DOI: https://doi.org/10.17816/RCF651161 EDN: ZGMUPG

Регистрация высвобождения внеклеточного дофамина при самостимуляции методом циклической вольтамперометрии с быстрым сканированием

Н.С. Пестерева[1], Д.С. Трактиров[1], А.А. Лебедев[1], С.С. Пюрвеев[1,2], Р.Д. Черкассова[3], П.Д. Шабанов[1]

[1] Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;
[2] Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия;
[3] Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Регуляция внеклеточного уровня дофамина в прилежащем ядре — важное звено механизма внутреннего подкрепления. Развитие метода быстросканирующей циклической вольтамперометрии позволило регистрировать динамику физического выброса дофамина во временной шкале, соответствующей поведенческим реакциям. В то же время данные о внеклеточном уровне дофамина во время реализации реакции самостимуляции в настоящее время противоречивы.

Цель — проанализировать особенности высвобождения дофамина в прилежащем ядре во время самостимуляции вентральной области покрышки методом быстросканирующей циклической вольтамперометрии.

Материалы и методы. Крысам самцам Вистар вживляли электроды для самостимуляции и регистрации внеклеточного уровня дофамина. Регистрацию высвобождения дофамина осуществляли телеметрически у крыс в свободном поведении. Выброс дофамина оценивали по изменению его внеклеточного уровня в прилежащем ядре *in vivo* методом быстросканирующей циклической вольтамперометрии. Раздражение вентральной области покрышки осуществлялось в режиме FR1 пачкой прямоугольных электрических импульсов при подъеме головы на 38°.

Результаты. Первый подъем головы и, соответственно, включение подкрепляющей стимуляции вызывало увеличение сигнала быстросканирующей циклической вольтамперометрии, который уменьшался в течение времени. Высвобождение дофамина при самостимуляции оставалось неизменно выше, чем его фоновый уровень до начала обучения реакции. Мы не наблюдали строгой корреляции величины амплитуды и времени высвобождения дофамина с более или менее энергичной реакцией самостимуляции. Пиковая концентрация дофамина во время электрического стимула увеличивалась и сохранялась на более высоком уровне в течение последующих как минимум 20 подъемов головы. При этом элементы исследовательского поведения не угасали, несмотря на периоды снижения и повышения уровня дофамина. Высвобождение дофамина в первые 5 мин опыта постепенно снижалось каждые 2 мин. После продолжительной самостимуляции высвобождение дофамина снижалось уже каждые 0,5 мин.

Заключение. Наши исследования согласуются с гипотезой флуктуирующего эмоционального континуума, который реализует подкрепляющие механизмы мозга. Уровень дофамина отражает, по-видимому, процессы регуляции механизмов приближения и избегания при самостимуляции и может являться результатом синтеза «опережающего подкрепления» (мотивационного возбуждения) с последующим за двигательным актом состоянием удовлетворения.

Ключевые слова: подкрепление; самостимуляция; внеклеточный дофамин; прилежащее ядро.

Как цитировать

Пестерева Н.С., Трактиров Д.С., Лебедев А.А., Пюрвеев С.С., Черкассова Р.Д., Шабанов П.Д. Регистрация высвобождения внеклеточного дофамина при самостимуляции методом циклической вольтамперометрии с быстрым сканированием // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2025. Т. 23, № 1. С. 79–89. DOI: 10.17816/RCF651161 EDN: ZGMUPG

Рукопись получена: 01.02.2025 **Рукопись одобрена:** 17.02.2025 **Опубликована online:** 31.03.2025

ЭКО•ВЕКТОР

Статья доступна по лицензии CC BY-NC-ND 4.0 International
© Эко-Вектор, 2025

DOI: https://doi.org/10.17816/RCF651161 EDN: ZGMUPG

Fast-Scan Cyclic Voltammetry for Measurement of Extracellular Dopamine Release in Response to Self-Stimulation

Nina S. Pestereva[1], Dmitrii S. Traktirov[1], Andrei A. Lebedev[1], Sarng S. Pyurveev[1,2], Regina D. Cherkassova[3], Petr D. Shabanov[1]

[1] Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;
[2] Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia;
[3] Peter the Great Saint Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: The regulation of extracellular dopamine levels in the nucleus accumbens is a critical component of the brain reward system. The development of fast-scan cyclic voltammetry facilitated the measurement of variations in dopamine release over time, correlating with behavioral responses. However, the available data on extracellular dopamine levels in response to self-stimulation are somewhat conflicting.

AIM: To analyze the patterns of dopamine release in the nucleus accumbens that occur in response to the ventral tegmental self-stimulation, as measured by fast-scan cyclic voltammetry.

METHODS: Electrodes were implanted into male Wistar rats to induce self-stimulation and monitor extracellular dopamine levels. The release of dopamine was measured telemetrically, while rats were allowed to move freely. Dopamine levels were measured by monitoring its extracellular concentrations in the nucleus accumbens *in vivo* using fast-scan cyclic voltammetry. The ventral tegmental irritation was maintained on a fixed-ratio one schedule using a rectangular pulse train with a 38° head elevation.

RESULTS: The first head elevation, and consequently the activation of reward stimulation, induced an increase in the signal of fast-scan cyclic voltammetry, which decreased over time. The release of dopamine in response to self-stimulation demonstrated a consistent increase compared to the baseline levels prior to the initiation of the reaction training. A definitive correlation between the amplitude/time of dopamine release and the intensity of the self-stimulation response was not observed. The maximum dopamine concentration in response to the electrical stimulus increased and remained at a higher level for at least 20 subsequent head elevations. However, the hallmarks of exploratory behavior persisted, despite variations in dopamine levels. The release of dopamine in the initial five minutes of the experiment gradually decreased every two minutes. Following a period of prolonged self-stimulation, the release of dopamine decreased at an interval of 0.5 min.

CONCLUSION: The study findings are consistent with the hypothesis of fluctuations in the emotional continuum that activates the brain reward mechanisms. Dopamine levels have been demonstrated to reflect the regulatory mechanisms underlying approach and avoidance behaviors in response to self-stimulation and may result from the synthesis of an antedating reward (motivational excitement) followed satisfaction after motor activity.

Keywords: reinforcement; self-stimulation; extracellular dopamine; nucleus accumbens.

