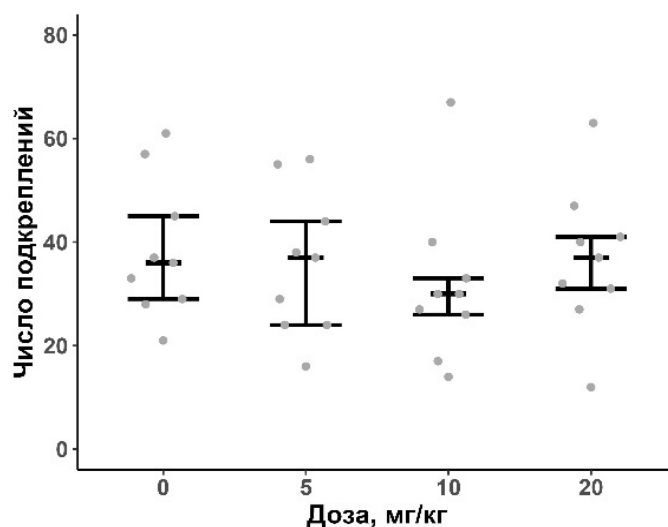


Рисунок 3.30 – Влияние кетамина на число подкреплений, полученных в режиме ВСЗ. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. $n=9$.

При анализе ЛЧОР выявлен статистически значимый эффект фактора «блок» ($F_{(7, 178)}=9,577$, $p<0,001$), но не фактора «доза» ($F_{(3, 25)}= 1,219$, $p=0,32$). При этом также обнаружено значимое взаимодействие данных факторов ($F_{(21, 178)}= 3,527$, $p<0,001$). В результате проведения попарных сравнений данных вещества и растворителя обнаружено, что ЛЧОР снижалась в блоке 1 под действием вещества в дозе 10 мг/кг и в блоках 1 и 2 после введение кетамина в дозе 20 мг/кг (рис. 3.36).

Также установлено, что введение кетамина статистически значимо влияет на параметр T_0 математической модели ЛЧОР, а также тенденция к статистической значимости наблюдалась для параметра δ (тест Фридмана: параметр α : $\chi^2=5,4$, $df=3$, $p=0,15$; параметр δ : $\chi^2=7,13$, $df=3$, $p=0,068$; параметр k : $\chi^2=0,87$, $df=3$, $p=0,83$; параметр T_0 : $\chi^2=10,7$, $df=3$, $p<0,05$; рис. 3.37). Результаты проведения попарных сравнений показали, что параметр T_0 статистически значимо повышался после введения кетамина в дозах 10 и 20 мг/кг по сравнению с растворителем.

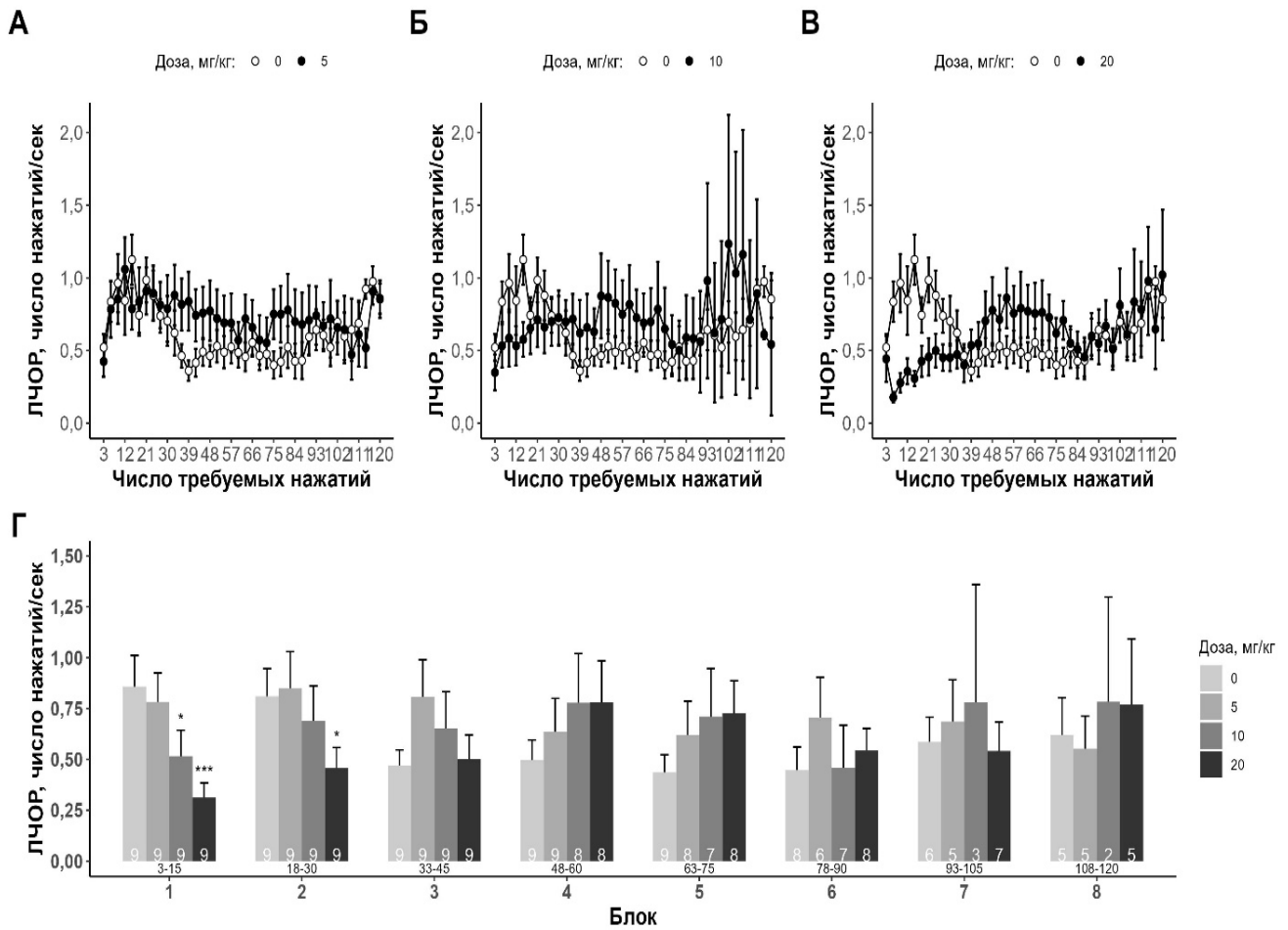


Рисунок 3.31 – Влияние кетамина на ЛЧОР в режиме ВС3. **А** – эффект кетамина в дозе 5 мг/кг; **Б** – эффект кетамина в дозе 10 мг/кг; **В** – эффект кетамина в дозе 20 мг/кг; **Г** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами. * – $p < 0,05$, *** – $p < 0,001$, тест Даннетта.

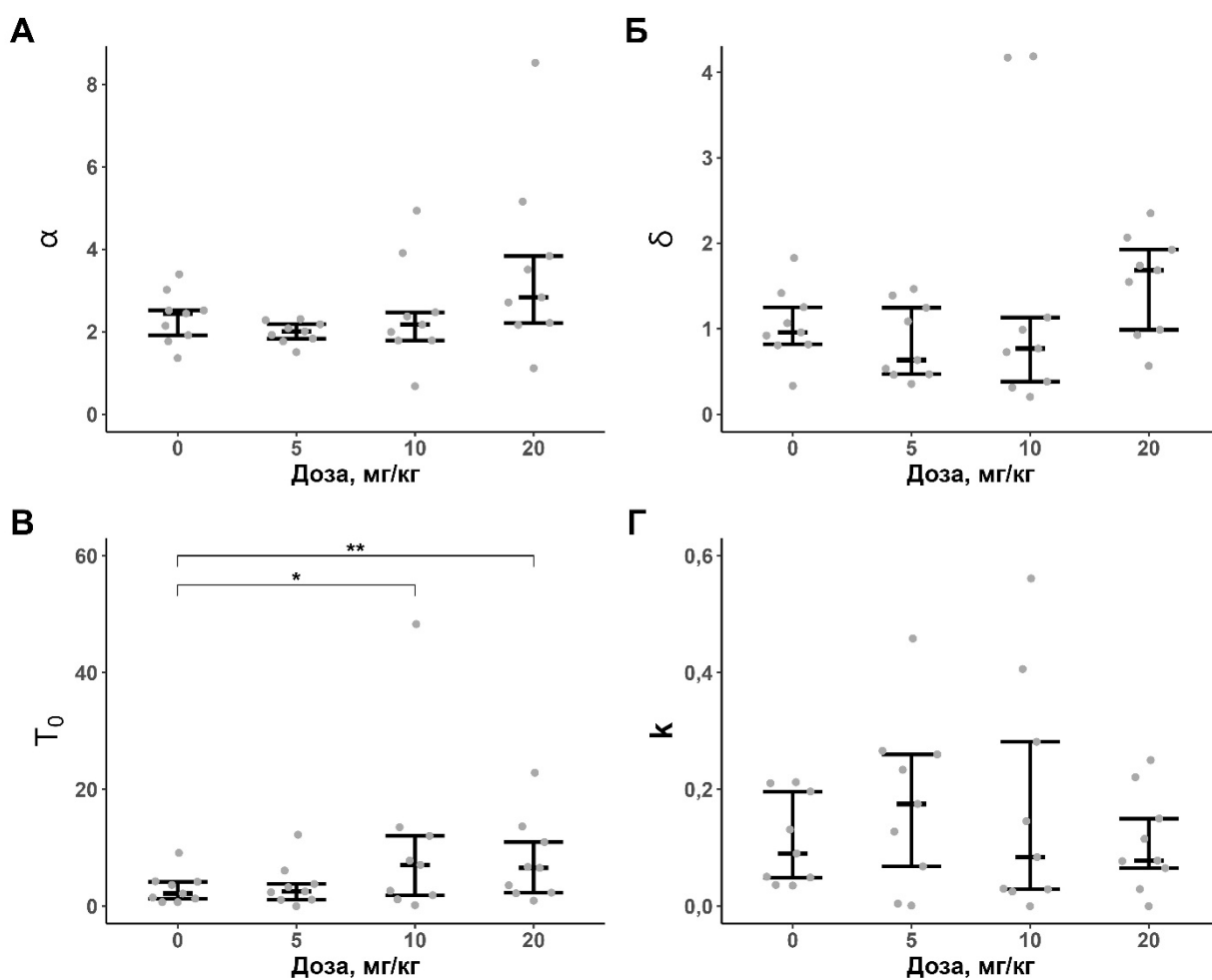


Рисунок 3.32 – Влияние кетамина на параметры регрессионной модели ЛЧОР. А – параметр α (представлены значения десятичного логарифма от исходной величины); Б – параметр δ ; В – параметр T_0 ; Г – параметр k . $n=9$. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. * – $p<0,05$, ** – $p<0,01$, ЕМС тест.

3.2.4 Эффект МК-801

Введение МК-801 приводило к повышению количества полученных подкреплений (тест Фридмана: $\chi^2=17,4$, $df=3$, $p<0,001$). Попарные сравнения с данными растворителя подтвердили статистически значимое увеличение данного показателя под действием вещества в дозах 0,03 и 0,1 мг/кг (рис. 3.38).

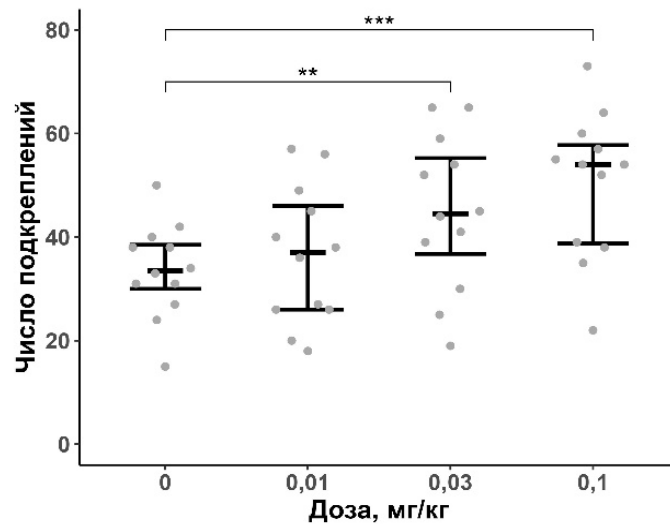


Рисунок 3.33 – Влияние МК-801 на число подкреплений, полученных в режиме ВСЗ. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. n=12 в каждой группе. ** – p<0,01; тест Данна.

В ходе анализа ЛЧОР выявлен значимый эффект факторов «доза» и «блок» и их взаимодействие (фактор «доза»: $F_{(3,35)}=13,399$, $p<0,001$; фактор «блок»: $F_{(7,270)}=26,657$, $p<0,001$; взаимодействие: $F_{(21,271)}=1,642$, $p<0,05$). По результатам попарных сравнений показано, что ЛЧОР была выше в блоках 5-8 под действием вещества в дозах 0,03 мг/кг и 0,1 мг/кг (рис. 3.39).

Действие МК-801 не сопровождалось статистически значимым влиянием на параметры модели ЛЧОР (тест Фридмана – параметр α : $\chi^2=6,1$, $df=3$, $p=0,1$; параметр δ : $\chi^2=1,9$, $df=3$, $p=0,59$; параметр T_0 : $\chi^2=1,84$, $df=3$, $p=0,61$; параметр k : $\chi^2=1,1$, $df=3$, $p=0,78$; рис. 3.40).

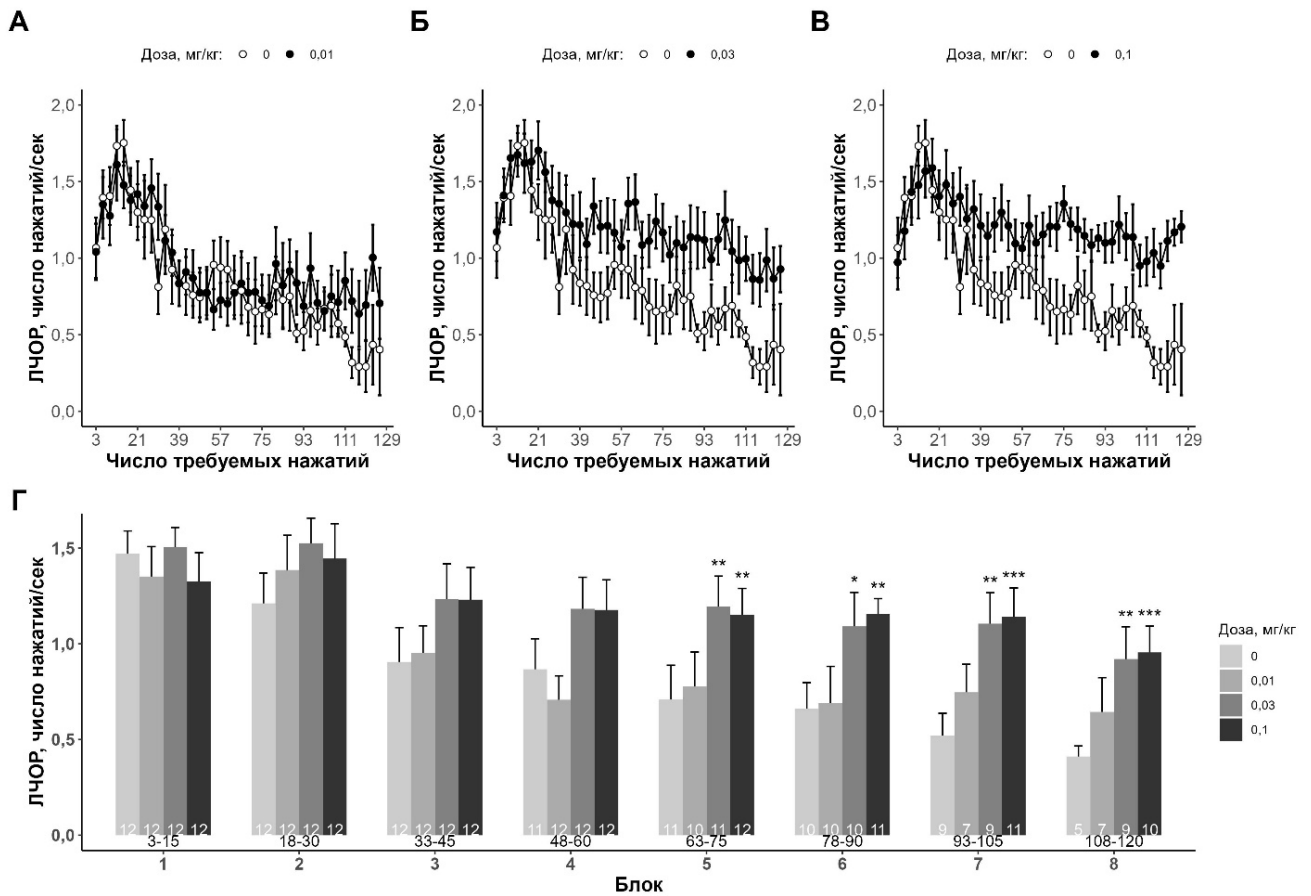


Рисунок 3.34 – Влияние МК-801 на ЛЧОР. **А** – сравнение дозы 0,01 мг/кг с растворителем; **Б** – сравнение дозы 0,03 мг/кг с растворителем; **В** – сравнение дозы 0,1 мг/кг с растворителем; **Г** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ тест Даннетта.

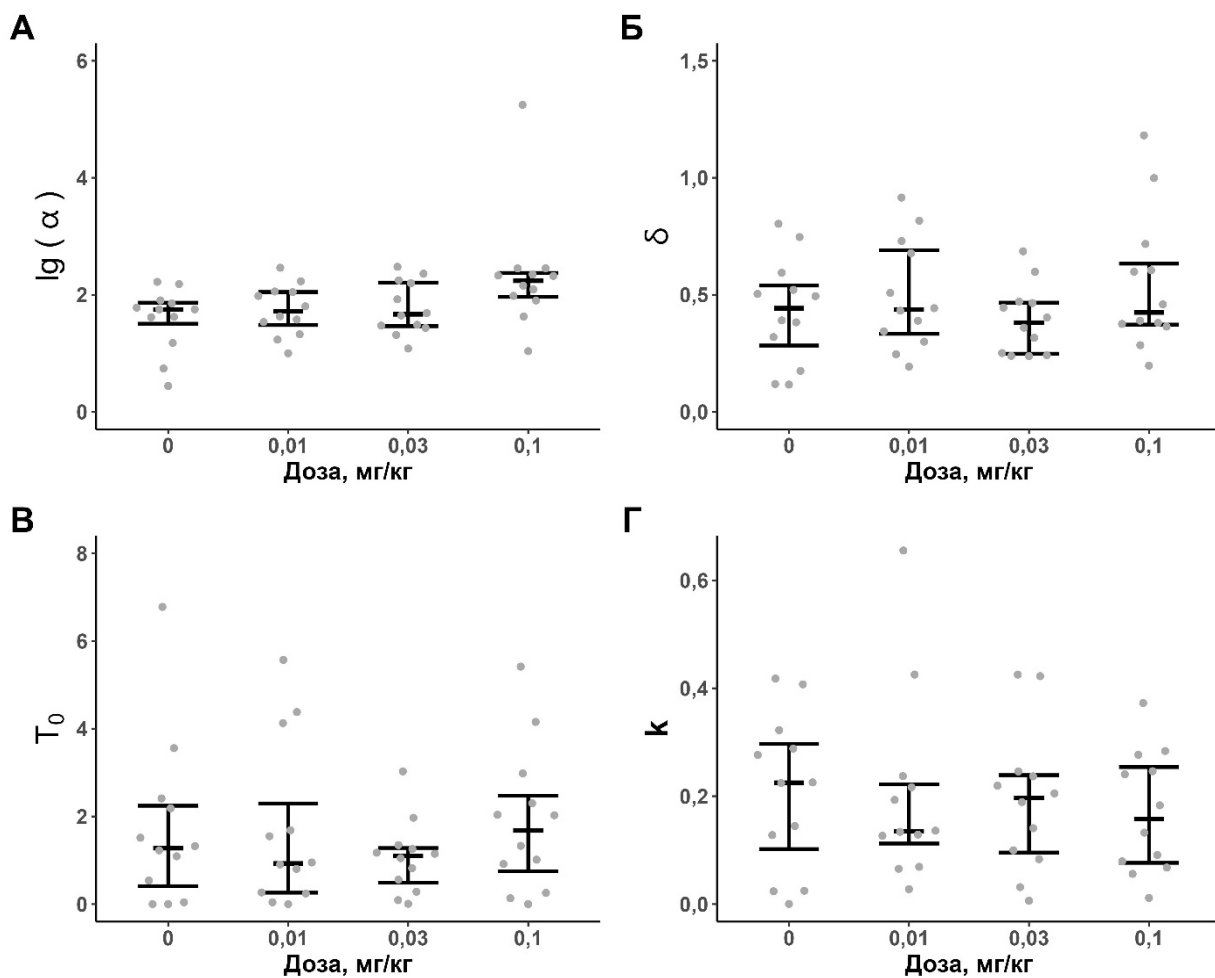


Рисунок 3.35 – Влияние МК-801 на параметры регрессионной модели ЛЧОР. А – параметр α ; Б – параметр δ ; В – параметр T_0 ; Г – параметр κ . $n=12$. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений.

