



РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ им. А. И. ГЕРЦЕНА
HERZEN STATE PEDAGOGICAL UNIVERSITY of RUSSIA

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ им. И. П. ПАВЛОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
PAVLOV INSTITUTE of PHYSIOLOGY, RUSSIAN ACADEMY of SCIENCES

ISSN 2687-1270

**ИНТЕГРАТИВНАЯ
ФИЗИОЛОГИЯ**

INTEGRATIVE PHYSIOLOGY

T. 3 № 4 2022

Vol. 3 No. 4 2022



Российский государственный педагогический университет
им. А. И. Герцена
Институт физиологии им. И. П. Павлова Российской академии наук
Herzen State Pedagogical University of Russia
Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences

ISSN 2687-1270 (online)
intphysiology.ru
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4>
2022. Том 3, № 4
2022. Vol. 3, no. 4

Интегративная физиология

Integrative Physiology

Свидетельство о регистрации СМИ ЭЛ № ФС 77 – 75141,
выдано Роскомнадзором 07.03.2019
Рецензируемое научное издание
Журнал открытого доступа
Учрежден в 2019 году
Выходит 4 раза в год
16+

Mass Media Registration certificate EL No. FS 77 – 75141,
issued by Roskomnadzor on 7 March 2019
Peer-reviewed journal
Open Access
Published since 2019
4 issues per year
16+

Редакция

Главный редактор
А. П. Филаретова (Санкт-Петербург, Россия)
Заместитель главного редактора
Е. А. Никитина (Санкт-Петербург, Россия)
Ответственный редактор
О. А. Любашина (Санкт-Петербург, Россия)

Editorial Team

Editor-in-chief
Lyudmila P. Filaretova (St Petersburg, Russia)
Deputy Editor-in-chief
Ekaterina A. Nikitina (St Petersburg, Russia)
Executive Editor
Olga A. Lyubashina (St Petersburg, Russia)

Редакционная коллегия

В. Г. Александров (Санкт-Петербург, Россия)
Н. М. Бажан (Новосибирск, Россия)
Б. Боназ (Гренобль, Франция)
А. Б. Буравкова (Москва, Россия)
Т. Д. Власов (Санкт-Петербург, Россия)
Дж. Вуд (Колумбус, США)
Н. В. Гуляева (Москва, Россия)
Д. Джезова (Братислава, Словакия)
Н. Н. Дыгало (Новосибирск, Россия)
Н. А. Дюжикова (Санкт-Петербург, Россия)
Д. Зелена (Печ, Венгрия)
В. А. Кашкин (Санкт-Петербург, Россия)
Б. Мачадо (Сан-Паулу, Бразилия)
Е. Н. Михайлов (Санкт-Петербург, Россия)
М. П. Мошкин (Новосибирск, Россия)
П. Е. Мусиенко (Санкт-Петербург, Россия)
М. Покорский (Варшава, Польша)
Е. А. Рыбникова (Санкт-Петербург, Россия)
Ш. Сабо (Ирвайн, США)
С. В. Саранцева (Санкт-Петербург, Россия)
К. Такеучи (Киото, Япония)
И. Таше (Лос-Анджелес, США)
П. Фердинанди (Сегед, Венгрия)
Ж. Хельешь (Печ, Венгрия)
Ю. Е. Шелепин (Санкт-Петербург, Россия)

Editorial Board

Vyacheslav G. Aleksandrov (St Petersburg, Russia)
Nadezhda M. Bazhan (Novosibirsk, Russia)
Bruno Bonaz (Grenoble, France)
Lyudmila B. Buravkova (Moscow, Russia)
Timur D. Vlasov (St Petersburg, Russia)
Jackie Wood (Columbus, USA)
Natalia V. Gulyaeva (Moscow, Russia)
Daniela Jezova (Bratislava, Slovakia)
Nikolai N. Dygalo (Novosibirsk, Russia)
Natalya A. Dyuzhikova (St Petersburg, Russia)
Dora Zelena (Pécs, Hungary)
Vladimir A. Kashkin (St Petersburg, Russia)
Benedito Machado (São Paulo, Brazil)
Evgeny N. Mikhaylov (St Petersburg, Russia)
Mikhail P. Moshkin (Novosibirsk, Russia)
Pavel E. Musienko (St Petersburg, Russia)
Mieczysław Pokorski (Warsaw, Poland)
Elena A. Rybnikova (St Petersburg, Russia)
Sandor Szabo (Irvine, USA)
Svetlana V. Sarantseva (St Petersburg, Russia)
Koji Takeuchi (Kyoto, Japan)
Yvette Taché (Los Angeles, USA)
Peter Ferdinandy (Szeged, Hungary)
Zsuzsanna Helyes (Pécs, Hungary)
Yuri E. Shelepin (St Petersburg, Russia)

Издательство РГПУ им. А. И. Герцена
191186, г. Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, д. 48
E-mail: izdat@herzen.spb.ru
Телефон: +7 (812) 312-17-41

Publishing house of Herzen State Pedagogical
University of Russia
48 Moika Emb., Saint Petersburg 191186, Russia
E-mail: izdat@herzen.spb.ru
Phone: +7 (812) 312-17-41

Объем 6,35 Мб

Подписано к использованию 30.12.2022

Published at 30.12.2022

При использовании любых фрагментов ссылка на журнал
«Интегративная физиология» и на авторов материала
обязательна.

The contents of this journal may not be used in any way without
a reference to the journal “Integrative Physiology” and the author(s)
of the material in question.

Редактор В. М. Махтина
Редакторы английского текста М. В. Бумакова, И. А. Наговицына
Корректор Д. А. Иванов
Оформление обложки О. В. Рудневой
Верстка А. М. Ходан



Санкт-Петербург, 2022
© Российский государственный
педагогический университет им. А. И. Герцена, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

Приветствие главного редактора.....	394
Обзоры	396
<i>Буницкая М. А.</i> Человек большой души.....	396
<i>Медведев С. В., Бойцова Ю. А., Бубеев Ю. А., Кокурина Е. В.</i> Буддийский тибетский феномен «тукдам» как объект исследования для получения новых знаний в интегративной физиологии. Организационные и методологические аспекты.....	402
<i>Hamouda N., Jonan Sh., Fukatsu H., Amagase K.</i> Protective mechanisms of glutamine in intestinal diseases.....	411
<i>Дворникова К. А., Быстрова Е. Ю., Платонова О. Н.</i> Роль ионных каналов TRPA1 при воспалительных заболеваниях кишечника.....	420
<i>Тюлькова Е. И.</i> Различные экспериментальные модели в изучении влияния пренатальной гипоксии на развитие мозга.....	432
Экспериментальные статьи	455
<i>Саульская Н. Б.</i> ГАМК _A -рецепторная регуляция уровня внеклеточного таурина в прилежащем ядре (<i>nucleus accumbens</i>).....	455
<i>Дик О. Е.</i> Анализ степени мультифрактальности различных компонент электроэнцефалограмм при сердечно-сосудистой патологии.....	463
<i>Лосева Е. В., Крючкова А. В., Логинова Н. А., Потехина А. А., Иноземцев А. Н.</i> Воздействие разных доз иммуномодулятора Тактивина на поведение в тестах на тревожность у крыс при стандартном и скученном содержании.....	474
<i>Морозова О. Ю.</i> Влияние стрессорного пре- и посткондиционирования на образование и заживление эрозивных повреждений слизистой оболочки желудка, индуцированных индометацином.....	490
Краткие сообщения.....	500
<i>Царева И. А., Иванова Г. Т., Лобов Г. И.</i> Дисфункция артерий и сосудов микроциркуляторного русла у крыс при метаболическом синдроме, вызванном диетой с высоким содержанием фруктозы.....	500

CONTENTS

Letter from the Editor-in-Chief.....	394
Reviews.....	396
<i>Buniatyan M. A.</i> A man of great heart.....	396
<i>Medvedev S. V., Boytsova Yu. A., Bubeev Yu. A., Kokurina E. V.</i> The Tibetan Buddhist phenomenon <i>tukdam</i> as an object of research for obtaining new knowledge in integrative physiology: Organizational and methodological aspects.....	402
<i>Hamouda N., Jonan Sh., Fukatsu H., Amagase K.</i> Protective mechanisms of glutamine in intestinal diseases.....	411
<i>Dvornikova K. A., Bystrova E. Yu., Platonova O. N.</i> The role of TRPA1 ion channels in inflammatory bowel disease.....	420
<i>Tyulkova E. I.</i> Various experimental models in the study of the effect of prenatal hypoxia on brain development.....	432
Experimental articles.....	455
<i>Saulskaya N. B.</i> GABA _A receptor regulation of extracellular taurine level in the nucleus accumbens.....	455
<i>Dick O. E.</i> Analysis of the degree of multifractality of various components of electroencephalograms in cardiovascular pathology.....	463
<i>Loseva E. V., Kryuchkova A. V., Loginova N. A., Potekhina A. A., Inozemtsev A. N.</i> Effects of different doses of the immunomodulator Tactivin on the behavior of rats kept in standard and overcrowded conditions: Results of anxiety tests.....	474
<i>Morozova O. Yu.</i> Effect of stress preconditioning and postconditioning on the development and healing of indomethacin-induced gastric erosion.....	490
Brief notes.....	500
<i>Tsareva I. A., Ivanova G. T., Lobov G. I.</i> Dysfunction of arteries and microcirculatory vessels in rats with metabolic syndrome caused by a diet high in fructose.....	500

Приветствие главного редактора

Глубокоуважаемые коллеги!

Перед Вами четвертый, последний в 2022 году, номер журнала «Интегративная физиология», цель которого — способствовать развитию физиологии, интегративной физиологии.

Четвертый номер журнала продолжает сложившуюся традицию публиковать обзорные статьи по истории физиологии. В 2022 году исполнилось 140 лет со дня рождения выдающегося физиолога, ближайшего ученика и последователя Ивана Петровича Павлова академика Леона Абгаровича Орбели. В первом номере журнала была опубликована статья с воспоминаниями о Леоне Абгаровиче его усыновленного внука Абгара Леоновича Орбели, при чтении которой открывается редкая возможность глазами ближайшего человека посмотреть на истоки несгибаемой твердости духа, смелости, выносливости, порядочности Леона Абгаровича. Читателям последнего в 2022 году журнала открывается еще одна возможность узнать о человеческих качествах Леона Абгаровича, о его готовности облегчать жизнь тех, кто к нему обращался, из статьи «Человек большой души», подготовленной основателем дома-музея братьев Орбели в Армении, в г. Цахкадзор, Марине Арташесовной Буниятян.

В четвертом номере журнала вниманию читателей предлагаются обзорные и экспериментальные статьи, посвященные физиологии и патологии желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, статьи о влиянии пренатальной гипоксии на развитие мозга, об эффекте условий содержания экспериментальных животных на поведение. Одна из обзорных статей номера о «Буддийском тибетском феномене “тукдам” как объекте исследования для получения новых знаний в интегративной физиологии» знакомит читателей с интересным проектом, спланированным как комплексная междисциплинарная фундаментальная научная работа, в которой объединились исследователи мозга России, представляющие несколько научных школ, а также специалисты по общей физиологии человека, без которых невозможно изучение влияния медитативных практик на организм в целом.

Приветствуя читателей четвертого номера журнала «Интегративная физиология», выражаю надежду на получение рукописей, содержащих новые знания о физиологических процессах на уровне целого организма. Мы приветствуем подачу рукописей о механизмах, координирующих взаимодействие систем организма для обеспечения его функционирования.

Журнал активно развивается благодаря совместной работе большого коллектива. К его успехам стоит отнести и получение первого двухлетнего Импакт фактора (2020–2021) — 0,419.

Выражаю сердечную благодарность всем, кто сделал реальностью выпуск всех четырех номеров журнала «Интегративная физиология» за 2022 год, прежде всего авторам статей и рецензентам, а также заместителю главного редактора журнала Екатерине Александровне Никитиной и ответственному редактору Ольге Анатольевне Любашиной.

*С уважением,
главный редактор
А. П. Филаретова*

Greeting from the Editor-in-Chief

Dear Colleagues,

You are holding the fourth and final issue of the journal *Integrative Physiology*. It aims to further raise the profile of research in integrative physiology.

The fourth issue continues the well-established tradition of review articles on the history of physiology. The year 2022 marks the 140th anniversary of the birth of Leon A. Orbeli, an outstanding physiologist, the closest pupil and follower of Ivan P. Pavlov. The first issue of the journal published Leon's memories written by his adopted grandson Abgar L. Orbeli. The memories provide insights into the origin of Leon's strong spirit, courage, resilience and moral character through the eyes of a person who was so close to him. The readers of the final issue in 2022 will have another opportunity to learn about Leon A. Orbeli's personality traits and about his willingness to make life easier for those who turned to him. This is the subject of the article "A man of great heart" prepared by Marine A. Buniatyan, the founder of the Orbeli Brothers House-Museum in Tsakhkadzor, Armenia.

The fourth issue of the journal offers review and experimental articles on the physiology and pathology of the gastrointestinal tract and cardiovascular system. It discusses the effect of prenatal hypoxia on brain development and explores how housing conditions of experimental animals impact their behavior. One of the review articles "The Tibetan Buddhist phenomenon tukdam as an object of research for obtaining new knowledge in integrative physiology" introduces readers to an interesting project planned as a comprehensive interdisciplinary fundamental study. It has brought together Russian brain scientists from several schools of thought and experts in general human physiology as key contributors to the study into the influence of meditative practices on the body as a whole.

I welcome the readers of the fourth issue of the journal *Integrative Physiology* and invite manuscripts containing new knowledge about the body's physiological processes. We also welcome manuscripts on the mechanisms that coordinate the interaction of the body's systems to ensure its functioning.

The journal is gaining momentum thanks to the joint work of a large team. Due to their efforts, *Integrative Physiology* obtained the first two-year impact factor (2020–2021) of 0.419.

I would like to extend my appreciation to all those who made all the four issues of the journal *Integrative Physiology* for 2022 a reality: authors of articles and reviewers, Deputy Editor-in-Chief of the journal Ekaterina A. Nikitina and Executive Editor Olga A. Lyubashina.

*Yours respectfully,
Editor-in-chief
Lyudmila P. Filaretova*



УДК 612.01

EDN VTJPVH

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-396-401>

Человек большой души

М. А. Буниatian^{✉1}

¹ Дом-музей братьев Орбели, 2310, Республика Армения, г. Цахкадзор, ул. братьев Орбели, д. 8

Сведения об авторе

Марине Арташесовна Буниatian, e-mail: orbelimuseum@yahoo.com

Для цитирования: Буниatian, М. А. (2022) Человек большой души. *Интегративная физиология*, т. 3, № 4, с. 396–401. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-396-401> EDN VTJPVH

Получена 20 сентября 2022; прошла рецензирование 20 октября 2022; принята 21 октября 2022.

Финансирование: Исследование не имело финансовой поддержки.

Права: © М. А. Буниatian (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. Краткие воспоминания о блестящем ученом и общественном деятеле, человеке большой души — Леоне Абгаровиче Орбели. Лучший ученик и близкий друг И. П. Павлова, академик Л. А. Орбели внес выдающийся вклад в науку. Среди ярчайших достижений школы Орбели, ставшей наиболее авторитетной физиологической научной школой СССР, следует назвать открытие адаптационно-трофической функции симпатической нервной системы, создание новых представлений о функциях мозжечка, выявление влияния подкорковых центров на функциональное состояние коры головного мозга, вклад в изучение физиологии и патологии высшей нервной деятельности человека, а также многое другое. Школу Л. А. Орбели характеризует редкое долголетие, могучая созидательная сила. Орбели пользовался широкой популярностью и глубоким уважением в обществе благодаря своему подлинному гуманизму, выраженной гражданской позиции, непреклонности в отстаивании своих убеждений. Для каждого, кто общался с ним, он дорог не только как ученый, но и как человек, обладавший исключительным обаянием. Он был внимателен к людям и умел быть удивительно простым в обращении с ними. Готовность Орбели облегчить всеми доступными ему способами жизнь тех, кто к нему обращался, была безгранична. Постоянная любовь, забота и уважение Леона Абгаровича к людям определили его душевный облик. Задача этой статьи — попытаться дорисовать портрет Орбели, передать наиболее характерные черты его личности.

Ключевые слова: Л. А. Орбели, академик, история физиологии, история науки, история медицины

A man of great heart

М. А. Buniatian^{✉1}

¹ House-Museum of the Orbeli Brothers, 8 Orbeli Str., Tsaghkadzor 2310, Republic of Armenia

Author

Marine A. Buniatian, e-mail: orbelimuseum@yahoo.com

For citation: Buniatian, M. A. (2022) A man of great heart. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 4, pp. 396–401. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-396-401> EDN VTJPVH

Received 20 September 2022; reviewed 20 October 2022; accepted 21 October 2022.

Funding: The study did not receive any external funding.

Copyright: © М. А. Buniatian (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Abstract. This article is a brief overview of memoirs about Leon A. Orbeli, a brilliant scientist, a community leader and a man of great heart. The best student and close friend of I. P. Pavlov, Academician L. A. Orbeli made an outstanding contribution to science. The Orbeli School became the most established USSR scientific school in

physiology. Among its most striking advances is the discovery of the adaptive-trophic function of the sympathetic nervous system; the development of new ideas about the functions of the cerebellum; the discovery of the influence of subcortical centers on the functional state of the cerebral cortex; contribution to the study of physiology and pathology of higher nervous activity of humans; and many more. The Orbeli School is marked by powerful creativity. It is also exceptionally long-lived. Orbeli enjoyed wide popularity and deep respect of the society due to his genuine humanism, active civic involvement and rigor in defending his convictions. Those who knew Orbeli keep fond memories of him. He is remembered not only as an outstanding scientist, but also as a man of great personal charm. He was attentive to people and was surprisingly easy in dealing with them. Orbeli's willingness to make life easier by any means for those who turned to him was boundless. Love, care and respect he gave to people shaped his spiritual profile. This article is an attempt to make the portrayal of Orbeli's personality more complete through depicting his most characteristic traits.

Keywords: L. A. Orbeli, academician, history of physiology, history of science, history of medicine

*«Человек он был, Горацио, человек во всем.
Ему подобных мне уже не встретить»
Уильям Шекспир*

Исполнилось 140 лет со дня рождения крупнейшего физиолога, ученика первого русского лауреата Нобелевской премии в области физиологии и медицины Ивана Петровича Павлова, генерал-полковника медицинской службы, академика Леона Орбели.

Лето 1882 года семья видного судебного чиновника Абгара Орбели проводила в одном из красивейших уголков Армении с поэтическим названием Цахкадзор (ущелье цветов). В этом живописном месте 7 июля в семье Орбели родился сын, названный Леоном (Леоном).

«Я убежден, что начало жизнеописаниям выдающихся деятелей культуры и науки должно быть положено теми, кто знал их живыми, слышал их страстную речь, кто видел, как они трудятся, одним словом, теми, кто дышал с ними одним воздухом. Я видел, как он творил, слышал, как он учил, наблюдал, как он жил, как относился к людям, как создавал свою разросшуюся впоследствии школу. Для каждого, кто общался с Орбели, он дорог не только как ученый, но и как замечательный человек, обладающий исключительным обаянием», — писал Л. Г. Лейбсон (Лейбсон 1973, 6).

Задача этой статьи — раскрыть его душевный облик и передать наиболее характерные черты его личности. Писем, адресованных Орбели, огромное количество и более тысячи их сохранилось. В них проявляется отношение к нему окружающих. Носят ли обращения к нему официальный тон или дружественный характер, заискивают люди перед ним или искренно любят, живет ли он заботами других, откликнулся ли на просьбу или оказался к ней глух — все это помогает проникнуть в глубину его души.

«Мне хочется сказать о тебе как о человеке, — пишет Орбели его старый друг, видный ученый Н. В. Веселкин, — одно из твоих свойств —

деятельная доброта, непременно проявляющаяся во всех случаях, когда обращаются к тебе. Недаром тебя не только уважают, но и любят. Много сделал ты и для меня...» (Лейбсон 1973, 350).

Это подтверждают и слова ближайшей соратницы И. П. Павлова Марии Капитоновны Петровой: «Он истинный проводник, достойный продолжатель и расширитель учения Ивана Петровича. Тысячу раз прав был Иван Петрович, когда считал Л. А. Орбели широко, всесторонне образованным физиологом, прекрасно ведущим свое дело, отдавал ему честь и как в высшей степени порядочному, благородному и доброжелательному во всем человеку» (Ноздрачев и др. 2004, 627).

Немало писем было получено Орбели во время войны от его сотрудников с фронта. «Были жестокие штурмы, — пишет сотрудник Орбели М. М. Рейдле, — были кровавые бои, кошмарные ночи с воем сирен и грохотом разрушаемых немецкой авиацией зданий, был артиллерийский обстрел города, холод, голод, смерть близких. Ваши сотрудники в рядах доблестных ленинградцев вынесли все это, вынесли больше, чем в человеческих возможностях. Вы, Леон Абгарович, были с нами, Вы были впереди нас, Вы ободряли и вдохновляли нас. Вы были в передовых шеренгах тех, кто разделил великие страдания, великое мужество и бессмертное страдание Ленинграда» (Лейбсон 1973, 351).

Очень ярко выражено отношение к Орбели его учениками в адресе, преподнесенном к юбилею научной деятельности: «Дорогой Леон Абгарович! Ваш образ человека и ученого, учителя и друга, Ваша простота, прямота и принципиальность всех Ваших дел, соединенная с мягкостью, высокой человечностью, Ваше отношение к своему долгу служит для всех нас важным примером, заставляет каждого из нас гордиться правом считать себя Вашим учеником...» (Лейбсон 1973, 352).

В своих воспоминаниях ученица Орбели Н. А. Галицкая пишет: «Леона Абгаровича обвиняли за его любовь к ближнему, в этом человеке сочеталось все — и величие, и простота, и безумная, всепоглощающая время работа. Все было дано этому большому человеку, он никогда не боялся уронить свое достоинство, делал все, что делают люди, но никто, никогда не смел даже подумать, чтобы быть с ним непочтительным. Он всегда для нас был на пьедестале, говоря с ним о чем угодно, мы всегда ощущали его величие, его особенность и были полны к нему уважения. От него мы уходили как-то обновленные, словно омыли себя в светлом чистом источнике, и мы ничего не боялись, жили как в каком-то оазисе и думали, что везде так. При нем немыслима была фальшь, подлость, подсиживание, выживание своего товарища, даже намеки на это сразу им пресекался.