To cite this article
Pestereva NS, Traktirov DS, Lebedev AA, Pyurveev SS, Cherkassova RD, Shabanov PD. Fast-Scan Cyclic Voltammetry for Measurement of Extracellular Dopamine Release in Response to Self-Stimulation. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy.* 2025;23(1):79–89. DOI: 10.17816/RCF651161 EDN: ZGMUPG

Received: 01.02.2025 **Accepted:** 17.02.2025 **Published online:** 31.03.2025

ECO•VECTOR
The article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 license
© Eco-Vector, 2025

ОБОСНОВАНИЕ

Механизмы подкрепления, лежащие в основе выработки временных связей при образовании условного рефлекса и мотивация получения вознаграждения являются, по выражению И.П. Павлова, «краеугольным камнем высшей нервной деятельности» [1]. С феноменом подкрепления ассоциируется в большей степени дофаминовая мезолимбическая система [2]. Проекции нейронов этой системы, простирающиеся из вентральной области покрышки (VTA) в прилежащее ядро (NAc), связаны с поиском и выбором целенаправленного поведения для удовлетворения насущной потребности [3]. В ответ на сигналы, предсказывающие получение вознаграждения и при инициации движения к объекту подкрепления, как и при стимуляции VTA, происходит высвобождение дофамина (DA) из NAc, а фазический выброс DA сигнализирует, по-видимому, о важности и высокой вероятности вознаграждения [4].

Таким образом, фазический выброс DA усиливает мотивационное поведение, связанное с вознаграждением (пищей или аддиктивным веществом), и может приводить к его активному поиску [4]. Показано, что стимуляция VTA действительно вызывает поиск вознаграждения [5], что указывает на то, что дофаминергические нейроны опосредуют сигналы ожидания значимости вознаграждения. В то же время вопрос, как фазический выброс DA связан с силой и вероятностью подкрепления, остается мало изученным.

Внутримозговая самостимуляция, в процессе которой животные обучаются самостоятельно получать электрическую стимуляцию мозга, применяется для исследования механизмов внутреннего подкрепления и интенсифицируется под воздействием аддиктивных средств и естественного вознаграждения [6]. Вещества, влияющие на активность дофаминергической системы, такие как амфетамин, кокаин и агонисты дофаминовых рецепторов, увеличивают интенсивность реакции самостимуляции [7]. Области мозга, при электрической стимуляции которых наблюдается интенсивная самостимуляция, содержат дофаминергические нейроны [8]. Показано, что крупные миелинизированные нисходящие волокна в VTA являются основной популяцией нейронов, активируемых при электрической самостимуляции [9]. В то же время, существует мнение, что отдельные нейроны активируют дофаминовые клетки во время внутримозговой самостимуляции (ICSS) посредством высвобождения возбуждающих медиаторов, таких как глутамат [10]. Активация дофаминергических нейронов с помощью оптогенетической стимуляции достаточна для запуска поведения самостимуляции [11].

Регистрация высвобождения DA при самостимуляции была впервые выполнена с помощью метода микродиализа, при котором можно отслеживать постепенные изменения его тонического внеклеточного уровня. Этот метод обычно показывает повышенные концентрации DA во время реализации самостимуляции с последующим снижением до фоновых уровней после прекращения подачи тока [12]. В дальнейшем, развитие метода быстросканирующей циклической вольтамперометрии (FSCV) позволило регистрировать динамику фазического выброса DA во временной шкале, соответствующей поведенческим реакциям [12]. В отличие от результатов, выполненных с помощью микродиализа, измерения FSCV в NAc выявили прогрессирующее снижение высвобождения DA во время непрерывной самостимуляции, при этом к концу эксперимента его высвобождения не наблюдалось [12].

В настоящей работе мы использовали реакцию самостимуляции для изучения ее влияния на высвобождение DA из NAc с помощью вольтамперометрии у крыс. Этот подход позволил нам количественно определить, как высвобождение DA из NAc связано с внутримозговым подкреплением, вызванным электрической стимуляцией зоны дофаминергических нейронов.

Цель исследования — проанализировать особенности высвобождения DA в NAc во время самостимуляции VTA.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выбор животных

Эксперименты проведены на 6 половозрелых самцах крыс линии Вистар массой 250–300 г. Крысы были получены из питомника «Рапполово» (Всеволожский район Ленинградской обл.). В виварии ФГБНУ «ИЭМ» животных содержали в стандартных клетках (40×50×20 см) при свободном доступе к воде и гранулированному корму. Использовали световой режим с 8:00 до 20:00, температура в помещении поддерживалась на уровне 22±2°C.

Опыты проведены в соответствии с этическими принципами, обозначенными в Директиве Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/EC от 22 сентября 2010 г. Исследование одобрено комиссией по биоэтике ФГБНУ «ИЭМ».

Операция по вживлению электродов

В VTA вживляли электрод для стимуляции (стальной биполярный электрод толщиной 0,2 мм с изоляцией). Координаты электрода относительно брегмы: *AP*=–4,9 мм, *L*=0,9 мм, *H*=8,2 мм (Paxinos, Watson, 2005). Для регистрации изменения уровня DA в NAc ипсилатерально вживляли углеродный электрод в стеклянной изоляции (длина не покрытого изоляцией кончика углеволокна 100 мкм и толщина 7 мкм). Электрод для регистрации имплантировали согласно координатам: *AP*=+1,7 мм (от брегмы); *L*=1,8 мм; *H*=7,3 мм от поверхности черепа (Paxinos, Watson, 2005). Вживляли также электрод сравнения диаметром 3 мм из прессованного Ag/AgCl по координатам: *AP*=+5,5мм (от брегмы); *L*=0. Для крепления электрода на поверхности черепа использовали акрил с УФ-отверждением. Глубину погружения электродов для стимуляции и для регистрации изменяли до получения максимального

сигнала, соответствующего высвобождению DA и затем фиксировали. Далее животных содержали в индивидуальных клетках.

Эксперименты по изучению реакции самостимуляции

Для проведения настоящих исследований нами был разработан аппаратно-программный комплекс, позволяющий регистрировать высвобождение DA с использованием метода FSCV при электрической стимуляции зоны положительного подкрепления. Эксперимент выполнен с помощью телеметрического аппаратно-программного комплекса «Циклон», включающего в себя несколько блоков: блок FSCV (потенциостат), электрический раздражитель (стимулятор нервной ткани), световой и звуковой раздражитель, акселерометр для определения положения головы, блок видеорегистрации положения крысы [13–15].