3.2.5 Обсуждение результатов

Основные результаты изучения эффектов недофаминергических психостимуляторов в режиме подкрепления ВСЗ суммированы в таблице.

Таблица 3.2. Влияние недофаминергических веществ с психостимулирующими свойствами на поведение в режиме подкрепления ВСЗ.

	ЧП	ЛЧОР	Параметры математической модели ЛЧОР			
			α	δ	T_0	k
Никотин	↑	↓ при низких соотношениях (0,4 мг/кг), ↑ при высоких соотношениях	↑	↑ (0,4 мг/кг)	↓ [»] (0,2 мг/кг)	-
Кофеин	↑	↑	↑	-	-	-
Кетамин	-	↓ при низких соотношениях	-	-	↑	-
МК-801	↑	↑ при высоких соотношениях	-	-	-	-

«↑» - увеличение показателя; «↓» - снижение показателя; «-» - отсутствие эффекта; «[»]» - эффект на уровне тенденции к статистически значимым различиям ($p < 0,1$).

Психостимуляторы являются группой веществ потенциально эффективных в качестве средств фармакокоррекции апатии. Наряду с «типичными» дофамин- и норадренергическими стимуляторами, такими как амфетамин, кокаин, метилфенидат и др. существует ряд психоактивных веществ, обладающих стимулирующими свойствами, но имеющих преимущественно немоноаминергический механизм действия. В настоящем исследовании изучалось действие некоторых из таких веществ на целенаправленное поведение в режиме ВСЗ.

Показано, что действие высокой дозы никотина (0,4 мг/кг), подобно

влиянию генетического нарушения функции DAT и действию амфетамина в дозе 3 мг/кг, приводит к снижению ЛЧОР в начале сессии и ее повышению при высоких соотношениях. Действие меньшей дозы вещества (0,2 мг/кг) сопровождалось только увеличением активности в условиях повышения числа требуемых нажатий. При этом в отличие от крыс под действием амфетамина и DAT-КО крыс действие никотина в самой высокой дозе сопровождалось повышением числа полученных подкреплений, что, вероятно, связано с менее выраженным подавлением активности в начале сессии. Другой отличительной особенностью эффекта никотина является характер влияния на параметры модели ЛЧОР. Повышение параметра α происходило под действием всех тестируемых доз вещества, а параметра δ только под действием самой высокой дозы. Введение никотина также оказывало значимое влияние на параметр T_0 математической модели ЛЧОР. Хотя при проведении попарных сравнений не было выявлено статистически значимых различий, у крыс под действием никотина в дозе 0,2 мг/кг наблюдалась тенденция к снижению данного показателя ($p < 0,08$). Такой результат свидетельствует об уменьшении ППП.

Выявленное повышение параметра α под действием никотина позволяет предположить, что изменения поведения связаны с повышением ценности награды. При этом действие самой высокой дозы вещества также характеризовалось повышением параметра δ , что свидетельствует о снижении физической способности животного к совершению оперантных реакций. Полученные результаты подтверждают возможность наличия у веществ, стимулирующих Н-холинорецепторы, активирующего действия на целенаправленную активность, однако, по-видимому, высокие дозы могут вызывать нежелательные тормозные эффекты. В целом результаты тестирования никотина согласуются с уже имеющимися данными о стимулирующем действии данного вещества в режиме ВС [158]. При этом ранее также сообщалось о снижении локомоторной активности животных под действием никотина в дозах 0,2 и 0,4 мг/кг [43, 161]. В настоящей работе, однако, введение никотина в дозе 0,2

мг/кг не оказывало влияния на параметр δ , повышало число полученных подкреплений и параметр α .

Действие другого психостимулятора кофеина также сопровождалось повышением числа полученных подкреплений, однако в случае тестирования дозы 0,4 мг/кг такого эффекта не выявлено, что соответствует предыдущим результатам изучения действия кофеина на поведение в режиме ВС [27, 157]. Этот феномен согласуется также с исследованиями зависимости стимулирующих эффектов кофеина от дозы, показавших, что высокие дозы вещества по сравнению с низкими менее выражено стимулируют ЦНС и вызывают больше нежелательных эффектов [100]. Действие кофеина на ЛЧОР характеризовалось повышением активности вне зависимости от числа требуемых нажатий, при этом под действием всех доз вещества происходило повышение параметра α . Полученные результаты свидетельствуют о том, что повышение целенаправленной активности под действием кофеина происходит за счет повышения ценности награды. Учитывая этот вывод, можно предположить, что использование кофеина и стимуляторов со сходным механизмом действия может быть эффективным для фармакокоррекции апатии при болезни Паркинсона. Целесообразность этого также подкрепляется тем, что употребление кофеина снижает риск развития и прогрессирования данной патологии [91]. При этом стоит учитывать возможные негативные последствия применения высоких доз.

Кетамин, несмотря на то что является общим анестетиком, в дозах, не вызывающих анестезию, способен оказывать стимулирующее действие на локомоторную активность [128, 210]. Однако, в отличие от никотина и кофеина, введение кетамина не приводило к повышению числа подкреплений и «специфической активации», а также снижало ЛЧОР в начале сессии, что может быть связано с выявленным увеличением ППП (параметр T_0). Полученные результаты не позволяют рассматривать кетамин как потенциальное средство фармакокоррекции нарушений целенаправленной активности.

Действие высокоаффинного антагониста глутаматных рецепторов NMDA-

подтипа МК-801, в отличие от кетамина, сопровождалось увеличением числа полученных подкреплений и ЛЧОР. При этом увеличение ЛЧОР наблюдалось только при повышении числа требуемых нажатий, а параметры математической модели оставались неизменными. Описанный эффект МК-801 согласуется с результатами работы, продемонстрировавшей увеличение ТП в режиме ВС, подкрепляемом введением кокаина, у крыс под действием данного вещества [162]. Однако также сообщалось о снижении ТП в режиме ВС, подкрепляемом пищей, у обезьян под действием МК-801 в дозе 0,056 мг/кг и выше [31], что может быть связано с различиями в чувствительности разных видов животных к веществу и разными видами подкрепления. В целом, результаты позволяют предположить, что увеличение целенаправленной активности под действием МК-801 происходит за счет увеличения толерантности к повышению количества требуемых усилий, а использование МК-801 может быть эффективным подходом для фармакокоррекции апатии.

Известно, что исследуемые стимуляторы хотя и имеют основной моноаминергический механизм действия, способны также увеличивать выброс дофамина [105, 137, 194, 210]. Хотя амплитуда этого эффекта значительно ниже, чем у дофаминергических веществ, он тоже может вносить вклад в поведенческие изменения под действием данных веществ. В то же время наиболее вероятно, что выявленные различия в эффектах исследуемых веществ обусловлены всё-таки действием на разные мишени.

Таким образом, полученные результаты подтверждают, что данная группа веществ может иметь терапевтический потенциал в контексте фармакокоррекции апатии. При этом наиболее вероятно клиническая эффективность высокоаффинных антагонистов глутаматных рецепторов NMDA подтипа, в то время как никотин и кофеин в высоких дозах могут не оказывать желаемого стимулирующего эффекта, а наоборот вызывать тормозные и другие нежелательные явления, а действие кетамина приводит к снижению целенаправленной активности.

3.3 Моделирование апатоподобного состояния

3.3.1 Влияние тетрабеназина на двигательную активность крыс

Введение ТБЗ сопровождалось дозозависимым уменьшением общего числа горизонтальных перемещений крыс (тест Фридмана: $X^2=25,2$, $df=3$, $p<0,001$). После проведения попарных сравнений установлено, что только после введения дозы 3 мг/кг происходило статистически значимое (тест Даннетта: $p<0,05$) снижение локомоторной активности адаптированных к экспериментальной установке «Актометр» крыс ($n=13$) (рис. 3.24А). При анализе динамики локомоторной активности животных в течение 60-минутной экспериментальной сессии выявлен статистически значимый эффект факторов «время» ($F_{(11, 528)}=15,249$, $p<0,001$), «доза» ($F_{(3, 36)}=17,345$, $p<0,001$) и их взаимодействия ($F_{(33, 528)}=1,926$, $p<0,01$). При проведении попарных сравнений обнаружено, что введение ТБЗ в дозе 1 мг/кг сопровождалось статистически значимым снижением числа горизонтальных перемещений в интервале 5-10 мин и интервале 35-40 мин, а в дозе 3 мг/кг – в интервале 0-20 мин и в интервале 30-40 мин, в то время как действие ТБЗ в дозе 0,3 мг/кг не сопровождалось снижением активности ни в одном из 5-минутных отрезков (тест Даннетта, $p<0,05$; рис. 3.24Б-Г).

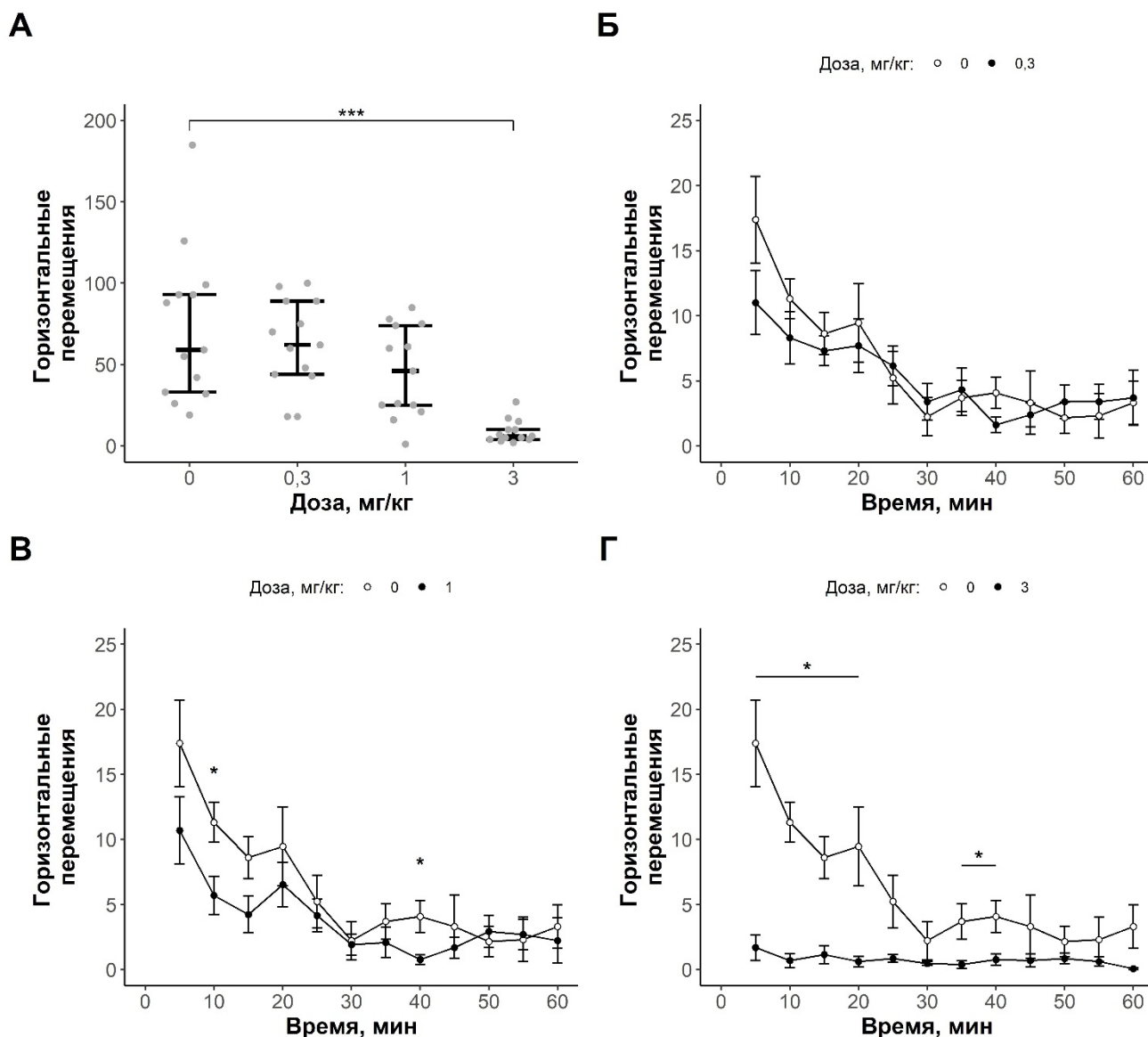


Рисунок 3.36 — Влияние ТБЗ на двигательную активность крыс.

А – общее число горизонтальных перемещений крыс под действием различных доз ТБЗ и растворителя; **Б** – динамика локомоторной активности крыс в течение сессии под действием ТБЗ в дозе 0,3 мг/кг и растворителя; **В** – динамика локомоторной активности крыс в течение сессии под действием ТБЗ в дозе 1 мг/кг и растворителя; **Г** – динамика локомоторной активности крыс в течение сессии под действием ТБЗ в дозе 3 мг/кг и растворителя. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений (А), и среднего значения ± стандартной ошибки среднего значения (Б-Г), n=13. * - p<0,05, тест Даннетта.

3.3.2 Оценка эффекта тетрабеназина в режиме подкрепления ФСЗ-ФИ240

Поскольку введение ТБЗ в дозе 3 мг/кг приводило к выраженному подавлению двигательной активности животных, в дальнейших экспериментах использовались дозы не более 1 мг/кг. Анализ локомоторной активности также выявил угнетающий эффект ТБЗ в дозе 1 мг/кг в двух 5-минутных интервалах, в связи с чем перед тестированием в режиме ВСЗ было изучено действие ТБЗ в контрольном режиме подкрепления ФСЗ-ФИ240. Обнаружено, что введение ТБЗ в дозе 1 мг/кг приводило к статистически значимому снижению числа полученных подкреплений (тест Фридмана: $\chi^2=14,0$, $df=3$, $p<0,01$; тест Даннетта, $p<0,05$, рис. 3.25), что свидетельствует об угнетающем действии ТБЗ в данной дозе на оперантную реакцию.

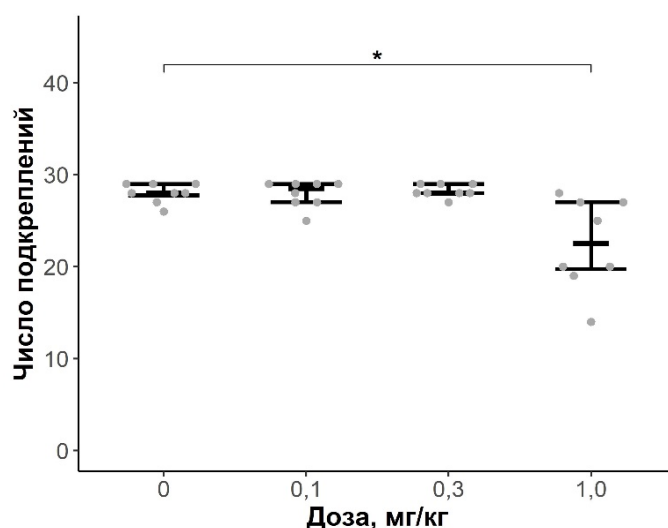


Рисунок 3.37 — Влияние ТБЗ на число полученных подкреплений в режиме ФСЗ-ФИ240. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений, $n=8$. * - $p<0,05$, тест Даннетта.

3.3.3 Оценка влияния тетрабеназина на поведение крыс в режиме подкрепления ВСЗ

Введение ТБЗ дозозависимо снижало число полученных подкреплений в режиме ВСЗ (тест Фридмана: $\chi^2=14,4$, $df=2$, $p<0,001$). При проведении попарных сравнений выявили статистически значимые различия при сравнении данных

растворителя и дозы 0,3 мг/кг (рис. 3.26).

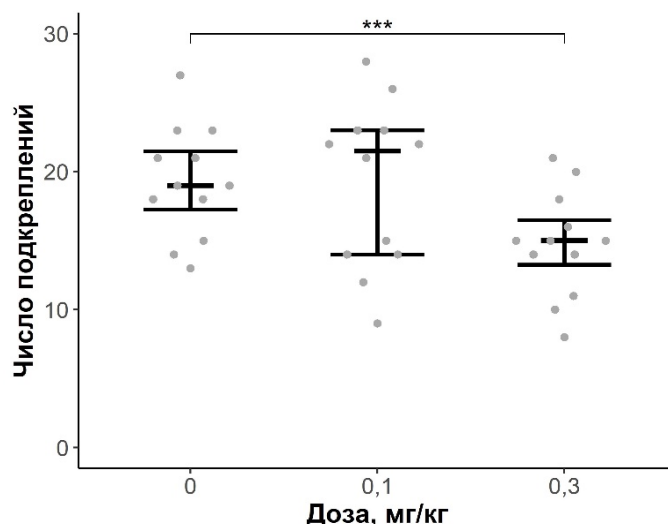


Рисунок 3.38 – Влияние ТБЗ на число подкреплений, полученных в режиме ВСЗ. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. $n=12$. *** – $p<0,001$, ЕМС тест.

Дальнейший анализ ЛЧОР в режиме ВСЗ проводили для доз 0,1 и 0,3 мг/кг. Выявлен статистически значимый эффект факторов «блок» ($F_{(3, 88)}= 57,242$, $p<0,001$), «доза» ($F_{(2, 23)}= 9,565$, $p<0,001$) и их взаимодействия ($F_{(6, 89)}= 2,269$, $p<0,05$). В результате проведения попарных сравнений показано, что введение ТБЗ в дозе 0,1 мг/кг не влияет на ЛЧОР, в то время как при введении ТБЗ в дозе 0,3 мг/кг ЛЧОР была статистически значимо ниже при сравнении с растворителем только когда число требуемых нажатий на педаль составляло от 18 до 45 (рис. 3.27).

Также выявлено, что введение ТБЗ не влияет на параметры математической модели ЛЧОР (тест Фрийдмана: параметр α : $\chi^2=4,67$, $df=2$, $p=0,1$; параметр δ : $\chi^2=3,17$, $df=2$, $p=0,21$; параметр k : $\chi^2=1,17$, $df=2$, $p=0,56$; параметр T_0 : $F=3,87$, $df=2$, $p=0,14$; рис. 3.28).