Орбели всегда приходил на помощь людям, он никогда не оставлял в беде пострадавшего человека. Всю свою энергию, авторитет он употреблял для восстановления справедливости, для облегчения жизни и участи тех людей, кому его помощь была нужна. Неоценимо было участие Орбели в судьбе людей, пострадавших безвинно. Он бесстрашно шел хлопотать за несправедливо наказанных в сталинское время своих сотрудников. Для их защиты помимо доброй воли нужна была и большая смелость. Все боялись это делать. Если уж человек попал в беду — подальше от него. А он хлопотал, доказывал, что знал человека всю жизнь, ручался за него головой, и, даже больше того, мог поехать к высланному. Где найдешь таких бесстрашных прямолинейных людей? Все, что исходило от этого доброго человека, дышало настоящим большим теплом. Он помогал всем — слушателям академии, аспирантам, коллегам и совершенно незнакомым людям.

Помню, пришел один студент и сказал, что заместитель начальника Военно-Медицинской академии не разрешает ему ехать хоронить мать. Леон Абгарович вскипел и сказал: “А у него-то есть мать, или он рожден чертом? Не пустить хоронить мать! Поезжайте, мой друг, и вот Вам деньги на похороны”. Когда тот запротестовал, он сказал: “Потом отдадите, ведь у меня денег много, необязательно отдавать, поверьте мне, я не погибну без этой мизерной суммы, а Вам нужны деньги на похороны — похороны, кроме горя, связаны с издержками» (Галицкая 1967, 1–5).

Готовность Орбели облегчить всеми доступными ему способами жизнь тех, кто к нему обращался, была безгранична, он был исключительно внимателен и удивительно прост в обращении с людьми. Это проявлялось и в большом,

и в малом. Помочь достать лекарство, получить место в больнице, санатории, доме отдыха — со всем этим обращались к нему. Он умел сразу расположить к себе собеседника, и тот мог делиться с ним любой заботой, относилась ли она к научной работе, к бытовым трудностям или семейным неприятностям. Обычно люди уходили от него окрыленными.

Орбели бывал очень редко несправедлив к людям. Конечно, он был живым человеком и было бы оскорбительно для его памяти изображать его непогрешимым. Бывали случаи, когда он слишком долго помнил о некрасивом поступке, но редко впадал в гнев, и, как правило, гнев его был обоснован. Он умел сдерживать себя и проявлять к людям неизменное внимание и терпимость (Лейбсон 1973).

Трудно описать несколькими словами образ «Великого Человека», такого как Орбели. Его имя было окружено легендами, хотя в них больше правды, чем вымысла.

О вышесказанном свидетельствуют многочисленные письма к Орбели, хранящиеся в фондах дома-музея братьев Орбели, и доказательство этому — история одного письма.

В 1957 году к Леону Орбели обратился за помощью с берегов Ангары совершенно незнакомый человек, инвалид Великой Отечественной войны I группы, пенсионер Министерства Обороны СССР Харин Петр Ефимович, проживавший в городе Иркутск, поселок Кузьмиха, АнгарГЭС-строй, ул. Бородина, д. 54. Текст писем сохранен в оригинале (Харин 1957).

28 июля 1957 г.

Мне 39 лет, я инвалид Отечественной войны I группы, получаю пенсию 748 рублей в месяц, состав семьи 5 человек: я, жена и трое детей. Дети ученики. Старший пойдет в 10 класс, а младшие сын и дочь в начальные классы.

С 1937 года взят был в Армию и вышел в 1947 году, из них 4 года на фронте, 4 раза ранен. В войну был командиром танка, командиром взвода и командиром роты. Передвигаюсь в настоящее время на костылях. Меня оперировали 16 раз. Все здоровье отдал Родине. Имею правительственные награды. Материальное положение семьи очень тяжелое. Пенсии не хватает на прожиточный минимум. Дети не имеют ничего из обуви и одежды, а купить я не в состоянии. Если бы я мог работать, конечно, я их обеспечил бы. Дети мои ведь также имеют право на человеческое житье, за это я защищал их от фашизма. Областной военкомат ежегодно кроме пенсии выдает мне единовременное пособие 300 рублей, но все равно на эту сумму 3 не оденешь, ибо все еще

дорого. К зиме у всей семьи нет ни валенок, ни теплой одежды, а хочется детей подрастить и подучить — это святая моя обязанность. Вы человек большой, дорогой академик, а значит и простой. Мне для самого ничего не нужно, я прошу ради детей, они не виноваты, они хотят жить и мне их жаль. Мне очень стыдно, я пишу против веления сердца.

С уважением, П. Е. Харин

30 августа 1957 г.

Дорогой Леон Абгарович!

Разрешите мне простому человеку поздравить Вас с днем 55-летия Вашей научно-педагогической деятельности на благо нашего народа, с днем 75-летия со дня рождения и с получением высокой правительственной награды ордена Ленина и от всего чистого сердца пожелать Вам крепкого здоровья.

Вы поймете меня, дорогой академик, что я, моя жена и мои дети желаем Вам еще долгих лет жизни. Спасибо и еще раз спасибо. Благодарим от всей души за искреннюю заботу о наших детях. Никогда они этого не забудут. Если можете, объясните мне хотя бы в двух словах, для меня непонятно, как и что. Я написал академику Орбели — физиологу, оказалось как-то, что письмо мое еще попало к Орбели и тоже к академику, только не знаю по какой науке. Если я не ошибаюсь, два академика Орбели родные братья или нет. Если можно, ответьте мне, очень прошу Вас. Я получил от академика Иосифа Абгаровича перевод 400 рублей и от Вас, Леон Абгарович, 500 рублей. Вот на эти деньги мы поехали в Иркутск с женой, взяли обоих сынов и купили им по валенкам.

Все Ваши деньги до копейки мы израсходовали на детей. Дети, сыны мои, сияли от счастья, они были на вершине блаженства. Так разве они и мы с женой можем забыть Вас.

Леон Абгарович, мой старший сын закончил школу и получил аттестат зрелости. Его зачислили на первый курс Горного факультета. Сын и я очень довольны, он приложит все силы, чтобы учиться только хорошо, как бы это трудно не было, в этом он дал слово и просил меня сообщить Вам, что будет учиться как учился академик Орбели. Так вот, он мне задал вопрос: «Папа, ты разве знаком с академиком Орбели и почему тебе прислали деньги, ты просил?» Я, конечно, рассказал правду, как есть. Он мне сказал: «Папа, это нехорошо!» Я ему ответил: «Сын мой, конечно это нехорошо, но это честно, открыто и правдиво, у меня не было выхода, а я не знал, как выйти из тяжелого

положения, мне было тяжело, совесть моя говорила “не надо”, но я это сделал ради вас и когда-нибудь, если в жизни придется тебе встретить в будущем человека по фамилии Орбели и этот человек будет нуждаться в помощи, ты обязан разделить все, снять свою последнюю рубашку и отдать если это нужно будет, но отплати».

Еще раз спасибо Вам за помощь от всей моей семьи. Сейчас у обоих моих сынов все необходимое почти есть. Сами мы с женой не обращаем на себя внимание, мы живем только для детей.

С уважением, П. Е. Харин

25 ноября 1957 г.

Уважаемый Леон Абгарович, если когда-нибудь, может быть, случайно заедете в наши Палестины, может быть, кто-нибудь из Вашей семьи заедет посмотреть первенец Гидростанции, а я живу в самом сердце ГЭС, прошу убедительно заехать ко мне. Вся моя семья будет очень рада. Это великая честь для нас. Вообще кто заедет в наши края из Вашей фамилии, прошу посетить инвалида Отечественной войны. Я буду очень рад и все что буду иметь угощу от чистого сердца и всей души. Еще раз желаю Вам здоровья, берегите его. Вам ведь, Леон Абгарович, 76 год пошел.

С уважением, П. Е. Харин

Это ли не наглядное доказательство доброты и великодушия Леона Абгаровича и его брата Иосифа Абгаровича (рис. 1, 2).

Интересно собственное высказывание Леона Орбели на эту тему. Выступая в 1957 году во время чествования в связи с 75-летним юбилеем, он говорил, что «родился в рубашке, что ему с самого детства, всю жизнь везло. Прежде всего, родители, которые были действительно замечательными и дали много... братья, без контакта с которыми в течение всей жизни не было бы..., гимназия (учителя, привившие...) — все замечательно, но в чем же главное счастье? В том, что на протяжении всей своей жизни я довольно часто и много имел возможности делать людям добро» (Григорьян 2002, 205–206).

Какая же потребность в добре должна быть у человека, если возможность его делать составляет основное счастье жизни!

Пусть эти воспоминания о нем будут светлой памятью корифею мировой науки, мыслителю, мудрому ученому, человеку с отеческой добротой, который всю жизнь стремился к подавлению в себе и других свойства, названного И. П. Павловым «рефлексом рабства».

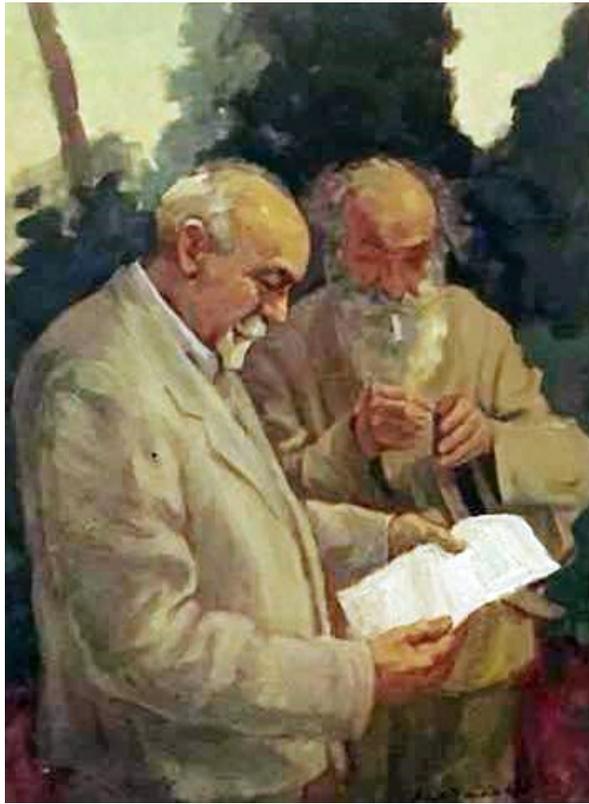


Рис. 1. Братья Орбели, Комарово, 1957 г. Художник Елена Сергеевна Аладжалова.
Фонд дома-музея братьев Орбели, № LO-629

Fig. 1. The Orbeli brothers, Komarovo, 1957. Elena S. Alajalova. House-Museum of the Orbeli Brothers
Foundation, no. LO-629

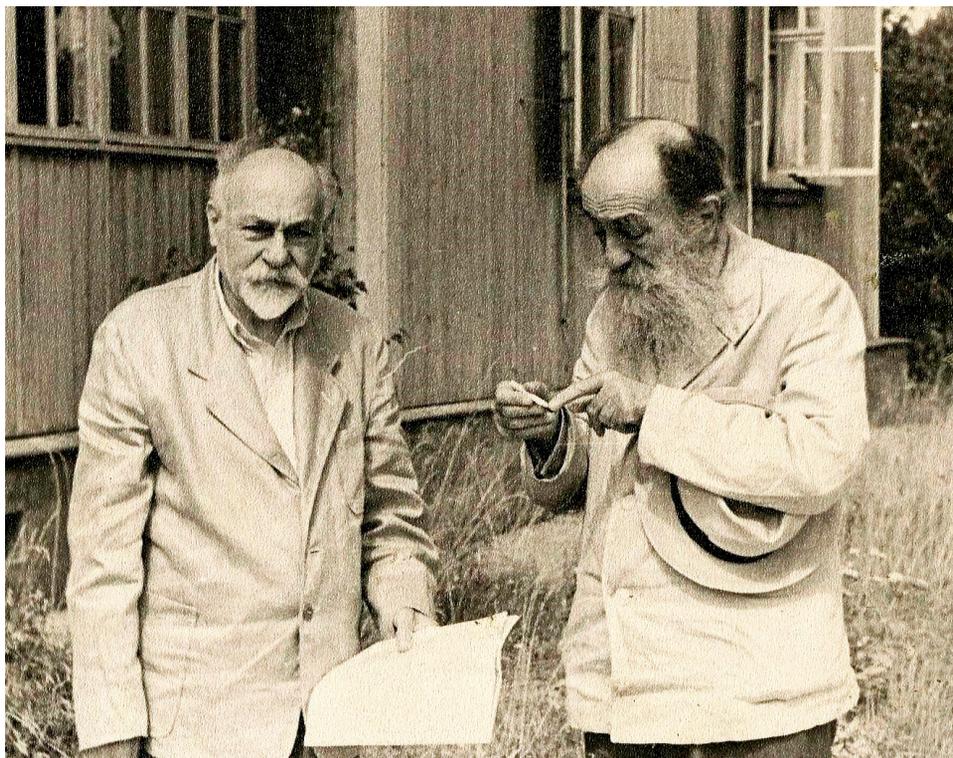


Рис. 2. Братья Леон и Иосиф Орбели, 1957 г. (из собрания дома-музея братьев Орбели)

Fig. 2. Brothers Leon and Joseph Orbeli, 1957. Collection of the House-Museum of the Orbeli Brothers

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The author declares declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Литература

- Галицкая, Н. А. (1967) *Личные воспоминания об академике Л. А. Орбели*. Фонд дома-музея братьев Орбели, 5 с.
- Григорьян, Н. А. (2002) *Научная династия Орбели*. М.: Наука, 522 с.
- Лейбсон, Л. Г. (1973) *Леон Абгарович Орбели*. Л.: Наука, 448 с.
- Ноздрачев, А. Д., Поляков, Е. Л., Космачевская, Э. А. и др. (2004) *И. П. Павлов — первый Нобелевский лауреат России. Т. 2. Павлов без ретуши*. СПб.: Гуманистика, 815 с.
- Харин, П. Е. (1957) *Письма к Л. А. Орбели*. Фонд дома-музея братьев Орбели, № LO-732.

References

- Galitskaya, N. A. (1967) *Lichnye vospominaniya ob akademike L. A. Orbeli [Personal memories about Academician L. A. Orbeli]*. House-Museum of the Orbeli Brothers Foundation, 5 p. (In Russian)
- Grigor'yan, N. A. (2002) *Nauchnaya dinastiya Orbeli [Science dynasty of Orbeli]*. Moscow: Nauka Publ., 522 p. (In Russian)
- Kharin, P. E. (1957) *Pis'ma k L. A. Orbeli. [Letters to L. A. Orbeli]*. House-Museum of the Orbeli Brothers Foundation. LO-732. (In Russian)
- Leibson, L. G. (1973) *Leon Abgarovich Orbeli [Leon Abgarovich Orbeli]*. Leningrad: Nauka Publ., 448 p. (In Russian)
- Nozdrachev, A. D., Polyakov, E. L., Kosmachevskaya, E. A. et al. (2004) *I. P. Pavlov — pervyj Nobelevskij laureat Rossii. T. 2. Pavlov bez retushi [I. P. Pavlov is the first Nobel laureate of Russia. Vol. 2. Pavlov without retouching]*. Saint Petersburg: Gumanistika Publ., 815 p. (In Russian)



УДК 612.822.3

EDN PBTPTJ

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-402-410>

Буддийский тибетский феномен «тукдам» как объект исследования для получения новых знаний в интегративной физиологии. Организационные и методологические аспекты

С. В. Медведев¹, Ю. А. Бойцова¹, Ю. А. Бубеев¹, Е. В. Кокурина^{✉1,2}

¹ Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Россия, г. Москва, Хорошевское шоссе, д. 76А

² Фонд поддержки исследований мозга имени академика Натальи Бехтеревой, 197101, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Кронверкская, д. 29/37

Сведения об авторах

Святослав Всеволодович Медведев, SPIN-код: 9461-7203, ORCID: 0000-0003-2503-9131, Scopus AuthorID: 18341345100, e-mail: svmedvedev2006@mail.ru

Юлия Александровна Бойцова, SPIN-код: 3880-3862, ORCID: 0000-0002-0492-0117, Scopus AuthorID: 36105298100, e-mail: Boytsova.ihb@gmail.com

Юрий Аркадьевич Бубеев, SPIN-код: 6548-0280, e-mail: milmed@mail.ru

Елена Вячеславовна Кокурина, e-mail: kokurinae@mail.ru

Для цитирования: Медведев, С. В., Бойцова, Ю. А., Бубеев, Ю. А., Кокурина, Е. В. (2022) Буддийский тибетский феномен «тукдам» как объект исследования для получения новых знаний в интегративной физиологии. Организационные и методологические аспекты. *Интегративная физиология*, т. 3, № 4, с. 402–410. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-402-410> EDN PBTPTJ

Получена 16 октября 2022; прошла рецензирование 27 ноября 2022; принята 27 ноября 2022.

Финансирование: Исследования проведены при поддержке Фонда имени академика Натальи Бехтеревой.

Права: © С. В. Медведев, Ю. А. Бойцова, Ю. А. Бубеев, Е. В. Кокурина (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](#).

Аннотация. Буддийский тысячелетний опыт накопил множество наблюдений, которые малоизвестны или совсем неизвестны науке Запада, однако эти наблюдения могут быть для нее очень важны. При этом наибольший интерес в данном случае представляют дополнительные возможности изучения основной психофизиологической проблемы: взаимодействия сознания и тела. Для комплексного научного исследования описанных в буддийской литературе феноменов, прежде всего, необходима верификация этих феноменов методами западной науки. В статье это проиллюстрировано на примере международного комплексного междисциплинарного исследования по изучению тибетского буддийского феномена «тукдам», который, согласно тибетским источникам, проявляется в том, что тело опытного практика медитации может оставаться сохранным до нескольких недель после смерти. В рамках проекта на территории трех буддийских тибетских монастырей Индии созданы российские физиологические лаборатории, задачей которых являются не только исследования, но и подготовка нового класса исследователей в рамках программы “Middle-Way Approach in Neuroscience”. Важную часть проекта составляет исследование согласованной системы медитаций, которые тибетские монахи практикуют при жизни. Применение разработанного подхода позволяет привести научные доказательства объективного существования ряда описанных в буддийской литературе феноменов.

Ключевые слова: психофизиология, электроэнцефалограмма, негативность рассогласования, медитация, измененные состояния сознания

The Tibetan Buddhist phenomenon *tukdam* as an object of research for obtaining new knowledge in integrative physiology: Organizational and methodological aspects

S. V. Medvedev¹, Yu. A. Boytsova¹, Yu. A. Bubeev¹, E. V. Kokurina^{1,2}

¹ Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, 76A Khoroshevskoe Highway, Moscow 123007, Russia

² N. P. Bekhtereva Foundation for Brain Research Support, 29/37 Kronverkskaya Str., Saint Petersburg 197101, Russia

Authors

Svyatoslav V. Medvedev, SPIN: 9461-7203, ORCID: 0000-0003-2503-9131, Scopus Author ID: 18341345100, e-mail: svmedvedev2006@mail.ru

Yulia A. Boytsova, SPIN: 3880-3862, ORCID: 0000-0002-0492-0117, Scopus AuthorID: 36105298100, e-mail: Boytsova.ihb@gmail.com

Yuri A. Bubeev, SPIN: 6548-0280, e-mail: milmed@mail.ru

Elena V. Kokurina, e-mail: kokurinae@mail.ru

For citation: Medvedev, S. V., Boytsova, Yu. A., Bubeev, Yu. A., Kokurina, E. V. (2022) The Tibetan Buddhist phenomenon *tukdam* as an object of research for obtaining new knowledge in integrative physiology: Organizational and methodological aspects. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 4, pp. 402–410. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-402-410> EDN PBTPTJ

Received 16 October 2022; reviewed 27 November 2022; accepted 27 November 2022.

Funding: The research was supported by the Academician Natalia Bekhtereva Foundation.

Copyright: © S. V. Medvedev, Yu. A. Boytsova, Yu. A. Bubeev, E. V. Kokurina (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Abstract. Over thousands of years the Buddhist tradition has accumulated many observations that are little known or completely unknown to Western science. These observations, however, can be exceptionally valuable for its further development. In this respect, of special interest are additional opportunities to explore the key psychophysiological issue: the mind–body interaction. The Buddhist literature describes numerous phenomena and their comprehensive scientific study is only possible through their verification by the methods of Western science. The article discusses organizational and methodological aspects of an international multidisciplinary study of the Tibetan Buddhist phenomenon *tukdam*. In Tibetan Buddhist sources *tukdam* is referred to as the period when the body of an experienced meditation practitioner remains intact up to several weeks after his death. As part of the project, three Tibetan Buddhist monasteries in India host Russian physiological laboratories. Besides doing research, they are also engaged in training a new class of researchers as part of Middle-Way Approach in Neuroscience programme. An important part of the project is the study of a coherent system of meditations that Tibetan monks practice during their lifetime. The application of the developed approach makes it possible to provide scientific evidence for the objective existence of a number of phenomena described in Buddhist literature.

Keywords: psychophysiology, electroencephalogram, mismatch negativity, meditation, altered states of consciousness

Буддийский тысячелетний опыт накопил множество наблюдений, которые малоизвестны или совсем неизвестны науке Запада, однако эти наблюдения могут быть для нее очень важны. При этом наибольший интерес в данном случае вызывают дополнительные возможности изучения основной психофизиологической проблемы: взаимодействия сознания и тела, сформулированной еще Рене Декартом в «Первоначалах философии» (*Principia Philosophiae*) (Декарт 1989). Именно на ее решение были нацелены тысячелетние усилия буддийской школы и именно поэтому так интересно сочетание

ее исследований совместно с методами восточной и западной науки.

В течение многих веков «восточная» и «западная» науки развивались параллельно: «от идеи и знания» — в первом случае и «от эксперимента и доказательства» — во втором. Однако оказалось, что существует и третий, «срединный» путь: от идеи — к эксперименту и доказательству. Такой путь очень хорошо прослеживается на примере российской физиологии. Многие вещи были предсказаны Сеченовым (Сеченов 1903), Бехтеревым и Павловым задолго до появления возможности показать

или хотя бы измерить их инструментально. Эти гипотезы и предсказания оказались верны. Нам кажется, что этот третий путь оптимально подходит к взаимодействию западной *science* и буддийского *scholarship* (Медведев и др. 2021).