Эксперименты по изучению реакции самостимуляции проводили в кольцевой камере (внешним диаметром 50 см и внутренним диаметром 26 см). Определяли число подъемов головы на 38° и порог реакции самостимуляции (в мкА) за 10 мин опыта. Реакцию самораздражения проводили в режиме FR1, то есть каждый подъем головы подкрепляли электрической стимуляцией VTA (длительность прямоугольного импульса 1 мс с частотой 100 Гц в течение 0,5 с). При определении порога раздражения подавался электрический ток нарастающими порциями длительностью по 5 с шагом по 2 мкА в навязанном режиме до появления отчетливых реакций подъема головы. Далее повышали силу тока на 50 % от пороговых значений и затем ее снижали (шаг 2 мкА длительностью стимуляции 5 с) до исчезновения реакций подъема головы [13]. При тестировании реакции самостимуляции подбирали оптимальную для самостимуляции силу тока.

Регистрация высвобождения дофамина

Регистрацию высвобождения DA осуществляли телеметрически у крыс в свободном поведении в процессе реализации самостимуляции. Выброс DA оценивали по изменению его внеклеточного уровня в прилежащем ядре *in vivo* методом FSCV [16]. Раздражение VTA осуществлялось при подъеме головы пачкой прямоугольных электрических импульсов (сила тока на 50 % выше пороговой для самостимуляции, длительность импульса 1 мс с частотой 100 Гц в течение 1 с).

Для регистрации повышений уровня DA в ответ на стимуляцию VTA использовали потенциал удержания –0,4 В и продолжительность сканирования 9 мс. Сканирующий импульс при этом подавали каждые 100 мс. Величина анодного предела составляла +1,3 В. Для анализа полученных данных применяли веб-приложение Analysis Kid с открытым исходным кодом. Приложение Analysis Kid, разработанное лабораторией Hashemi Lab (США), позволяет визуализировать, калибровать и фильтровать нейрохимические сигналы [17].

Морфологический контроль локализации положения электродов

После окончания опытов крыс умерщвляли передозировкой этаминал-натрия и перфузировали 0,9 % раствором натрия хлорида, затем мозг выделяли и заливали целлоидином, делали фронтальные срезы и окрашивали крезиловым фиолетовым по методу Ниссля (рис. 1). Область локализации электродов верифицировали после завершения эксперимента в гистологических срезах мозга, используя стереотаксический атлас [21]. Для морфологической верификации следа электрода для электростимуляции в VTA делали фронтальный разрез на уровне «Bregma –5,3 мм», согласно стереотаксическому атласу. В этой области головного мозга ткань VTA наиболее обширна и представлена дофаминергическим паранигральным ядром. Для верификации следа электрода и регистрации в прилежащем ядре делали фронтальный срез на уровне «Bregma +2,7 мм» согласно атласу. Далее продолжали иссекать срезы на протяжении 0,7–1 мм до той области переднего мозга, в которой прилежащее ядро занимает наибольшую площадь (рис. 1). В этой части мозга передняя комиссура смещалась к верхней медиальной части ядра, тогда как в его наиболее крупной средней области располагался след электрода для регистрации (рис. 1).

Статистическая обработка

Для статистической обработки полученных данных применяли программу GraphPad Prizm 8.1 (GraphPad Software, США). Для оценки соответствия распределений случайных величин гауссовым использовали критерий нормальности Д'Агостино–Пирсона, после чего данные были представлены в виде медианы и квартилей [Q_1, *Me*, Q_3]. Анализ данных проводили по критерию Краскела–Уоллиса с последующим множественным сравнением в тесте Данна. Различия считали статистически значимыми при $p < 0{,}05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Контроль поведения и внеклеточного уровня дофамина

Реакцию самораздражения испытывали в режиме FR1, то есть каждый подъем головы подкрепляли электрической стимуляцией VTA. Стимуляция структуры мозга при подъеме головы активировала с помощью электрода нейроны VTA крыс, а микроэлектрод из углеродного волокна был имплантирован в NAc для регистрации изменений концентрации DA с использованием FSCV (рис. 2). Электрическая стимуляция (импульс 1 мс, 100 Гц, длительность стимуляции 0,5 с) поддерживала устойчивую реакцию самостимуляции выше 20 подъемов головы в минуту при фиксированном соотношении FR1 и непрерывном подкреплении. Крысы продолжали производить интенсивные обнюхивания (поисковые реакции),

несмотря на периодическое увеличение числа подъемов головы и уменьшение полученных стимуляций. Чтобы оценить, сопровождает ли высвобождение DA поведение, обусловленное поднятием головы, мы отслеживали высвобождение NAc DA во время ICSS при режиме FR1 (*n*=20 сеансов, 6 крыс).

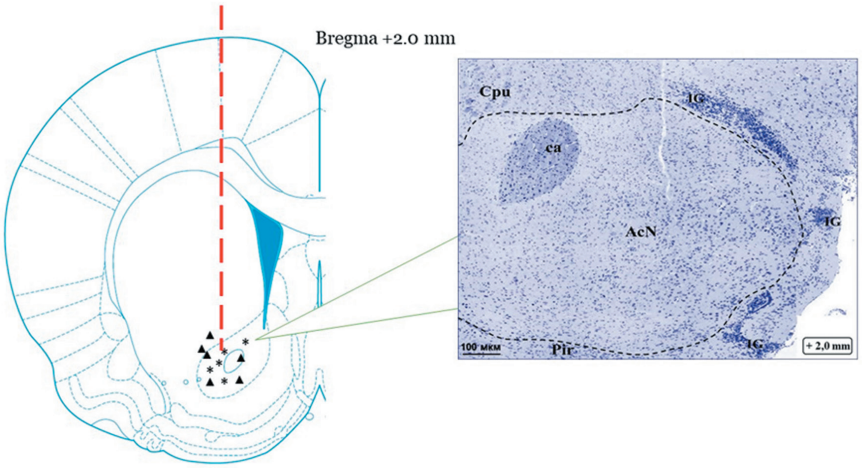

Рис. 1. Морфологический контроль локализации электродов в головном мозге крыс. Слева — картирование исследованных точек регистрации AcN. Справа — передняя часть AcN (прилежащего ядра) с дефектом мозга из области вживления электрода для регистрации на уровне «Bregma +2,0». AcN — прилежащее ядро; ca — передняя спайка мозга (расположена внутри ядра); Cpu — полосатое тело; IC — обонятельные ядра; Pir — грушевидная кора (сопредельные нервные центры). Окраска крезиловым фиолетовым по методу Ниссля. Ок. ×10, об. ×10.
Fig. 1. Morphological monitoring of the electrode implantation site in the brain. Left panel, mapping of the measurement points in the nucleus accumbens. Right panel, anterior nucleus accumbens with a brain defect associated with the electrode implantation at Bregma +2.0 level. AcN, nucleus accumbens; ca, anterior commissure (inside the nucleus); Cpu, corpus striatum; IC, olfactory nuclei; Pir, piriform cortex (adjacent nuclei). Cresyl violet Nissl staining. Eye lens ×10, objective lens ×10.