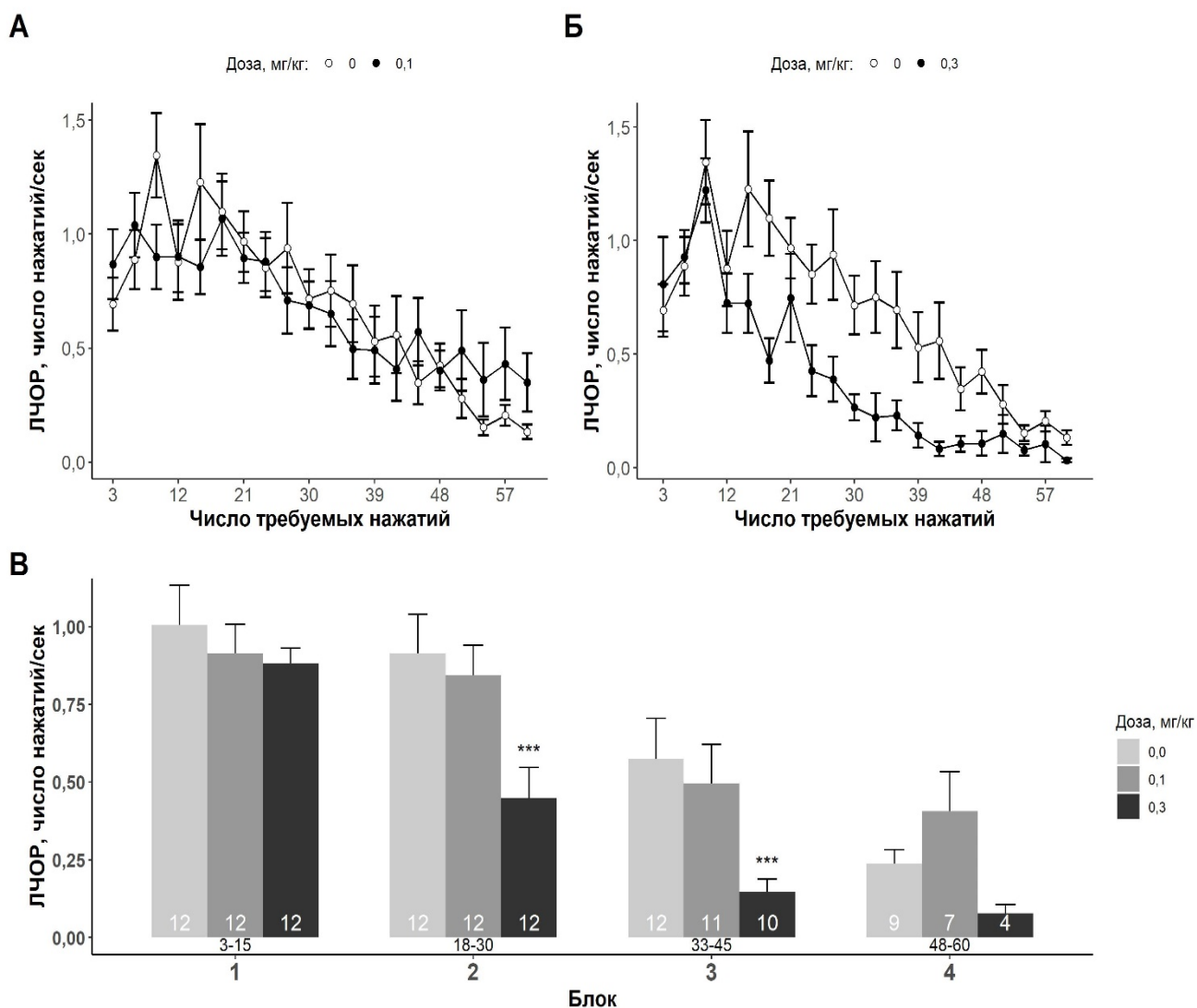


Рисунок 3.39 – Влияние ТБЗ на ЛЧОР в режиме ВС3. **А** – эффект ТБЗ в дозе 0,1 мг/кг; **Б** – эффект ТБЗ в дозе 0,3 мг/кг; **В** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами. ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, тест Даннетта (ТБЗ vs растворитель).

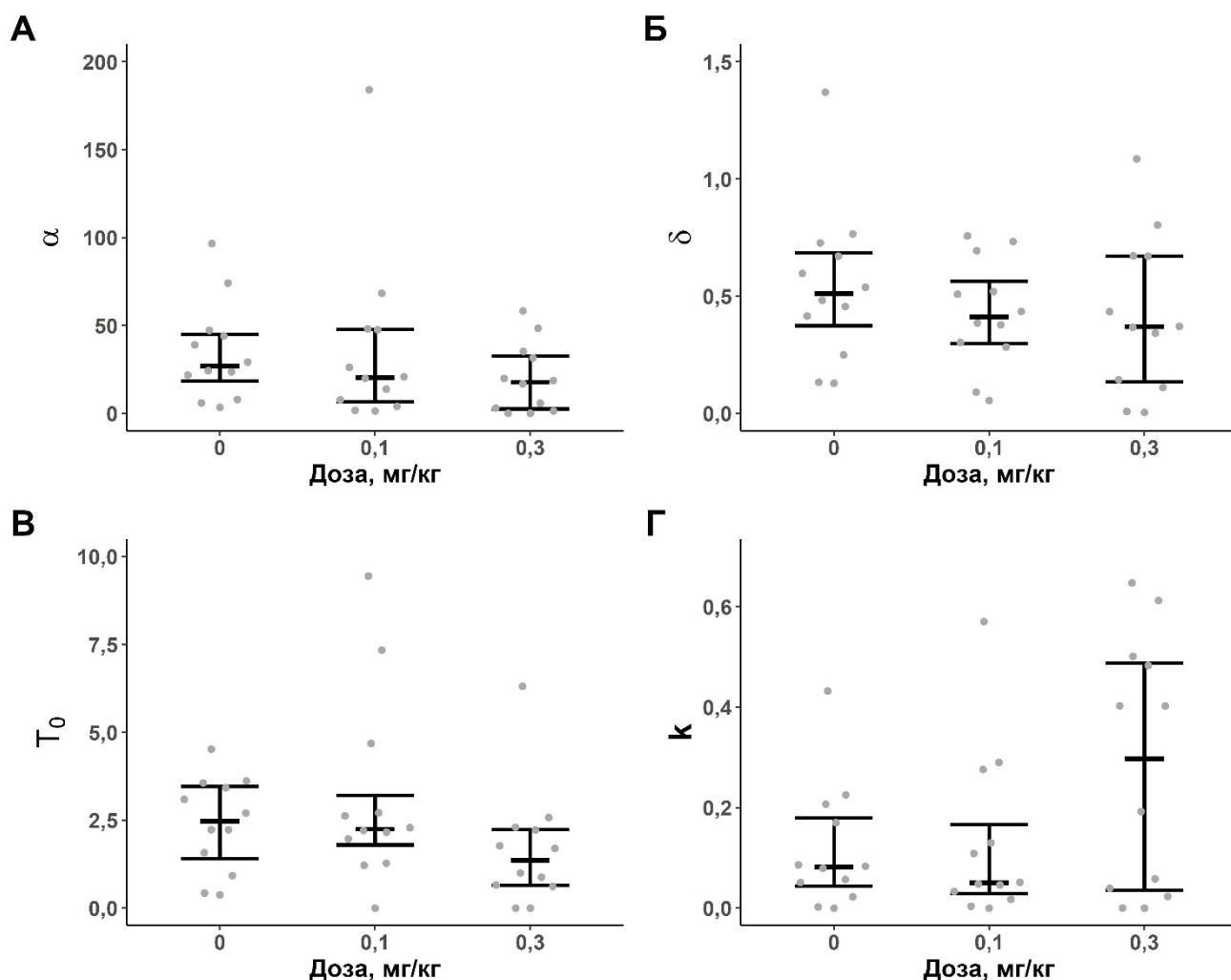


Рисунок 3.30 – Влияние ТБЗ на параметры регрессионной модели ЛЧОР. А – параметр α ; Б – параметр δ ; В – параметр T_0 ; Г – параметр k . $n=12$. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений.

3.3.4 Обсуждение результатов

В рамках настоящего исследования установлено, что ингибитор VMAT2 ТБЗ способен селективно нарушать целенаправленную активность при повышении требуемых затрат усилий. Определена оптимальная дозировка ТБЗ (0,3 мг/кг) при использовании которой наблюдается снижение ЛЧОР при повышении числа требуемых нажатий на педаль. Результаты регрессионного анализа ЛЧОР подтверждают, что данный эффект не связан с изменением «поощрительной ценности» подкрепления или двигательными нарушениями.

Установлено также, что более высокие дозы (1 и 3 мг/кг) могут снижать двигательную активность животных и неспецифически нарушать оперантное поведение, в то время как более низкая доза (0,1 мг/кг) не оказывает значимого влияния на поведение в режиме подкрепления ВСЗ. Таким образом, использование ТБЗ в дозе 0,3 мг/кг позволяет моделировать апатоподобные нарушения целенаправленного поведения.

Введение ТБЗ не сопровождалось изменением параметров модели ЛЧОР. Данные результаты свидетельствуют о том, что нарушение моноаминергической нейротрансдачи под действием ТБЗ в дозе 0,3 мг/кг приводит к снижению целенаправленной активности за счет увеличения чувствительности животного к количеству необходимых затрат усилий. Исследования природы апатии при лобно-височной деменции, по некоторым данным характеризующейся наибольшей частотой развития подобных нарушений [3, 93], показали, что именно избегание затрат усилий является основой снижения целенаправленного поведения [25], что может определять трансляционную ценность ТБЗ модели апатоподобного состояния. Примечательно, что результаты согласуются с результатами изучения эффекта ТБЗ в других методиках, оценивающих мотивацию животных, которые показали, что ТБЗ не увеличивает ППП, хотя значительно повышает суммарное время между оперантными реакциями [165].

Хотя действие ТБЗ сопровождается снижением концентрации всех моноаминов в ЦНС, показано, что данный эффект наиболее выражен для дофамина, особенно после введения низких доз вещества. Так, показано, что в дозе 1 мг/кг введение ТБЗ крысам приводило к снижению уровня дофамина полосатого тела на 70-75 %, в то время как концентрация серотонина (в коре, гипоталамусе и полосатом теле) и норадреналина (в коре и гипоталамусе) снижалась менее чем на 50 % [155]. Таким образом, выявленные поведенческие изменения, наиболее вероятно, обусловлены действием ТБЗ именно на дофаминергическую нейротрансдачу. Данный вывод также частично подтверждают результаты изучения поведения ТРН2-КО крыс, снижение

серотонина у которых не сопровождается нарушением целенаправленной активности.

Использование ТБЗ для моделирования апатоподобного состояния предполагает выбор оптимальной дозы вещества. В предыдущих работах, показавших, что ТБЗ вызывает сдвиги поведения в сторону выбора менее трудозатратных опций, использовали дозу 1 мг/кг. В настоящем исследовании, однако, выявлено, что введение ТБЗ в этой дозе приводит к нарушению оперантного поведения, не связанного с высокими затратами усилий. Данный факт может иметь большое значение в контексте моделирования апатии. Вероятно, неспецифическое нарушение оперантного поведения не играет значительной роли в вышеупомянутых методиках, поскольку главным оцениваемым показателем в них является относительное повышение употребления легкодоступного корма. Однако такой эффект может наблюдаться и за счет не связанного с количеством усилий снижения оперантной активности. Напротив, в настоящем исследовании показано, что действие ТБЗ в дозе 0,3 мг/кг приводит к специфическому снижению целенаправленной активности только при повышении количества требуемых усилий, при этом не вызывая двигательных нарушений и снижения поощрительной ценности подкрепления. Вероятно, такой эффект может наблюдаться за счет более селективного действия вещества на дофаминергическую нейротрансмиссию, поскольку известно, что в низких дозах действие ТБЗ характеризуется более сильным влиянием на концентрацию дофамина по сравнению с другими нейромедиаторами [155].

3.4 Фармакокоррекция тетрабеназин-индуцированного апатоподобного состояния

3.4.1 Эффект СЕ-123

На фоне действия ТБЗ (0,3 мг/кг) введение СЕ-123 оказывало значимое влияние на число полученных подкреплений (тест Краскела-Уоллиса: $F=9,05$, $df=3$, $p<0,05$). При проведении попарных сравнений с данными растворителя, однако, различия не достигали статистической значимости, хотя наблюдалась тенденция к повышению числа подкреплений у крыс под действием вещества в дозе 24 мг/кг ($p<0,1$, тест Данна; рис. 3.41).

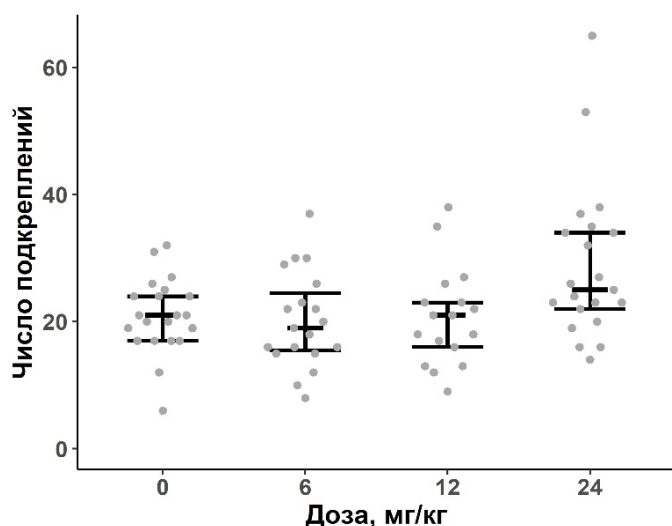


Рисунок 3.41 – Влияние СЕ-123 на число подкреплений, полученных крысами под действием ТБЗ в режиме ВСЗ. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. $n=21$ (0 мг/кг), 17 (6 мг/кг), 19 (12 мг/кг), 21 (24 мг/кг).

Статистический анализ ЛЧОР выявил значимый эффект факторов «доза» и «блок», а также их взаимодействие (фактор «доза»: $F_{(3,78)}=7,506$, $p<0,001$; фактор «блок»: $F_{(5,270)}=85,318$, $p<0,001$; взаимодействие: $F_{(15,270)}=1,71$, $p<0,05$). Попарные сравнения выявили, что ЛЧОР была выше во всех блоках под действием вещества в дозе 24 мг/кг по сравнению с растворителем (рис. 3.42).

Действие СЕ-123 не сопровождалось значимым влиянием на параметры

модели ЛЧОР (тест Краскела-Уоллиса – параметр α : $F=4,84$, $df=3$, $p=0,18$; параметр δ : $F=0,26$, $df=3$, $p=0,97$; параметр T_0 : $F=6,01$, $df=3$, $p=0,11$; параметр k : $F=3,49$, $df=3$, $p=0,32$; рис. 3.43).

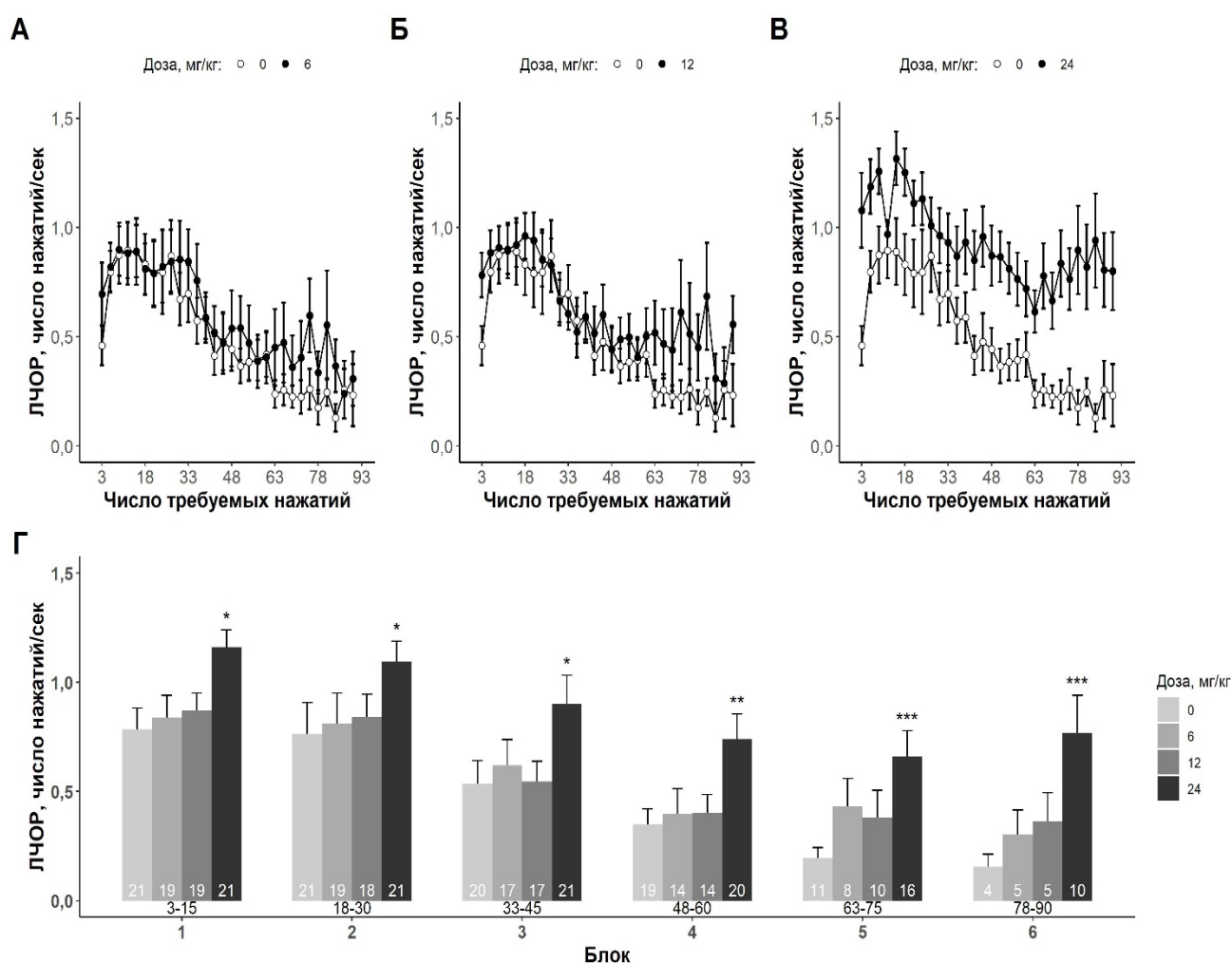


Рисунок 3.42 – Влияние SE-123 на ЛЧОР крыс под действием ТБЗ. **А** – сравнение дозы 6 мг/кг с растворителем; **Б** – сравнение дозы 12 мг/кг с растворителем; **В** – сравнение дозы 24 мг/кг с растворителем; **Г** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами. * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$; тест Даннетта.

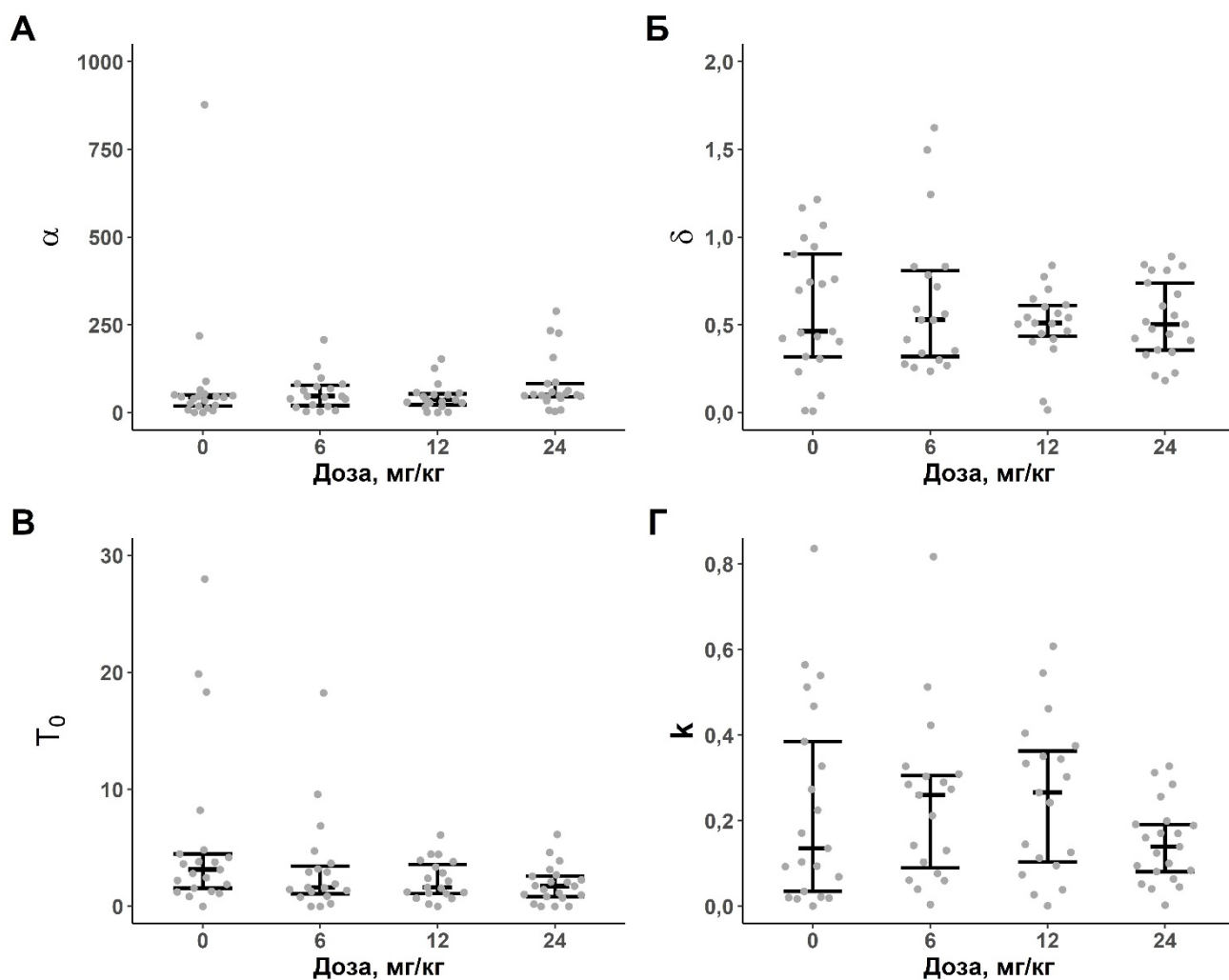


Рисунок 3.43 – Влияние SE-123 на параметры регрессионной модели ЛЧОР у крыс под действием ТБЗ. **А** – параметр α ; **Б** – параметр δ ; **В** – параметр T_0 ; **Г** – параметр k . $n=21$ (0 мг/кг), 19 (6 мг/кг), 19 (12 мг/кг), 21 (24 мг/кг). Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений.