По-видимому, эти рассуждения оказались очень близки мыслям Его Святейшества Далай-ламы, который в течение более тридцати лет стремится наладить тесное взаимодействие между буддийской и западной науками. На одной из наших первых встреч, которая состоялась в 2018 г. во время Диалога российских и буддийских ученых «Понимание мира» в Дхарамсале (Индия) в рамках программы «Фундаментальное знание: диалоги российских и буддийских ученых», он произнес следующие слова: «Россия и российская наука могут стать мостом, который свяжет западную науку и буддийскую философию». Далай-лама заинтересовал нас, российских ученых, обещая предоставить возможность исследовать, с физиологической и биологической точки зрения, феномен, известный в тибетском буддизме как *тукдам* (Далай-лама XIV 2016; Rinpoche 1992). Суть феномена, согласно источникам и описанным наблюдениям, заключается в том, что тела некоторых умерших практиков могут не подвергаться разложению в течение многих дней и даже недель после того, как была зафиксирована биологическая смерть. Его Святейшество Далай-лама попросил провести научное изучение этого феномена: чем он вызван, что происходит с телом, как медитирующий монах может оказаться в этом состоянии (Медведев и др. 2021). В качестве промежуточного этапа он порекомендовал исследовать практиков, владеющих определенными типами медитаций, которые позволяют при жизни регулярно воспроизводить в медитации постепенные этапы умирания и смерти, чтобы получить возможность затем «распознать» их во время непосредственного умирания и успешно осуществить так называемую «посмертную медитацию».

При планировании проекта Его Святейшество предложил организовать исследовательский центр именно на юге Индии, где расположены крупнейшие монастырские университеты, и где живут и учатся в общей сложности около 12 тыс. монахов. Во время двух первых (2018–2019) ознакомительных экспедиций российской научной группы, куда вошли исследователи из Института мозга человека РАН, Института медико-биологических проблем РАН и МГУ им. М. В. Ломоносова, было принято решение организовать две лаборатории — в двух расположенных друг от друга на расстоянии около

500 км территориальных образованиях (Вулакurre и Mundgod), связанные общим руководством и имеющие единую программу исследований. Первая объединила три монастыря (Сера Дже, Сера Ме, Таши Лунпо), вторая — четыре (Дрепунг Гоманг, Дрепунг Лоселинг, Гаден Джангце, Гаден Шарце). Так в октябре 2019 г. внутри буддийского монастырского сообщества впервые был создан научный центр, вооруженный западной естественно-научной методологией и технологиями (Медведев и др. 2021). Причем, хотя руководят работами российские ученые, непосредственно проводят исследования на местах молодые буддийские монахи. Во время весенней экспедиции 2022 г. центр пополнился третьей лабораторией, расположенной уже на севере Индии, в тантрическом монастыре Гьюто.

Основной научной задачей проекта стало комплексное исследование измененных состояний сознания на модели медитативных техник монахов-практиков высокого уровня и изучение западными научными методами феномена посмертной медитации, известного в буддийской терминологии как *тукдам*. Таким образом, проект делится на три согласованных и связанных между собой фазы (Медведев и др. 2021):

- прижизненные исследования медитаций, рекомендованных Его Святейшеством Далай-ламой (согласно представлениям буддистов, для достижения посмертного состояния *тукдам* используется определенная самосогласованная система медитаций, которая позволяет медитирующему, владеющему техниками однонаправленного сосредоточения и сложными визуализациями, при жизни регулярно воспроизводить в медитации постепенные этапы умирания и смерти, чтобы получить возможность затем «применить» их во время непосредственного умирания);
- исследования состояния умирания / переходного состояния;
- исследования состояния тела практика после смерти и поиск возможных причин и механизмов отложенного / замедленного разложения.

Очень важно заострить внимание на том, что для российских участников проекта, представляющих в данном случае западную науку, цель исследований, прежде всего, состояла в верификации существования состояний, о которых было известно только из буддийской литературы, чтобы иметь основание исследовать их методами современной науки. Данная исследовательская

модель — определенные медитативные техники и возможность исследовать процессы умирания — может дать западной науке качественно новые знания, став кладовой для интегративной физиологии и для нового витка исследования взаимодействия — мозг / сознание — тело. Главное научное и фундаментальное значение этих исследований заключается в изучении основной психофизиологической проблемы взаимодействия материального и идеального. Предполагается, что использование буддийских медитативных практик поможет в организации более глубоких психофизиологических исследований взаимодействия — мозг/сознание — тело и, наоборот, использование психофизиологических методов поможет в получении новых знаний о буддийских явлениях. В целом для общества результаты проводимых исследований могут способствовать решению проблемы сохранения психического здоровья, а также проблемы оптимизации подачи и восприятия информации. Первая часть проекта посвящена исследованиям физиологических коррелят и механизмов медитации. Кроме очевидного теоретического значения для физиологической науки результатом данного проекта станет возможность физиологического управляемого самоконтроля над эмоциональным состоянием, а также — в какой-то степени — над состоянием организма (Кондратьева 2020).

Но чрезвычайно важно и другое. Решение этих задач невозможно без привлечения дополнительных / новых методологических и организационных подходов, которые может предоставить буддийская наука и буддийская философия. Поэтому другим главным приобретением западной науки в результате взаимодействия с наукой буддийской могут стать качественно иные исследовательские технологии интроспекции, которые так необходимы в современной науке о мозге.

Основным результатом выполнения второй части проекта — исследования тукдама — может стать, во-первых, огромный научный прорыв, поскольку понимание физиологических основ и механизмов явления, о котором в современной науке нет никаких предположений, крайне важно. Во-вторых, это даст практические выходы для медицины: начиная с возможности сохранения организма при ожидании подбора донора для пересадки органов до искусственного ввода организма в состояние анабиоза. Кроме того, на этом пути наверняка будет получен целый ряд знаний, как это всегда бывает при исследовании совершенно нового и непонятого феномена, в частности, о существовании тканей и всего организма в экстремальных условиях (Кондратьева 2020).

Естественно, решение подобных задач не под силу одной лаборатории, институту или университету. Необходимо объединение сил, работок и подходов. Поэтому проект спланирован как комплексная междисциплинарная фундаментальная научная работа, в которой объединились исследователи мозга России, представляющие несколько научных школ, а также специалисты по общей физиологии человека, без которых невозможно изучение влияния медитативных практик на организм в целом (Медведев и др. 2021). Начиная с апреля 2020 г. проект стал международным — российские ученые объединили усилия в изучении тукдама с группой профессора Ричарда Дэвидсона из Университета штата Висконсин (США), а также медицинских специалистов из Института тибетской медицины и астрологии (Менци-кханг) и государственного госпиталя Делек, находящихся в Дарамсале (Индия).

И организационно, и методологически решение этих задач невозможно и без объединенной работы представителей как «западной», так и «восточной» — буддийской науки. Поэтому в рамках проекта осуществляется программа подготовки монахов-исследователей “Middle-Way Approach in Neuroscience”, рассчитанная на 52 учебных часа. В принципе, монахи и прежде принимали участие в нейрофизиологических исследованиях западных ученых, но их роль была только сугубо технической, например, закрепление электродов на голове испытуемого перед записью ЭЭГ. Большинство из них не понимали смысл происходящего. В нашем проекте они становятся полноправными исследователями, и это принципиально. Неслучайно это вызвало большой резонанс в буддийской монастырской среде: они высоко оценили, что не их изучают европейцы, а они сами себя изучают по замыслу Далай-ламы, для лучшего понимания своей философии, ее признания и лучшего понимания в мире, а также тех физиологических изменений, которые происходят в их организме. Полагаем, это очень нам помогло в нашей дальнейшей работе (Медведев и др. 2021).

Проект является долгосрочным, и три его фазы: исследование прижизненных медитаций — исследование процесса умирания (*perimortem studies*) — исследование непосредственных случаев тукдама (*post-mortem studies*), идут параллельно.

В организации этих работ встает одна серьезнейшая проблема. Дело в том, что практически нет научного описания, подтверждающего само существование феномена тукдам. Точно также

нет и научного подтверждения прекращения связи с внешним миром при медитациях, ведущих к тукдаму. Есть только буддистские описания с употреблением мистических аргументов. Поэтому перед нами встала задача доказательства самого существования этих явлений методами современной науки. Мы исследуем не жизнь после смерти, не буддийские состояния сознания, а объективно существующее состояние человеческого тела после зафиксированной медиками смерти, заключающееся в чрезвычайно замедленном процессе распада тканей, стабилизации состояния тела с помощью объективных методов биохимии и физиологии.

Западных ученых до недавнего времени не допускали к исследованию и даже наблюдению тукдама, и монахи крайне неохотно соглашались демонстрировать необходимые медитации. Существенные изменения произошли в результате политики Далай-ламы (Далай-лама XIV 2018), который уже более тридцати лет осуществляет курс на сближение и взаимодействие буддийской и западной науки, результатом которого стало, в частности, включение западных естественно-научных дисциплин — физики, биологии и нейронаук — в учебную программу монастырей. С огромным трудом ему удалось убедить монашеское сообщество в том, что привлечение науки в исследование буддийских феноменов принесет пользу не только буддизму, но и всему человечеству. В результате этой его политики западные и, в частности, российские ученые получили доступ в монастыри для инструментальных исследований мозгового обеспечения медитаций. В частности, на английском языке недавно вышла публикация, в которой сделана попытка исследования активности мозга практиков после зафиксированной смерти, в состоянии тукдам (Lott et al. 2021).

На данный момент еще очень рано говорить об итогах проекта, который является долгосрочным, но можно представить некоторые промежуточные результаты, которыми мы хотели бы поделиться в данной статье.

Учитывая, что третья фаза — *post-mortem studies*, изучение непосредственных случаев тукдама, пожалуй, представляет наиболее сложную и наименее разработанную часть проекта, хотелось бы сначала подробно остановиться именно на ней. Повторим, что согласно буддийским источникам и описанным наблюдениям, тела некоторых умерших практиков могут не подвергаться разложению в течение многих дней и даже нескольких недель после того, как была зафиксирована биологическая смерть (Медведев и др. 2021).

Нашей задачей на первом этапе было подтвердить или опровергнуть существование данного феномена без объяснения его возможных механизмов. С этой целью мы пригласили для участия в проекте двух профессиональных судебно-медицинских экспертов, с российской и американской стороны, которые независимо друг от друга наблюдали исследуемые случаи и должны были объективно оценивать сроки развития трупных изменений и декомпозиции тела. Всего на данный момент было исследовано в общей сложности 18 случаев, из них совместно с американской группой — шесть, продолжительностью от шести до 39 дней от момента, когда биологическая смерть была официально зафиксирована медиками. Вот выдержка из совместного заключения экспертов после сравнительного изучения нескольких случаев, которые, как можно видеть, неравнозначны:

«Проведено исследование четырех случаев на предмет стадийности и времени развития поздних трупных изменений. В первых трех случаях установлено соответствие общепринятому порядку развития стадий поздних трупных изменений и времени их появления. В четвертом случае, длительность наблюдения которого составила 39 дней, выявлено выраженное несоответствие времени и порядка появления поздних трупных изменений, заключающееся в значительном удлинении временного интервала их появления и степени выраженности поздних трупных изменений, с последующим их стремительным развитием на поздних сроках исследования.

Таким образом, в процессе исследования обнаружено новое, ранее не описанное явление — значительного замедления развития поздних трупных изменений тканей тела. Выявленный феномен требует дальнейшего детального изучения подобных случаев для установления причин его возникновения и его возможной связи с явлением, которое в буддийской культуре определяется понятием «тукдам».

Можно сказать, что обнаружено явление, заключающееся не только в отставленном процессе разложения, но и в полном изменении фаз процесса, которые прежде не описаны в судебно-медицинской литературе. Полученные предварительные данные позволяют с полным основанием продолжать изучение этого феномена методами и средствами современной науки.

Теперь поговорим о второй, не менее интересной и непосредственно связанной с предыдущей, задаче — прижизненных исследованиях медита-

тивных практик, рекомендованных Его Святейшеством Далай-ламой.

Обязательные подготовительные практики:

- 1) Аналитические и однонаправленные медитации для постижения пустоты;
- 2) Аналитические и однонаправленные медитации для развития сострадания / бодхичитты.

Основные практики:

Медитация (высшей йога-тантры) *привнесения дхармакаи смерти на путь*.

Согласно представлениям буддистов (Далай-лама XIV 2016; Dalai Lama XIV, Hopkins 2004), для достижения посмертного состояния тукдам используется определенная самосогласованная система медитаций. Повторимся, что эта система медитаций позволяет медитирующему, владеющему техниками однонаправленного сосредоточения и сложными визуализациями, при жизни регулярно воспроизводить в медитации постепенные этапы умирания и смерти, чтобы получить возможность затем «распознать» их во время непосредственного умирания и успешно осуществить посмертную медитацию, оказывающую описанное выше влияние на физическое тело.

Нам удалось собрать очень большой материал для этой фазы исследования — прижизненные записи ЭЭГ в процессе нескольких видов медитации у практиков разного уровня, разделенных на три группы. В течение 2019 г. и в феврале–марте 2020 г. исследовано 104 человека, во время весенней экспедиции 2022 г. мы исследовали еще 26 испытуемых, уже только опытных практиков-экспертов (Бойцова и др. 2021). Стоит отметить, что это уникальная выборка практикующих монахов в условиях их естественного проживания и медитативного опыта. Обработанные и проанализированные данные, полученные в 2019–2020 гг., стали отправным материалом для статьи, вышедшей в августе этого года (Medvedev et al. 2022), в число авторов которой входят как российские ученые, так и монахи-исследователи.

На основании полученных результатов можно сделать вывод: исследуемые типы медитативных практик позволяют воздействовать на автоматические механизмы мозга, отвечающие за контакт с внешним миром. Очень важно отметить, что эти механизмы, согласно более ранним работам ученых Института мозга человека РАН и некоторых зарубежных исследователей, действуют даже в мозге человека, находящегося в коме. Можно сказать так: медитация позволяет воздействовать на базовые автоматические механизмы мозга, на не-

которые системы, которые в нормальной ситуации не регулируются (Медведев и др. 2021).

Наиболее подходящим методом исследования феномена «ухода» от мира мы сочли исследование сигналов негативности рассогласования (НР). Суть его заключается в том, что при восприятии потока одинаковых, «стандартных» звуковых стимулов мозг автоматически реагирует сигналом большей амплитуды на импульс близкой, но другой частоты. Это проявляется в появлении негативного пика в разности между потенциалами, связанными с событиями (ПСС) на стандартный и девиантный стимулы, почему феномен и был назван «негативность рассогласования». Этот эффект основан на работе базового мозгового механизма контроля за соблюдением стандарта в окружающем мире — механизма детекции ошибок (Бехтерева 1971; Bekhtereva et al. 2005). Его невозможно «выключить», и он проявляется даже в коме (Morlet, Fischer 2014).

Проведенное стандартное исследование ПСС в этой парадигме показало значимое снижение амплитуды НР, что может служить доказательством следующего: несмотря на то, что сенсорная информация поступает в слуховую кору, дальнейшая когнитивная обработка и восприятие сенсорных сигналов снижается (Medvedev et al. 2022). Таким образом нам удалось подтвердить «отгораживание» практика от внешнего мира, то есть, что описываемый монахами эффект существует.

Если же взглянуть на предмет исследования шире, то в процессе выполнения данного проекта мы осваиваем уникальный и бесценный инструмент для изучения мозгового обеспечения сознания и мышления, что представляет собой крайне нетривиальную задачу. Одной из основных проблем в организации эксперимента в этой области является правильная и одинаковая для всех испытуемых организация мыслительного процесса и состояния сознания и достаточно долгое поддержание определенного состояния. Как раз именно этому прежде всего и учатся практикующие монахи, как и осознанному переходу в измененные состояния сознания. Поэтому с методологической точки зрения монахи являются идеальными кандидатами для исследования измененных состояний сознания. В этом смысле исследование медитаций у «профессиональных» монахов является адекватным методом изучения механизмов сознания и его измененных состояний, потому что исследователь может четко задать тип измененного состояния сознания, степень изменения состояния, и, что

очень важно, получить существенно более однородную группу испытуемых.

Мозг человека в каждый момент времени занят выполнением большого количества разнообразных задач. Кроме главной на текущий момент деятельности, он замечает, что происходит вокруг, поддерживает внимание к различным звукам, помнит, что в определенное время необходимо выполнить какое-то действие. Это создает серьезные трудности для исследования мышления и сознания, поскольку трудно выделить для исследования определенный вид деятельности. Медитация позволяет радикально снизить влияние «посторонних» мыслей, то есть появляется возможность исследовать «чистые» формы активности.

Кроме того, само по себе состояние и активность мозга при медитации представляют значительный интерес для науки. Медитации — один из немногих инструментов для изучения глубоких механизмов сознания, потому что именно медитативные техники позволяют оперировать элементами ума (Экман, Далай-лама 2017; Dalai Lama, Kamalashila 2019). В частности, можно будет узнать, как разные медитации влияют на мозг и на организм в целом. Знание этих механизмов позволит лучше понять природу человека и найти пути для его естественного совершенствования. Таким образом, мы надеемся, что наше исследование медитативных практик, которые могут привести опытных практиков к посмертному медитативному состоянию, поможет понять психофизиологическую основу не только состояния «тукдам», но и продвинуть наше понимание физиологических механизмов человеческого сознания.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Список сокращений

ЭЭГ — электроэнцефалограмма; ПСС — потенциалы, связанные с событиями; НР — негативность рассогласования.

List of Abbreviations

EEG—electroencephalogram; ERP—event related potentials; MMN—mismatch negativity.

Литература

Бехтерева, Н. П. (1971) *Нейрофизиологические аспекты психической деятельности человека*. М.: Медицина, 152 с.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Вклад авторов

- a. Медведев Святослав Всеволодович — разработка дизайна исследования и научное руководство проектом;
- b. Бойцова Юлия Александровна — участие в подготовке публикации, сбор и обработка экспериментальных данных;
- c. Бубеев Юрий Аркадьевич — участие в подготовке публикации, консультационная поддержка проекта;
- d. Кокурина Елена Вячеславовна — написание публикации, разработка организационной структуры проекта, участие в сборе экспериментальных данных.

Author Contributions

- a. Svyatoslav V. Medvedev designed the study and provided intellectual stewardship of the project;
- b. Yulia A. Boytsova contributed to the preparation of the publication, collected and processed the experimental data;
- c. Yuri A. Bubeev contributed to the preparation of the publication, consulted the project team;
- d. Elena V. Kokurina drafted the manuscript, developed the organizational structure of the project, collected the experimental data.

Благодарности

Авторы выражают благодарность настоятелям буддийских монастырских университетов Индии за неоценимую поддержку проекта.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to the abbots of the Buddhist monastic universities in India for their invaluable support of the project.

- Бойцова, Ю. А., Кокурина, Е. В., Бубеев, Ю. А., Медведев, С. В. (2021) Подходы к объективной оценке успешности медитации во время ЭЭГ исследований. *Труды Института востоковедения РАН*, № 31, с. 40–51.
- Далай-лама XIV (2016) *Ум ясного света. Комментарий к молитве «Герой, спасающий от страха» Первого Панчен-ламы*. М.: Фонд «Сохраним Тибет», 184 с.
- Далай-лама XIV (2018) *Вселенная в одном атоме. Буддизм и наука на службе миру*. М.: Фонд «Сохраним Тибет», 235 с.
- Декарт, Р. (1989) *Сочинения: в 2 т. Т. 1*. М.: Мысль, 654 с.
- Кондратьева, Е. (2020) Российские физиологи учатся у монахов управлять мозгом. *Взгляд*, 12 сентября. [Электронный ресурс]. URL: <https://vz.ru/society/2020/9/12/1060075.html> (дата обращения 12.09.2020).
- Медведев, С. В., Бойцова, Ю. А., Каплан, А. Я. и др. (2021) Физиологическая лаборатория в буддистском монастыре. Зачем и как. *Труды Института востоковедения РАН*, № 31, с. 19–39.
- Сеченов, И. М. (1903) *Элементы мысли*. М.: Научное слово, 125 с.
- Экман, П. Далай-лама (2017) *Мудрость Востока и Запада. Психология равновесия*. СПб.: Питер, 384 с.
- Bekhtereva, N. P., Shemyakina, N. V., Starchenko, M. G. et al. (2005) Error detection mechanisms of the brain: Background and prospects. *International Journal of Psychophysiology*, vol. 58, no. 2-3, pp. 227–234. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2005.06.005>
- Dalai Lama XIV, Hopkins, J. (2004) *Mind of clear light: Advice on living well and dying consciously*. New York: Atria Books Publ., 240 p.
- Dalai Lama, Kamalashila (2019) *Stages of meditation: The Buddhist classic on training the mind (Core teachings of Dalai Lama, Book 5)*. Boulder: Shambala Publ., 154 p.
- Lott, D. T., Yeshi, T., Norchung, N. et al. (2021) No detectable electroencephalographic activity after clinical declaration of death among Tibetan Buddhist meditators in apparent Tukdam, a putative postmortem meditation state. *Frontiers in Psychology*, vol. 11, article 599190. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.599190>
- Medvedev, S. V., Boytsova, J. A., Bubeev, Y. A. et al. (2022) Traditional Buddhist meditations reduce mismatch negativity in experienced monks-practitioners. *International Journal of Psychophysiology*, vol. 31, no. 181, pp. 112–124. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2022.08.011>
- Morlet, D., Fischer, C. (2014) MMN and novelty P3 in coma and other altered states of consciousness: A review. *Brain Topography: A Journal of Cerebral Function and Dynamics*, vol. 27, no. 4, pp. 467–479. <https://doi.org/10.1007/s10548-013-0335-5>
- Rinpoche, S. (1992) *The Tibetan book of living and dying*. New York: Harper Collins Publ., 175 p.