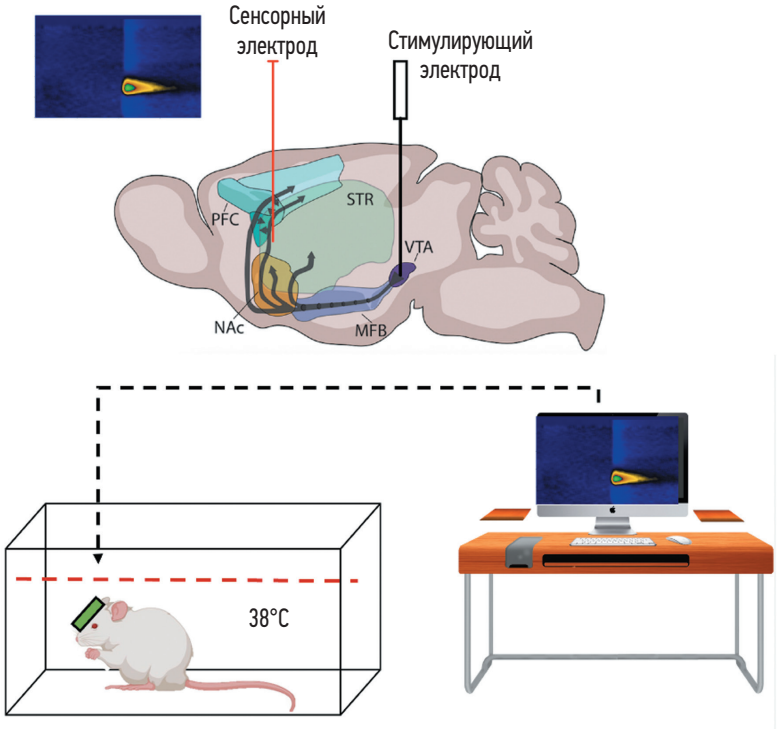

Рис. 2. Обучение реакции самостимуляции при подъеме головы и регистрация внеклеточного уровня дофамина. PFC — медиальная префронтальная кора; STR — полосатое тело; VTA — вентральная область покрышки; MFB — медиальный передний мозговой пучок; NAc — прилежащее ядро.
Fig. 2. Training of the self-stimulation response to head elevation and measurement of extracellular dopamine levels. PFC, medial prefrontal cortex; STR, corpus striatum; VTA, ventral tegmental area; MFB, medial forebrain bundle; NAc, nucleus accumbens.

Рис. 3. Высвобождение дофамина при самостимуляции за 10 мин опыта. Показано изменение уровня дофамина (nA) при самостимуляции (синяя кривая) и изменение уровня дофамина до обучения реакции самостимуляции (красная кривая). Показан пример животного. ICSS — внутримозговая самостимуляция.

Fig. 3. Dopamine release in response to self-stimulation in the 10-min experiment. A shift in dopamine levels was observed in response to self-stimulation (blue curve) and prior to the training of self-stimulation reaction (red curve). An illustrative figure of an animal is presented. ICSS, intracerebral self-stimulation.

Поведенческие и FSCV-показатели у репрезентативных крыс приведены на рис. 3 и 4. Первый подъем головы и, соответственно, включение подкрепляющей стимуляции вызывало немедленное увеличение сигнала FSCV, который уменьшался с течением времени. Мы сравнили амплитуду отдельных вызванных самостимуляцией высвобождений DA с интервалом между стимуляциями, обусловленными стойками с обнюхиванием или наклоном головы ниже 38° в течение сеанса и обнаружили, что вызванное самостимуляцией высвобождение DA оставалось выше, чем его фоновый уровень до начала обучения реакции самостимуляции (p=0,001) (рис. 3). Для того, чтобы оценить, связаны ли изменения в силе ответа или времени между стимуляциями с высвобождением DA, животные подвергались воздействию увеличивающегося тока к фиксированному соотношению во время отдельных сессий самостимуляции. В то же время мы не наблюдали корреляцию величины амплитуды и времени высвобождения DA с более или менее энергичной реакцией самостимуляции.

Высвобождение дофамина при самостимуляции

Чтобы оценить, действительно ли фазическая активация DA достаточна для активации элементов исследовательского поведения крыс (локомоции с обнюхиванием, стойки с обнюхиванием) у животных регистрировали поведение в кольцевой камере (рис. 4). Во время самостимуляции наблюдались исследовательское поведение и высвобождение дофамина. Пиковая концентрация DA во время подачи импульса постепенно увеличивалась и сохранялась на более высоком уровне в течение последующих как минимум 20 подъемов головы. При этом обнюхивание, локомоция с обнюхиванием и стойки с обнюхиванием, как элементы исследовательского поведения крыс, не угасали, хотя имелись периоды снижения и повышения уровня DA. Несмотря на постоянные параметры стимуляции и достаточную интенсивность самостимуляции, высвобождение DA в первые 5 мин опыта постепенно снижалось каждые 2 мин, а после продолжительной самостимуляции — снижалось уже каждые 0,5 мин и также возвращалось к исходным высоким значениям во время сеанса (рис. 4). Высвобождение DA на стимуляцию было стабильно в течение 3 последовательных сеансов. В совокупности эти результаты показывают, что фазовая активация DA в VTA в достаточной степени сопровождает интенсивную самостимуляцию и вызывает элементы исследовательского поведения (рис. 4).