При этом введение СЕ-123 не влияло на число подкреплений, полученных интактными крысами стока Wistar в режиме ВСЗ (тест Фридмана: $\chi^2=0,6$, $df=3$, $p=0,9$; рис. 3.44). В результате анализа ЛЧОР также не выявлено значимого эффекта фактора «доза» и взаимодействия факторов «доза» и «блок» (фактор «доза»: $F_{(3,24)}=0,311$, $p=0,82$; фактор «блок»: $F_{(7,200)}=36,904$, $p<0,001$; взаимодействие: $F_{(21,200)}=0,475$, $p=0,98$; рис. 3.45). Также, действие СЕ-123 не сопровождалось статистически значимым влиянием на параметры модели ЛЧОР (тест Фридмана – параметр α : $\chi^2=3$, $df=3$, $p=0,39$; параметр δ : $\chi^2=4,07$, $df=3$, $p=0,25$; параметр T_0 : $\chi^2=1,94$, $df=3$, $p=0,59$; параметр k : $\chi^2=0,33$, $df=3$, $p=0,95$; рис. 3.46).

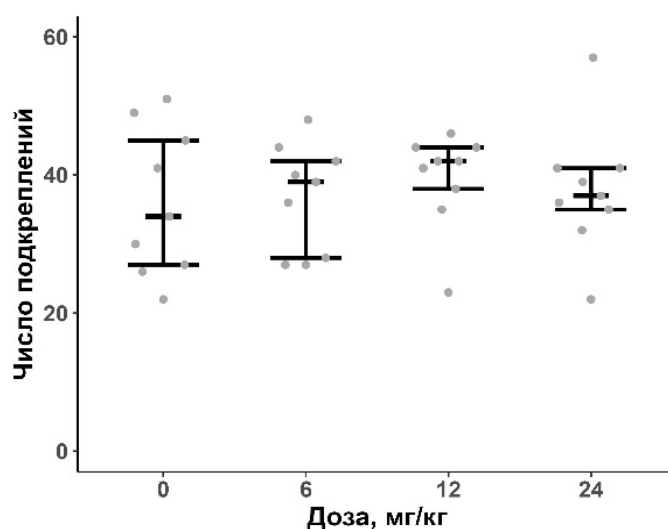


Рисунок 3.44 – Влияние СЕ-123 на число подкреплений, полученных интактными крысами в режиме ВСЗ. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. $n=9$.

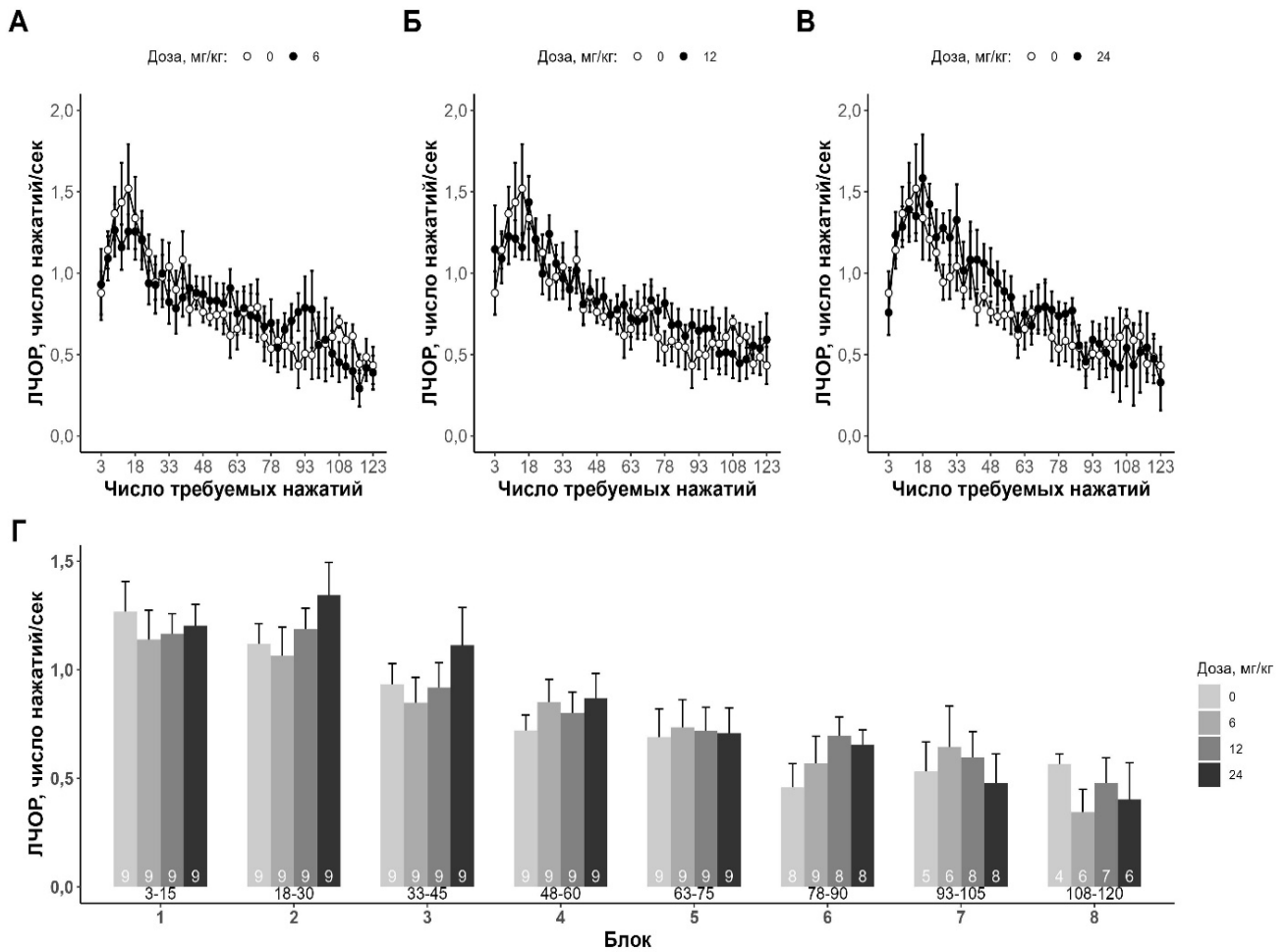


Рисунок 3.45 – Влияние SE-123 на ЛЧОР интактных крыс. **А** – сравнение дозы 6 мг/кг с растворителем; **Б** – сравнение дозы 12 мг/кг с растворителем; **В** – сравнение дозы 24 мг/кг с растворителем; **Г** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами.

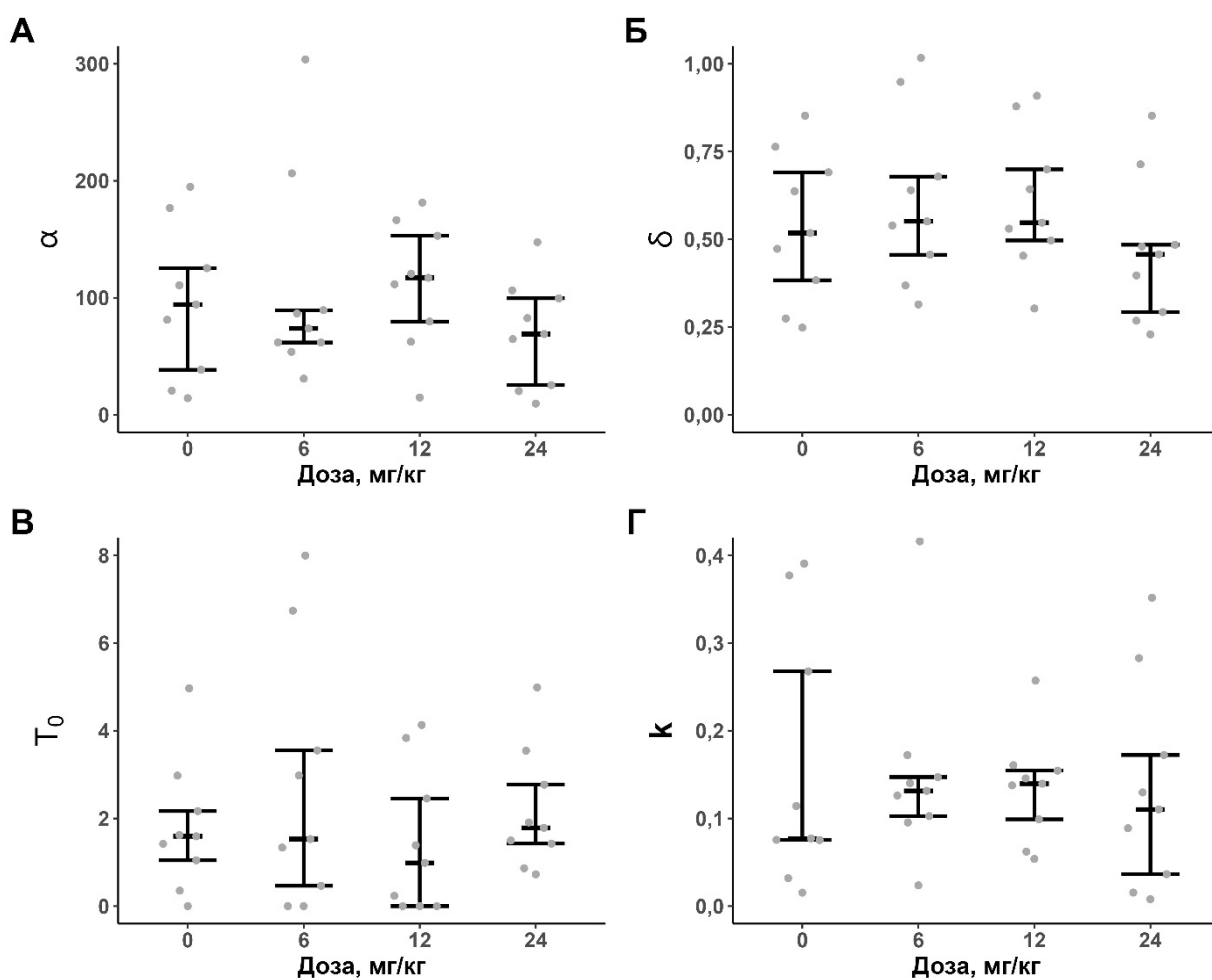


Рисунок 3.46 – Влияние SE-123 на параметры регрессионной модели ЛЧОР у интактных крыс. **А** – параметр α ; **Б** – параметр δ ; **В** – параметр T_0 ; **Г** – параметр k . $n=9$. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений.

3.4.2 Эффект МК-801

На фоне действия ТБЗ (0,3 мг/кг) введение МК-801 сопровождалось дозозависимым увеличением числа полученных подкреплений (тест Краскела-Уоллиса: $F=15,8$, $df=3$, $p<0,01$). Результаты попарных сравнений с данными растворителя подтвердили статистически значимое увеличение данного показателя под действием вещества в дозе 0,1 мг/кг (рис. 3.47).

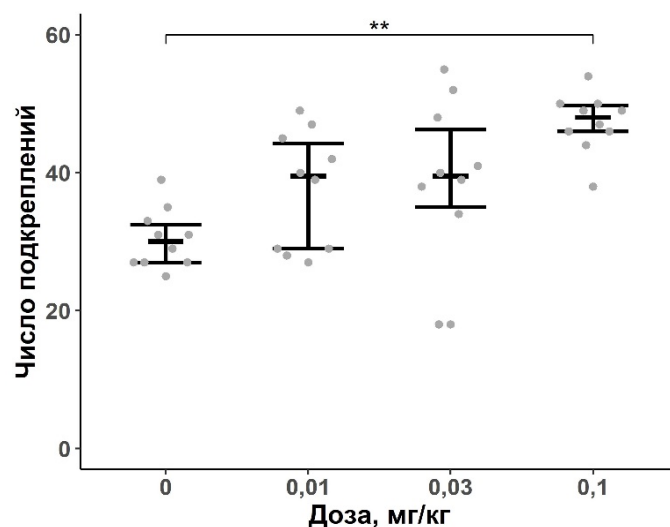


Рисунок 3.47 – Влияние МК-801 на число подкреплений, полученных крысами под действием ТБЗ в режиме ВСЗ. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. $n=10$ в каждой группе. ** – $p<0,01$; тест Данна.

При анализе ЛЧОР выявлен значимый эффект факторов «доза» и «блок» и их взаимодействие (фактор «доза»: $F_{(3,36)}=4,186$, $p<0,05$; фактор «блок»: $F_{(6,200)}=6,167$, $p<0,001$; взаимодействие: $F_{(18,200)}=3,531$, $p<0,001$). Парные сравнения выявили, что ЛЧОР была выше в блоках 5-7 под действием вещества в дозе 0,03 мг/кг и в блоках 3-7 после введения МК-801 в дозе 0,1 мг/кг (рис. 3.48).

Действие МК-801 сопровождалось статистически значимым влиянием на параметр α модели ЛЧОР (тест Краскела-Уоллиса – параметр α : $F=8,73$, $df=3$, $p<0,05$; параметр δ : $F=0,12$, $df=3$, $p=0,99$; параметр T_0 : $F=5,07$, $df=3$, $p=0,17$; параметр k : $F=4,02$, $df=3$, $p=0,26$). После проведения парных сравнений с данными растворителя выявлено, что параметр α статистически значимо повышался под действием вещества в дозе 0,1 мг/кг (рис. 3.49).

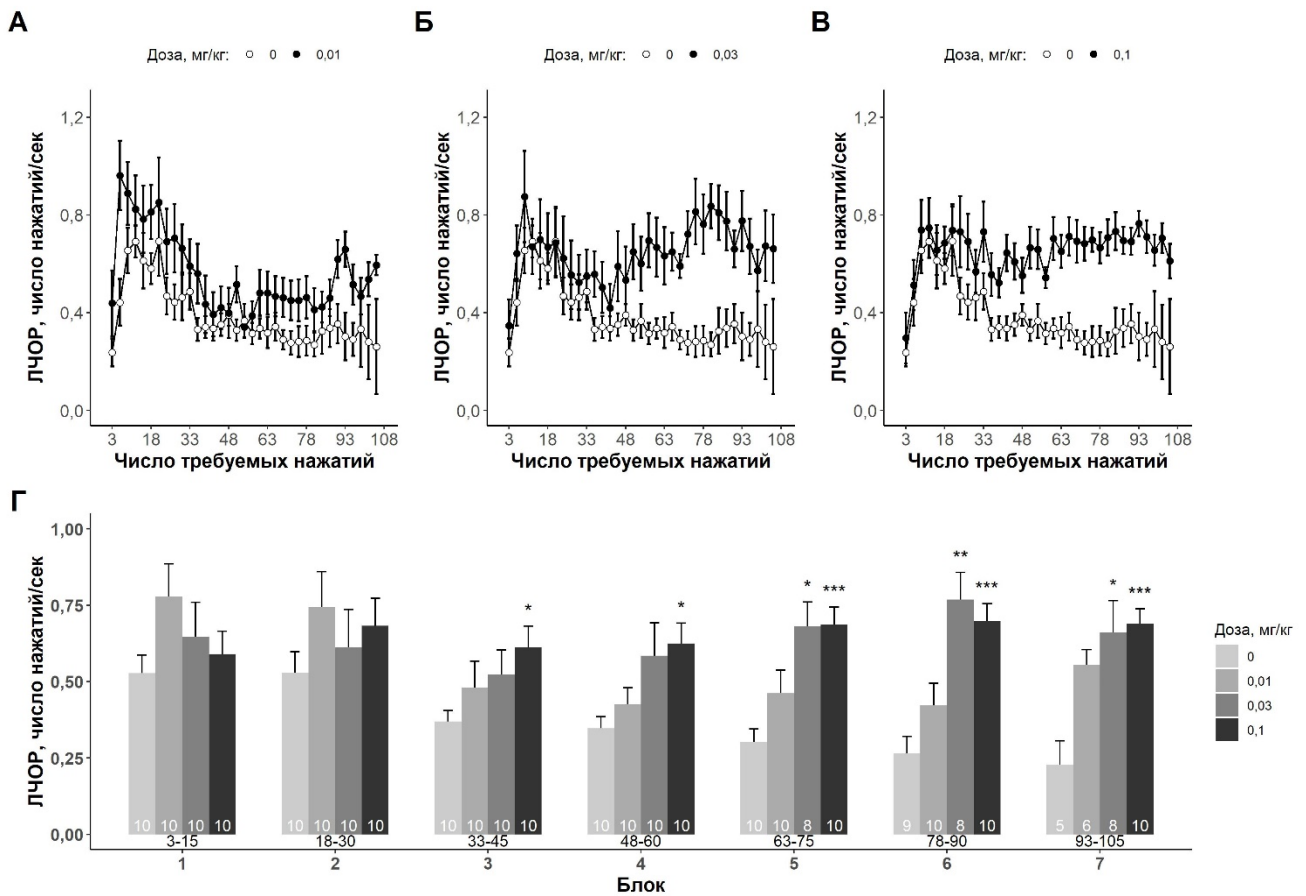


Рисунок 3.48 – Влияние МК-801 на ЛЧОР крыс под действием ТБЗ. **А** – сравнение дозы 0,01 мг/кг с растворителем; **Б** – сравнение дозы 0,03 мг/кг с растворителем; **В** – сравнение дозы 0,1 мг/кг с растворителем; **Г** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами. * – $p < 0,05$; тест Даннетта.