References

- Bekhtereva, N. P. (1971) *Nejrofiziologicheskie aspekty psikhicheskoy deyatel'nosti cheloveka [Neurophysiological aspects of human mental activity]*. Moscow: Meditsina Publ., 152 p. (In Russian)
- Bekhtereva, N. P., Shemyakina, N. V., Starchenko, M. G. et al. (2005) Error detection mechanisms of the brain: Background and prospects. *International Journal of Psychophysiology*, vol. 58, no. 2-3, pp. 227–234. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2005.06.005> (In English)
- Boytsova, Yu. A., Kokurina, E. V., Bubeev, Yu. A., Medvedev, S. V. (2021) Podkhody k ob'ektivnoj otsenke uspeshnosti meditatsii vo vremya EEG issledovaniy [Approaches to objective evaluation of the meditation level during EEG recording]. *Tруды Института востоковедения РАН — Proceedings of the Institute of Oriental Studies of RAS*, no. 31, pp. 40–51. (In Russian)
- Dalai Lama XIV (2016) *Ум ясного света. Комментарий к молитве «Герой, спасающий от страха» Первого Панчен-ламы [Mind of clear light. First Panchen Lama's "Hero saving from fear" prayer commentary]*. Moscow: Fond "Sokhranim Tibet" Publ., 184 p. (In Russian)
- Dalai Lama XIV (2018) *Vselennaya v odnom atome. Buddizm i nauka na sluzhbe miru [The Universe in a single atom. Buddhism and science in service to peace]*. Moscow: Fond "Sokhranim Tibet" Publ., 235 p. (In Russian)
- Dalai Lama XIV, Hopkins, J. (2004) *Mind of clear light: Advice on living well and dying consciously*. New York: Atria Books Publ., 240 p. (In English)
- Dalai Lama, Kamalashila (2019) *Stages of meditation: The Buddhist classic on training the mind (Core teachings of Dalai Lama, Book 5)*. Boulder: Shambala Publ., 154 p. (In English)
- Descartes, R. (1989) *Sochineniya: v 2 t. T. 1 [Writings: In 2 vols. Vol. 1]*. Moscow: Mysl' Publ., 654 p. (In Russian)
- Ekman, P., Dalai Lama (2017) *Mudrost' Vostoka i Zapada. Psikhologiya ravnovesiya [East and West wisdom. Psychology of equilibrium]*. Saint Petersburg: Piter Publ., 384 p. (In Russian)
- Kondrat'eva, E. (2020) Rossijskie fiziologi uchatsya u monakhov upravlyt' mozgom [Russian physiology learn from monks to control the brain]. *Vzglyad [Sight]*, 12 .September. [Online]. Available at: <https://vz.ru/society/2020/9/12/1060075.html> (accessed 12.09.2020). (In Russian)
- Lott, D. T., Yeshi, T., Norchung, N. et al. (2021) No detectable electroencephalographic activity after clinical declaration of death among Tibetan Buddhist meditators in apparent Tukdam, a putative postmortem meditation state. *Frontiers in Psychology*, vol. 11, article 599190. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.599190> (In English)

- Medvedev, S. V., Boytsova, J. A., Bubeev, Y. A. et al. (2022) Traditional Buddhist meditations reduce mismatch negativity in experienced monks-practitioners. *International Journal of Psychophysiology*, vol. 31, no. 181, pp. 112–124. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2022.08.011> (In English)
- Medvedev, S. V., Boytsova, Yu. A., Kaplan, A. Ya. et al. (2021) Fiziologicheskaya laboratoriya v buddistskom monastyre. Zachem i kak [Physiological lab in Buddhist monastery. Why and how]. *Trudy Instituta vostokovedeniya RAN — Proceedings of the Institute of Oriental Studies of RAS*, no. 31, pp. 19–39. (In Russian)
- Morlet, D., Fischer, C. (2014) MMN and novelty P3 in coma and other altered states of consciousness: A review. *Brain Topography: A Journal of Cerebral Function and Dynamics*, vol. 27, no. 4, pp. 467–479. <https://doi.org/10.1007/s10548-013-0335-5> (In English)
- Rinpoche, S. (1992) *The Tibetan book of living and dying*. New York: Harper Collins Publ., 175 p. (In English)
- Sechenov, I. M. (1903) *Elementy mysli [Elements of thoughts]*. Moscow: Nauchnoe slovo Publ., 125 p. (In Russian)



UDC 615.246

EDN QQEXFF

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-411-419>

Protective mechanisms of glutamine in intestinal diseases

N. Hamouda^{1,2}, Sh. Jonan¹, H. Fukatsu¹, K. Amagase^{✉1}

¹ College of Pharmaceutical Sciences, Ritsumeikan University, Shiga 525-8577, Japan

² Alexandria University, 22 El-Gaish Rd, Al Azarita WA Ash Shatebi, Bab Sharqi, Alexandria Governorate 5424041, Egypt

Authors

Nahla Hamouda, ORCID: 0000-0002-9436-9583, e-mail: nahla.mohamed17@alexmed.edu.eg

Shizuka Jonan, ORCID: 0000-0003-4885-7663, e-mail: gr0476fr@ed.ritsumei.ac.jp

Haruto Fukatsu, ORCID: 0000-0003-4199-2440, e-mail: ph0142ri@ed.ritsumei.ac.jp

Kikuko Amagase, ORCID: 0000-0002-7767-5028, e-mail: amagase@fc.ritsumei.ac.jp

For citation: Hamouda, N., Jonan, Sh., Fukatsu, H., Amagase, K. (2022) Protective mechanisms of glutamine in intestinal diseases. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 4, pp. 411–419. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-411-419>
EDN QQEXFF

Received 7 October 2022; reviewed 2 November 2022; accepted 2 November 2022.

Funding: The study did not receive any external funding.

Copyright: © N. Hamouda, Sh. Jonan, H. Fukatsu, K. Amagase (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Glutamine, the most abundant free amino acid in the human body, is a major molecule utilized by intestinal cells. It has been reported that glutamine is involved in intestinal physiology and management of multiple intestinal diseases. In gut physiology, glutamine promotes enterocyte proliferation, regulates tight junction proteins, suppresses pro-inflammatory signaling pathways, helps regain microbiota composition, and protects cells against apoptosis and cellular stresses during normal and pathologic conditions. The promising reported protective effects of glutamine supplementations on different experimental animal models of DSS-induced, TNBS-induced and NSAID-induced colitis, speculated a similar effect on clinical settings. As glutamine stores are depleted during severe metabolic stresses, including those associated with trauma, sepsis, and inflammatory bowel diseases, the effect of glutamine supplementation has been examined in patients to improve their clinical outcomes. In this review, we discuss the physiological roles of glutamine in intestinal health and its underlying mechanisms. In addition, we discuss recent evidence regarding the efficacy of glutamine supplementation in treating intestinal diseases.

Keywords: glutamine, intestinal function, tight junction, microbiota, animal models, inflammatory bowel disease, glutamine supplementation, clinical outcomes

Introduction

Glutamine is the most abundant amino acid in human blood, skeletal muscle, and free amino acid pool. It belongs to a family of amino acids known as glutamates (Calder 1994). It has several important physiological roles in multiple metabolic processes and energy metabolism. It is involved in the synthesis of many peptides and non-peptides, such as nucleotide bases, glutathione, and neurotransmitters (Albrecht et al. 2010; Amores-Sánchez, Medina 1999; Coster et al. 2004). In addition, it helps in the detoxification of ammonia and systemic control of acid-base balance (Patience 1990). Over the last few decades, the role

of glutamine metabolism in immune system (Calder 1994; Newsholme 2001; Newsholme et al. 1999) and cancer cells (Cairns et al. 2011; DeBerardinis, Cheng 2010; Kim, Kim 2013) has been documented, which is an important finding in the field of clinical medicine. In intestinal and renal illnesses, immune cells were found to utilize large amounts of glutamine, exceeding its endogenous production. This finding gave rise to the theory that glutamine is “conditionally essential” because plasma and muscle glutamine levels were found to be markedly reduced in these conditions compared to those in healthy individuals (Askanazi et al. 1980). Another glutamate member is the glutamic acid, which is best known

as a component of monosodium glutamate (MSG) that is responsible for the umami taste in food (Calder 1994).

Intestinal tissue utilizes about 30% of total glutamine (Wu 1998), reflecting the essential role of glutamine as a key nutrient. Approximately three quarters of enterally taken glutamine is absorbed into the splanchnic tissues, and most of it is metabolized within the intestine (Dechelotte et al. 1991; Newsholme, Carrie 1994). Glutamine functions in the intestine include maintaining nucleotide metabolism, intestinal barrier function, and modulation of inflammation, as well as regulating stress responses and apoptosis (Kim 2011; McCauley et al. 1998; Wang et al. 2015). Therefore, it is important to ensure sufficient glutamine intake during intestinal illnesses. This review aimed to highlight the role of glutamine in intestinal diseases by comparing the pathological and clinical consequence of either glutamine deficiency or abundance in previously reported experimental and clinical conditions. Some reports in literature regarding clinical outcomes after glutamine supplementations were confusing; therefore, further research should focus on the underlying protective mechanisms of glutamine, thus uncovering these conflicting results.

Physiological roles of glutamine in the intestine

Tissue integrity

Intestinal epithelial cells renew every four to five days because a continuously high level of cell proliferation is required for homeostasis (van der Flier, Clevers 2009). Generally, cell proliferation is controlled by a number of hormones and signaling pathways. When activated, crypt-residing intestinal stem cells start to differentiate into specialized epithelial cell types, including enterocytes, goblet cells, and Paneth cells, which help maintain intestinal tissue integrity (Bjerknes, Cheng 2005).

Effect of glutamine on signaling pathways

Glutamine has a profound effect on several signaling pathways. To begin with, glutamine is required for activating multiple mitogen-activated protein kinases (MAPKs), including extracellular signal-regulated (ERK1/2) and c-Jun N-terminal kinases (JNK1/2). These protein kinases orchestrate cell proliferation and differentiation (Zhang, Liu 2002). Additionally, glutamine augments the effect of several growth factors, including epidermal growth factor (EGF), insulin-like growth factor-I (IGF-I), and transforming growth factor- α (TGF- α). Cell lines cultured on media deprived of glutamine impaired EGF-stimulation of DNA, RNA, protein synthesis, and cellular replication in IEC-6 cells

(Ko et al. 1993). On the other hand, high glutamine intake significantly enhanced IGF-I-mediated DNA and protein synthesis in a rat model with short bowel syndrome (Ziegler et al. 1996). During experimental ischemia, treatment with glutamine enhanced TGF- α action on mucosal cell proliferation (Blikslager et al. 1999).

Effect of glutamine on tight junctions

Tight junctions form a continuous intercellular barrier between epithelial cells, which is required to separate tissue spaces and regulate selective movement of solutes across the epithelium. This barrier is built up of various proteins; to date, more than 40 types of tight junction proteins have been identified. They are dynamic rather than static structures, constantly remodeling their configuration with a relatively high turnover rate (Zihni et al. 2016). In the intestine, tight junctions have an additional role maintaining intestinal integrity, which prevents pathogens and toxins from entering the intestinal lumen (Mitic, Anderson 1998). Tight junction protein components fall into four main families, namely claudins, occludin, tricellulin, and junctional adhesion molecules (Anderson, van Itallie 1995). As a response to different physiological stimuli and signal pathways, these proteins modulate the transport of luminal molecules into mucosal cells by adjusting their tightness (Harhaj, Antonetti 2004). Each signaling molecule interacts with a specific tight junction protein component. For example, activation of protein kinase C results in the upregulation of occludin, zonula occludens (ZO)-1, ZO-2, and claudin 1 in primary human epithelial cells, leading to enhanced transepithelial electrical resistance (TER) (Koizumi et al. 2008). MAPKs can directly interact with the C-terminal tail of occludin, which mediates the prevention of hydrogen peroxide-induced disruption of tight junction (Basuroy et al. 2006). Furthermore, myosin light-chain kinase-induced phosphorylation of myosin light chain was found to regulate tight junction permeability in Caco-2 cells (Rigor et al. 2013; Turner et al. 1997). As a demonstration of such effects, glutamine deprivation in the human colon carcinoma cell line Caco-2 was markedly reduced by the expression of several tight junction proteins, including claudin-1, occludin, and ZO-1 (Li et al. 2004). Moreover, it significantly increased epithelial cell permeability, as determined by TER. Mechanistically, deprivation of glutamine activated the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt pathway, which led to a reduction in claudin-1 expression and TER. On the contrary, addition of glutamine to cells previously deprived of glutamine rescued the impaired barrier functions

and reduced the activation of the PI3K/Akt pathway, which reversed claudin-1 expression in the cells, suggesting that glutamine supplementation regulates the phosphorylation states of tight junction proteins. Therefore, glutamine-mediated tight junction maintenance is in part mediated by phosphorylation of tight junction proteins. Some reports showed that glutamine induced the expression of ZO-1, ZO-2, and ZO-3 and increased the abundance of claudin-1, claudin-4, and ZO-1 on plasma membranes (Wang et al. 2016). Additionally, maintaining intestinal permeability by tight junction proteins was beneficial for the treatment of multiple intestinal pathologic conditions, such as IBD and celiac disease (Lee 2015). These results suggested that glutamine supplementation could be beneficial for patients with impaired gut permeability.

Effect of glutamine on inflammatory pathways

Intestinal inflammation has shown to be the main underlying pathology in IBD, such as ulcerative colitis and Crohn's disease, as well as in colorectal cancer (Ullman, Itzkowitz 2011). Therefore, targeting intestinal inflammation is the key factor in treating such conditions. Several lines of evidence have indicated that glutamine has an anti-inflammatory property because of its influence on a number of inflammatory signaling pathways, including the nuclear factor κ B (NF- κ B) and activator of transcription (STAT) pathways (Rhoads, Wu 2009).

Under steady-state conditions, NF- κ B resides in the cytoplasm and is maintained inactive by a family of inhibitors, namely κ B inhibitors (I κ B). When phosphorylated and activated during the inflammatory state, I κ B triggers the degradation and release of κ B from NF- κ B, thus activating it. The active NF- κ B complex is then translocated into the nucleus, where it induces the expression of genes harboring NF- κ B-binding elements, such as interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α). As a result, the production of IL-6 and TNF- α highly increases during inflammation, by activating multiple target cells, such as antigen-presenting cells and T cells, and by inducing acute-phase proteins (Ganeshan, Chawla 2014). Studies showed that glutamine suppressed NF- κ B pathway activation, with intraperitoneal injection of glutamine or oral gavage suppressing NF- κ B activation in rodent models of colitis (Hou et al. 2013; Xue et al. 2011). Additionally, glutamine influences I κ B stability. In lipopolysaccharide (LPS)-treated Caco-2 cells, deprivation of glutamine reduced the expression of I κ B α , triggering an increase in the number of NF- κ B binding to DNA, as well as an increase in the expression of inflammatory cytokine interleukin-8 (IL-8) (Malhotra et al. 2002).

An *in vivo* experiment in human ileocecal adenocarcinoma HCT-8 cells showed that glutamine pre-treatment reduced the level of I κ B α degradation and production of IL-8 during TNF- α -induced inflammation (Liboni et al. 2005). In support of these data, glutamine supplementation for seven days was proven to significantly reduce I κ B α degradation, leading to the suppression of NF- κ B activation in a rat colitis model (Hubert-Buron et al. 2006). As glutamine status influences the production of IL-8, a cytokine that stimulates the migration of neutrophils to inflammatory sites, glutamine-mediated IL-8 regulation could be another important way for targeting intestinal inflammation (Kaplan 2013; Kretzmann et al. 2008).

STAT proteins have also been extensively studied for their roles in regulating inflammation. These proteins are transcription factors that modulate the immune system, cellular proliferation, and development (Kaplan 2013). In rat colitis models, glutamine administration via the rectal route reduced the phosphorylation of STAT1 and STAT5, indicating that glutamine influences STAT signaling activation (Kretzmann et al. 2008). Furthermore, in LPS-treated Caco-2 cells, glutamine depletion upregulated STAT4 expression, whereas glutamine supplementation downregulated STAT4 expression and IL-8 production (Liboni et al. 2005). Therefore, the anti-inflammatory effect of glutamine could additionally be achieved by inhibiting STAT activation and the expression of inflammatory cytokines, such as IL-6 and IL-8, in intestinal tissues.

Studies report that during inflammation NO may play a double role, with both beneficial and harmful effects. It is synthesized by multiple cells and modulates a variety of beneficial cellular signaling pathways, including inflammatory responses (Coleman 2001). Glutamine was found to be an important regulator of NO synthesis (Hecker et al. 1990; Swierkosz et al. 1990). The level of whole-body plasma nitrate, the stable end-product of NO production, was found to be reduced in rats fed a glutamine-enriched diet compared to that in control rats (Houdijk et al. 1998). Similarly, in rats with intestinal ischemia-reperfusion injury, a glutamine-enriched diet reduced the mucosal expression of inducible NO synthase, an inflammatory enzyme, and decreased the plasma NO concentration (Suh et al. 2003). Therefore, based on the *in vitro* and *in vivo* studies mentioned above, glutamine supplementation could be a promising method for treating intestinal inflammatory disorders by inhibiting the activation of NF- κ B and STAT and suppressing the expression of inflammatory cytokines such as IL-6, TNF- α , and IL-8, as well as inflammatory enzyme inducible NO synthase.

Effect of glutamine on intestinal microbiota

Correction of dysbiosis in intestinal microbiota is another important factor in alleviating intestinal inflammation. It was reported that repeated administration of chemotherapeutic agents during anticancer therapy decreased the abundance of *Firmicutes*, which mostly comprise gram-positive bacteria, but increased that of *Bacteroidetes* and *Verrucomicrobia*, which mostly comprise gram-negative bacteria. The mechanisms underlying dysbiosis related to chemotherapy are still unclear, although the disruption of the intestinal epithelial barrier is a likely cause (Kato et al. 2017; Yasuda et al. 2012). Some studies reported that polyglutamate (PGA), a polymer of glutamic acid, had a remarkable effect on the composition of gut microbiota, enhancing the abundance of *Firmicutes*, specially of the genus *Lactobacillus*, compared with that of *Bacteroidetes*. High-molecular-weight γ -PGA with viscous characteristics can stabilize the gut microorganisms, while low-molecular-weight γ -PGA reaching the colon can increase the microbial diversity in the gut. The effect of γ -PGAs could be an additional mechanism by which glutamine can have a beneficial effect on gastrointestinal health (Kato et al. 2017).

Apoptosis and cellular stress

Because of the high level of cellular turnover in intestinal cells, it is critical to maintain a fine balance between proliferation and apoptosis to maintain normal intestinal function (Matés et al. 2002). Spontaneous apoptosis is essential for maintaining its normal architecture. However, a number of cellular stresses induced by exogenous agents or intracellular stimuli can disturb this balance. Dysregulated apoptosis could trigger several intestinal pathologic conditions (Demehri et al. 2013; Que, Gores 1996; Sánchez de Medina et al. 2014; Zatorski et al. 2016). Studies showed that glutamine displayed anti-apoptotic properties in the intestine. In rat intestinal epithelial (RIE-1) cells, glutamine deprivation resulted in apoptosis (Papaconstantinou et al. 1998). On the other hand, glutamine supplementation effectively reduced toxin-induced apoptosis in human intestinal epithelial T84 cells (Carneiro et al. 2006), suggesting that glutamine is critical for suppressing apoptosis. These interesting reports increased the enthusiasm towards uncovering the anti-apoptotic capacity of glutamine.

First, as a precursor for glutathione (GSH), glutamine maintains a normal cellular redox status

because it is present in both reduced and oxidized forms (GSSG), which is crucial for preventing apoptosis. Along with other amino acids, glutamine generated from glutamate produces GSH, an important cellular antioxidant (Roth et al. 2002). Secondly, glutamine regulates the activation of caspases—a family of protease enzymes that play important roles in inducing apoptosis (Fan et al. 2005). They are normally present as proenzymes, and various stimuli can activate them through cleavage. In RIE-1 cells, glutamine-deprived cells showed significantly higher caspase-3 activity along with a higher level of apoptosis, while administration of glutamine reduced caspase-3 activity in neonatal piglet enterocytes, as well as caspase-8 activity in T84 cells (Carneiro et al. 2006). In addition, glutamine enhanced the expression of heat shock proteins (HSPs) (Wischmeyer 2002), which modulate apoptotic cell death, by acting as a molecular chaperone, allowing the cells to adapt to stressful conditions.

Another interesting effect of glutamine is related to its protective role over the endoplasmic reticulum (ER). A number of pathologic conditions, including IBD, disrupt ER function, resulting in ER stress (Kaser et al. 2008). As extensive ER stress triggers sustained apoptosis and further insults, attenuating ER stress could improve cell protection and survival. In *in vivo* experiments in rats with colitis, glutamine administration markedly reduced the activation of ER stress markers, such as glucose responsive protein 78 and caspase-12 (Crespo et al. 2012). Supporting these observations, *in vitro* glutamine treatment in Caco-2 cells reduced the activation of ER stress induced by pharmacological ER stress inducers. During the process of autophagy, cellular organelles and proteins are broken down to supply energy. Reports showed that autophagy provided a protective effect against intestinal pathologic conditions, as the autophagy-related 16-like 1 (Atg16L1) gene was implicated in Crohn's disease (Hampe et al. 2007; Rioux et al. 2007). Mice lacking Atg16L1 were more susceptible to induction of acute colitis. Furthermore, in the mouse intestinal epithelium, mutation of Atg5 and Atg7, which are autophagy-related genes, resulted in increased production of TNF- α and IL-1 β following LPS administration. Glutamine increased autophagy in intestinal epithelial cells, namely Caco-2 and IEC-18 cells. As a result, glutamine suppressed intestinal apoptosis under stress conditions through promotion of autophagy and cellular survival (Fujishima et al. 2011).

Clinical implications of glutamine supplementation in intestinal diseases

Glutamine supplementation has been considered and examined in many clinical settings, particularly in conditional glutamine-deficient statuses associated with acute critical illnesses. In these illnesses, muscle wastage is caused by a marked reduction in plasma glutamine concentration (Askanazi et al. 1980). Patients with intestinal diseases, especially Crohn's disease, displayed low plasma and cellular glutamine concentrations along with reduced mucosal glutaminase activity (Sido et al. 2006). These observations underlie our hypothesis that glutamine supplementation would improve the clinical outcomes of these diseases.