Высвобождение дофамина и оценка подкрепляющих свойств стимуляции

Чтобы оценить, отражается ли информация, связанная с фазической активацией зоны расположения нейронов DA, сопутствующими изменениями в поведении, вызванными сигналом, и высвобождении DA в NAc, мы проанализировали в течение минуты моменты электрической стимуляции VTA и соответствие им высвобождению DA в NAc. При анализе сопоставления изменений уровня дофамина с отдельными реакциями подъемов головы животного при самостимуляции мы рассматривали изменение уровня DA в течение 1 мин (с 4-й по 5-ю минуту) опыта по самостимуляции и накладывали соответствующую этому периоду опыта вольтамперограмму (рис. 5). При этом мы производили анализ цветовой шкалы, отражающей величину изменения электрического тока при регистрации его в NAc по сравнению с его уровнем в точке 0 по оси времени. На цветовой шкале мы отмечали отражение отдельных стимуляций VTA, соответствующих подъемам головы. Показано, что вызванное стимуляцией высвобождение DA в NAc не обязательно отражает ожидаемое или испытываемое снижение воспринимаемой ценности подкрепления из-за увеличения усилий (подъемов головы при внутримозговом подкреплении) или

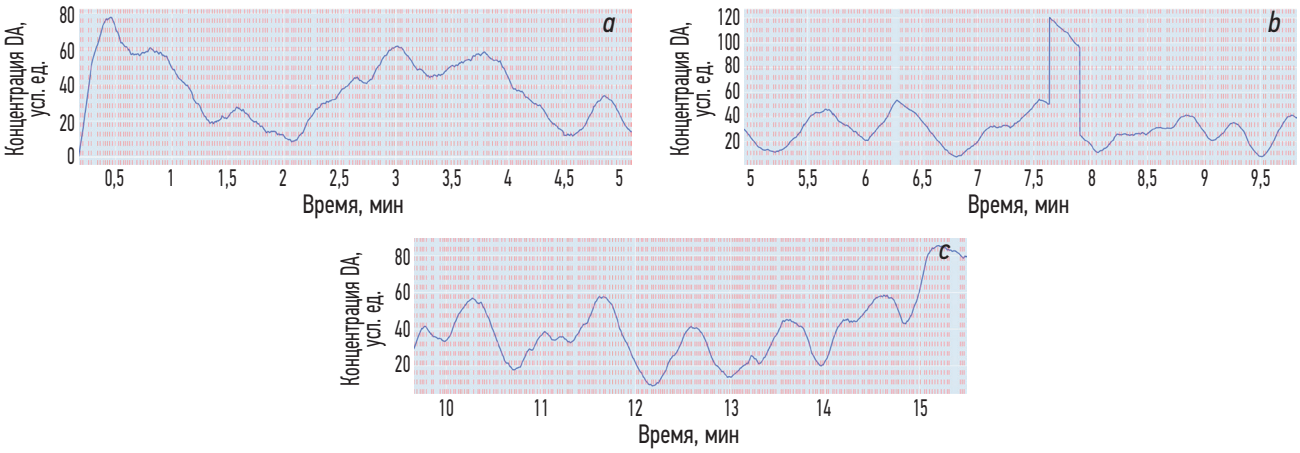

Рис. 4. Динамика уровня дофамина (nA) при самостимуляции: *a* — изменение уровня дофамина в течение первых 5 мин опыта по самостимуляции; *b* — изменение уровня дофамина с 5-й по 10-ю минуту опыта по самостимуляции; *c* — изменение уровня дофамина с 10-й по 15-ю минуту опыта по самостимуляции. Отдельные реакции самостимуляции (подъем головы) показаны вертикальной штриховкой. Показан пример животного.

Fig. 4. Variation in dopamine levels in response to self-stimulation: *a*, variation in dopamine levels within the first five minutes of the self-stimulation experiment; *b*, variation in dopamine levels between the fifth and tenth minutes of the self-stimulation experiment; *c*, variation in dopamine levels between the tenth and fifteenth minutes of the self-stimulation experiment. Individual self-stimulation reactions (head elevation) are indicated by vertical hatching lines. An illustrative figure of an animal is presented.