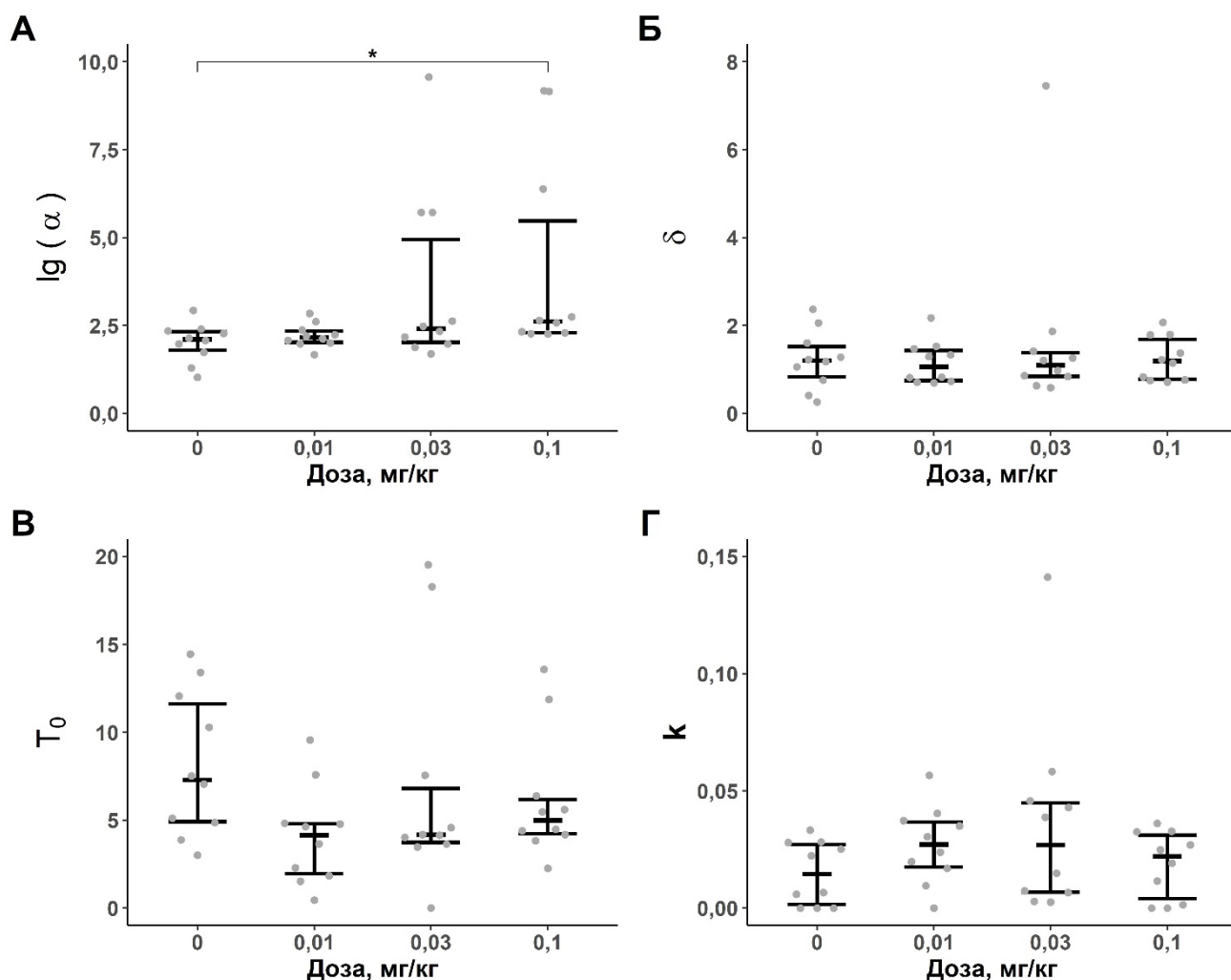


Рисунок 3.49 – Влияние МК-801 на параметры регрессионной модели ЛЧОР у крыс под действием ТБЗ. **А** – параметр α ; **Б** – параметр δ ; **В** – параметр T_0 ; **Г** – параметр k . $n=10$ в каждой группе. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. * – $p<0,05$; тест Данна.

3.4.3 Эффект мемантина

Введение мемантина статистически значимо снижало число полученных подкреплений у животных, находящихся под действием ТБЗ (тест Краскела-Уоллиса: $F=21,9$, $df=4$, $p<0,001$). При проведении попарных сравнений с данными растворителя продемонстрировано, что данные различия достигали статистической значимости под действием вещества в дозе 15 мг/кг ($p<0,001$, тест Данна; рис. 3.50).

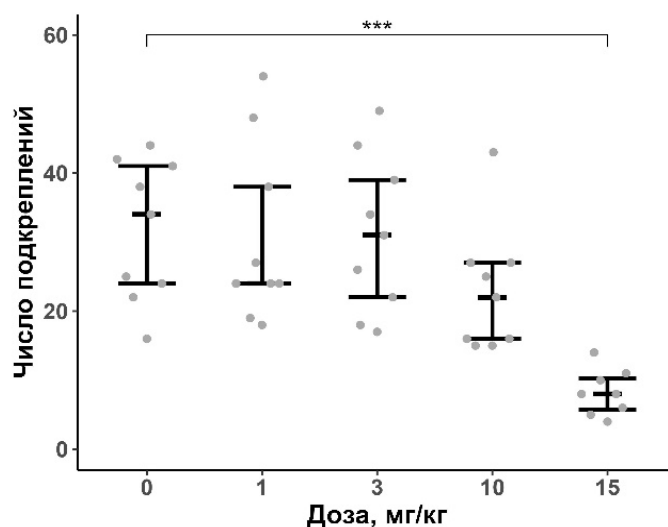


Рисунок 3.50 – Влияние мемантина на число подкреплений, полученных в режиме ВСЗ. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. $n=9$ (0-10 мг/кг), 8 (15 мг/кг). *** - $p<0,001$, тест Данна.

В ходе анализа ЛЧОР выявлен статистически значимый эффект фактора «доза», но не фактора «блок» или их взаимодействия (фактор «доза»: $F_{(4,39)}=12,888$, $p<0,001$; фактор «блок»: $F_{(1,38)}=0,321$, $p=0,57$; взаимодействие: $F_{(4,38)}=1,594$, $p=0,2$). По результатам апостериорных сравнений обнаружено, что ЛЧОР была ниже под действием вещества в дозах 10 и 15 мг/кг по сравнению с растворителем (рис. 3.51).

Действие мемантина характеризовалось статистически значимым влиянием на параметры модели ЛЧОР (тест Краскела-Уоллиса – параметр α : $F=12,9$, $df=4$, $p<0,05$; параметр δ : $F=18,3$, $df=4$, $p<0,01$; параметр T_0 : $F=21,1$, $df=4$, $p<0,001$; параметр k : $F=3,86$, $df=4$, $p=0,43$). В результате попарных сравнений выявлено, что параметр α был статистически значимо выше под действием вещества в дозе 15 мг/кг, а параметры δ и T_0 – под действием вещества в дозах 10 и 15 мг/кг (рис. 3.52).

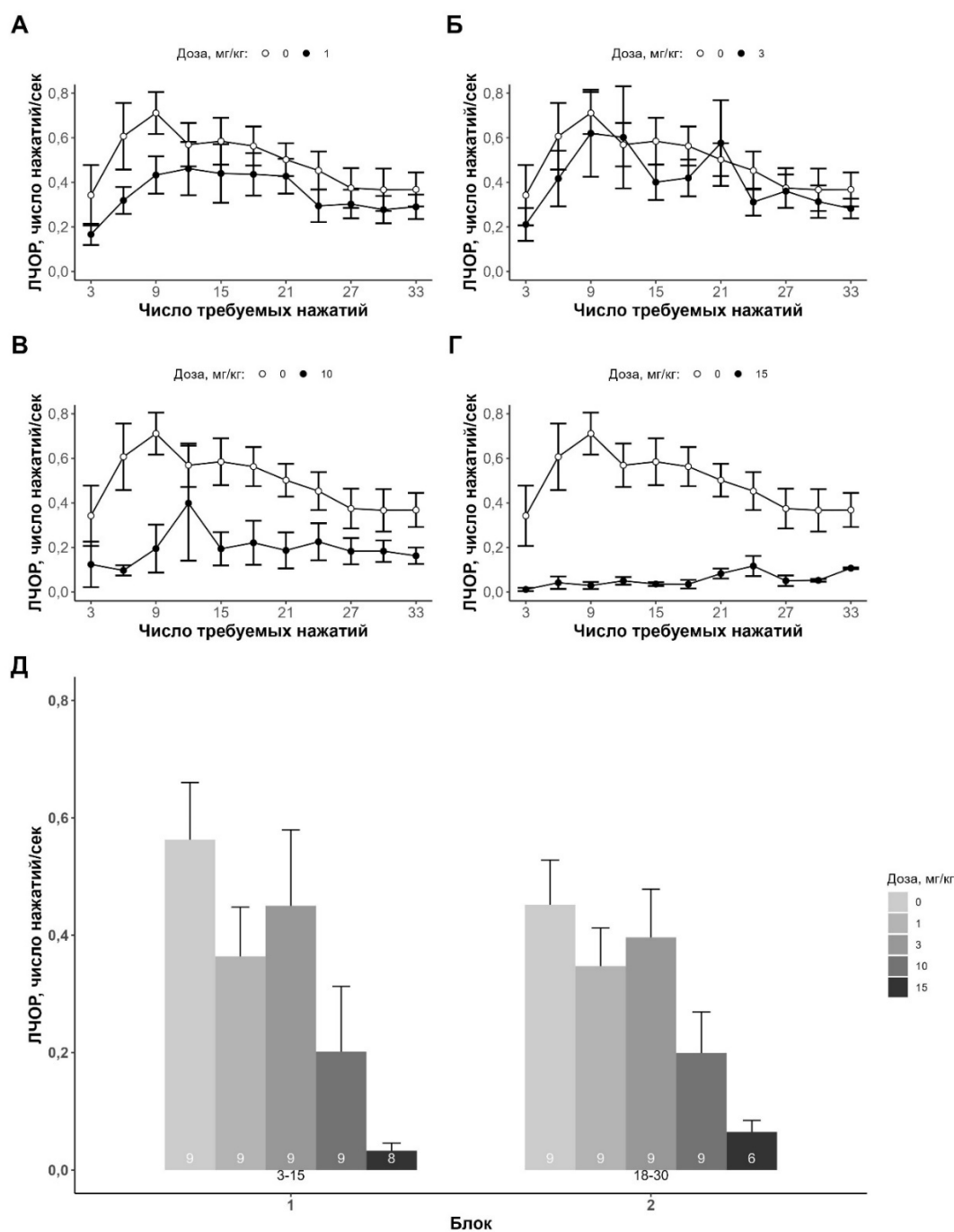


Рисунок 3.51 – Влияние мемантина на ЛЧОР крыс под действием ТБЗ. **А** – сравнение дозы 1 мг/кг с растворителем; **Б** – сравнение дозы 3 мг/кг с растворителем; **В** – сравнение дозы 10 мг/кг с растворителем; **Г** – сравнение дозы 15 мг/кг с растворителем; **Д** – суммарный анализ ЛЧОР по блокам из 5 подкреплений. Данные представлены в виде среднего значения \pm ошибки среднего значения. Число наблюдений указано белым шрифтом внутри столбчатых диаграмм. Диапазон значений числа требуемых нажатий, входящих в каждый блок, указан под диаграммами.

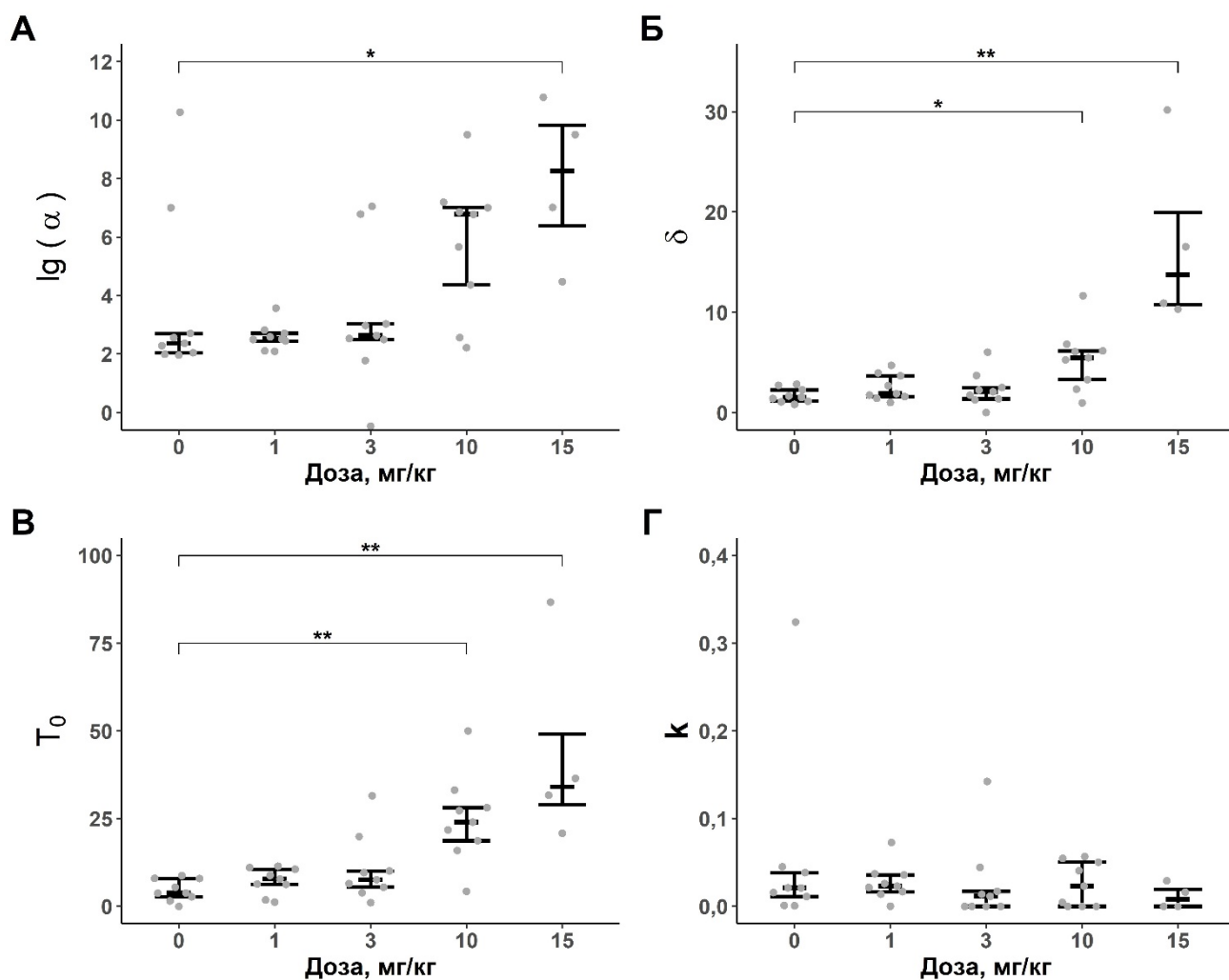


Рисунок 3.52 – Влияние мемантина на параметры регрессионной модели ЛЧОР у крыс под действием ТБЗ. **А** – параметр α ; **Б** – параметр δ ; **В** – параметр T_0 ; **Г** – параметр κ . $n=9$ (0-10 мг/кг), 4 (15 мг/кг). Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей и индивидуальных значений. * - $p<0,05$, ** - $p<0,01$, тест Данна.

3.4.4 Обсуждение результатов

Основные результаты изучения возможностей фармакокоррекции ТБЗ-индуцированного нарушения целенаправленной активности представлены в таблице 3.4.

Таблица 3.4 Влияние СЕ-123, МК-801 и мемантина на поведение крыс под действием ТБЗ в режиме подкрепления ВСЗ.

	ЧП	ЛЧОР	Параметры математической модели ЛЧОР			
			α	δ	T_0	К
СЕ-123	↑”(24 мг/кг)	↑	-	-	-	-
МК-801	↑	↑ при высоких соотношениях	↑	-	-	-
Мемантин	↓	↓	↑	↑	↑	-

«↑» - увеличение показателя; «↓» - снижение показателя; «-» - отсутствие эффекта; «”» - эффект на уровне тенденции к статистически значимым различиям ($p < 0,1$).

В ходе проведения исследования установлено, что атипичный ингибитор DAT СЕ-123 и высокоаффинный антагонист глутаматных рецепторов NMDA-подтипа МК-801 способны увеличивать целенаправленную активность при повышенных затратах усилий на фоне нарушения моноаминергической нейротрансмиссии. При этом СЕ-123 оказывает свой эффект, вероятно, только за счет повышения толерантности к усилиям, а МК-801 – также благодаря повышению ценности подкрепления. Полученные результаты позволяют обосновать рациональность рассмотрения веществ из данных групп в качестве потенциальных средств фармакокоррекции апатии.

Ранее уже отмечалось, что введение аналогов модафинила, в том числе SE-123, способно компенсировать мотивационные нарушения, вызванные ТБЗ [170, 171]. Данные, полученные в настоящем исследовании, позволяют подтвердить такой вывод. При этом результаты анализа ЛЧОР указывают на то, что SE-123 способен восстанавливать целенаправленную активность в ТБЗ модели апатоподобного состояния за счет увеличения толерантности к затратам усилий. Отсутствие влияния на ценность награды и поведение интактных животных может свидетельствовать о низком аддиктивном потенциале и высокой безопасности вещества. Отсутствие эффекта вещества при тестировании на интактных животных также было показано для модафинила [195]. При этом имеются некоторые сообщения о терапевтическом эффекте модафинила в случае апатии у пациентов пожилого возраста [34, 150], хотя надежных доказательств его эффективности на настоящий момент нет [172].

Примечательно, что эффект МК-801 у крыс с интактной моноаминергической нейротрансдукцией и животных под действием ТБЗ отличался по влиянию по параметр α математической модели ЛЧОР. Повышение данного параметра наблюдалось только в условиях снижения синаптического уровня моноаминов. В то же время само по себе действие ТБЗ, как было описано выше, не сопровождалось снижением данного показателя. Это может свидетельствовать о зависимости эффекта МК-801 от моноаминов. Как уже отмечалось, действие данного вещества сопровождается выбросом дофамина, а ТБЗ влияет преимущественно на дофаминергическую нейротрансдукцию. Различия эффектов МК-801 на фоне действия ТБЗ и на интактных крысах могут быть обусловлены тем, что в условиях снижения уровня дофамина действие МК-801 на дофамин более заметно. Стоит, однако, отметить, что эффект МК-801 на фоне действия ТБЗ и без него оценивался на разных стоках животных (Wistar и DAT-KO), что может быть дополнительным фактором, влияющим на результат. Тем не менее, выявленные эффекты в режиме ВСЗ позволяют рассматривать блокаду NMDA-рецепторов как перспективное направление для разработки фармакотерапии

апатии в тех случаях, когда наблюдается снижение ценности награды, например, при БП [81, 125].

Результаты настоящего исследования подтверждают, что МК-801 эффективно устраняет нарушения целенаправленной активности, вызванные ТБЗ. Однако подобного эффекта не было выявлено при тестировании действия мемантина. Более того, введение данного вещества сопровождалось еще большим угнетением целенаправленной активности. Однако, несмотря на это, анализ также выявил повышение «специфической активации» (параметр α). Такой результат позволяет предположить, что мемантин способен повышать поощрительную ценность подкрепления, но имеющиеся побочные эффекты, вероятно, преобладают и приводят к снижению активности. Так, данные клинических исследований показывают, что мемантин может быть в некоторой степени эффективен для коррекции апатии при БА [13], однако, его применение также связано с увеличением риска отмены терапии в связи с побочными эффектами [130].

Результаты изучения эффектов антагонистов глутаматных рецепторов NMDA-подтипа согласуются также с данными о влиянии веществ данной группы на самовведение кокаина в режиме ВС: показано, что МК-801 в дозе 0,15 мг/кг способен увеличивать количество инфузий кокаина, в то время как мемантин (10 мг/кг) оказывал угнетающий эффект [95]. При этом результаты анализа модели ЛЧОР позволяют предположить, что такой эффект мемантина связан с увеличением минимального времени оперантной реакции (параметр δ) и ППП (параметр T_0).

3.5 Общие вопросы для обсуждения

Режим подкрепления ВС широко используется для исследования мотивационных процессов, так как позволяет оценить поведение животных в условиях повышения необходимых затрат усилий. Однако на поведение в данном режиме могут влиять и другие факторы. Одним из них может быть время между

получением подкреплений. Ранее продемонстрировано, что амплитуда высвобождения дофамина увеличивается как во время сессии ВС, так и во время контрольного режима, когда животное получает подкрепление с интервалами, примерно равными таковым в режиме ВС, но независимо от своего поведения [214]. Таким образом, различия в поведении в условиях гипердофаминергии могут также отражать различные временные поведенческие стратегии. Подтверждением этого может служить тот факт, что ЛЧОР в режиме ВС хорошо предсказывается моделью, содержащей параметры темпорального компонента оперантной активности (T_0 и k). Данные параметры включены в модель на основе хорошо известного феномена линейной зависимости ППП от предыдущего интервала между подкреплениями, который был описан для интервальных режимов подкрепления, однако оказался эффективным и для описания поведения в режиме ВС [26]. Тем не менее, несколько исследований показали, что дофамин-зависимые изменения в процессе принятия решения на основе оценки «затраты-выгоды», который также может иметь значение в условиях режима ВС, нельзя объяснить только увеличением времени до получения награды или изменением ее количества [68, 138]. Ранее Ostlund и соавторы сообщали, что внеклеточная концентрация дофамина обратно пропорциональна количеству усилий, необходимых для получения подкрепления, причем порядок предоставления высоко- и низкочастотных поведенческих опций в данном исследовании был случайным [146]. Так или иначе, периодический характер получения подкрепления может быть важным фактором, влияющим на поведение в режиме ВС. Применение анализа математической модели ЛЧОР позволяет дифференцировать компоненты оперантного поведения, контролируемые временными интервалами и компоненты, в большей степени зависимые от мотивационного состояния животного.