IBD induction in experimental animals highlighted that glutamine supplementation can protect the intestinal mucosa, supporting the possibility of its use in human patients. For example, in mice with dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis, oral glutamine supplementation (41.7 g/kg) for 10 days resulted in decreased severity of colonic inflammatory reactions (Hsiung et al. 2014), as well as increased expression of small-intestinal intraepithelial cells (Pai et al. 2014). In rats with trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis that received dietary glutamine supplementation (20 g/kg or 40 g/kg) for two weeks, reduction in the production of pro-inflammatory cytokines, including TNF- α and IL-8, bacterial translocation, and inflamed lesions were evident (Ameho et al. 1997). In addition, oral glutamine supplementation (3%) in drinking water ameliorated abdominal radiation-induced mucosal injury and reduced the bacterial translocation in the gut mucosa of rats (Souba et al. 1990). Interesting results were reported about the effect of monosodium glutamate, which harbors glutamic acid, on the development and healing of the non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) loxoprofen -induced small intestinal lesion in rats. Monosodium glutamate mixed with powdered food for 5 days before induction of intestinal lesions suppressed inducible nitric oxide synthetase expression and bacterial invasion. Moreover, the healing impairing effect of loxoprofen was depressed by 5% monosodium glutamate administration after induction of intestinal ulceration (Amagase et al. 2012; 2014).

Based on these positive findings in animal models, human studies have been conducted in an attempt to convey these results for improving disease status. Only a limited number of studies concluded that glutamine supplementation has a beneficial effect in intestinal diseases. However, a number of studies did not observe any improved outcomes from glutamine supplementation. Although some studies showed favorable effects, the clinical efficacy of glutamine supplementation in intestinal diseases remains a controversial issue. The "conditionally essential glutamine" theory is still a prediction and remains uncertain. Therefore, various experimental designs could help to assess the results of clinical studies. The first problem is that glutamine can be administered in two different ways: total parental nutrition and enteral nutrition. Generally, enteral nutrition is safer than parenteral nutrition for prolonged periods, whereas parenteral nutrition is often recognized as being better for achieving the targeted calorie requirement. Route of administration influences the contribution of glutamine (Boelens et al. 2006). In patients with acute ulcerative colitis, total enteral nutrition was shown to be nutritionally effective, as well as to produce fewer complications compared to parenteral nutrition (González-Huix et al. 1993). Given that total parenteral nutrition results in changes in intestinal morphology and function (Boelens et al. 2006), glutamine supplementation via parenteral nutrition might cause complications in the intestine. Second, a wide variety of doses, times, and modes of supplementation was used in previous studies. Doses of glutamine used in the studies varied up to 5-fold (Buchman et al. 1995), and treatment periods varied from two days (Noyer et al. 1998) to eight weeks (Beaugerie et al. 1997). Compared to the other periods, short-term glutamine administration during a flare-up phase could have a greater impact on outcomes (Noyer et al. 1998).

Conclusion

In this review, we described the roles of glutamine in the intestine, including the regulation of enterocyte proliferation, maintenance of tight-junction proteins, modulation of inflammatory pathways (e.g., NF- κ B and STAT signaling), effect on intestinal microbiota, and protection against apoptosis and cellular stresses (Fig. 1). Even though previous *in vitro* and animal model studies showed

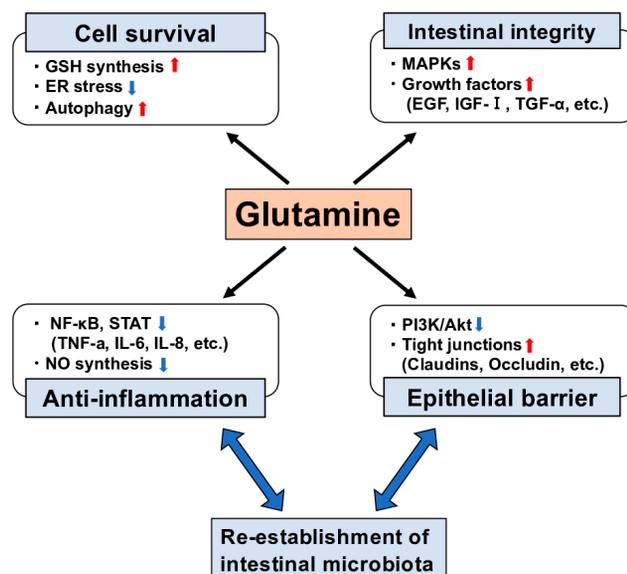


Fig. 1. The physiological effects of glutamine on the intestinal functions

significant beneficial effects and uncovered the mechanism by which glutamine alleviates intestinal inflammation, future research should focus on the use of glutamine supplementation in patients with intestinal diseases.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Author Contributions

Nahla Hamouda performed the comprehensive literature search and wrote the paper. All authors participated in previously reported experimental testing of glutamine either *in vivo* or *in vitro*. Kikuko Amagase is the corresponding author of this paper and revised and edited the paper. All authors agree with the edited version.

References

- Albrecht, J., Sidoryk-Węgrzynowicz, M., Zielińska, M. et al. (2010) Roles of glutamine in neurotransmission. *Neuron Glia Biology*, vol. 6, no. 4, pp. 263–276. <https://doi.org/10.1017/S1740925X11000093> (In English)
- Amagase, K., Kimura, Y., Wada, A. et al. (2014) Prophylactic effect of monosodium glutamate on NSAID-induced enteropathy in rats. *Current Pharmaceutical Design*, vol. 20, no. 16, pp. 2783–2790. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990579> (In English)
- Amagase, K., Ochi, A., Kojo, A. et al. (2012) New therapeutic strategy for amino acid medicine: Prophylactic and healing promoting effect of monosodium glutamate against NSAID-induced enteropathy. *Journal of Pharmacological Sciences*, vol. 118, no. 2, pp. 131–137. <https://doi.org/10.1254/jphs.11R03FM> (In English)
- Ameho, C. K., Adjei, A. A., Harrison, E. K. et al. (1997) Prophylactic effect of dietary glutamine supplementation on interleukin 8 and tumour necrosis factor α production in trinitrobenzene sulphonic acid induced colitis. *Gut*, vol. 41, no. 4, pp. 487–493. <https://doi.org/10.1136/gut.41.4.487> (In English)
- Amores-Sánchez, M. I., Medina, M. A. (1999) Glutamine, as a precursor of glutathione, and oxidative stress. *Molecular Genetics and Metabolism*, vol. 67, no. 2, pp. 100–105. <https://doi.org/10.1006/mgme.1999.2857> (In English)
- Anderson, J. M., van Itallie, C. M. (1995) Tight junctions and the molecular basis for regulation of paracellular permeability. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 269, no. 4, pp. G467–G475. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1995.269.4.G467> (In English)
- Askanazi, J., Carpentier, Y. A., Michelsen, C. B. et al. (1980) Muscle and plasma amino acids following injury. Influence of intercurrent infection. *Annals of Surgery*, vol. 192, no. 1, pp. 78–85. <https://doi.org/10.1097/0000658-198007000-00014> (In English)
- Basuroy, S., Seth, A., Elias, B. et al. (2006) MAPK interacts with occludin and mediates EGF-induced prevention of tight junction disruption by hydrogen peroxide. *Biochemical Journal*, vol. 393, no. 1, pp. 69–77. <https://doi.org/10.1042/BJ20050959> (In English)

- Beaugerie, L., Carbonnel, F., Hecketsweiler, B. et al. (1997) Effects of an isotonic oral rehydration solution, enriched with glutamine, on fluid and sodium absorption in patients with short-bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, vol. 11, no. 4, pp. 741–746. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.1997.t01-1-00201.x> (In English)
- Bjerknes, M., Cheng, H. (2005) Gastrointestinal stem cells. II. Intestinal stem cells. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 289, no. 3, pp. G381–G387. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00160.2005> (In English)
- Blikslager, A. T., Rhoads, J. M., Bristol, D. G. et al. (1999) Glutamine and transforming growth factor- α stimulate extracellular regulated kinases and enhance recovery of villous surface area in porcine ischemic-injured intestine. *Surgery*, vol. 125, no. 2, pp. 186–194. [https://doi.org/10.1016/S0039-6060\(99\)70264-3](https://doi.org/10.1016/S0039-6060(99)70264-3) (In English)
- Boelens, P. G., Melis, G. C., van Leeuwen, P. A. et al. (2006) Route of administration (enteral or parenteral) affects the contribution of L-glutamine to de novo L-arginine synthesis in mice: A stable-isotope study. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, vol. 291, no. 4, pp. E683–E690. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00252.2005> (In English)
- Buchman, A. L., Moukarzel, A. A., Bhuta, S. et al. (1995) Parenteral nutrition is associated with intestinal morphologic and functional changes in humans. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, vol. 19, no. 6, pp. 453–460. <https://doi.org/10.1177/0148607195019006453> (In English)
- Cairns, R. A., Harris, I. S., Mak, T. W. (2011) Regulation of cancer cell metabolism. *Nature Reviews Cancer*, vol. 11, no. 2, pp. 85–95. <https://doi.org/10.1038/nrc2981> (In English)
- Calder, P. (1994) Glutamine and the immune system. *Clinical Nutrition*, vol. 13, no. 1, pp. 2–8. [https://doi.org/10.1016/0261-5614\(94\)90003-5](https://doi.org/10.1016/0261-5614(94)90003-5) (In English)
- Carneiro, B. A., Fujii, J., Brito, G. A. et al. (2006) Caspase and bid involvement in *Clostridium difficile* toxin A-induced apoptosis and modulation of toxin A effects by glutamine and alanyl-glutamine in vivo and in vitro. *Infection and Immunity*, vol. 74, no. 1, pp. 81–87. <https://doi.org/10.1128/IAI.74.1.81-87.2006> (In English)
- Coleman, J. W. (2001) Nitric oxide in immunity and inflammation. *International Immunopharmacology*, vol. 1, no. 8, pp. 1397–1406. [https://doi.org/10.1016/s1567-5769\(01\)00086-8](https://doi.org/10.1016/s1567-5769(01)00086-8) (In English)
- Coster, J., McCauley, R., Hall, J. (2004) Glutamine: Metabolism and application in nutrition support. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, vol. 13, no. 1, pp. 25–31. PMID: 15003911 (In English)
- Crespo, I., San-Miguel, B., Prause, C. et al. (2012) Glutamine treatment attenuates endoplasmic reticulum stress and apoptosis in TNBS-induced colitis. *PLoS ONE*, vol. 7, no. 11, article e50407. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050407> (In English)
- DeBerardinis, R. J., Cheng, T. (2010) Q's next: The diverse functions of glutamine in metabolism, cell biology and cancer. *Oncogene*, vol. 29, no. 3, pp. 313–324. <https://doi.org/10.1038/ncr.2009.358> (In English)
- Dechelotte, P., Darmaun, D., Rongier, M. et al. (1991) Absorption and metabolic effects of enterally administered glutamine in humans. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 260, no. 5, pp. G677–G682. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1991.260.5.G677> (In English)
- Demehri, F. R., Barrett, M., Ralls, M. W. et al. (2013) Intestinal epithelial cell apoptosis and loss of barrier function in the setting of altered microbiota with enteral nutrient deprivation. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 3, article 105. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00105> (In English)
- Fan, T.-J., Han, L.-H., Cong, R.-S., Liang, J. (2005) Caspase family proteases and apoptosis. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, vol. 37, no. 11, pp. 719–727. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2005.00108.x> (In English)
- Fujishima, Y., Nishiumi, S., Masuda, A. et al. (2011) Autophagy in the intestinal epithelium reduces endotoxin-induced inflammatory responses by inhibiting NF- κ B activation. *Archives Biochemistry and Biophysics*, vol. 506, no. 2, pp. 223–235. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.12.009> (In English)
- Ganeshan, K., Chawla, A. (2014) Metabolic regulation of immune responses. *Annual Review of Immunology*, vol. 32, pp. 609–634. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120236> (In English)
- González-Huix, F., Fernandez-Bañares, F., Esteve-Comas, M. et al. (1993) Enteral versus parenteral nutrition as adjunct therapy in acute ulcerative colitis. *American Journal of Gastroenterology*, vol. 88, no. 2, pp. 227–232. PMID: 8424426. (In English)
- Hampe, J., Franke, A., Rosenstiel, P. et al. (2007) A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in *ATG16L1*. *Nature Genetics*, vol. 39, no. 2, pp. 207–211. <https://doi.org/10.1038/ng1954> (In English)
- Harhaj, N. S., Antonetti, D. A. (2004) Regulation of tight junctions and loss of barrier function in pathophysiology. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, vol. 36, no. 7, pp. 1206–1237. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2003.08.007> (In English)
- Hecker, M., Sessa, W. C., Harris, H. J. et al. (1990) The metabolism of L-arginine and its significance for the biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor: Cultured endothelial cells recycle L-citrulline to L-arginine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 87, no. 21, pp. 8612–8616. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.21.8612> (In English)
- Hou, Y.-C., Chu, C.-C., Ko, T.-L. et al. (2013) Effects of alanyl-glutamine dipeptide on the expression of colon-inflammatory mediators during the recovery phase of colitis induced by dextran sulfate sodium. *European Journal of Nutrition*, vol. 52, no. 3, pp. 1089–1098. <https://doi.org/10.1007/s00394-012-0416-3> (In English)
- Houdijk, A. P. J., Visser, J. J., Rijnsburger, E. R. et al. (1998) Dietary glutamine supplementation reduces plasma nitrate levels in rats. *Clinical Nutrition*, vol. 17, no. 1, pp. 11–14. [https://doi.org/10.1016/s0261-5614\(98\)80037-x](https://doi.org/10.1016/s0261-5614(98)80037-x) (In English)

- Hsiung, Y.-C., Liu, J.-J., Hou, Y.-C. et al. (2014) Effects of dietary glutamine on the homeostasis of CD4+ T cells in mice with dextran sulfate sodium-induced acute colitis. *PLoS ONE*, vol. 9, no. 1, article e84410. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084410> (In English)
- Hubert-Buron, A., Leblond, J., Jacquot, A. et al. (2006) Glutamine pretreatment reduces IL-8 production in human intestinal epithelial cells by limiting I κ B ubiquitination. *The Journal of Nutrition*, vol. 136, no. 6, pp. 1461–1465. <https://doi.org/10.1093/jn/136.6.1461> (In English)
- Kaplan, M. H. (2013) STAT signaling in inflammation. *JAK-STAT*, vol. 2, no. 1, article e24198. <https://doi.org/10.4161/jkst.24198> (In English)
- Kaser, A., Lee, A.-H., Franke, A. et al. (2008) XBP1 links ER stress to intestinal inflammation and confers genetic risk for human inflammatory bowel disease. *Cell*, vol. 134, no. 5, pp. 743–756. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.07.021> (In English)
- Kato, S., Hamouda, N., Kano, Y. et al. (2017) Probiotic *Bifidobacterium bifidum* G9-1 attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice via suppression of dysbiosis-related secondary inflammatory responses. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, vol. 44, no. 10, pp. 1017–1025. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12792> (In English)
- Kim, H. (2011) Glutamine as an immunonutrient. *Yonsei Medical Journal*, vol. 52, no. 6, pp. 892–897. <https://doi.org/10.3349/ymj.2011.52.6.892> (In English)
- Kim, M. H., Kim, H. (2013) Oncogenes and tumor suppressors regulate glutamine metabolism in cancer cells. *Journal of Cancer Prevention*, vol. 18, no. 3, pp. 221–226. <https://doi.org/10.15430/jcp.2013.18.3.221> (In English)
- Ko, T. C., Beauchamp, R. D., Townsend, C. M. Jr. et al. (1993) Glutamine is essential for epidermal growth factor-stimulated intestinal cell proliferation. *Surgery*, vol. 114, no. 2, pp. 147–153, discussion 153–154. PMID: 7688149. (In English)
- Koizumi, J., Kojima, T., Ogasawara, N. et al. (2008) Protein kinase C enhances tight junction barrier function of human nasal epithelial cells in primary culture by transcriptional regulation. *Molecular Pharmacology*, vol. 74, no. 2, pp. 432–442. <https://doi.org/10.1124/mol.107.043711> (In English)
- Kretzmann, N. A., Fillmann, H., Mauriz, J. L. et al. (2008) Effects of glutamine on proinflammatory gene expression and activation of nuclear factor κ B and signal transducers and activators of transcription in TNBS-induced colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 14, no. 11, pp. 1504–1513. <https://doi.org/10.1002/ibd.20543> (In English)
- Lee, S. H. (2015) Intestinal permeability regulation by tight junction: Implication on inflammatory bowel diseases. *Intestinal Research*, vol. 13, no. 1, pp. 11–18. <https://doi.org/10.5217/ir.2015.13.1.11> (In English)
- Li, N., Lewis, P., Samuelson, D. et al. (2004) Glutamine regulates Caco-2 cell tight junction proteins. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 287, no. 3, pp. G726–G733. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00012.2004> (In English)
- Liboni, K. C., Li, N., Scumpia, P. O. et al. (2005) Glutamine modulates LPS-induced IL-8 production through I κ B/NF- κ B in human fetal and adult intestinal epithelium. *The Journal of Nutrition*, vol. 135, no. 2, pp. 245–251. <https://doi.org/10.1093/jn/135.2.245> (In English)
- Malhotra, V., Eaves-Pyles, T., Odoms, K. et al. (2002) Heat shock inhibits activation of NF- κ B in the absence of heat shock factor-1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 291, no. 3, pp. 453–457. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2002.6470> (In English)
- Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., Núñez de Castro, I. et al. (2002) Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, vol. 34, no. 5, pp. 439–458. [https://doi.org/10.1016/s1357-2725\(01\)00143-1](https://doi.org/10.1016/s1357-2725(01)00143-1) (In English)
- McCaughey, R., Kong, S.-E., Hall, J. (1998) Glutamine and nucleotide metabolism within enterocytes. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, vol. 22, no. 2, pp. 105–111. <https://doi.org/10.1177/0148607198022002105> (In English)
- Mitic, L. L., Anderson, J. M. (1998) Molecular architecture of tight junctions. *Annual Review of Physiology*, vol. 60, pp. 121–142. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.60.1.121> (In English)
- Newsholme, E. A., Carrie, A.-L. (1994) Quantitative aspects of glucose and glutamine metabolism by intestinal cells. *Gut*, vol. 35, no. 1, pp. S13–S17. https://doi.org/10.1136/gut.35.1_suppl.s13 (In English)
- Newsholme, P. (2001) Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? *The Journal of Nutrition*, vol. 131, no. 9, pp. 2515S–2522S. <https://doi.org/10.1093/jn/131.9.2515S> (In English)
- Newsholme, P., Curi, R., Pithon Curi, T. C. et al. (1999) Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages, and neutrophils: Its importance in health and disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 10, no. 6, pp. 316–324. [https://doi.org/10.1016/s0955-2863\(99\)00022-4](https://doi.org/10.1016/s0955-2863(99)00022-4) (In English)
- Noyer, C. M., Simon, D., Borczuk, A. et al. (1998) A double blind placebo-controlled pilot study of glutamine therapy for abnormal intestinal permeability in patients with AIDS. *The American Journal of Gastroenterology*, vol. 93, no. 6, pp. 972–975. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.1998.00290.x> (In English)
- Pai, M.-H., Liu, J.-J., Yeh, S.-L. et al. (2014) Glutamine modulates acute dextran sulphate sodium-induced changes in small-intestinal intraepithelial $\gamma\delta$ -T-lymphocyte expression in mice. *The British Journal of Nutrition*, vol. 111, no. 6, pp. 1032–1039. <https://doi.org/10.1017/S0007114513003425> (In English)