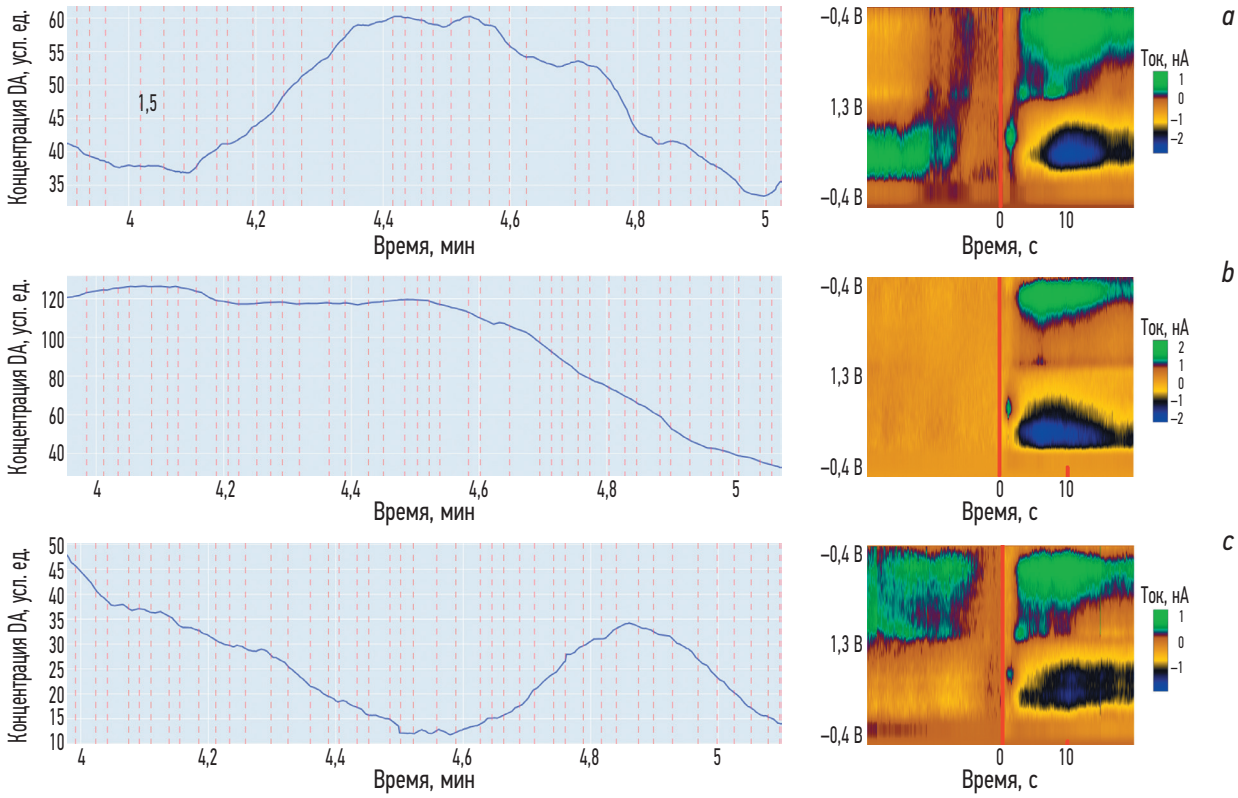

Рис. 5. Анализ сопоставления изменений уровня дофамина (nA) с отдельными реакциями подъемов головы животного при самостимуляции: *a* — изменение уровня дофамина в течение 1 мин (с 4-й по 5-ю минуту) опыта по самостимуляции и соответствующую этому периоду опыта вольтамперограмму при стимуляции VTA. Цветовая шкала отражает величину изменения электрического тока при регистрации его в NAc по сравнению с его уровнем в точке 0 по оси времени. Вертикальными линиями показаны моменты подъема головы и соответственно включение электрической стимуляции VTA; *b*, *c* — изменение уровня дофамина в течение 1 мин (с 4-й по 5-ю минуту) опыта по самостимуляции у других крыс.

Fig. 5. Comparative analysis of variations in dopamine levels and individual reactions of head elevations in response to self-stimulation: *a*, variation in dopamine levels within a 1-minute interval (from the fourth to the fifth minute) of the self-stimulation experiment and respective voltamogram recorded during ventral tegmental stimulation. The color scale represents electric current variations measured in the nucleus accumbens relative to its baseline level at time point 0. The vertical lines demonstrate the times at which the rats elevated their heads, thus indicating the activation of electrical ventral tegmental stimulation. *b*, *c*, variations in dopamine levels within a 1-minute interval (from the fourth to the fifth minute) of the self-stimulation experiment in other rats.

временных (время для получения стимуляции) оценки. Более того, вызванное стимуляцией высвобождение DA в NAc не предсказывает латентность реакции на выученное инструментальное движение в этих конкретных экспериментальных условиях. Количество DA, высвобождаемое во время эксперимента, не существенно отличалось в зависимости от интенсивности самостимуляции.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе сделана попытка показать связь между высвобождением DA и активацией VTA при самостимуляции, используя постоянную силу тока, превышающую пороговую для самостимуляции в 1,5 раза, и постоянную частоту следования импульсов (100 Гц) для регистрации изменения фазического выброса DA с помощью метода FSCV в прилежащем ядре. Это позволило нам зарегистрировать динамику фазического выброса DA во временной шкале, соответствующей поведенческим реакциям. Электрическая стимуляция поддерживала устойчивую реакцию самостимуляции выше 20 подъемов головы в минуту при фиксированном соотношении FR1 и непрерывном подкреплении. Возникает вопрос, связаны ли два процесса, самостимуляция и фазический выброс DA? Несмотря на интенсивную реакцию самостимуляции, мы наблюдали как повышения, так и снижения выброса DA при самостимуляции. Мы также отмечали периодические увеличения и снижения числа подъемов головы (числа полученных стимуляций). Животные продолжали производить интенсивные обнюхивания (поисковые реакции), несмотря на изменения уровня дофамина и изменения числа подъемов головы. Первый подъем головы (включение подкрепляющей стимуляции) вызывал увеличение сигнала FSCV, который затем уменьшался или выходил на плато по мере продолжения ответа. При этом вызванное самостимуляцией высвобождение DA оставалось неизменно выше по сравнению с фоновым уровнем фазического выброса DA до начала обучения реакции самостимуляции.

Таким образом, в работе показано, что высвобождение DA в NAc наблюдается при инициации реакции самостимуляции и ее реализацции, проявляя снижение к концу эксперимента (рис. 3). Кроме того, основываясь на скорости, с которой пополняются пулы высвобождаемого DA, и опосредованном ауторецепторами торможения высвобождении DA [16], наряду с быстрым обратным захватом DA, который должен еще больше увеличиваться в периоды повторной деполяризации [17], разумно ожидать, что концентрация DA в NAc становится зависимой от активации нейронов во время самостимуляции. Мы установили, что высвобождение DA, привязанное ко времени каждой стимуляции происходит на протяжении всего сеанса и тесно связано с поведением (рис. 4, 5).

В настоящей работе мы проанализировали динамику высвобождения DA в NAc во время реакции самостимуляции. Показано, что элементы исследовательского поведения крыс не угасали, несмотря на периоды снижения и повышения уровня DA. Несмотря на постоянные параметры стимуляции и достаточную интенсивность самостимуляции, высвобождение DA в первые 5 мин опыта постепенно снижалось каждые 2 мин и возвращалось к исходным высоким значениям. После продолжительной самостимуляции высвобождение DA снижалось уже каждые 0,5 мин и также возвращалось к исходным высоким значениям во время сеанса (рис. 4), не угасая во времени. Ранее с помощью метода микродиализа наблюдали повышенные концентрации DA во время реализации самостимуляции с последующим снижением до фоновых уровней после прекращения подачи тока [12].

Другие исследования показали отсутствие высвобождения DA в более поздних длительных периодах реакции [18]. Более ранние исследования с использованием метода FSCV показали, что высвобождение DA в NAc не происходит во время ICSS [19]. Эти результаты привели к выводу, что высвобождение DA в NAc может быть важным для сигнализации наличия или предсказуемости вознаграждений, но не связано с текущим подкреплением [15]. Однако оптогенетические исследования подтверждают, что активация DA нейронов VTA достаточна для поддержания подкрепления [20], которое подавляется введением антагонистов рецепторов DA в NAc [21]. Таким образом, в настоящее время существуют противоречивые данные о наличии выброса DA и его особенностях при самостимуляции.