Ограничением настоящего исследования является однократное тестирование животных в режиме ВС после обучения в режиме ФС (за исключением дополнительного изучения поведения DAT-КО и TRH2-КО крыс в

режиме ВС в течение 8 дней), в то время как большинство работ проводят предварительное обучение животных в режиме ВС на протяжении нескольких сессий. Однако обучение животных на протяжении нескольких сессий может приводить к переходу поведения в разряд привычки. Так, показано, что уже на 7-й день обучения животных ассоциации условного стимула с пищевым подкреплением происходит подобный процесс [39]. Тестирование животных в режиме ВС сразу после обучения нажатия на педаль в режиме ФС позволяет исключить подобный переход от целенаправленного поведения к «привычному». При этом использование режима ВС3, при котором соотношение увеличивается в арифметической прогрессии, обеспечивая умеренный прирост, помогает минимизировать риск угашения оперантной реакции, а также является оптимальным для подробного анализа влияния числа требуемых оперантных реакций на активность животного.

Заслуживает обсуждения также вопрос о других возможных неспецифических причинах изменения поведения в режиме ВС. Одним из факторов, влияющих на оперантное поведение, является возможное насыщение животного. Однако результаты, получаемые в ходе обучения животных нажатия на педаль в режиме ФС5, при котором крысы получают 50 подкреплений, позволяют утверждать о минимальном влиянии данного фактора, так как не наблюдается снижение их активности в конце сессии, при этом в режиме ВС3 количество получаемых подкреплений как правило не превышает 50.

ОБСУЖДЕНИЕ

Апатия – распространенная медико-социальная проблема. Развитие апатии значительно снижает качество и продолжительность жизни больных не только с нейропсихиатрическими, но и соматическими и инфекционными заболеваниями [1, 30, 54, 133]. Существующие подходы к фармакотерапии апатии не являются удовлетворительными с точки зрения клинической эффективности и доказательной медицины [4, 10]. Основной причиной такой ситуации может являться недостаточная изученность нейрхимических механизмов развития апатоподобных нарушений, а также сложности, возникающие при попытках моделирования феномена апатии на животных.

Нарушения моноаминергической нейротрансмиссии считаются ключевыми для патогенеза апатии, при этом основным нейромедиатором регуляции мотивации является дофамин. Различные нарушения дофаминергической нейротрансмиссии могут быть связаны с патологическим изменением процессов, лежащих в основе регуляции целенаправленного поведения. Считается, что фазовый выброс дофамина преимущественно отвечает за передачу информации о потенциальной награде, которую получает организм в результате целенаправленного поведения, в то время как роль тонического уровня данного нейромедиатора в процессах регуляции целенаправленной активности остается менее изученной. В частности, важнейшим фактором, влияющим на мотивацию, также являются затраты в виде усилий, которые необходимо приложить для достижения результата, при этом остается слабоизученным, как уровень тонического дофамина влияет на вклад количества необходимых усилий в регуляцию целенаправленного поведения [213].

Одним из ключевых элементов дофаминергической нейротрансмиссии является

белок DAT, который осуществляет обратный захват нейромедиатора в пресинаптические окончания. Животные без функционального DAT – информативный инструмент изучения роли дофамина и нарушения его гомеостаза в развитии различных поведенческих нарушений [8]. DAT-КО крысы, созданные на основе аутбредных крыс стока Wistar Han и характеризующиеся выраженным повышением синаптической концентрации дофамина, использованы в данном исследовании для изучения роли DAT в регуляции целенаправленной активности, а также поведенческих последствий гипердофаминергии. В настоящей работе установлено, что в режиме подкрепления ВЗ DAT-КО крысы демонстрировали полностью противоположный паттерн активности по сравнению с крысами других генотипов [183]. ЛЧОР крыс-нокаутов была ниже в условиях минимальных требований к затратам в виде усилий, а затем повышалась вместе с ростом числа требуемых нажатий на педаль. Дальнейший анализ позволил выявить, что подобные различия в поведении DAT-КО крыс связаны с комплексными изменениями, которые включают повышение поощрительной силы подкрепления, двигательные нарушения, а также нарушения поведенческой гибкости. Схожие результаты получены при анализе поведения крыс, находящихся под действием амфетамина в дозе 3 мг/кг [183]. Действие же меньших доз амфетамина, а также атипичного ингибитора DAT GBR-12909 характеризовалось только повышением активности животных. При этом эффект GBR-12909 включал также повышение «специфической активации» без влияния на другие параметры модели ЛЧОР, что свидетельствует о повышении ценности подкрепления. Таким образом, повышение тонического уровня дофамина у крыс приводит к значительным изменениям целенаправленного поведения в условиях возрастания требований к затратам усилий. При этом нарушение обратного захвата дофамина с помощью атипичных ингибиторов DAT характеризуется повышением активности животных за счет селективного увеличения ценности подкрепления без других побочных эффектов, что может свидетельствовать о высоком потенциале данной группы веществ как средств фармакокоррекции

апатоподобных нарушений.

Снижение серотонинергической нейротрансмиссии, как предполагают, также может вносить вклад в патогенез апатии [93, 119]. ТРН2-КО крысы имеют мутацию в гене ТРН2, что приводит к нарушению синтеза данного медиатора в нейронах. Проведенный в настоящем исследовании анализ поведения этих животных в режиме подкрепления ВСЗ, однако, не выявил поведенческих различий между животными различного генетического статуса. Хотя при этом обнаружено, что число подкреплений, получаемых крысами-нокаутами, увеличивается на протяжении 8 последовательных сессий в режиме ВСЗ, чего не происходит у животных других генотипов. Важной проблемой, также связанной с изменением уровней серотонина в ЦНС, является СИОЗС-индуцированная апатия [7, 149]. Причины данного явления в настоящее время остаются слабоизученными. В настоящем исследовании показано, что повышение синаптического содержания серотонина под действием флуоксетина приводит к нарушению целенаправленной активности за счет снижения ценности подкрепления, но не толерантности к повышению затрат усилий. Такой результат согласуется с данными о снижении аппетита под действием флуоксетина [189].

Наряду с дофамином и серотонином, еще одним нейромедиатором-моноамином, потенциально вовлеченным в патогенез апатии, считается норадреналин [116]. Кроме того, вещества, повышающие синаптический уровень норадреналина, предлагаются в качестве средств фармакокоррекции апатии [57]. Для анализа влияния повышения норадренергической нейротрансмиссии на целенаправленное поведение в настоящей работе использовали атомоксетин, ингибитор обратного захвата данного нейромедиатора. При этом не обнаружено способности атомоксетина влиять на целенаправленную активность.

Несмотря на значительную роль отдельных нейромедиаторных нарушений в развитии апатоподобных нарушений, имеющиеся на настоящий момент данные свидетельствуют о том, что апатия сопровождается комплексными изменениями нейромедиаторного баланса [93, 116, 119]. В настоящей работе изучали действие

ТБЗ, ингибитора VMAT2, на целенаправленную активность. Поскольку известно, что ТБЗ оказывает угнетающий эффект на двигательную активность животных [202], производился поиск максимальной дозировки ТБЗ, действие которой не приводит к снижению двигательной активности и нарушению оперантного поведения в целом. Выявлено, что для изучения действия ТБЗ на целенаправленную активность оптимальными являются дозировки не выше 0,3 мг/кг [184]. В режиме ВСЗ введение ТБЗ в дозе 0,3 мг/кг сопровождалось снижением активности животных. При этом результаты анализа ЛЧОР показали, что действие вещества зависит от количества требуемых оперантных реакций: под действием ТБЗ происходило снижение активности только при увеличении количества требуемых усилий. Примечательно, что ТБЗ не влиял на «специфическую активацию» и другие показатели модели ЛЧОР, следовательно, снижение целенаправленной активности, вероятно, происходит за счет снижения толерантности животного к количеству необходимых затрат усилий. Учитывая, что большая часть исследований природы апатии указывает на то, что именно нарушение оценки необходимых затрат усилий является причиной апатопоподобных нарушений [23, 25, 65, 79, 98], использование ТБЗ и режима подкрепления ВС для моделирования апатопоподобного состояния представляется наиболее рациональным.

Фармакокоррекция апатии представляет актуальную проблему, поскольку в настоящее время для смягчения проявлений апатии используют препараты, применяемые для терапии основного заболевания. Так, например, в случае апатии при БП препаратами выбора являются дофаминомиметики, при БА – мемантин и ингибиторы ацетилхолинэстеразы, а при шизофрении – атипичные антипсихотики [96]. Такой подход является ограниченным, не учитывает особенности патогенеза апатии как трансдиагностического синдрома и имеет невысокую эффективность [4]. Отдельной проблемой является апатия в случае депрессивных расстройств, так как основные препараты для их терапии, СИОЗС, не только не устраняют, но и зачастую могут сами провоцировать развитие апатии [7, 16].

Одним из классов веществ, которые претендуют на роль специфических средств фармакокоррекции апатии могут быть психостимуляторы [96]. Однако наиболее популярные представители этой неоднородной по механизму действия группы, дофаминергические вещества, обладают выраженными побочными эффектами и высоким аддиктивным потенциалом, в связи с чем имеется необходимость поиска оптимальных решений. Перспективным вариантом решения данной проблемы может быть создание новых веществ с дофаминергическим механизмом действия, но обладающих более селективным и безопасным профилем. Одним из таких примеров являются атипичные высокоселективные ингибиторы DAT, характеризующиеся измененным паттерном взаимодействия с мишенью [99, 185]. В настоящем исследовании установлено, что атипичный ингибитор DAT CE-123 способен восстанавливать целенаправленную активность в ТБЗ модели апатопоподобного состояния за счет увеличения толерантности к затратам усилий. Отсутствие влияния на ценность подкрепления и поведение интактных животных может подтверждать низкий аддиктивный потенциал и высокую безопасность данного вещества.

Другим подходом может быть использование недофаминергических стимуляторов. В работе изучали эффекты некоторых веществ из этой группы. При этом выявлено, что действие никотина, кофеина и МК-801 сопровождается увеличением активности животных в условиях повышения количества требуемых усилий, однако в высоких дозах никотин способен вызывать угнетение активности вследствие двигательных нарушений, а кофеин не оказывает желаемого эффекта. Действие кетамина характеризовалось только снижением ЛЧОР в начале сессии. Таким образом, из исследованных веществ наиболее выраженный эффект наблюдался у высокоаффинного антагониста глутаматных рецепторов NMDA-подтипа МК-801. В дальнейшем также показано, что МК-801 оказывает похожий эффект на поведение крыс под действием ТБЗ. При этом, в отличие от исследования на интактных животных, действие МК-801 на фоне ТБЗ сопровождалось увеличением ценности подкрепления. Выявленные эффекты в

режиме ВСЗ позволяют рассматривать блокаду глутаматных рецепторов NMDA-подтипа как перспективный подход фармакотерапии апатии в тех случаях, когда наблюдается снижение ценности награды, как, например, при БП [81].

ВЫВОДЫ

1. Выключение функции дофаминового транспортера (DAT) у крыс приводит к увеличению целенаправленной активности за счет увеличения поощрительной ценности подкрепления, о чем свидетельствует статистически значимое двукратное увеличение частоты инструментальной пищедобывательной реакции при повышении числа необходимых реакций до 63 и более, а также повышение параметра α математической модели, основанной на анализе ЛЧОР.

2. Ингибирование серотонинового транспортера сопровождается снижением целенаправленной активности вследствие уменьшения поощрительной ценности подкрепления, что доказывается снижением частоты оперантной реакции в 1,3-3 раза независимо от числа требуемых оперантных реакций, а также параметра α математической модели под действием флуоксетина в дозе 10 мг/кг ($p < 0,05$). Нарушение функции транспортера норадреналина у крыс приводит к неспецифическому снижению оперантной активности, на что указывает снижение числа полученных подкреплений в 1,2 раза и отсутствие влияния на частоту оперантной реакции при действии атомоксетина в дозе 1 мг/кг.

3. Действие кетамина (10 и 20 мг/кг) и никотина (0,4 мг/кг) приводит к снижению целенаправленной активности в условиях низких требований к затратам усилий (< 30 оперантных реакций, снижение ЛЧОР в 2-3 раза, $p < 0,01$), за счет двигательных нарушений (повышение параметра δ математической модели).

4. Действие кофеина в дозах 5 и 10 мг/кг и ингибитора DAT GBR-12909 в дозе 10 мг/кг сопровождается увеличением целенаправленной активности (увеличение ЛЧОР в 1,2-2 раза) за счет увеличения поощрительной ценности подкрепления вне зависимости от требований к затрачиваемым усилиям.

5. Антагонист глутаматных рецепторов NMDA-подтипа МК-801 в дозах 0,03 и 0,1 мг/кг способен повышать целенаправленную активность крыс за счет снижения чувствительности к количеству требуемых затрат усилий.

6. Тетрабеназин (ТБЗ) в дозе 0,3 мг/кг обладает способностью индуцировать апатопоподобное состояние у крыс, что подтверждается снижением целенаправленной активности животных в 2-5 раз при увеличении числа требуемых оперантных реакций до 18 и выше ($p < 0,001$), а также отсутствием влияния на двигательную активность и оперантное поведение в контрольном режиме подкрепления. Тест-система для поиска «антиапатических» средств на основе действия ТБЗ обладает конструктивной валидностью.

7. Ингибитор DAT CE-123 в дозе 24 мг/кг восстанавливает ТБЗ-индуцированное нарушение целенаправленной активности, о чем свидетельствует 5-кратное повышение частоты оперантной реакции в условиях высоких требований к затратам усилий (78-90 оперантных реакций). Тест-система для поиска «антиапатических» средств на основе действия ТБЗ обладает предиктивной валидностью.

8. Антагонист глутаматных рецепторов NMDA-подтипа МК-801 в дозах 0,03 и 0,1 мг/кг способен повышать целенаправленную активность при повышении требований к затратам усилий независимо от моноаминергической нейротрансмиссии, что доказывается повышением частоты оперантной реакции более чем в 2 раза ($p < 0,05$) при увеличении требований к затратам усилий (>33 оперантных реакций) как у интактных животных, так и у крыс под действием ТБЗ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты исследования подтверждают ключевую роль дофамина в регуляции целенаправленной активности. Целесообразным является дальнейшее изучение дофаминергических механизмов апатоподобных поведенческих нарушений.

Использование ТБЗ в дозе 0,3 мг/кг позволяет воспроизводить апатоподобные нарушения целенаправленного поведения. Тест-система на основе ТБЗ может применяться для поиска новых потенциальных средств фармакокоррекции апатии. Выявленная способность МК-801 и СЕ-123 компенсировать возникающие поведенческие нарушения в разработанной тест-системе определяет актуальность дальнейшего изучения потенциала веществ данных фармакологических групп при лечении апатии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

BC — возрастающее соотношение

ФС — фиксированное соотношение

ФИ — фиксированный интервал

ТП — точка перелома

ВМП — время между подкреплениями

ЛЧОР — локальная частота оперантной реакции

ЛЧВП — локальная частота выглядываний в лоток для пеллет

ППП — пауза после получения подкрепления

СИОЗС — селективные ингибиторы обратного захвата серотонина

DAT — дофаминовый транспортер

TRH — триптофангидроксилаза

КО — нокаутные крысы

НТ — гетерозиготные крысы

WT — крысы «дикого типа»

ТБЗ — тетрабеназин

БП — болезнь Паркинсона

БА — болезнь Альцгеймера

VMAT2 — везикулярный транспортер моноаминов 2 типа

Д1ПР — Д1-подобные дофаминовые рецепторы

Д2ПР — Д2-подобные дофаминовые рецепторы

СВА — cost-benefit analysis (анализ «затраты-выгоды»)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов В. Г. [и др.]. COVID-19: Внелегочные проявления у пациентов (собственные данные инфекционного госпиталя ФГБУ ФСНКЦ ФМБА РОССИИ) // Медицина экстремальных ситуаций. 2020. № 3 (22). С. 19–25.
2. Авдеева Н. Н. и др. Большой психологический словарь / Авдеева Н. Н. и др., под ред. Б. Г. Мещеряков, В. П. Зинченко, Москва: АСТ, 2009.
3. Аведисова А. С. [и др.]. Апатия в структуре психических и неврологических расстройств позднего возраста // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2014. № 6 (114). С. 77–85.
4. Аведисова А. С. [и др.]. Эффективность фармакологических подходов к терапии синдрома апатии при деменции // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2018. Т. 118. № 4. С. 126–133.
5. Белозерцева И.В., Драволина О.А., Тур М.А. Руководство по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова / под ред. Э. Э. Звартау. – СПб. : Изд-во СПбГМУ, 2014. – 79 с.
6. Беспалов А. Ю., Звартау Э. Э. Нейропсихофармакология антагонистов NMDA-рецепторов / А. Ю. Беспалов, Э. Э. Звартау, СПб, Невский диалект:, 2000. 297 с.
7. Петрова Н. Н., Маркин А. В. Синдром апатии у депрессивных пациентов, получавших лечение селективными ингибиторами обратного захвата серотонина // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020. № 1 (120). С. 111–117.
8. Савченко А. А., Суханов И. М., Звартау Э. Э. Линии животных со сниженной экспрессией дофаминового транспортера: перспективы и ограничения

использования в экспериментальной нейробиологии // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2020. № 4 (83). С. 37–42.

9. Aberman J. E., Ward S. J., Salamone J. D. Effects of dopamine antagonists and accumbens dopamine depletions on time-constrained progressive-ratio performance // Pharmacology Biochemistry and Behavior. 1998. № 4 (61). С. 341–348.

10. Andrade C. Methylphenidate and Other Pharmacologic Treatments for Apathy in Alzheimer's Disease // Journal of Clinical Psychiatry. 2022. № 1 (83).

11. Andrzejewski M. E., Spencer R. P., Kelley A. E. Dissociating ventral and dorsal subicular dopamine D1 receptor involvement in instrumental learning, spontaneous motor behavior, and motivation // Behavioral Neuroscience. 2006. № 3 (120). P. 542–553.

12. Assié M. B., Koek W. Possible in vivo 5-HT reuptake blocking properties of 8-OH-DPAT assessed by measuring hippocampal extracellular 5-HT using microdialysis in rats // British Journal of Pharmacology. 1996. № 5 (119). P. 845–850.

13. Azhar L. [et al.]. Pharmacological Management of Apathy in Dementia // CNS Drugs. 2022. Т. 36. № 2. P. 143–165.

14. Babaev O., Cruces-Solis H., Arban R. Dopamine modulating agents alter individual subdomains of motivation-related behavior assessed by touchscreen procedures // Neuropharmacology. 2022. (211). P. 109056.

15. Bardgett M. E. [et al.]. Dopamine Modulates Effort-Based Decision Making in Rats // Behavioral Neuroscience. 2009. № 2 (123). P. 242–251.

16. Barnhart W. J., Makela E. H., Latocha M. J. SSRI-induced apathy syndrome: A clinical review // Journal of Psychiatric Practice. 2004. Т. 10. № 3. P. 196–199.

17. Beaulieu J. M., Gainetdinov R. R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors // Pharmacological reviews. 2011. № 1 (63). P. 182–217.

18. Beeler J. A. [et al.]. Tonic dopamine modulates exploitation of reward learning // Frontiers in Behavioral Neuroscience. 2010. (4). P. 1–14.

19. Benoit M. [et al.]. Apathy and depression in mild Alzheimer's disease: A

Cross-sectional study using diagnostic criteria // *Journal of Alzheimer's Disease*. 2012. № 2 (31). P. 325–334.

20. Bezzina G. [et al.]. Evidence for a role of 5-HT_{2C} receptors in the motor aspects of performance, but not the efficacy of food reinforcers, in a progressive ratio schedule // *Psychopharmacology*. 2015. № 4 (232). P. 699–711.

21. Blundell J. E., Latham P. J., Leshem M. B. Differences between the anorexic actions of amphetamine and fenfluramine--possible effects on hunger and satiety // *The Journal of pharmacy and pharmacology*. 1976. № 6 (28). P. 471–477.

22. Blundo P., Gerace P. Dopamine agonists can improve pure apathy associated with lesions of the prefrontal-basal ganglia functional system // *Neurological Sciences*. 2015. № 7 (36). P. 1197–1201.

23. Bonnelle V. [et al.]. Characterization of reward and effort mechanisms in apathy // *Journal of Physiology Paris*. 2015. № 1–3 (109). P. 16–26.