- Papaconstantinou, H. T., Hwang, K. O., Rajaraman, S. et al. (1998) Glutamine deprivation induces apoptosis in intestinal epithelial cells. *Surgery*, vol. 124, no. 2, pp. 152–159, discussion 159–160. PMID: [9706133](#). (In English)
- Patience, J. E. (1990) A review of the role of acid-base balance in amino acid nutrition. *Journal of Animal Science*, vol. 68, no. 2, pp. 398–408. <https://doi.org/10.2527/1990.682398x> (In English)
- Que, F. G., Gores, G. J. (1996) Cell death by apoptosis: Basic concepts and disease relevance for the gastroenterologist. *Gastroenterology*, vol. 110, no. 4, pp. 1238–1243. <https://doi.org/10.1053/gast.1996.v110.pm8613014> (In English)
- Rhoads, J. M., Wu, G. (2009) Glutamine, arginine, and leucine signaling in the intestine. *Amino Acids*, vol. 37, no. 1, pp. 111–122. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0225-4> (In English)
- Rigor, R. R., Shen, Q., Pivetti, C. D. et al. (2013) Myosin light chain kinase signaling in endothelial barrier dysfunction. *Medicinal Research Reviews*, vol. 33, no. 5, pp. 911–933. <https://doi.org/10.1002/med.21270> (In English)
- Rioux, J. D., Xavier, R. J., Taylor, K. D. et al. (2007) Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis. *Nature Genetics*, vol. 39, no. 5, pp. 596–604. <https://doi.org/10.1038/ng2032> (In English)
- Roth, E., Oehler, R., Manhart, N. et al. (2002) Regulative potential of glutamine—relation to glutathione metabolism. *Nutrition*, vol. 18, no. 3, pp. 217–221. [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(01\)00797-3](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(01)00797-3) (In English)
- Sánchez de Medina, F., Romero-Calvo, I., Mascaraque, C. et al. (2014) Intestinal inflammation and mucosal barrier function. *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 20, no. 12, pp. 2394–2404. <https://doi.org/10.1097/MIB.000000000000204> (In English)
- Sido, B., Seel, C., Hochlehnert, A. et al. (2006) Low intestinal glutamine level and low glutaminase activity in Crohn's disease: A rationale for glutamine supplementation? *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 51, no. 12, pp. 2170–2179. <https://doi.org/10.1007/s10620-006-9473-x> (In English)
- Souba, W. W., Klimberg, V. S., Hautamaki, R. D. et al. (1990) Oral glutamine reduces bacterial translocation following abdominal radiation. *Journal of Surgical Research*, vol. 48, no. 1, pp. 1–5. [https://doi.org/10.1016/0022-4804\(90\)90136-p](https://doi.org/10.1016/0022-4804(90)90136-p) (In English)
- Suh, G. J., Youn, Y. K., Song, H. G. et al. (2003) The effect of glutamine on inducible nitric oxide synthase gene expression in intestinal ischemia-reperfusion injury. *Nutrition Research*, vol. 23, no. 1, pp. 131–140. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(02\)00479-7](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(02)00479-7) (In English)
- Swierkosz, T. A., Mitchell, J. A., Sessa, W. C. et al. (1990) L-Glutamine inhibits the release of endothelium-derived relaxing factor from the rabbit aorta. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 172, no. 1, pp. 143–148. [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(05\)80184-6](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(05)80184-6) (In English)
- Turner, J. R., Rill, B. K., Carlson, S. L. et al. (1997) Physiological regulation of epithelial tight junctions is associated with myosin light-chain phosphorylation. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, vol. 273, no. 4, pp. C1378–C1385. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1997.273.4.C1378> (In English)
- Ullman, T. A., Itzkowitz, S. H. (2011) Intestinal inflammation and cancer. *Gastroenterology*, vol. 140, no. 6, pp. 1807–1816. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.01.057> (In English)
- Van der Flier, L. G., Clevers, H. (2009) Stem cells, self-renewal, and differentiation in the intestinal epithelium. *Annual Review of Physiology*, vol. 71, pp. 241–260. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.010908.163145> (In English)
- Wang, B., Wu, G., Zhou, Z. et al. (2015) Glutamine and intestinal barrier function. *Amino Acids*, vol. 47, no. 10, pp. 2143–2154. <https://doi.org/10.1007/s00726-014-1773-4> (In English)
- Wang, B., Wu, Z., Ji, Y. et al. (2016) L-glutamine enhances tight junction integrity by activating CaMK kinase 2–AMP-activated protein kinase signaling in intestinal porcine epithelial cells. *The Journal of Nutrition*, vol. 146, no. 3, pp. 501–508. <https://doi.org/10.3945/jn.115.224857> (In English)
- Wischmeyer, P. E. (2002) Glutamine and heat shock protein expression. *Nutrition*, vol. 18, no. 3, pp. 225–228. [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(01\)00796-1](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(01)00796-1) (In English)
- Wu, G. (1998) Intestinal mucosal amino acid catabolism. *The Journal of Nutrition*, vol. 128, no. 8, pp. 1249–1252. <https://doi.org/10.1093/jn/128.8.1249> (In English)
- Xue, H., Sufit, A. J., Wischmeyer, P. E. (2011) Glutamine therapy improves outcome of in vitro and in vivo experimental colitis models. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, vol. 35, no. 2, pp. 188–197. <https://doi.org/10.1177/0148607110381407> (In English)
- Yasuda, M., Kato, S., Yamanaka, N. et al. (2012) Potential role of the NADPH oxidase NOX1 in the pathogenesis of 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 302, no. 10, pp. G1133–G1142. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00535.2011> (In English)
- Zatorski, H., Marynowski, M., Fichna, J. (2016) Is insulin-like growth factor 1 (IGF-1) system an attractive target inflammatory bowel disease? Benefits and limitation of potential therapy. *Pharmacological Reports*, vol. 68, no. 4, pp. 809–815. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2016.03.006> (In English)
- Zhang, W., Liu, H. T. (2002) MAPK signal pathways in the regulation of cell proliferation in mammalian cells. *Cell Research*, vol. 12, no. 1, pp. 9–18. <https://doi.org/10.1038/sj.cr.7290105> (In English)
- Ziegler, T. R., Mantell, M. P., Chow, J. C. et al. (1996) Gut adaptation and the insulin-like growth factor system: Regulation by glutamine and IGF-I administration. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 271, no. 5, pp. G866–G875. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1996.271.5.G866> (In English)
- Zihni, C., Mills, C., Matter, K. et al. (2016) Tight junctions: From simple barriers to multifunctional molecular gates. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, vol. 17, no. 9, pp. 564–580. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.80> (In English)



УДК 577.25 + 571.27

EDN LCHVQQ

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-420-431>

Роль ионных каналов TRPA1 при воспалительных заболеваниях кишечника

К. А. Дворникова^{✉1}, Е. Ю. Быстрова¹, О. Н. Платонова¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторах

Кристина Алексеевна Дворникова, SPIN-код: 5899-8353, Scopus AuthorID: 57215082380, ResearcherID: AAC-8421-2022, ORCID: 0000-0002-1372-9824, e-mail: 691442@gmail.com

Елена Юрьевна Быстрова, SPIN-код: 5183-3835, Scopus AuthorID: 55898651400, ResearcherID: C-2307-2011, ORCID: 0000-0003-1196-7535, e-mail: helenbys@yandex.ru

Ольга Николаевна Платонова, SPIN-код: 6073-9310, Scopus AuthorID: 56689932600, ResearcherID: AAC-8635-2022, ORCID: 0000-0002-4845-2511, e-mail: olgaplatonova1991@mail.ru

Для цитирования: Дворникова, К. А., Быстрова, Е. Ю., Платонова, О. Н. (2022) Роль ионных каналов TRPA1 при воспалительных заболеваниях кишечника. *Интегративная физиология*, т. 3, № 4, с. 420-431. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-420-431> EDN LCHVQQ

Получена 13 сентября 2022; прошла рецензирование 3 ноября 2022; принята 7 ноября 2022.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Госпрограммы ГП-47 «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030), тема 0134-2019-0001.

Права: © К. А. Дворникова, Е. Ю. Быстрова, О. Н. Платонова (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Воспалительные заболевания кишечника (Inflammatory Bowel Disease, IBD) представляют собой группу хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) со сложной этиологией и патогенезом. Эти заболевания характеризуются широким спектром симптомов, которые почти всегда включают воспалительный и болевой синдромы. В последнее время появляется все больше сведений о значении каналов временного рецепторного потенциала (TRP-каналов) при заболеваниях ЖКТ. Предполагается, что развитие гипералгезии и нейрогенного воспаления может быть обусловлено, в том числе, активностью анкириновых (TRPA1) и ванилоидных (TRPV1) ионных каналов, расположенных, преимущественно, на капсаицин-чувствительных нейронах. TRPV1 и TRPA1 являются полимодальными ноцицепторами, играющими важную роль в процессах нормального функционирования кишки и реализации ее защитных механизмов. Установлено, что TRPA1, экспрессируемый внутренними сенсорными нейронами энтеральной нервной системы (intrinsic enteric nervous system, ENS) толстой кишки, кишечными эпителиальными клетками, участвующими в воспалительных реакциях, и иммунными клетками, активируется рядом эндогенных провоспалительных молекул, что делает этот рецептор важной регуляторной структурой при воспалении, острой и хронической боли. Однако на сегодняшний день нет четкого понимания влияния активации TRPA1 на развитие висцеральной гиперчувствительности и их роли в нейроиммунных взаимодействиях при IBD. На рассмотрение данной проблемы и направлен настоящий обзор.

Ключевые слова: TRP-каналы, TRPA1, TRPV1, воспалительные заболевания кишечника, язвенный колит, болезнь Крона, воспаление

The role of TRPA1 ion channels in inflammatory bowel disease

К. А. Дворникова✉¹, Е. Ю. Быстрова¹, О. Н. Платонова¹

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb.,
Saint Petersburg 199034, Russia

Authors

Kristina A. Dvornikova, SPIN: 5899-8353, Scopus AuthorID: 57215082380, ResearcherID: AAC-8421-2022, ORCID: 0000-0002-1372-9824, e-mail: 691442@gmail.com

Elena Yu. Bystrova, SPIN: 5183-3835, Scopus AuthorID: 55898651400, ResearcherID: C-2307-2011, ORCID: 0000-0003-1196-7535, e-mail: helenbys@yandex.ru

Olga N. Platonova, SPIN: 6073-9310, Scopus AuthorID: 56689932600, ResearcherID: AAC-8635-2022, ORCID: 0000-0002-4845-2511, e-mail: olgaplatonova1991@mail.ru

For citation: Dvornikova, K. A., Bystrova, E. Yu., Platonova, O. N. (2022) The role of TRPA1 ion channels in inflammatory bowel disease. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 4, pp. 420–431. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-420-431>
EDN LCHVQQ

Received 13 September 2022; reviewed 3 November 2022; accepted 7 November 2022.

Funding: This study was supported by Government Program of the Russian Federation 47 GP “Scientific and Technological Development of the Russian Federation” (2019–2030), Topic No. 0134-2019-0001.

Copyright: © K. A. Dvornikova, E. Yu. Bystrova, O. N. Platonova (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Inflammatory bowel disease (IBD) is a group of chronic gastrointestinal disorders with complex etiology and pathogenesis. These diseases are marked by a wide range of symptoms, which almost always include inflammatory and pain syndromes. The role of transient receptor potential (TRP) channels in gastrointestinal tract illnesses is becoming increasingly better understood. It is suggested that the activity of ankyrin (TRPA1) and vanilloid (TRPV1) ion channels, which are predominantly expressed on capsaicin-sensitive neurons, potentially plays a role in the development of hyperalgesia and neurogenic inflammation. The polymodal nociceptors TRPV1 and TRPA1 are crucial for normal functioning of the gut and its defense mechanisms. The TRPA1 receptor is expressed by immune cells, intestinal epithelial cells involved in inflammatory reactions, and internal sensory neurons of the enteric nervous system (ENS) of the colon. It has been shown that the TRPA1 receptor is activated by a range of endogenous pro-inflammatory molecules. Thus, this receptor is a crucial regulatory structure in inflammation and both acute and chronic pain. However, the contribution of TRPA1 receptors to visceral hypersensitivity and their function in neuroimmune interactions in IBD remains unclear at the moment. This review aims to raise awareness about this issue.

Keywords: TRP channels, TRPA1, TRPV1, inflammatory bowel disease, ulcerative colitis, Crohn's disease, inflammation

Введение

Воспалительные заболевания кишечника (Inflammatory Bowel Disease, IBD) — группа хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), этиология которых в настоящее время остается неясной, поэтому изучение механизмов и патофизиологии IBD является основой для понимания развития заболевания с целью разработки новых стратегий эффективной терапии (Yamamoto-Furusho, Parra-Holguín 2021). IBD включает два основных типа заболеваний: язвенный колит (Ulcerative colitis, UC) и болезнь Крона (Crohn's disease, CD), различающихся патофизиологией, симптомами, течением болезни, лечением и возможными осложнениями (Agrawal et al. 2022; Guan 2019; Roda et al. 2020). Риск возникновения и прогрес-

сирования IBD определяется не только генетической предрасположенностью индивидуума, но также факторами окружающей среды: гигиена, условия жизни, вредные привычки, диета, наличие или отсутствие физической активности, прием витаминов и антибиотиков, вирусные инфекции (Piovani et al. 2019; Wang et al. 2016).

Установлено, что воспаление при IBD может приводить к развитию висцеральной гиперчувствительности, и, в ряде случаев, к формированию хронической висцеральной боли (Flynn, Eisenstein 2019). Предполагается, что важную роль в этих процессах играют анкириновые каналы-рецепторы TRPA1, расположенные, преимущественно, на капсаицин-чувствительных нейронах (Zielińska et al. 2015). Несмотря на то, что каналы TRPA1 достаточно хорошо изучены, до сих пор до конца неясны механизмы их участия

в развитии висцеральной гиперчувствительности и нейроиммунных взаимодействиях при IBD.

В данном обзоре обсуждаются результаты исследований, посвященных изучению роли TRPA1, экспрессирующихся внутренними сенсорными нейронами энтеральной нервной системы толстой кишки при IBD.

IBD и механизмы воспаления

Известно, что воспаление при IBD приводит к нарушению барьерной функции кишечника, дефектам регуляции врожденных и адаптивных иммунных реакций, дисбиозу кишечного микробиома (Roda et al. 2020).

Кишечный барьер, включающий кишечные эпителиальные клетки, энтероэндокринные, иммунные клетки врожденного иммунитета, интраэпителиальные лимфоциты, является первым физическим и химическим барьером, с которым сталкиваются кишечные бактерии, патогены и пищевые антигены (Camilleri 2019). Доказано, что возникновение проблем в одном из компонентов кишечного барьера может привести к повышенной проницаемости стенок кишечника, что, в свою очередь, может индуцировать развитие IBD (Hollander 2013). Так, нарушения секреторной активности клеток Панета, специализированных кишечных эпителиальных клеток и присутствующих в основании кишечных крипт в тонкой кишке, провоцируют развитие CD (Thachil et al. 2012). Дисфункция интраэпителиальных лимфоцитов, являющихся первыми клетками, которые вступают в контакт с люминальным антигеном, проникающим через слизистую оболочку кишечника, повышенная продукция в интраэпителиальных лимфоцитах интерлейкина-17A (IL-17A), интерферона гамма (Interferon gamma, IFN- γ) и фактора некроза опухоли- α (Tumor necrosis factor alpha, TNF- α), также могут приводить к воспалению и способствуют развитию CD (Catalan-Serra et al. 2017; Regner et al. 2018).

В настоящее время известно, что иммунные клетки врожденного иммунитета экспрессируют целый ряд паттерн-распознающих рецепторов (Pattern recognition receptors, PRRs), ключевыми из которых являются Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors, TLRs). TLRs распознают патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (Pathogen-associated molecular patterns) микроорганизмов или эндогенных молекул и играют важную роль в поддержании кишечного гомеостаза, в созревании дендритных клеток, индукции пролиферации и дифферен-

цировке клеток Т-хелперов 1 (T helper 1, Th1) и Т-хелперов 2 (T helper 2, Th2) (Lu et al. 2018; Vijay 2018). Известно, что TLRs экспрессируются клетками тонкого и толстого кишечника (Moossavi, Rezaei 2013). Предполагается, что TLRs задействованы в молекулярных механизмах развития IBD, поскольку некоторые сигнальные пути, ассоциированные с TLRs, участвуют в прогрессировании заболевания (Lu et al. 2018). Например, повышенная экспрессия TLR4 вызывает разрушение тканей кишечного эпителия и образование язв при UC (Zevallos et al. 2017). Повышенная экспрессия TLR6, связанная с Th17-ассоциированным RAR-родственным орфанным рецептором (RAR-related orphan receptor C) в кишечнике, способствует прогрессированию IBD (Morgan et al. 2014). Активация пути TLR8 в кишечных эпителиальных клетках с опосредованным моноцитами воспалительным ответом, вызывает воспаление слизистой оболочки кишечника (Angelini et al. 2017). При этом отдельно отмечаются некоторые TLRs, которые могут оказаться терапевтическими мишенями для подавления воспаления при IBD. Так, сигнальный путь TLR1 может предотвращать хроническое воспаление толстой кишки (Kamdar et al. 2016). Экспрессия TLR5 в кишечных эпителиальных клетках регулирует состав и локализацию кишечной микробиоты, а также предотвращает воспаление. При этом, при сниженной экспрессии TLR5 либо при ее отсутствии наблюдается изменение кишечной микробиоты, слабые воспалительные реакции и развитие предрасположенности к IBD (Chassaing et al. 2014). Установлено, что агонисты TLR3 и TLR7 стимулируют секрецию интерферона бета (IFN- β) плазматоцитными дендритными клетками, способствуя защитным реакциям при UC (Yang et al. 2016). Активация TLR9 предотвращает развитие воспаления слизистой оболочки кишечника и способствует заживлению повреждений, индуцированных CD (Atreya et al. 2016).

Известно о взаимосвязи адаптивного иммунитета с IBD, в частности, о стойкой иммунной активации Т-клеток при различных воспалительных заболеваниях кишечника (de Souza, Focchi 2016). Установлено, что при UC происходит увеличение продукции основных провоспалительных цитокинов, связанных с клетками Th2: интерлейкина-1 (IL-1), интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-8 (IL-8) и TNF- α (Korolkova et al. 2015). CD развивается в результате избыточного ответа клеток Th1 и Th17 (Т-хелперов 17) на провоспалительные цитокины: интерлейкин-12 (IL-12), интерлейкин-18 (IL-18)

и интерлейкин-23 (IL-23), которые продуцируются антигенпрезентирующими клетками и макрофагами (Uhlir, Powrie 2018). Активность эффекторных Т-клеток координируется регуляторными Treg-клетками, подавляющим подмножеством CD4⁺ (cluster of differentiation 4) Т-клеток, которые играют роль в поддержании иммунного гомеостаза в кишечнике (Pazmandi et al. 2019). Доказано, что эффекторные Т-клетки слизистой оболочки кишечника при IBD могут быть устойчивыми к опосредованному регуляторными Treg-клетками подавлению. В свою очередь, продукция интерлейкина-10 (IL-10) Treg-клетками может быть необходима для предотвращения воспаления (Zhu et al. 2017).

Важное значение для функционирования кишечника имеет микробиота, состоящая из бактерий, вирусов, грибов, простейших и архей, которые в совокупности могут выполнять провоспалительную и/или противовоспалительную роль (Quraishi et al. 2020). Показано, что дисбиоз микробиоты характеризуется сниженным биоразнообразием — истощением *Firmicutes* и *Bacteroidetes* с повышенным содержанием *Proteobacteria* и *Actinobacteria* (Mirsepasi-Lauridsen et al. 2018; Sultan et al. 2021). Дисбиоз, связанный с IBD, приводит к функциональным нарушениям взаимодействия хозяина и микробиоты, и, следовательно, модулирует развитие заболевания. Однако остается неясным, является ли дисбиоз причиной или следствием IBD.

Воспаление при IBD может сопровождаться развитием висцеральной гиперчувствительности, а в ряде случаев приводит к формированию хронической висцеральной боли (Flynn, Eisenstein 2019). При этом, согласно существующим представлениям, ряд секретируемых иммунными и неиммунными клетками медиаторов способен sensibilizировать нейрональные афференты, что, в свою очередь, приводит к висцеральной гипералгезии. В этих процессах задействованы прежде всего внутренние первичные афферентные нейроны, тела которых располагаются в миэнтеральном и подслизистом сплетениях кишки, а также внешние первичные афферентные нейроны, тела которых находятся в узлах и яремных ганглиях или в ганглиях задних корешков (dorsal root ganglia, DRG). Следует отметить, что в некоторых случаях возможен и противоположный эффект — снижение болевой чувствительности у пациентов с IBD, по-видимому, ассоциированное с активацией антиноцицептивных механизмов в ответ на продолжающееся воспаление (Zielińska et al. 2015).

Роль ионных каналов-рецепторов TRPA1 в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника

В последние десятилетия получены данные, указывающие на то, что важную роль в развитии воспаления и ассоциированной с ним гипералгезии при IBD играют TRP-каналы (каналы временного рецепторного потенциала). TRP-каналы представляют собой группу семейств ионных каналов-рецепторов, расположенных на плазматической мембране многих типов клеток. Они подразделяются на 2 группы на основе различий в последовательности и топологии: группа 1, имеющая большой цитозольный домен — TRPA, TRPM, TRPN, TRPS, TRPV, TRVL и группа 2, имеющая большой экзоплазматический домен — TRPP, TRML, TRPY/TRPF. Большинство из них представляют собой неселективные катионные каналы с широким спектром проницаемости (Yue, Xu 2021). TRP-каналы экспрессируются в различных тканях и органах, участвуют в физиологических процессах — от восприятия стимулов до ионного гомеостаза (Chubonov et al. 2018).

Появляется все больше сведений о роли TRP-каналов при заболеваниях ЖКТ (рис. 1). Наиболее изученными TRP-каналами в отношении экспрессии и значимости для нормального функционирования кишки и реализации ее защитных механизмов являются каналы TRPV1, в гораздо меньшей степени — TRPA1. TRPV1 и TRPA1 являются полимодальными ноцицепторами, играющими важную роль в термомеханическом и химическом восприятии и преобразовании сигналов, а также в нейрогенном воспалении (Alaimo, Rubert 2019). Как правило, TRPV1 и TRPA1 активируются экзогенными химическими веществами и эндогенными медиаторами, например, такими как капсаицин и анандамид — для TRPV1, акролеин и брадикинин — для TRPA1, что делает их важными регуляторными структурами при воспалительных реакциях и гипералгезии.