Наши исследования согласуются с гипотезой флуктуирующего эмоционального континуума, который реализует подкрепляющие механизмы мозга при самостимуляции [22]. Проведенный в работе анализ сопоставления изменений уровня DA с отдельными реакциями подъемов головы животного при самостимуляции и анализ динамики уровня DA при самостимуляции позволил нам сравнить кривую выброса фазического DA с отмеченным флуктуирующим эмоциональным континуумом [23]. Уровень DA постепенно, как отмечено, снижался и возвращался к исходным значениям, отражая, по-видимому, процессы регуляции внутреннего подкрепления при самостимуляции. При этом оценка уровня подкрепления в виде его текущего эмоционального состояния может являться результатом синтеза как «опережающего подкрепления» (мотивационного возбуждения перед получением электрического тока, отражающем аппетентную фазу), так и последующего за двигательным актом состояния удовлетворения, отражающего консуматорную фазу поведения [24]. Несмотря на постоянные параметры стимуляции и достаточную интенсивность самостимуляции, число подъемов головы то увеличивалось, то уменьшалось, отражая, по-видимому, процессы оценки значимости вознаграждения в регуляции поведения приближения и избегания. Ранее было показано, что увеличение длительности стимуляции или повышение числа навязанных

стимуляций положительной зоны подкрепления может привести к избеганию [2]. Поэтому животное регулирует степень получения подкрепления эмоциональной природы, повышая частоту самостимуляции и снижая ее. Это, по-видимому, отражается в первую очередь на уровне внеклеточного DA. Наиболее приемлемая модель для объяснения наших данных о регуляции эмоционального состояния при самостимуляции согласуется, в частности, с положениями круговой модели аффекта согласно бивалентной системе удовольствия – неудовольствия, возбуждения – торможения [23, 24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, наши результаты показывают, что высвобождение DA связано с регуляцией животным подкрепляющего эмоционального эффекта при самостимуляции.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Н.С. Пестерева — проведение экспериментов, написание и редактирование текста статьи; Д.С. Трактиров — проведение статистического анализа, редактирование теста статьи; А.А. Лебедев, С.С. Пюрвеев — написание и редактирование текста статьи, концепция исследования; Р.Д. Черкассова — проведение экспериментов; П.Д. Шабанов — написание и редактирование текста статьи. Авторы одобрили версию для публикации, а также согласились нести ответственность за все аспекты работы, гарантируя надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой ее части.

Благодарности. Коллектив авторов выражает признательность лично ведущему инженеру лаборатории психофизиологии эмоций ФГБНУ «ИЭМ» Вадиму Викторовичу Сизову за оказанную помощь при техническом сопровождении настоящей работы.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено комиссией по биоэтике (локальным этическим комитетом) ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» (протокол № 4/24 от 24.10.2024).

Источник финансирования. Данная работа выполнена при финансировании РНФ (грант 24-75-00036).

Раскрытие интересов. Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Оригинальность. При создании настоящей работы авторы не использовали ранее опубликованные сведения (текст, иллюстрации, данные).

Доступ к данным. Все данные, полученные в настоящем исследовании, доступны в статье.

Генеративный искусственный интеллект. При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

ADDITIONAL INFO

Authors' contributions. N.S. Pestereva: conducted experiments, wrote and edited the manuscript; D.S. Traktirov: performed statistical analysis, edited the manuscript; A.A. Lebedev, S.S. Pyurveev: wrote and edited the manuscript, conceptualized the study; R.D. Cherkassova: conducted experiments; P.D. Shabanov: wrote and edited the manuscript. The authors have approved the version for publication and have also agreed to be responsible for all aspects of the work, ensuring that issues relating to the accuracy and integrity of any part of it are properly considered and addressed.

Acknowledgements. The team of authors express their gratitude to personally Vadim Sizov, leading engineer of the Laboratory of Psychophysiology of Emotions, Institute of Experimental Medicine, for his assistance in technical support of the present work.

Ethics approval. The study was approved by the bioethics commission (local ethics committee) of Institute of Experimental Medicine (protocol No. 4/24 dated 2024 Oct 24).

Funding sources. The study was funded by the Russian Science Foundation (grant No. 24-75-00036).

Disclosure of interests. The authors have no relationships, activities or interests for the last three years related with for-profit or not-for-profit third parties whose interests may be affected by the content of the article.

Statement of originality. The authors did not use previously published information (text, illustrations, data) to create this paper.

Data availability statement. All data obtained in the present study are available in the article.

Generative AI. Generative AI technologies were not used for this article creation.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Pavlov IP. *Complete Collection of Works*. Vol. 2. Book 1. Moscow: Nauka; 1951. 57 p. (In Russ.)

2. Shabanov PD, Lebedev AA, Meshcherov ShK. *Dopamine and reinforcing systems of the brain*. Saint Petersburg: Scientific Book; 2002. 216 p. (In Russ.) EDN: VWCLGH.

3. Salamone JD, Correa M. Insulin and ventral tegmental dopamine: what's impaired and what's intact? *Cell Metab*. 2013;17(4):469–470. doi: 10.1016/j.cmet.2013.03.011

4. Covey DP, Cheer JF. Accumbal dopamine release tracks the expectation of dopamine neuron-mediated reinforcement. *Cell Rep*. 2019;27(2):481–490.e3. doi: 10.1016/j.celrep.2019.03.055

5. Sharpe MJ, Chang CY, Liu MA, et al. Dopamine transients are sufficient and necessary for acquisition of model-based associations. *Nat Neurosci*. 2017;20(5):735–742. doi: 10.1038/nn.4538

6. Carlezon WA Jr, Chartoff EH. Intracranial self-stimulation (ICSS) in rodents to study the neurobiology of motivation.

Nat Protoc. 2007;2(11):2987–2995. doi: 10.1038/nprot.2007.441 EDN: XUUMSB

7. Steinberg EE, Boivin JR, Saunders BT, et al. Positive reinforcement mediated by midbrain dopamine neurons requires D1 and D2 receptor activation in the nucleus accumbens. *PLoS One*. 2014;9(4): e94771. doi: 10.1371/journal.pone.0094771

8. Gallistel CR, Shizgal P, Yeomans JS. A portrait of the substrate for self-stimulation. *Psychol Rev*. 1981;88(3):228–273. doi: 10.1037/0033-295X.88.3.228

9. Bielajew C, Shizgal P. Evidence implicating descending fibers in self-stimulation of the medial forebrain bundle. *J Neurosci.* 1986;6(4):919–929. doi: 10.1523/JNEUROSCI.06-04-00919.1986