24. Bouc R. Le [et al.]. Computational dissection of dopamine motor and motivational functions in humans // *Journal of Neuroscience*. 2016. № 25 (36). P. 6623–6633.

25. Bouc R. Le [et al.]. Effort avoidance as a core mechanism of apathy in frontotemporal dementia. // *Brain : a journal of neurology*. 2022. № 4 (139). P. 16–17.

26. Bradshaw P. M., Killeen P. R. A theory of behaviour on progressive ratio schedules, with applications in behavioural pharmacology // *Psychopharmacology*. 2012. T. 222. № 4. P. 549–564.

27. Brianna Sheppard A. [et al.]. Caffeine increases the motivation to obtain non-drug reinforcers in rats // *Drug and Alcohol Dependence*. 2012. № 3 (124). P. 216–222.

28. Brok M. G. H. E. den [et al.]. Apathy in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis // *Movement Disorders*. 2015. № 6 (30). P. 759–769.

29. Brown G., Stephens D. N. Effects of cocaine on responding for ethanol or sucrose under a progressive ratio schedule // *Behavioural Pharmacology*. 2002. № 2 (13). P. 157–162.

30. Bruce D. G. [et al.]. Apathy in Older Patients with Type 2 Diabetes //

American Journal of Geriatric Psychiatry. 2015. № 6 (23). P. 615–621.

31. Buffalo E. A. [et al.]. Acute behavioral effects of MK-801 in rhesus monkeys: Assessment using an operant test battery // *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 1994. № 4 (48). P. 935–940.

32. Caeiro L., Ferro J. M., Figueira M. L. Apathy in acute stroke patients // *European journal of neurology*. 2012. № 2 (19). P. 291–297.

33. Cagniard B. [et al.]. Mice with Chronically Elevated Dopamine Exhibit Enhanced Motivation, but not Learning, for a Food Reward // *Neuropsychopharmacology*. 2006. № 7 (31). P. 1362–1370.

34. Camargos E. F., Quintas J. L. Apathy syndrome treated successfully with modafinil // *BMJ Case Reports*. 2011. (2011).

35. Carratalá-Ros P. [et al.]. Impact of Fluoxetine on Behavioral Invigoration of Appetitive and Aversively Motivated Responses: Interaction With Dopamine Depletion // *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2021. (15). P. 700182.

36. Carriere N. [et al.]. Apathy in Parkinson's disease is associated with nucleus accumbens atrophy: A magnetic resonance imaging shape analysis // *Movement Disorders*. 2014. № 7 (29). P. 897–903.

37. Castrioto A. [et al.]. Mood and behavioural effects of subthalamic stimulation in Parkinson's disease // *The Lancet Neurology*. 2014. T. 13. № 3. P. 287–305.

38. Cetin T. [et al.]. Dopamine in the orbitofrontal cortex regulates operant responding under a progressive ratio of reinforcement in rats // *Neuroscience Letters*. 2004. № 2–3 (370). P. 114–117.

39. Choi W. Y., Balsam P. D., Horvitz J. P. Extended habit training reduces dopamine mediation of appetitive response expression // *Journal of Neuroscience*. 2005. № 29 (25). P. 6729–6733.

40. Chong T. T. J. Updating the role of dopamine in human motivation and apathy // *Current Opinion in Behavioral Sciences*. 2018. T. 22. P. 35–41.

41. Cinque S. [et al.]. Behavioral phenotyping of dopamine transporter knockout rats: Compulsive traits, motor stereotypies, and anhedonia // *Frontiers in Psychiatry*.

2018. № FEB (9).

42. Clark M. L. [et al.]. A systematic review and meta-analysis of depression and apathy frequency in adult-onset Huntington's disease // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2023. T. 149. P. 105166.

43. Cohen P., Welzl H., Bättig K. Effects of nicotine, caffeine, and their combination on locomotor activity in rats // *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 1991. № 1 (40). P. 121–123.

44. Collins A. L., Saunders B. T. Heterogeneity in striatal dopamine circuits: Form and function in dynamic reward seeking // *Journal of Neuroscience Research*. 2020. T. 98. № 6. P. 1046–1069.

45. Cools R. [et al.]. Dopamine and the motivation of cognitive control *Handb Clin Neurol*, 2019.C. 123–143.

46. Cousins G. A., Beckley J. T. Antagonism of nucleus accumbens M2 muscarinic receptors disrupts operant responding for sucrose under a progressive ratio reinforcement schedule // *Behavioural Brain Research*. 2007. № 1 (181). P. 127–135.

47. Cousins M. S. [et al.]. Nucleus accumbens dopamine depletions alter relative response allocation in a T-maze cost/benefit task // *Behavioural Brain Research*. 1996. № 1–2 (74). P. 189–197.

48. Cousins M. S., Salamone J. D. Nucleus accumbens dopamine depletions in rats affect relative response allocation in a novel cost/benefit procedure // *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 1994. № 1 (49). P. 85–91.

49. Covarrubias P., Aparicio P. F. Effects of reinforcer quality and step size on rats' performance under progressive ratio schedules // *Behavioural Processes*. 2008. № 2 (78). P. 246–252.

50. Cristiana P. [et al.]. Motor Transitions' Peculiarity of Heterozygous DAT Rats When Offspring of an Unconventional KOxWT Mating // *Neuroscience*. 2020. (433). P. 108–120.

51. Dantzer R. Effect of diazepam on performance of pigs in a progressive ratio schedule // *Physiology and Behavior*. 1976. № 1 (17). P. 161–163.

52. Denk F. [et al.]. Differential involvement of serotonin and dopamine systems in cost-benefit decisions about delay or effort // *Psychopharmacology*. 2005. № 3 (179). P. 587–596.

53. Dickson P. R. [et al.]. Oral stereotypy induced by amphetamine microinjection into striatum: An anatomical mapping study // *Neuroscience*. 1994. № 1 (61). P. 81–91.

54. Diesfeldt H. F. A., Houte L. R. van, Moerkens R. M. Duration of survival in senile dementia // *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 1986. № 4 (73). P. 366–371.

55. Dolphin H. [et al.]. An Update on Apathy in Alzheimer's Disease // *Geriatrics*. 2023. № 4 (8). P. 75.

56. Dumartin B. [et al.]. Dopamine tone regulates D1 receptor trafficking and delivery in striatal neurons in dopamine transporter-deficient mice // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000. № 4 (97). P. 1879–1884.

57. Dyck P. H. van [et al.]. Neurobiologic Rationale for Treatment of Apathy in Alzheimer's Disease With Methylphenidate // *American Journal of Geriatric Psychiatry*. 2021. T. 29. № 1. P. 51–62.

58. Efimova E. V. [et al.]. Dopamine transporter mutant animals: A translational perspective // *Journal of Neurogenetics*. 2016. T. 30. № 1. P. 5–15.

59. Eisinga R. [et al.]. Exact p-values for pairwise comparison of Friedman rank sums, with application to comparing classifiers // *BMC Bioinformatics*. 2017. № 1 (18).

60. El-Ghundi M. [et al.]. Attenuation of sucrose reinforcement in dopamine D1 receptor deficient mice // *European Journal of Neuroscience*. 2003. № 4 (17). P. 851–862.

61. España R. A., Roberts D. P. S., Jones S. R. Short-acting cocaine and long-acting GBR-12909 both elicit rapid dopamine uptake inhibition following intravenous delivery // *Neuroscience*. 2008. № 1 (155). P. 250–257.

62. Faraone S. V. The pharmacology of amphetamine and methylphenidate: Relevance to the neurobiology of attention-deficit/hyperactivity disorder and other

psychiatric comorbidities // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2018. T. 87. P. 255–270.

63. Ferguson S. A., Paule M. G. Acute effects of pentobarbital in a monkey operant behavioral test battery // *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 1993. № 1 (45). P. 107–116.

64. Ferguson S. A., Paule M. G. Effects of chlorpromazine and diazepam on time estimation behavior and motivation in rats // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1996. № 1 (53). P. 115–122.

65. Fervaha G. [et al.]. Incentive motivation deficits in schizophrenia reflect effort computation impairments during cost-benefit decision-making // *Journal of Psychiatric Research*. 2013. № 11 (47). P. 1590–1596.

66. Filla I. [et al.]. Striatal dopamine D2 receptors regulate effort but not value-based decision making and alter the dopaminergic encoding of cost // *Neuropsychopharmacology*. 2018. № 11 (43). P. 2180–2189.

67. Fletcher P. J., Sinyard J., Higgins G. A. Genetic and pharmacological evidence that 5-HT_{2C} receptor activation, but not inhibition, affects motivation to feed under a progressive ratio schedule of reinforcement // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2010. № 1 (97). P. 170–178.

68. Floresco S. B., Tse M. T. L., Ghods-Sharifi S. Dopaminergic and glutamatergic regulation of effort- and delay-based decision making // *Neuropsychopharmacology*. 2008. № 8 (33). P. 1966–1979.

69. Foltin R. W., Evans S. M. Sex differences in the anorexigenic effects of dexfenfluramine and amphetamine in baboons // *Experimental and clinical psychopharmacology*. 2018. № 4 (26). P. 335–340.

70. Frakey L. L. [et al.]. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of modafinil for the treatment of apathy in individuals with mild-to-moderate Alzheimer's disease // *Journal of Clinical Psychiatry*. 2012. № 6 (73). P. 796–801.

71. Fritz N. E. [et al.]. Relationships among apathy, health-related quality of life, and function in huntington's disease // *Journal of Neuropsychiatry and Clinical*

Neurosciences. 2018. № 3 (30). P. 194–201.

72. Fusar-Poli P. [et al.]. Transdiagnostic psychiatry: a systematic review // *World Psychiatry*. 2019. T. 18. № 2. P. 192–207.

73. Gancarz A. M. [et al.]. Between-session progressive ratio performance in rats responding for cocaine and water reinforcers // *Psychopharmacology*. 2012. № 2 (222). P. 215–223.

74. Girault J. A., Nairn A. P. DARPP-32 40 years later // *Advances in pharmacology* (San Diego, Calif.). 2021. (90). P. 67–87.

75. Giros B. [et al.]. Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter // *Nature*. 1996. № 6566 (379). P. 606–612.

76. Goschke T. Dysfunctions of decision-making and cognitive control as transdiagnostic mechanisms of mental disorders: Advances, gaps, and needs in current research // *International Journal of Methods in Psychiatric Research*. 2014. № S1 (23). P. 41–57.

77. Haaren F. Van [et al.]. The effects of pyridostigmine bromide on progressive ratio performance in male and female rats // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2001. № 1 (68). P. 81–85.

78. Hamill S. [et al.]. Nucleus accumbens dopamine depletions and time-constrained progressive ratio performance: Effects of different ratio requirements // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1999. № 1 (64). P. 21–27.

79. Hartmann M. N. [et al.]. Apathy but Not Diminished Expression in Schizophrenia Is Associated with Discounting of Monetary Rewards by Physical Effort // *Schizophrenia Bulletin*. 2015. № 2 (41). P. 503–512.

80. Heffner T. G., Drawbaugh R. B., Zigmond M. J. Amphetamine and operant behavior in rats: Relationship between drug effect and control response rate // *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 1974. № 6 (86). P. 1031–1043.

81. Heron P. Le [et al.]. Distinct effects of apathy and dopamine on effort-based decision-making in Parkinson's disease // *Brain*. 2018. № 5 (141). P. 1455–1469.

82. Heron P. Le [et al.]. Brain mechanisms underlying apathy // *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 2019. № 3 (90). P. 302–312.
83. Herrmann N. [et al.]. Methylphenidate for the treatment of apathy in alzheimer disease: Prediction of response using dextroamphetamine challenge // *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2008. № 3 (28). P. 296–301.
84. Hezemans F. H. [et al.]. Noradrenergic deficits contribute to apathy in Parkinson's disease through the precision of expected outcomes // *PLoS computational biology*. 2022. № 5 (18).
85. Higgins G. A. [et al.]. Characterization of Amphetamine, Methylphenidate, Nicotine, and Atomoxetine on Measures of Attention, Impulsive Action, and Motivation in the Rat: Implications for Translational Research // *Frontiers in Pharmacology*. 2020. (11). P. 1.
86. Hironaka N. [et al.]. Food-reinforced operant behavior in dopamine transporter knockout mice: Enhanced resistance to extinction // *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2004. (1025). P. 140–145.
87. Ho M. Y. [et al.]. Effects of 8-OH-DPAT and WAY-100635 on performance on a time-constrained progressive-ratio schedule // *Psychopharmacology*. 2003. № 2 (167). P. 137–144.
88. Hodos W. Progressive ratio as a measure of reward strength // *Science*. 1961. № 3483 (134). P. 943–944.
89. Hodos W., Kalman G. Effects of increment size and reinforcer volume on progressive ratio performance // *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*. 1963. № 3 (6). P. 387–392.
90. Honecker H., Coper H. Kinetics and metabolism of amphetamine in the brain of rats of different ages // *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 1975. № 2 (291). P. 111–121.
91. Hong P. T., Chan L., Bai P. H. The effect of caffeine on the risk and progression of parkinson's disease: A meta-analysis // *Nutrients*. 2020. № 6 (12). P. 1–12.

92. Hori Y. [et al.]. D1- and D2-like receptors differentially mediate the effects of dopaminergic transmission on cost-benefit evaluation and motivation in monkeys // *PLoS biology*. 2021. № 7 (19).

93. Husain M., Roiser J. P. Neuroscience of apathy and anhedonia: A transdiagnostic approach // *Nature Reviews Neuroscience*. 2018. T. 19. № 8. P. 470–484.

94. Hutchaleelaha A. [et al.]. Disposition kinetics of d- and l-amphetamine following intravenous administration of racemic amphetamine to rats // *Drug Metabolism and Disposition*. 1994. № 3 (22). P. 406–411.

95. Hyytiä P., Bäckström P., Liljequist S. Site-specific NMDA receptor antagonists produce differential effects on cocaine self-administration in rats // *European Journal of Pharmacology*. 1999. № 1 (378). P. 9–16.

96. Ishizaki J., Mimura M. Dysthymia and apathy: Diagnosis and treatment // *Depression Research and Treatment*. 2011. T. 2011.

97. Jones P. A. [et al.]. Effects of cocaine in pigeons responding under a progressive-ratio schedule of food delivery // *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 1995. № 4 (50). P. 527–531.

98. Jurgelis M. [et al.]. Heightened effort discounting is a common feature of both apathy and fatigue // *Scientific Reports*. 2021. № 1 (11). P. 22283.

99. Kalaba P. [et al.]. Structure-Activity Relationships of Novel Thiazole-Based Modafinil Analogues Acting at Monoamine Transporters // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2020. № 1 (63). P. 391–417.

100. Kaplan G. B. [et al.]. Dose-dependent pharmacokinetics and psychomotor effects of caffeine in humans // *Journal of Clinical Pharmacology*. 1997. № 8 (37). P. 693–703.

101. Kaplan K. [et al.]. Chronic central serotonin depletion attenuates ventilation and body temperature in young but not adult Tph2 knockout rats // *Journal of Applied Physiology*. 2016. № 9 (120). P. 1070–1081.

102. Kaplitz S. E. Withdrawn, Apathetic Geriatric Patients Responsive to

Methylphenidate // Journal of the American Geriatrics Society. 1975. № 6 (23). P. 271–276.

103. Kempadoo K. A. [et al.]. Dopamine release from the locus coeruleus to the dorsal hippocampus promotes spatial learning and memory // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2016. № 51 (113). P. 14835–14840.

104. Killeen P. R. [et al.]. Progressive Ratio Schedules of Reinforcement // Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes. 2009. № 1 (35). P. 35–50.

105. Kleijn J. [et al.]. Direct effect of nicotine on mesolimbic dopamine release in rat nucleus accumbens shell // Neuroscience Letters. 2011. № 1–2 (493). P. 55–58.

106. Kristofova M. [et al.]. A daily single dose of a novel modafinil analogue CE-123 improves memory acquisition and memory retrieval // Behavioural Brain Research. 2018. (343). P. 83–94.

107. Kulikova E. A., Kulikov A. V. Tryptophan hydroxylase 2 as a therapeutic target for psychiatric disorders: focus on animal models // Expert Opinion on Therapeutic Targets. 2019. № 8 (23). P. 655–667.

108. Kurzina N. P. [et al.]. Deficit in working memory and abnormal behavioral tactics in dopamine transporter knockout rats during training in the 8-arm maze // Behavioural Brain Research. 2020. (390).

109. Kuznetsova A., Brockhoff P. B., Christensen R. H. B. lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models // Journal of Statistical Software. 2017. № 13 (82). P. 1–26.

110. Lane J. D. [et al.]. Neurochemical changes following the administration of depleters of biogenic monoamines // Life Sciences. 1976. № 11 (19). P. 1663–1667.

111. Lazcano-Ocampo P. [et al.]. Identifying and responding to fatigue and apathy in Parkinson's disease: a review of current practice // Expert Review of Neurotherapeutics. 2020. T. 20. № 5. P. 477–495.

112. Leo D. [et al.]. Pronounced hyperactivity, cognitive dysfunctions, and BDNF

dysregulation in dopamine transporter knock-out rats // *Journal of Neuroscience*. 2018. № 8 (38). P. 1959–1972.

113. Leo D., Sukhanov I., Gainetdinov R. R. Novel translational rat models of dopamine transporter deficiency // *Neural Regeneration Research*. 2018. T. 13. № 12. P. 2091–2093.

114. LeSage M. G., Burroughs D., Pentel P. R. Effects of nicotine withdrawal on performance under a progressive-ratio schedule of sucrose pellet delivery in rats // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2006. № 4 (83). P. 585–591.

115. Levy R., Dubois B. Apathy and the functional anatomy of the prefrontal cortex-basal ganglia circuits // *Cerebral Cortex*. 2006. T. 16. № 7. P. 916–928.

116. Loued-Khenissi L., Preuschoff K. Apathy and noradrenaline: Silent partners to mild cognitive impairment in Parkinson's disease? // *Current Opinion in Neurology*. 2015. T. 28. № 4. P. 344–350.

117. Lubec J. [et al.]. Low-Affinity/High-Selectivity Dopamine Transport Inhibition Sufficient to Rescue Cognitive Functions in the Aging Rat // *Biomolecules*. 2023. № 3 (13).

118. Lyketsos P. G. [et al.]. Prevalence of neuropsychiatric symptoms in dementia and mild cognitive impairment: Results from the cardiovascular health study // *JAMA*. 2002. № 12 (288). P. 1475–1483.

119. Maillet A. [et al.]. The prominent role of serotonergic degeneration in apathy, anxiety and depression in de novo Parkinson's disease // *Brain*. 2016. № 9 (139). P. 2486–2502.

120. Majeed A. [et al.]. Efficacy of dextromethorphan for the treatment of depression: a systematic review of preclinical and clinical trials // *Expert Opinion on Emerging Drugs*. 2021. № 1 (26). P. 63–74.

121. Manoni G. [et al.]. Behavioral Phenotype in Heterozygous DAT Rats: Transgenerational Transmission of Maternal Impact and the Role of Genetic Asset // *Brain Sciences*. 2022. № 4 (12).

122. Marin Apathy: Concept, Syndrome, Neural Mechanisms, and Treatment. //

Seminars in clinical neuropsychiatry. 1996. № 4 (1). P. 304–314.

123. Marin R. S. Differential diagnosis and classification of apathy // American Journal of Psychiatry. 1990. T. 147. № 1. P. 22–30.

124. Marin R. S. Apathy: A neuropsychiatric syndrome // Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences. 1991. T. 3. № 3. P. 243–254.

125. Martínez-Horta S. [et al.]. Apathy in parkinson's disease: Neurophysiological evidence of impaired incentive processing // Journal of Neuroscience. 2014. № 17 (34). P. 5918–5926.

126. Mathes P. M., Gregson J. R., Spector A. P. The selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine decreases breakpoint of rats engaging in a progressive ratio licking task for sucrose and quinine solutions // Chemical Senses. 2013. № 3 (38). P. 211–220.

127. Mazzone P., Shabbott B., Cortés J. P. Motor control abnormalities in Parkinson's disease // Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2012. № 6 (2).

128. McDougall S. A. [et al.]. Sex-dependent changes in ketamine-induced locomotor activity and ketamine pharmacokinetics in preweanling, adolescent, and adult rats // European Neuropsychopharmacology. 2019. № 6 (29). P. 740–755.

129. McGuigan S. [et al.]. Dopamine restores cognitive motivation in Parkinson's disease // Brain. 2019. № 3 (142). P. 719–732.