Сообщается об экспрессии TRPV1 и TRPA1 внутренними сенсорными нейронами миэнтерального и подслизистого сплетений кишки (Kun et al. 2014), при этом в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) TRPV1 часто коэкспрессируется с TRPA1 на капсаицин-чувствительных нейронах (Csekő et al. 2019). Приводятся сведения о синергическом действии TRPA1 и TRPV1 в патогенезе экспериментального колита. К сожалению, не существует идеальных моделей IBD, в полной мере отражающих реальные изменения в гомеостазе кишки, поскольку они

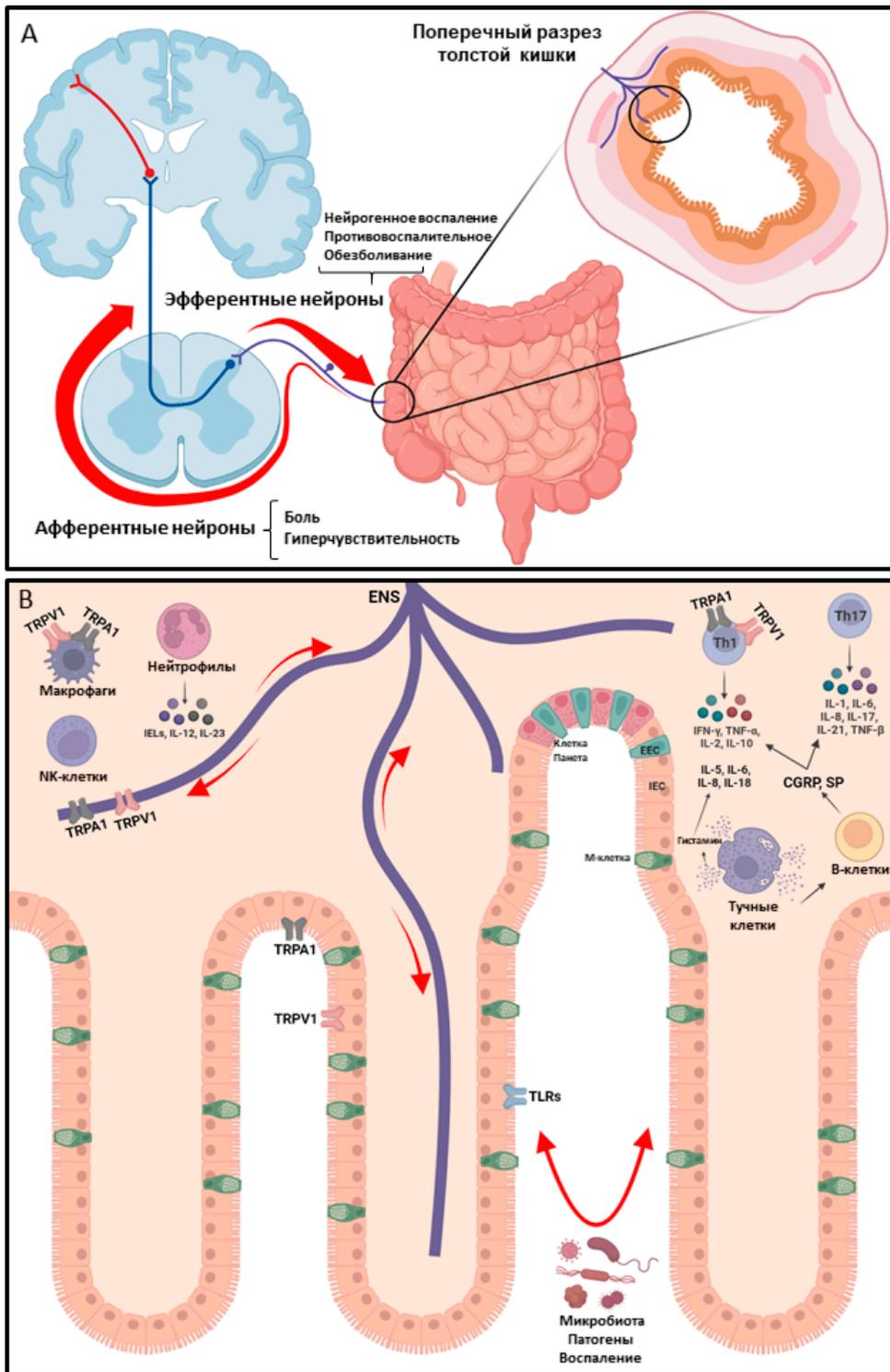


Рис. 1. Роль TRPA1 в патофизиологии IBD и основные нейроиммунные взаимодействия. А) Функции афферентных и эфферентных капсаицин-чувствительных нейронов (Csekő et al. 2019, с модификациями); В) Увеличенная схема строения поперечного сечения участка толстой кишки с акцентом на нейроиммунные взаимодействия при воспалении. ENS — энтеральная нервная система; EEC — энтероэндокринные клетки; IEC — кишечные эпителиальные клетки; IELs — интраэпителиальные лимфоциты; IFN- β — интерферон бета; IFN- γ — интерферон гамма; TNF- α — фактор некроза опухоли- α ; TNF- β — фактор некроза опухоли- β ; TLRs — Toll-подобные рецепторы; Th1 — Т-хелперы 1; Th17 — Т-хелперы 17; IL-1 — интерлейкин-1; IL-2 — интерлейкин-2; IL-5 — интерлейкин-5; IL-6 — интерлейкин-6; IL-8 — интерлейкин-8; IL-10 — интерлейкин-10; IL-12 — интерлейкин-12; IL-18 — интерлейкин-18; IL-23 — интерлейкин-23; CGRP — кальцитонин ген-родственный пептид; SP — вещество P; NK-cells — естественные киллеры, натуральные киллеры; M-cell — микроскладчатые клетки. Создано с помощью BioRender.com (BioRender 2022)

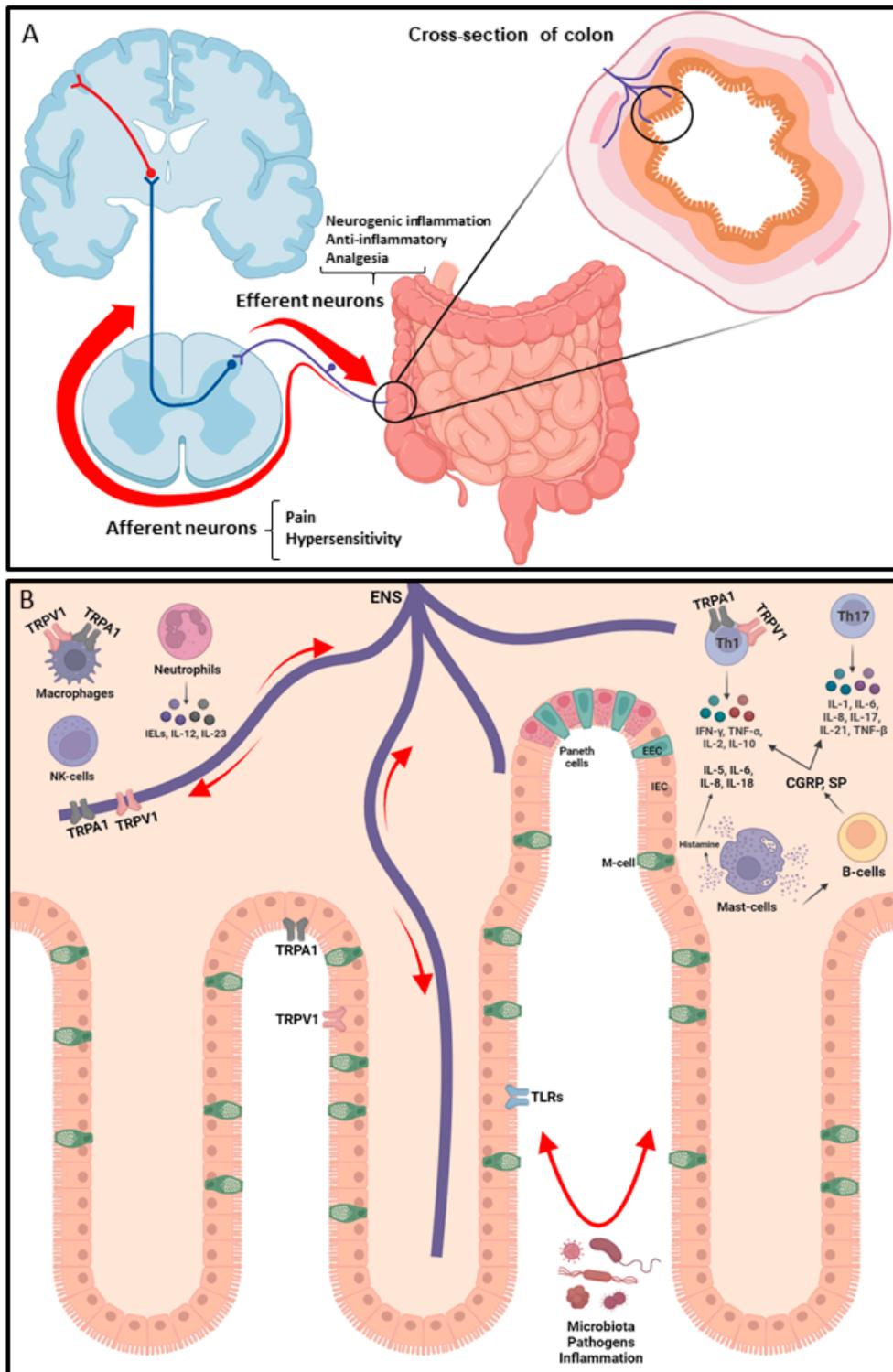


Fig. 1. The role of TRPA1 in the pathophysiology of IBD and the main neuroimmune interactions.
 A) The afferent and efferent functions of capsaicin-sensitive neurons (Csekó et al. 2019, with modifications);
 B) Enlarged diagram of the structure of colon cross-section with the focus on neuroimmune interactions in inflammation. ENS—enteric nervous system; EEC—enteroendocrine cells; IEC—intestinal epithelial cells; IELs—intraepithelial lymphocytes; IFN- β —interferon beta; IFN- γ —interferon gamma; TNF- α —tumor necrosis factor- α ; TNF- β —tumor necrosis factor- β ; TLRs—Toll-like receptors; Th1—T-helpers 1; Th17—T-helpers 17; IL-1—interleukin-1; IL-2—interleukin-2; IL-5—interleukin-5; IL-6—interleukin-6; IL-8—interleukin-8; IL-10—interleukin-10; IL-12—interleukin-12; IL-18—interleukin-18; IL-23—interleukin-23; CGRP—calcitonin gene-related peptide; SP—substance P; NK-cells—natural killers; M-cell—microfold cells.
 Created with BioRender.com

не могут полностью имитировать все факторы заболевания. Модели колита обычно включают кратковременное введение раздражающего вещества и в конечном счете представляют собой экспериментально индуцированное острое воспаление, которое, тем не менее, позволяет получить общее представление о молекулярных механизмах и сигнальных путях, вовлеченных в воспалительный процесс. Так, на модели колита, индуцированного декстраном сульфата натрия (Dextran sulfate sodium, DSS) показано, что доля нейронов DRG, экспрессирующих TRPV1, и их относительные уровни мРНК, увеличиваются с последующим повышенным высвобождением сенсорных нейропептидов — кальцитонин ген-родственного пептида (Calcitonin Gene-Related Peptide, CGRP) и вещества P (substance P, SP) (Engel et al. 2012). В то же время, при DSS-индуцированном колите отмечена активация TRPA1, которая может приводить как к увеличению, так и к снижению экспрессии целого ряда провоспалительных нейропептидов, цитокинов и хемокинов. Таким образом, тот факт, что TRPV1 и TRPA1 широко представлены в ENS, а также возможность их коэкспрессии некоторыми субпопуляциями нейронов и участие в развитии воспаления и висцеральной гиперчувствительности, указывает на необходимость дальнейшего изучения возможных взаимовлияний этих каналов-рецепторов. Полученные данные будут способствовать лучшему пониманию регуляторной роли ноцицепторов при IBD.

Возможная роль TRPA1 в развитии воспаления и гипералгезии при IBD

TRPA1 аналогичен TRPV1 с точки зрения его структуры, функции и локализации и представляет собой гомо- или гетеротетрамерный неселективный катионный канал (Vamps et al. 2020; Moparthi, Zygmunt 2020; Suo et al. 2020; Talavera et al. 2020). При этом на сегодняшний день до конца неясны механизмы участия TRPA1 в развитии воспаления и висцеральной гиперчувствительности при IBD. Следует отметить, что базовая экспрессия TRPA1 коррелирует с его предполагаемой провоспалительной ролью в толстой кишке посредством высвобождения SP, а при воспалительных состояниях, наоборот, возможен защитный эффект, который зависит как от стадии воспалительного процесса, так и от степени его выраженности (Kun et al. 2014).

В последние годы получены данные, указывающие на потенциальное участие TRPA1 в модулировании экспериментально индуцированной висцеральной боли (Meents et al. 2019). В частности, TRPA1 обуславливает механическую

гиперчувствительность к растяжению толстой кишки при экспериментальном колите, индуцированном введением TNBS (2,4,6-Trinitrobenzene sulfonic acid) (Cattaruzza et al. 2013), а прямая стимуляция TRPA1 в ноцицепторах вызывает острую боль. Кроме того, имеющее место при воспалительных реакциях повреждение тканей вызывает секрецию целого ряда воспалительных агентов, включая активные формы кислорода, оксид азота, простагландины, гистамин, серотонин, цитокины, нейропептиды, нейротрофины и хемокины. Некоторые из этих агентов непосредственно блокируют канал (например, активные формы кислорода и оксид азота), а другие агенты косвенно модулируют активность TRPA1, тем самым стимулируя внутриклеточные сигнальные каскады. Активация обоих путей способствует возникновению острой боли (Souza Monteiro de Araujo et al. 2020).

Установлено, что TRPA1, экспрессируемый первичными сенсорными нейронами, клетками, участвующими в развитии воспалительной реакции, а также некоторыми иммунными клетками, активируется рядом эндогенных провоспалительных молекул (Bertin et al. 2017). Нейрогенное воспаление опосредовано высвобождением SP и CGRP, что приводит к повышению проницаемости сосудов и активации воспалительных клеток. Противовоспалительные сенсорные нейромедиаторы — соматостатин и опиоидные пептиды, высвобождаемые одновременно из одного и того же нервного окончания, оказывают противовоспалительное и обезболивающее действие. Также эти ионные каналы на гладких мышцах сосудов, макрофагах и Th1-клетках, опосредуют про- и противовоспалительные эффекты, регулируя высвобождение цитокинов IFN- γ , интерлейкина-2 (IL-2), IL-10, TNF- α (Csekő et al. 2019).

В исследовании биопсийного материала пациентов с активной и неактивной формами CD и UC было обнаружено увеличение уровня мРНК TRPA1 в ответ на воспаление (Csekő et al. 2019; Ruparel et al. 2011). Тройное иммунофлуоресцентное окрашивание показало, что инфильтрирующие CD4⁺ Т-клетки экспрессировали TRPA1 и TRPV1. Наибольшее количество этих клеток было обнаружено в образцах ткани толстой кишки с активными формами CD и UC (Bertin et al. 2017). В других исследованиях было продемонстрировано, что TRPA1 обладает антифиброзным действием (Hiraishi et al. 2018; Kurahara et al. 2017). Когда фиброз был вызван главным профибротическим фактором — трансформирующим фактором роста бета (transforming growth factor beta), нокдаун TRPA1 с помощью

миРНК (малые интерферирующие РНК) приводит к усилению фиброгенных эффектов. Полученные результаты указывают на TRPA1 как на возможную молекулярную мишень для антифиброзной терапии при IBD. Также имеются доказательства того, что активация TRPA1 холодовым воздействием приводит к клеточным, тканевым и поведенческим реакциям *in vivo*, особенно при патологических состояниях (Talavera et al. 2020). Однако многие из этих реакций могут индуцироваться не прямой активацией TRPA1 холодом, а опосредованно за счет продукции стимулирующего/сенсibiliзирующего фактора.

Тот факт, что TRPA1 активируется в образцах воспаленной толстой кишки человека и мыши и играет защитную роль за счет снижения экспрессии множества провоспалительных нейропептидов, цитокинов и хемокинов, позволяет рассматривать применение агонистов TRPA1 в качестве потенциального подхода для лечения воспалительных состояний, сопровождающихся болью (Souza Monteiro de Araujo et al. 2020). В то же время имеются данные, указывающие и на возможную защитную роль антагонистов TRPA1. Так, показано, что антагонисты TRPA1, действующие периферически, могут ослаблять первичную гипералгезию (например, индуцированную воспалением сенсibilизацию периферических нервных окончаний), а антагонисты TRPA1 центрального действия уменьшают вторичную гипералгезию, вызванную различными типами периферических повреждений (Koivisto et al. 2018; Nummenmaa et al. 2020). Таким образом, можно предполагать, что TRPA1 является новой терапевтической мишенью для лечения IBD (Landini et al. 2022).

Участие других представителей суперсемейства TRP в патологических процессах

На сегодняшний день имеются сообщения об участии прочих представителей суперсемейства каналов-рецепторов TRP в физиологических, а также патологических процессах, ассоциированных с IBD и другими заболеваниями ЖКТ. Так, TRPML1 в париетальных клетках опосредует желудочную секрецию (Sahoo et al. 2017). Активация TRPM8 может ослаблять боль за счет подавления активности TRPV1 и ингибирования функции TRPA1 (Hosoya et al. 2014). TRPV2 является важным каналом в опосредовании воспаления слизистой оболочки кишечника (Issa et al. 2014). Дефицит TRPV2 приводит

к нарушению подвижности макрофагов, Th и NK-клеток (естественные киллеры, натуральные киллеры, Natural killer cells), что вызывает большую бактериальную нагрузку на органы (Santoni et al. 2013). TRPV4 играет провоспалительную роль, экспрессируется и функционирует в эпителиальных клетках кишечника (Matsumoto et al. 2018). Активация TRPV4 в ЖКТ вызывает повышение концентрации внутриклеточного кальция, высвобождение хемокинов, что приводит к воспалению. Была обнаружена высокая экспрессия мРНК TRPV4 в биоптатах толстой кишки человека и мыши с активным IBD (Fichna et al. 2012). Провоспалительное действие при активации TRPV4 может быть усилено стимуляцией рецептора, активируемого протеазой 2 (Protease activated receptor 2) (D'Aldebert et al. 2011). Также имеются данные о том, что TRPM2 может участвовать в развитии IBD. Образование иммунных инфильтратов и изъязвление толстой кишки были снижены у мышей с дефицитом TRPM2 на модели DSS-индуцированного колита (Zielińska et al. 2015). Ингибирование TRPM2 и TRPV4 может стать многообещающим подходом в терапии IBD.

Заключение

Рассмотренные в данном обзоре результаты исследований, посвященных изучению роли экспрессии TRPA1 во внутренних сенсорных нейронах ENS толстой кишки при IBD, демонстрируют важное значение TRPA1 в качестве регулятора при воспалительном ответе и гипералгезии. Установлено, что TRPA1 является потенциальной терапевтической мишенью при заболеваниях ЖКТ, включая IBD. Несмотря на актуальность данного направления и потенциальную возможность использования TRPA1 в лечении воспалительных состояний, на сегодняшний день существующих исследований недостаточно для формирования полного понимания роли TRPA1 в патофизиологии IBD. Необходимо дальнейшее изучение молекулярных путей, ассоциированных с TRPA1, и их влияния на патофизиологию IBD.

Также актуальным является комплексное исследование потенциальной роли суперсемейства ионных каналов-рецепторов TRP в нейrogenном воспалении при IBD, поскольку и другие рецепторы (помимо TRPA1 и TRPV1) могут участвовать в патологических воспалительных процессах в ЖКТ.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Вклад авторов

а. Дворникова Кристина Алексеевна — разработка концепции обзора, подбор литературы, написание рукописи, подготовка рисунка;

б. Быстрова Елена Юрьевна — редактирование рукописи, подготовка рукописи к публикации;

с. Платонова Ольга Николаевна — редактирование рукописи, подготовка рукописи к публикации.

Author Contributions

а. Kristina A. Dvornikova developed the review concept, screened the literature, drafted the manuscript, prepared the figure;

б. Elena Yu. Bystrova edited the manuscript, prepared the manuscript for publication;

с. Olga N. Platonova edited the manuscript, prepared the manuscript for publication.

Список сокращений

ЖКТ — желудочно-кишечный тракт; CD — болезнь Крона; CGRP — кальцитонин ген-родственный пептид; DRG — ганглии задних корешков; ENS — энтеральная нервная система; IBD — воспалительные заболевания кишечника; IFN- β — интерферон бета; IFN- γ — интерферон гамма; IL-1 — интерлейкин-1; IL-2 — интерлейкин-2; IL-6 — интерлейкин-6; IL-8 — интерлейкин-8; IL-10 — интерлейкин-10; IL-12 — интерлейкин-12; IL-17A — интерлейкин-17A; IL-18 — интерлейкин-18; IL-23 — интерлейкин-23; PRRs — паттерн-распознающие рецепторы; SP — вещество P; Th1 — Т-хелперы 1; Th2 — Т-хелперы 2; Th17 — Т-хелперы 17; TLRs — Toll-подобные рецепторы; TNF- α — фактор некроза опухоли- α ; TRP-каналы — каналы временного рецепторного потенциала; UC — язвенный колит.

List of Abbreviations

CD—Crohn's disease; CGRP—Calcitonin Gene-Related Peptide; DRG—dorsal root ganglia; ENS—enteric nervous system; IBD—inflammatory bowel disease; IFN- β —interferon beta; IFN- γ —interferon gamma; IL-1—interleukin-1; IL-2—interleukin-2; IL-6—interleukin-6; IL-8—interleukin-8; IL-10—interleukin-10; IL-12—interleukin-12; IL-17A—interleukin-17A; IL-18—interleukin-18; IL-23—interleukin-23; PRRs—pattern recognition receptors; SP—substance P; Th1—T helper 1; Th2—T helper 2; Th17—T helper 17; TLRs—Toll-like receptors; TNF- α —tumor necrosis factor alpha; TRP channels—transient receptor potential channels; UC—ulcerative colitis.