10. Sombers LA, Beyene M, Carelli RM, Wightman RM. Synaptic overflow of dopamine in the nucleus accumbens arises from neuronal activity in the ventral tegmental area. *J Neurosci*. 2009;29(6): 1735–1742. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5562-08.2009

11. Berrios J, Stamatakis AM, Kantak PA, et al. Loss of UBE3A from TH-expressing neurons suppresses GABA co-release and enhances VTA-NAc optical self-stimulation. *Nat Commun*. 2016;7:10702. doi: 10.1038/ncomms10702

12. Hernandez G, Hamdani S, Rajabi H, et al. Prolonged rewarding stimulation of the rat medial forebrain bundle: neurochemical and behavioral consequences. *Behav Neurosci*. 2006;120(4):888–904. doi: 10.1037/0735-7044.120.4.888

13. Sizov VV, Lebedev AA, Pyurveev SS, et al. A method for training rats to electrical self-stimulation in response to raising the head using a telemetry apparatus to record extracellular dopamine levels. *Neurosci Behav Physiol*. 2024;54(1):52–60. doi: 10.1007/s11055-024-01568-z EDN: LVFWOC

14. Pyurveev SS, Lebedev AA, Sizov VV, et al. Social isolation induces addictive behavior and increases release of dopamine in the *Nucleus accumbens* in response to stimulation of the positive reinforcing zone. *I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*. 2024;74(4):471–485. doi: 10.31857/S0044467724040083 EDN: HMWGGQ

15. Pyurveev SS, Sizov VV, Lebedev AA, et al. Registration of changes in the level of extracellular dopamine in the *Nucleus accumbens* by fast-scan cyclic voltammetry during stimulation of the ventral tegmental area zone, which also caused self-stimulation. *J Evol Biochem Physiol*. 2022;58(5):1613–1622. doi: 10.1134/s0022093022050295 EDN: FWBURZ

16. Kita JM, Parker LE, Phillips PE, et al. Paradoxical modulation of short-term facilitation of dopamine release by dopamine autoreceptors. *J Neurochem*. 2007;102(4):1115–1124. doi: 10.1111/j.1471-4159.2007.04621.x

17. Calipari ES, Bagot RC, Purushothaman I, et al. *In vivo* imaging identifies temporal signature of D1 and D2 medium spiny neurons in cocaine reward. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(10):2726–2731. doi: 10.1073/pnas.1521238113

18. Owesson-White CA, Cheer JF, Beyene M, et al. Dynamic changes in accumbens dopamine correlate with learning during intracranial self-stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(33): 11957–11962. doi: 10.1073/pnas.0803896105

19. Kilpatrick MR, Rooney MB, Michael DJ, Wightman RM. Extracellular dopamine dynamics in rat caudate-putamen during experimenter-delivered and intracranial self-stimulation. *Neuroscience*. 2000;96(4):697–706. doi: 10.1016/S0306-4522(99)00578-3 EDN: AEHNPW

20. Witten IB, Steinberg EE, Lee SY, et al. Recombinase-driver rat lines: tools, techniques, and optogenetic application to dopamine-mediated reinforcement. *Neuron*. 2011;72(5):721–733. doi: 10.1016/j.neuron.2011.10.028

21. Vartanyan GA, Petrov ES. The reinforcing function of the emotions. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 1993;23(5):439–448. doi: 10.1007/BF01183005 EDN: XPSIFE

22. Petrov ES, Lebedev AA. Dopamine and the reinforcing system of the brain. *Neurosci Behav Physiol.* 1997;27(3):309–311. doi: 10.1007/BF02462900 EDN: LEBBJX

23. Tsikunov SG. Emociogenic principle of reinforcement in the formation of behavior. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2000;(1):26. (In Russ.)

24. Posner J, Russell JA, Peterson BS. The circumplex model of affect: An integrative approach to affective neuroscience, cognitive development, and psychopathology. *Development and Psychopathology*. 2005;17(3):715–734. doi: 10.1017/S0954579405050340 EDN: HPNMBL

ОБ АВТОРАХ

***Нина Сергеевна Пестерева,** канд. биол. наук;
адрес: Россия, 199022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; ORCID: 0000-0002-3104-8790;
eLibrary SPIN: 1088-6479; e-mail: pesterevans@yandex.ru

Дмитрий Сергеевич Трактиров; ORCID: 0000-0003-0424-6545; eLibrary SPIN: 3221-1316; e-mail: ds.traktirov@gmail.com

Андрей Андреевич Лебедев, д-р биол. наук, профессор;
ORCID: 0000-0003-0297-0425; eLibrary SPIN: 4998-5204;
e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

AUTHORS' INFO

***Nina S. Pestereva,** Cand. Sci. (Biology);
address: 12 Akademika Pavlova st., Saint Petersburg, 199022, Russia;
ORCID: 0000-0002-3104-8790; eLibrary SPIN: 1088-6479;
e-mail: pesterevans@yandex.ru

Dmitrii S. Traktirov; ORCID: 0000-0003-0424-6545;
eLibrary SPIN: 3221-1316; e-mail: ds.traktirov@gmail.com

Andrei A. Lebedev, Dr. Sci. (Biology), Professor;
ORCID: 0000-0003-0297-0425; eLibrary SPIN: 4998-5204;
e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

ОБ АВТОРАХ

Сарнг Саналович Пюрвеев, канд. мед. наук;
ORCID: 0000-0002-4467-2269; eLibrary SPIN: 5915-9767;
e-mail: dr.purveev@gmail.com

Регина Дмитриевна Черкассова; ORCID: 0009-0000-1811-7563;
eLibrary SPIN: 8138-8642; e-mail: regina.cherkassova@mail.ru

Петр Дмитриевич Шабанов, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477;
e-mail: pdshabanov@mail.ru

AUTHORS' INFO

Sarng S. Pyurveev, MD, Cand. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0002-4467-2269; eLibrary SPIN: 5915-9767;
e-mail: dr.purveev@gmail.com

Regina D. Cherkassova; ORCID: 0009-0000-1811-7563;
eLibrary SPIN: 8138-8642; e-mail: regina.cherkassova@mail.ru

Petr D. Shabanov, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;
ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477;
e-mail: pdshabanov@mail.ru