130. McShane R. [et al.]. Memantine for dementia // The Cochrane database of systematic reviews. 2019. № 3 (3). P. 1–446.

131. Meck W. H. [et al.]. Gene-dose dependent effects of methamphetamine on interval timing in dopamine-transporter knockout mice // Neuropharmacology. 2012. № 3 (62). P. 1221–1229.

132. Mega M. S. [et al.]. The spectrum of behavioral changes in Alzheimer's disease // Neurology. 1996. № 1 (46). P. 130–135.

133. Mele B. [et al.]. Diagnosis, treatment and management of apathy in Parkinson's disease: a scoping review // BMJ open. 2020. № 9 (10). P. e037632.

134. Meng X. [et al.]. Tryptophan Hydroxylase 2 Knockout Male Rats Exhibit a Strengthened Oxytocin System, Are Aggressive, and Are Less Anxious // ACS

Chemical Neuroscience. 2022. № 20 (13). P. 2974–2981.

135. Miller B., Llibre Guerra J. J. Frontotemporal dementia *Handb Clin Neurol*, 2019.C. 33–45.

136. Miller D. S. [et al.]. Diagnostic criteria for apathy in neurocognitive disorders // *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*. 2021. № 12 (17). P. 1892–1904.

137. Miller D. W., Abercrombie E. D. Effects of MK-801 on spontaneous and amphetamine-stimulated dopamine release in striatum measured with in vivo microdialysis in awake rats // *Brain Research Bulletin*. 1996. № 1 (40). P. 57–62.

138. Mingote S. [et al.]. Ratio and time requirements on operant schedules: Effort-related effects of nucleus accumbens dopamine depletions // *European Journal of Neuroscience*. 2005. № 6 (21). P. 1749–1757.

139. Mobini S. [et al.]. Comparison of the effects of clozapine, haloperidol, chlorpromazine and d-amphetamine on performance on a time-constrained progressive ratio schedule and on locomotor behaviour in the rat // *Psychopharmacology*. 2000. № 1 (152). P. 47–54.

140. Mulin E. [et al.]. Diagnostic criteria for apathy in clinical practice // *International Journal of Geriatric Psychiatry*. 2011. № 2 (26). P. 158–165.

141. Nakachi N. [et al.]. Effects of various dopamine uptake inhibitors on striatal extracellular dopamine levels and behaviours in rats // *European Journal of Pharmacology*. 1995. № 2 (281). P. 195–203.

142. Natsubori A. [et al.]. Ventrolateral Striatal Medium Spiny Neurons Positively Regulate Food-Incentive, Goal-Directed Behavior Independently of D1 and D2 Selectivity // *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2017. № 10 (37). P. 2723–2733.

143. Nikiforuk A. [et al.]. A novel dopamine transporter inhibitor CE-123 improves cognitive flexibility and maintains impulsivity in healthy male rats // *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2017. (11).

144. Oakeshott S. [et al.]. A mixed fixed ratio/progressive ratio procedure reveals

an apathy phenotype in the BAC HD and the z_Q175 KI mouse models of Huntington's disease // PLoS Currents. 2012. (4).

145. Olarte-Sánchez P. M. [et al.]. Effects of SKF-83566 and haloperidol on performance on progressive ratio schedules maintained by sucrose and corn oil reinforcement: Quantitative analysis using a new model derived from the Mathematical Principles of Reinforcement (MPR) // Psychopharmacology. 2013. № 4 (230). P. 617–630.

146. Ostlund S. B. [et al.]. Extracellular dopamine levels in striatal subregions track shifts in motivation and response cost during instrumental conditioning // Journal of Neuroscience. 2011. № 1 (31). P. 200–207.

147. Padala P. R. [et al.]. Methylphenidate for apathy and functional status in Dementia of the alzheimer type // American Journal of Geriatric Psychiatry. 2010. № 4 (18). P. 371–374.

148. Padala P. R. [et al.]. Reversal of SSRI-associated apathy syndrome by discontinuation of therapy // Annals of Pharmacotherapy. 2012. № 3 (46).

149. Padala P. R. [et al.]. Selective serotonin reuptake inhibitors-associated apathy syndrome A cross sectional study // Medicine (United States). 2020. № 33 (99).

150. Padala P. R., Burke W. J., Bhatia S. P. Modafinil therapy for apathy in an elderly patient // Annals of Pharmacotherapy. 2007. № 2 (41). P. 346–349.

151. Pagonabarraga J. [et al.]. Apathy in Parkinson's disease: Clinical features, neural substrates, diagnosis, and treatment // The Lancet Neurology. 2015. T. 14. № 5. P. 518–531.

152. Pardo M. [et al.]. Heterozygote Dopamine Transporter Knockout Rats Display Enhanced Cocaine Locomotion in Adolescent Females // International Journal of Molecular Sciences. 2022. № 23 (23).

153. Peeters D. G. A. [et al.]. Enhanced aggressive phenotype of Tph2 knockout rats is associated with diminished 5-HT1A receptor sensitivity // Neuropharmacology. 2019. (153). P. 134–141.

154. Perez-Caballero L. [et al.]. Fluoxetine: a case history of its discovery and

preclinical development // Expert opinion on drug discovery. 2014. № 5 (9). P. 567–578.

155. Pettibone D. J., Totaro J. A., Pflueger A. B. Tetrabenazine-induced depletion of brain monoamines: Characterization and interaction with selected antidepressants // European Journal of Pharmacology. 1984. № 3–4 (102). P. 425–430.

156. Poling A. [et al.]. Acute and chronic effects of morphine in pigeons responding under a progressive-ratio schedule of food delivery // Pharmacology Biochemistry and Behavior. 1996. № 2 (54). P. 485–490.

157. Poncelet M. [et al.]. The progressive ratio schedule as a model for studying the psychomotor stimulant activity of drugs in the rat // Psychopharmacology. 1983. № 2 (80). P. 184–189.

158. Popke E. J. [et al.]. Effects of acute nicotine on several operant behaviors in rats // Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2000. № 2 (65). P. 247–254.

159. Pratt W. E. [et al.]. Selective serotonin receptor stimulation of the ventral tegmentum differentially affects appetitive motivation for sugar on a progressive ratio schedule of reinforcement // Behavioural Brain Research. 2021. (403). P. 113139.

160. Presby R. E. [et al.]. Sex differences in lever pressing and running wheel tasks of effort-based choice behavior in rats: Suppression of high effort activity by the serotonin transport inhibitor fluoxetine // Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2021. (202). P. 173115.

161. Prus A. J. [et al.]. Acute nicotine reduces and repeated nicotine increases spontaneous activity in male and female Lewis rats // Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2008. № 1 (91). P. 150–154.

162. Ranaldi R., French E., Roberts D. P. S. Systemic pretreatment with MK-801 (dizocilpine) increases breaking points for self-administration of cocaine on a progressive-ratio schedule in rats // Psychopharmacology. 1996. № 1 (128). P. 83–88.

163. Randall P. A. [et al.]. Dopaminergic Modulation of Effort-Related Choice Behavior as Assessed by a Progressive Ratio Chow Feeding Choice Task: Pharmacological Studies and the Role of Individual Differences // PLoS ONE. 2012. №

10 (7).

164. Randall P. A. [et al.]. The VMAT-2 inhibitor tetrabenazine affects effort-related decision making in a progressive ratio/chow feeding choice task: Reversal with antidepressant drugs // PLoS ONE. 2014. № 6 (9).

165. Ren N. [et al.]. Effects of the dopamine depleting agent tetrabenazine on detailed temporal parameters of effort-related choice responding // Journal of the Experimental Analysis of Behavior. 2022. № 3 (117). P. 331–345.

166. Richardson N. R., Roberts D. P. S. Fluoxetine pretreatment reduces breaking points on a progressive ratio schedule reinforced by intravenous cocaine self-administration in the rat // Life Sciences. 1991. № 11 (49). P. 833–840.

167. Richardson N. R., Roberts D. P. S. Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: A method to evaluate reinforcing efficacy // Journal of Neuroscience Methods. 1996. T. 66. № 1. P. 1–11.

168. Robert P. [et al.]. Is it time to revise the diagnostic criteria for apathy in brain disorders? The 2018 international consensus group // European Psychiatry. 2018. (54). P. 71–76.

169. Roberts D. P. S. [et al.]. Lesions of central serotonin systems affect responding on a progressive ratio schedule reinforced either by intravenous cocaine or by food // Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 1994. № 1 (49). P. 177–182.

170. Rotolo R. A. [et al.]. The novel atypical dopamine uptake inhibitor (S)-CE-123 partially reverses the effort-related effects of the dopamine depleting agent tetrabenazine and increases progressive ratio responding // Frontiers in Pharmacology. 2019. № JUN (10).

171. Rotolo R. A. [et al.]. Behavioral and dopamine transporter binding properties of the modafinil analog (S, S)-CE-158: reversal of the motivational effects of tetrabenazine and enhancement of progressive ratio responding // Psychopharmacology. 2020. № 11 (237). P. 3459–3470.

172. Ruthirakuhan M. T. [et al.]. Pharmacological interventions for apathy in Alzheimer's disease // Cochrane Database of Systematic Reviews. 2018. T. 2018. № 5.

173. Salamone J. D. [et al.]. Haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion suppress lever pressing for food but increase free food consumption in a novel food choice procedure // *Psychopharmacology*. 1991. № 4 (104). P. 515–521.

174. Salamone J. D. [et al.]. Dopamine, behavioral economics, and effort // *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2009. T. 3:13.

175. Salamone J. D. [et al.]. Activational and effort-related aspects of motivation: Neural mechanisms and implications for psychopathology // *Brain*. 2016. T. 139. № 5. P. 1325–1347.

176. Salamone J. D. [et al.]. The pharmacology of effort-related choice behavior: Dopamine, depression, and individual differences // *Behavioural Processes*. 2016. T. 127. P. 3–17.

177. Salamone J. D., Correa M. The Mysterious Motivational Functions of Mesolimbic Dopamine // *Neuron*. 2012. T. 76. № 3. P. 470–485.

178. Salamone J. D., Cousins M. S., Bucher S. Anhedonia or anergia? Effects of haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion on instrumental response selection in a T-maze cost/benefit procedure // *Behavioural Brain Research*. 1994. № 2 (65). P. 221–229.

179. Sanghvi I. S. [et al.]. Anorexigenic effects of d-amphetamine and l-DOPA in the rat // *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 1975. № 1 (3). P. 81–86.

180. Santangelo G. [et al.]. Apathy and striatal dopamine transporter levels in de-novo, untreated Parkinson's disease patients // *Parkinsonism and Related Disorders*. 2015. № 5 (21). P. 489–493.

181. Savchenko A. [et al.]. The Lack of Dopamine Transporter Is Associated With Conditional Associative Learning Impairments and Striatal Proteomic Changes // *Frontiers in Psychiatry*. 2022. (13). P. 269.

182. Savchenko A. [et al.]. Dopamine Transporter Deficient Rodents: Perspectives and Limitations for Neuroscience // *Biomolecules*. 2023. № 5 (13).

183. Savchenko A. [et al.]. Hyperdopaminergia in rats is associated with reverse effort-cost dependent performance // <https://doi.org/10.1177/02698811231211225>.

2023.

184. Savchenko A., Tarchokov S., Sukhanov I. P.0249 Dopaminergic modulation of effort-cost dependent performance in rats // *European Neuropsychopharmacology*. 2021. (53). P. S180–S181.

185. Schmitt K. P., Rothman R. B., Reith M. E. A. Nonclassical pharmacology of the dopamine transporter: Atypical inhibitors, allosteric modulators, and partial substrates // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2013. T. 346. № 1. P. 2–10.

186. Schulze G. E., Paule M. G. Acute effects of d-amphetamine in a monkey operant behavioral test battery // *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 1990. № 4 (35). P. 759–765.

187. Schwartz T. L. Psychopharmacology today: Where are we and where do we go from Here // *Mens Sana Monographs*. 2010. T. 8. № 1. P. 6–16.

188. Schwertner E. [et al.]. Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia in Different Dementia Disorders: A Large-Scale Study of 10,000 Individuals // *Journal of Alzheimer's Disease*. 2022. № 3 (87). P. 1307.

189. Serralde-Zúñiga A. E. [et al.]. Fluoxetine for adults who are overweight or obese // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2019. T. 2019. № 10.

190. Sharf R., Lee D. Y., Ranaldi R. Microinjections of SCH 23390 in the ventral tegmental area reduce operant responding under a progressive ratio schedule of food reinforcement in rats // *Brain Research*. 2005. № 2 (1033). P. 179–185.

191. Sizemore G. M. [et al.]. The effects of acutely administered cocaine on responding maintained by a progressive-ratio schedule of food presentation // *Behavioural Pharmacology*. 2003. № 1 (14). P. 33–40.

192. Skolnick P. [et al.]. Effect of NMDAR antagonists in the tetrabenazine test for antidepressants: Comparison with the tail suspension test // *Acta Neuropsychiatrica*. 2015. № 4 (27). P. 228–234.

193. Soder H. E. [et al.]. Dose-response effects of d-amphetamine on effort-based decision-making and reinforcement learning // *Neuropsychopharmacology*. 2021. № 6

(46). P. 1078–1085.

194. Solinas M. [et al.]. Caffeine induces dopamine and glutamate release in the shell of the nucleus accumbens // *Journal of Neuroscience*. 2002. № 15 (22). P. 6321–6324.

195. Sommer S. [et al.]. The dopamine reuptake inhibitor MRZ-9547 increases progressive ratio responding in rats // *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2014. № 12 (17). P. 2045–2056.

196. Sprouse J. [et al.]. 8-OH-DPAT as a 5-HT7 agonist: Phase shifts of the circadian biological clock through increases in cAMP production // *Neuropharmacology*. 2004. № 1 (46). P. 52–62.

197. Starkstein S. E., Brockman S. Apathy and Parkinson's disease // *Current Treatment Options in Neurology*. 2011. № 3 (13). P. 267–273.

198. Stewart W. J., Blampied N. M., Hughes R. N. The effects of scopolamine on performance on a geometric progressive ratio schedule // *Psychopharmacologia*. 1974. № 1 (38). P. 55–66.

199. Strauss G. P. [et al.]. Avolition in schizophrenia is associated with reduced willingness to expend effort for reward on a Progressive Ratio task // *Schizophrenia Research*. 2016. № 1 (170). P. 198–204.

200. Tanaka K. F., Hamaguchi T. Translational approach to apathy-like behavior in mice: From the practical point of view // *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 2019. № 11 (73). P. 685–689.

201. Tanaka S. Dopamine controls fundamental cognitive operations of multi-target spatial working memory // *Neural Networks*. 2002. № 4–6 (15). P. 573–582.

202. Tanra A. J. [et al.]. TJS-010, a new prescription of oriental medicine, antagonizes tetrabenazine-induced suppression of spontaneous locomotor activity in rats // *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*. 1995. № 5 (19). P. 963–971.

203. Theleritis P. [et al.]. A Systematic Review of Pharmacological Interventions for Apathy in Aging Neurocognitive Disorders // *Brain Sciences*. 2023. № 7 (13). P.

1061.

204. Thompson D. M. Enhancement of progressive-ratio performance by chlordiazepoxide and phenobarbital // *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*. 1972. № 2 (17). P. 287–292.

205. Thompson D. M. Effects of cocaine and fenfluramine on progressive-ratio performance // *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 1977. № 6 (7). P. 555–558.

206. Trullas R., Skolnick P. Functional antagonists at the NMDA receptor complex exhibit antidepressant actions // *European Journal of Pharmacology*. 1990. № 1 (185). P. 1–10.

207. Tsibulsky V. L., Norman A. B. Methodological and analytical issues of progressive ratio schedules: Definition and scaling of breakpoint // *Journal of Neuroscience Methods*. 2021. (356).

208. Turner E. H. Esketamine for treatment-resistant depression: seven concerns about efficacy and FDA approval // *The Lancet Psychiatry*. 2019. T. 6. № 12. P. 977–979.

209. Udo N. [et al.]. Apathy in Alzheimer's Disease Correlates with the Dopamine Transporter Level in the Caudate Nuclei // *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders Extra*. 2020. № 2 (10). P. 86–93.

210. Usun Y. [et al.]. Ketamine increases striatal dopamine release and hyperlocomotion in adult rats after postnatal functional blockade of the prefrontal cortex // *Behavioural Brain Research*. 2013. (256). P. 229–237.

211. Vuchinich R. E., Heather N. *Choice, Behavioural Economics and Addiction* / R. E. Vuchinich, N. Heather, Elsevier Ltd, 2003. 1–438 P.

212. Walton M. E. [et al.]. Comparing the role of the anterior cingulate cortex and 6-hydroxydopamine nucleus accumbens lesions on operant effort-based decision making // *European Journal of Neuroscience*. 2009. № 8 (29). P. 1678–1691.

213. Walton M. E., Bouret S. What Is the Relationship between Dopamine and Effort? // *Trends in Neurosciences*. 2019. T. 42. № 2. P. 79–91.

214. Wanat M. J., Kuhnen P. M., Phillips P. E. M. Delays conferred by escalating

costs modulate dopamine release to rewards but not their predictors // *Journal of Neuroscience*. 2010. № 36 (30). P. 12020–12027.

215. Wardle M. P. [et al.]. Amping up effort: Effects of d-amphetamine on human effort-based decision-making // *Journal of Neuroscience*. 2011. № 46 (31). P. 16597–16602.

216. Westbrook A. [et al.]. Dopamine promotes cognitive effort by biasing the benefits versus costs of cognitive work // *Science*. 2020. № 6484 (367). P. 1362–1366.

217. Winstanley P. A., Floresco S. B. Deciphering decision making: Variation in animal models of effort- and uncertainty-based choice reveals distinct neural circuitries underlying core cognitive processes // *Journal of Neuroscience*. 2016. № 48 (36). P. 12069–12079.

218. Worthington A., Wood R. L. Apathy following traumatic brain injury: A review // *Neuropsychologia*. 2018. № Pt B (118). P. 40–47.

219. Yang J. H. [et al.]. The dopamine depleting agent tetrabenazine alters effort-related decision making as assessed by mouse touchscreen procedures // *Psychopharmacology*. 2020. № 9 (237). P. 2845–2854.

220. Yohn S. E. [et al.]. The VMAT-2 inhibitor tetrabenazine alters effort-related decision making as measured by the T-maze barrier choice task: Reversal with the adenosine A2A antagonist MSX-3 and the catecholamine uptake blocker bupropion // *Psychopharmacology*. 2015. № 7 (232). P. 1313–1323.

221. Yohn S. E. [et al.]. Not All Antidepressants Are Created Equal: Differential Effects of Monoamine Uptake Inhibitors on Effort-Related Choice Behavior // *Neuropsychopharmacology*. 2016. № 3 (41). P. 686–694.

222. Yohn S. E. [et al.]. Blockade of uptake for dopamine, but not norepinephrine or 5-HT, increases selection of high effort instrumental activity: Implications for treatment of effort-related motivational symptoms in psychopathology // *Neuropharmacology*. 2016. (109). P. 270–280.

223. Yoshida K. [et al.]. Serotonin-mediated inhibition of ventral hippocampus is required for sustained goal-directed behavior // *Nature neuroscience*. 2019. № 5 (22). P.

770–777.

224. Zhang M., Balmadrid P., Kelley A. E. Nucleus accumbens opioid, GABAergic, and dopaminergic modulation of palatable food motivation: Contrasting effects revealed by a progressive ratio study in the rat // Behavioral Neuroscience. 2003. № 2 (117). P. 202–211.

225. Zhang X. [et al.]. Altered neurocircuitry in the dopamine transporter knockout mouse brain // PLoS ONE. 2010. № 7 (5).

226. Zhuang X. [et al.]. Hyperactivity and impaired response habituation in hyperdopaminergic mice // National Academy of Sciences. 2001. № 4 (18). P. 1982–1987.

227. Zou Y. M. [et al.]. Effort–cost computation in a transdiagnostic psychiatric sample: Differences among patients with schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder // PsyCh Journal. 2020. № 2 (9). P. 210–222.

228. Tph2 (tryptophan hydroxylase 2) - Rat Genome Database [Электронный ресурс]. URL: <https://rgd.mcw.edu/rgdweb/report/gene/main.html?id=631332> (дата обращения: 04.07.2023).

229. The Top 300 of 2020 [Электронный ресурс]. URL: <https://clincalc.com/DrugStats/Top300Drugs.aspx> (дата обращения: 04.08.2023).