References

- Agrawal, M., Allin, K. H., Petralia, F. et al. (2022) Multiomics to elucidate inflammatory bowel disease risk factors and pathways. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, vol. 19, no. 6, pp. 399–409. <https://doi.org/10.1038/s41575-022-00593-y> (In English)
- Alaimo, A., Rubert, J. (2019) The pivotal role of TRP channels in homeostasis and diseases throughout the gastrointestinal tract. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 21, article 5277. <https://doi.org/10.3390/ijms20215277> (In English)
- Angelini, C., Varano, B., Puddu, P. et al. (2017) Direct and intestinal epithelial cell-mediated effects of TLR8 triggering on human dendritic cells, CD14⁺CD16⁺ monocytes and $\gamma\delta$ T lymphocytes. *Frontiers in Immunology*, vol. 8, article 1813. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01813> (In English)
- Atreya, R., Bloom, S., Scaldaferrri, F. et al. (2016) Clinical effects of a topically applied Toll-like receptor 9 agonist in active moderate-to-severe ulcerative colitis. *Journal of Crohn's and Colitis*, vol. 10, no. 11, pp. 1294–1302. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjw103> (In English)
- Bamps, D., Vriens, J., de Hoon, J. et al. (2020) TRP channel cooperation for nociception: Therapeutic opportunities. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, vol. 61, pp. 655–677. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010919-023238> (In English)
- Bertin, S., Aoki-Nonaka, Y., Lee, J. et al. (2017) The TRPA1 ion channel is expressed in CD4⁺ T cells and restrains T-cell-mediated colitis through inhibition of TRPV1. *Gut*, vol. 66, no. 9, pp. 1584–1596. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310710> (In English)
- BioRender (2022). [Online]. Available at: <https://biorender.com/> (accessed 17.03.2022). (In English)
- Camilleri, M. (2019) Leaky gut: Mechanisms, measurement and clinical implications in humans. *Gut*, vol. 68, no. 8, pp. 1516–1526. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318427> (In English)

- Catalan-Serra, I., Sandvik, A. K., Bruland, T. et al. (2017) Gammadelta T Cells in Crohn's disease: A new player in the disease pathogenesis? *Journal of Crohn's and Colitis*, vol. 11, no. 9, pp. 1135–1145. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjx039> (In English)
- Cattaruzza, F., Johnson, C., Leggit, A. et al. (2013) Transient receptor potential ankyrin 1 mediates chronic pancreatitis pain in mice. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 304, no. 11, pp. G1002–G1012. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00005.2013> (In English)
- Chassaing, B., Ley, R. E., Gewirtz, A. T. (2014) Intestinal epithelial cell toll-like receptor 5 regulates the intestinal microbiota to prevent low-grade inflammation and metabolic syndrome in mice. *Gastroenterology*, vol. 147, no. 6, pp. 1363–1377. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.08.033> (In English)
- Chubanov, V., Mittermeier, L., Gudermann, T. (2018) Role of kinase-coupled TRP channels in mineral homeostasis. *Pharmacology & Therapeutics*, vol. 184, pp. 159–176. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.11.003> (In English)
- Csekő, K., Beckers, B., Keszthelyi, D., Helyes, Z. (2019) Role of TRPV1 and TRPA1 ion channels in inflammatory bowel diseases: Potential therapeutic targets? *Pharmaceuticals*, vol. 12, no. 2, article 48. <https://doi.org/10.3390/ph12020048> (In English)
- D'Aldebert, E., Cenac, N., Rousset, P. et al. (2011) Transient receptor potential vanilloid 4 activated inflammatory signals by intestinal epithelial cells and colitis in mice. *Gastroenterology*, vol. 140, no. 1, pp. 275–285. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.09.045> (In English)
- De Souza, H. S., Fiocchi, C. (2016) Immunopathogenesis of IBD: Current state of the art. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, vol. 13, no. 1, pp. 13–27. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.186> (In English)
- Engel, M. A., Khalil, M., Mueller-Tribbensee, S. M. et al. (2012) The proximodistal aggravation of colitis depends on substance P released from TRPV1-expressing sensory neurons. *Journal of Gastroenterology*, vol. 47, no. 3, pp. 256–265. <https://doi.org/10.1007/s00535-011-0495-6> (In English)
- Fichna, J., Mokrowiecka, A., Cygankiewicz, A. I., et al. (2012) Transient receptor potential vanilloid 4 blockade protects against experimental colitis in mice: A new strategy for inflammatory bowel diseases treatment? *Neurogastroenterology and Motility*, vol. 24, no. 11, pp. e557–e560. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2012.01999.x> (In English)
- Flynn, S., Eisenstein, S. (2019) Inflammatory bowel disease presentation and diagnosis. *The Surgical Clinics of North America*, vol. 99, no. 6, pp. 1051–1062. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2019.08.001> (In English)
- Guan, Q. (2019) A comprehensive review and update on the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Journal of Immunology Research*, vol. 2019, article 7247238. <https://doi.org/10.1155/2019/7247238> (In English)
- Hiraishi, K., Kurahara, L.-H., Sumiyoshi, M. et al. (2018) Daikenchuto (Da-Jian-Zhong-Tang) ameliorates intestinal fibrosis by activating myofibroblast transient receptor potential ankyrin 1 channel. *World Journal of Gastroenterology*, vol. 24, no. 35, pp. 4036–4053. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i35.4036> (In English)
- Hollander, D. (2013) Intestinal permeability barrier in Crohn's disease: The difficulty in shifting the paradigm. *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 58, no. 7, pp. 1827–1829. <https://doi.org/10.1007/s10620-013-2721-y> (In English)
- Hosoya, T., Matsumoto, K., Tashima, K. et al. (2014) TRPM8 has a key role in experimental colitis-induced visceral hyperalgesia in mice. *Neurogastroenterology and Motility*, vol. 26, no. 8, pp. 1112–1121. <https://doi.org/10.1111/nmo.12368> (In English)
- Issa, C. M., Hambly, B. D., Wang, Y. et al. (2014) TRPV2 in the development of experimental colitis. *Scandinavian Journal of Immunology*, vol. 80, no. 5, pp. 307–312. <https://doi.org/10.1111/sji.12206> (In English)
- Kamdar, K., Khakpour, S., Chen, J. et al. (2016) Genetic and metabolic signals during acute enteric bacterial infection alter the microbiota and drive progression to chronic inflammatory disease. *Cell Host & Microbe*, vol. 19, no. 1, pp. 21–31. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.12.006> (In English)
- Koivisto, A., Jalava, N., Bratty, R., Pertovaara, A. (2018) TRPA1 antagonists for pain relief. *Pharmaceuticals*, vol. 11, no. 4, article 117. <https://doi.org/10.3390/ph11040117> (In English)
- Korolkova, O. Y., Myers, J. N., Pellom, S. T. et al. (2015) Characterization of serum cytokine profile in predominantly colonic inflammatory bowel disease to delineate ulcerative and Crohn's colitides. *Clinical Medicine Insights: Gastroenterology*, vol. 8, pp. 29–44. <https://doi.org/10.4137/CGast.S20612> (In English)
- Kun, J., Sztitter, I., Kemény, A. et al. (2014) Upregulation of the transient receptor potential ankyrin 1 ion channel in the inflamed human and mouse colon and its protective roles. *PloS ONE*, vol. 9, no. 9, article e108164. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108164> (In English)
- Kurahara, L. H., Hiraishi, K., Hu, Y. et al. (2017) Activation of myofibroblast TRPA1 by steroids and pifenidone ameliorates fibrosis in experimental Crohn's disease. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, vol. 5, no. 3, pp. 299–318. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2017.12.005> (In English)
- Landini, L., Souza Monteiro de Araujo, D., Titiz, M. et al. (2022) TRPA1 role in inflammatory disorders: What is known so far? *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 9, article 4529. <https://doi.org/10.3390/ijms23094529> (In English)
- Lu, Y., Li, X., Liu, S. et al. (2018) Toll-like receptors and inflammatory bowel disease. *Frontiers in Immunology*, vol. 9, article 72. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00072> (In English)

- Matsumoto, K., Yamaba, R., Inoue, K. et al. (2018) Transient receptor potential vanilloid 4 channel regulates vascular endothelial permeability during colonic inflammation in dextran sulphate sodium-induced murine colitis. *British Journal of Pharmacology*, vol. 175, no. 1, pp. 84–99. <https://doi.org/10.1111/bph.14072> (In English)
- Meents, J. E., Ciotu, C. I., Fischer, M. (2019) TRPA1: A molecular view. *Journal of Neurophysiology*, vol. 121, no. 2, pp. 427–443. <https://doi.org/10.1152/jn.00524.2018> (In English)
- Mirsepasi-Lauridsen, H. C., Vrankx, K., Engberg, J. et al. (2018) Disease-specific enteric microbiome dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Frontiers in Medicine*, vol. 5, article 304. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00304> (In English)
- Moossavi, S., Rezaei, N. (2013) Toll-like receptor signalling and their therapeutic targeting in colorectal cancer. *International Immunopharmacology*, vol. 16, no. 2, pp. 199–209. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.03.017> (In English)
- Moparathi, L., Zygmunt, P. M. (2020) Human TRPA1 is an inherently mechanosensitive bilayer-gated ion channel. *Cell Calcium*, vol. 91, article 102255. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2020.102255> (In English)
- Morgan, M. E., Koelink, P. J., Zheng, B. et al. (2014) Toll-like receptor 6 stimulation promotes T-helper 1 and 17 responses in gastrointestinal-associated lymphoid tissue and modulates murine experimental colitis. *Mucosal Immunology*, vol. 7, no. 5, pp. 1266–1277. <https://doi.org/10.1038/mi.2014.16> (In English)
- Nummenmaa, E., Hämäläinen, M., Pemmari, A. et al. (2020) Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) is involved in upregulating interleukin-6 expression in osteoarthritic chondrocyte models. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 1, article 87. <https://doi.org/10.3390/ijms22010087> (In English)
- Pazmandi, J., Kalinichenko, A., Ardy, R. C. et al. (2019) Early-onset inflammatory bowel disease as a model disease to identify key regulators of immune homeostasis mechanisms. *Immunological Reviews*, vol. 287, no. 1, pp. 162–185. <https://doi.org/10.1111/imr.12726> (In English)
- Piovani, D., Danese, S., Peyrin-Biroulet, L. et al. (2019) Environmental risk factors for inflammatory bowel diseases: An umbrella review of meta-analyses. *Gastroenterology*, vol. 157, no. 3, pp. 647–659. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.04.016> (In English)
- Quraishi, M. N., Shaheen, W., Oo, Y. H., Iqbal, T. H. (2020) Immunological mechanisms underpinning faecal microbiota transplantation for the treatment of inflammatory bowel disease. *Clinical and Experimental Immunology*, vol. 199, no. 1, pp. 24–38. <https://doi.org/10.1111/cei.13397> (In English)
- Regner, E. H., Ohri, N., Stahly, A. et al. (2018) Functional intraepithelial lymphocyte changes in inflammatory bowel disease and spondyloarthritis have disease specific correlations with intestinal microbiota. *Arthritis Research & Therapy*, vol. 20, no. 1, article 149. <https://doi.org/10.1186/s13075-018-1639-3> (In English)
- Roda, G., Chien Ng, S., Kotze, P. G. et al. (2020) Crohn's disease. *Nature Reviews. Disease Primers*, vol. 6, no. 1, article 22. <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0156-2> (In English)
- Ruparel, N. B., Patwardhan, A. M., Akopian, A. N. et al. (2011) Desensitization of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) by the TRP vanilloid 1-selective cannabinoid arachidonoyl-2 chloroethanolamine. *Molecular Pharmacology*, vol. 80, no. 1, pp. 117–123. <https://doi.org/10.1124/mol.110.068940> (In English)
- Sahoo, N., Gu, M., Zhang, X. et al. (2017) Gastric acid secretion from parietal cells is mediated by a Ca²⁺ efflux channel in the tubulovesicle. *Developmental Cell*, vol. 41, no. 3, pp. 262–273. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2017.04.003> (In English)
- Santoni, G., Farfariello, V., Liberati, S. et al. (2013) The role of transient receptor potential vanilloid type-2 ion channels in innate and adaptive immune responses. *Frontiers in Immunology*, vol. 4, article 34. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00034> (In English)
- Souza Monteiro de Araujo, D., Nassini, R., Geppetti, P. et al. (2020) TRPA1 as a therapeutic target for nociceptive pain. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, vol. 24, no. 10, pp. 997–1008. <https://doi.org/10.1080/14728222.2020.1815191> (In English)
- Sultan, S., El-Mowafy, M., Elgaml, A. et al. (2021) Metabolic influences of gut microbiota dysbiosis on inflammatory bowel disease. *Frontiers in Physiology*, vol. 12, article 715506. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.715506> (In English)
- Suo, Y., Wang, Z., Zubcevic, L. et al. (2020) Structural insights into electrophile irritant sensing by the human TRPA1 channel. *Neuron*, vol. 105, no. 5, pp. 882–894. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.11.023> (In English)
- Talavera, K., Startek, J. B., Alvarez-Collazo, J. et al. (2020) Mammalian transient receptor potential TRPA1 channels: From structure to disease. *Physiological Reviews*, vol. 100, no. 2, pp. 725–803. <https://doi.org/10.1152/physrev.00005.2019> (In English)
- Thachil, E., Hugot, J.-P., Arbeille, B. et al. (2012) Abnormal activation of autophagy-induced crinophagy in Paneth cells from patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*, vol. 142, no. 5, pp. 1097–1099. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.01.031> (In English)
- Uhlig, H. H., Powrie, F. (2018) Translating immunology into therapeutic concepts for inflammatory bowel disease. *Annual Review of Immunology*, vol. 36, pp. 755–781. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053055> (In English)
- Vijay, K. (2018) Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: Past, present, and future. *International Immunopharmacology*, vol. 59, pp. 391–412. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.03.002> (In English)

- Wang, Q., Xu, K.-Q., Qin, X.-R. et al. (2016) Association between physical activity and inflammatory bowel disease risk: A meta-analysis. *Digestive and Liver Disease*, vol. 48, no. 12, pp. 1425–1431. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2016.08.129> (In English)
- Yamamoto-Furusho, J. K., Parra-Holguín, N. N. (2021) Emerging therapeutic options in inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, vol. 27, no. 48, pp. 8242–8261. <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i48.8242> (In English)
- Yang, J.-Y., Kim, M.-S., Kim, E. et al. (2016) Enteric viruses ameliorate gut inflammation via Toll-like receptor 3 and Toll-like receptor 7-mediated Interferon- β production. *Immunity*, vol. 44, no. 4, pp. 889–900. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.03.009> (In English)
- Yue, L., Xu, H. (2021) TRP channels in health and disease at a glance. *Journal of Cell Science*, vol. 134, no. 13, article jcs258372. <https://doi.org/10.1242/jcs.258372> (In English)
- Zevallos, V. F., Raker, V., Tenzer, S. et al. (2017) Nutritional wheat amylase-trypsin inhibitors promote intestinal inflammation via activation of myeloid cells. *Gastroenterology*, vol. 152, no. 5, pp. 1100–1113. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.12.006> (In English)
- Zhu, L., Shi, T., Zhong, C. et al. (2017) IL-10 and IL-10 receptor mutations in very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Research*, vol. 10, no. 2, pp. 65–69. <https://doi.org/10.14740/gr740w> (In English)
- Zielińska, M., Jarmuż, A., Wasilewski, A. et al. (2015) Role of transient receptor potential channels in intestinal inflammation and visceral pain: novel targets in inflammatory bowel diseases. *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 21, no. 2, pp. 419–427. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000234> (In English)



УДК 612.65; 612.8

EDN [LDPXOJ](https://www.edn.ru/EDN_LDPXOJ)

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-432-454>

Различные экспериментальные модели в изучении влияния пренатальной гипоксии на развитие мозга

Е. И. Тюлькова^{✉1}

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторе

Екатерина Иосифовна Тюлькова, SPIN-код: [2953-4748](https://www.spin-ru.com/author/2953-4748), ORCID: [0000-0001-7539-652X](https://orcid.org/0000-0001-7539-652X), Scopus AuthorID: [6507357581](https://www.scopus.com/authid/detail/authid?eid=6507357581), e-mail: tyulkovae@infran.ru

Для цитирования: Тюлькова, Е. И. (2022) Различные экспериментальные модели в изучении влияния пренатальной гипоксии на развитие мозга. *Интегративная физиология*, т. 3, № 4, с. 432–454. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-432-454> EDN [LDPXOJ](https://www.edn.ru/EDN_LDPXOJ)

Получена 12 октября 2022; прошла рецензирование 20 ноября 2022; принята 21 ноября 2022.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Государственной программы РФ 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030).

Права: © Е. И. Тюлькова (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. Проблема пренатальной гипоксии и отдаленных ее последствий является чрезвычайно актуальной с точки зрения механизмов развития различных патологических состояний. Исследования молекулярно-клеточных и эпигенетических механизмов, лежащих в основе нарушений поведения и способности к обучению, возникающих в результате действия повреждающих воздействий в критические периоды пренатального онтогенеза, невозможны без использования модельных экспериментов на животных, которые могут воспроизводить эмбриональное развитие человека, особенно развитие мозга плода. При изучении влияния пренатальной гипоксии-ишемии на животных используется большое количество протоколов, различающихся по виду и возрасту животных, по применяемому воздействию, его степени и продолжительности, а также по возрасту, когда происходит тестирование изучаемых параметров. В обзоре представлены различные модели на животных создания гипоксии/ишемии в различные периоды пре- и перинатального онтогенеза. Практически во всех рассматриваемых моделях показано отставание в развитии мозга, нарушения поведения и способности к обучению. Как правило, они связаны не столько с потерей нейронов у взрослых животных, как с изменениями их функциональной активности. Степень и направленность изменений на молекулярно-клеточном уровне зачастую бывает различной в зависимости от типа и сроков воздействия. Несмотря на большое количество исследований в этом направлении, полного понимания молекулярно-клеточных механизмов, лежащих в основе нарушений развития мозга вследствие воздействия пренатальной гипоксии, еще нет.

Ключевые слова: онтогенез, пренатальная гипоксия/ишемия, мозг, поведение, обучение

Various experimental models in the study of the effect of prenatal hypoxia on brain development

Е. И. Tyulkova ¹

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Author

Ekaterina I. Tyulkova, SPIN: 2953-4748, ORCID: 0000-0001-7539-652X, Scopus Author ID: 6507357581, e-mail: tyulkovae@infran.ru

For citation: Tyulkova, E. I. (2022) Various experimental models in the study of the effect of prenatal hypoxia on brain development. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 4, pp. 432–454. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-432-454> EDN LDPXOJ

Received 12 October 2022; reviewed 20 November 2022; accepted 21 November 2022.

Funding: This study was supported by the Government Program of the Russian Federation 47 GP “Scientific and Technological Development of the Russian Federation” (2019–2030).

Copyright: © E. I. Tyulkova (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Studies related to prenatal hypoxia and its long-term consequences are extremely relevant as they may shed light on the mechanisms of development of various pathological conditions. It is impossible to study the molecular, cellular and epigenetic mechanisms underlying behavioral and learning disorders resulting from damaging effects during critical periods of prenatal ontogenesis without model experiments on animals as they can reproduce human embryonic development, in particular, fetal brain development. Protocols used to study the effect of prenatal hypoxia-ischemia on animals are numerous. They vary in the type and age of animals, applied effect, its degree and duration, and the age when the studied parameters are tested. The review presents various animal models of hypoxia/ischemia development in different periods of pre- and perinatal ontogenesis. Almost all the models under consideration show a lag in brain development, behavioral and learning disorders. As a rule, they are associated not so much with the loss of neurons in adult animals as with changes in their functional activity. The degree and direction of changes at the molecular and cellular levels often varies depending on the type and timing of exposure. Despite a large number of studies focusing on the reported issues, there is still no complete understanding of molecular and cellular mechanisms underlying brain development disorders induced by prenatal hypoxia.

Keywords: ontogenesis, prenatal hypoxia/ischemia, brain, behavior, learning

Введение

Гипотеза «эмбрионального происхождения болезней у взрослых» (Barker 2004; de Boo, Harding 2006; Langley-Evans, McMullen 2010; Warner, Ozanne 2010) показала, что неблагоприятная пренатальная среда может изменить «программу» развития тканей / органов в раннем возрасте и привести к повышенному риску развития различных возраст-обусловленных заболеваний (сердечно-сосудистых, метаболических, нейродегенеративных) и раннему старению (Barker et al. 2009; Gluckman, Hanson 2004; Gluckman et al. 2008; Harris, Seckl 2011). Эта теория предполагает, что факторы риска, связанные с внутриутробным воздействием окружающей среды, особенно в критические периоды органогенеза, влияют на развитие плода и повышают риск определенных заболеваний во взрослой жизни. Первоначально эта связь наблюдалась между пренатальным воздействием и ишемической болезнью сердца

у взрослых, но позже были опубликованы соответствующие наблюдения для ряда хронических заболеваний. Изменения в составе рациона, воспаление, инфекция, глюкокортикоиды, гипоксия, стресс и токсины играют жизненно важную роль в формировании фенотипа взрослого человека (Calkins, Devaskar 2011; Skogen, Øverland 2012). Гипоксия во время беременности является одной из самых распространенных форм стресса плода и вызывает ограничение его роста (низкий вес при рождении), а также жизненно важные системные пороки развития, особенно головного мозга (Katz et al. 2001; Miller et al. 2016; Phillips et al. 2017; Piešová, Mach 2020; Shen et al. 2020).

Проблема пренатальной гипоксии и отдаленных ее последствий является чрезвычайно актуальной с точки зрения механизмов развития различных патологических состояний (Leonard, Goldberger 1987). Гипоксия занимает важное место в генезе нарушений развития организма (Отеллин и др. 2012; Zhuravin et al. 2019).

Это обусловлено тем, что гипоксия стоит на первом месте в ряду причин гибели плода в антенатальном периоде, а также во многом определяет частоту психических и физических заболеваний в постнатальном онтогенезе (Барашнев 2000; Golan et al. 2004; Lawrence et al. 2019; Nyakas et al. 1996).

Хроническое кислородное голодание наблюдается практически при всякой патологии беременности, включая инфекционные заболевания женщин, гипертензивные нарушения почечного или сердечно-сосудистого генеза, или вследствие тяжелой нефропатии беременных. Кислородная недостаточность приводит к характерным изменениям метаболизма, гемодинамики и микроциркуляции при рождении у каждого второго ребенка и нарушает процессы адаптации в первые дни жизни у 50–75% детей. Поражения головного мозга вследствие перенесенной перинатальной гипоксии-ишемии в настоящее время являются одной из основных причин внезапной смерти и стойких неврологических расстройств у детей раннего возраста. Общая частота гипоксии плода сильно различается в европейских больницах, варьируя от 0,06 до 2,8% (Giannopoulou et al. 2018). У преждевременно родившихся детей и детей со сниженной массой тела этот показатель достигает 60% (Vannucci 2000; Volpe 1992). От 20 до 50% новорожденных детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией после перенесенной перинатальной асфиксии умирают, а у 25% выживших могут развиваться нейropsychологические нарушения, включая задержку умственного развития, церебральный паралич и эпилепсию, а также неспособность к обучению.

В ответ на гипоксию у плода, прежде всего, страдает нервная система, поскольку нервная ткань наиболее чувствительна к дефициту кислорода. Начиная с 6–11 недели развития эмбриона, недостаток кислорода вызывает задержку созревания головного мозга, нарушения в строении и функционировании сосудов, замедление созревания гематоэнцефалического барьера. Также гипоксию испытывают ткани почек, сердца, кишечника плода. Растущее число клинических, эпидемиологических и экспериментальных исследований в последние годы показало, что гипоксия матери играет решающую роль в нарушениях развития мозга и в послеродовой жизни, что повышает уязвимость к последующему возникновению психоневрологических и нейродегенеративных заболеваний, включая депрессию, тревогу, болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера (Nalivaeva et al. 2018; Shen et al. 2020). Пренатальная гипоксия серьезно

влияет на рост и развитие плода, приводя к низкой массе тела при рождении, преждевременным родам и ишемической гипоксической энцефалопатии, а в тяжелых случаях может непосредственно привести к смерти плода от асфиксии (Bennet et al. 2012). У плода 23–32 недель пренатальная гипоксия часто приводит к повреждению субкортикального развития белого вещества — перивентрикулярной лейкоэнцефалопатии (Du Plessis, Volpe 2002; Inder, Volpe 2000). Задержки развития у детей приводят к нарушениям способности к обучению, когнитивным расстройствам, двигательной активности вплоть до церебрального паралича, и другим последствиям (Delcour et al. 2012a; 2012b; Getahun et al. 2013; Giannopoulou et al. 2018; Gopagondanahalli et al. 2016; Nalivaeva et al. 2018; Owens, Hinshaw 2013; Roland et al. 1998; Tuor et al. 1996). Проявляясь в младенчестве в нарушении физического, эмоционального и умственного развития ребенка, последствия пренатальной гипоксии сохраняются у взрослых и усугубляются с возрастом, ведя к преждевременному старению и ранней смертности (Dudley et al. 2011; Langley-Evans, McMullen 2010; Vetrovov et al. 2020; Warner, Ozanne 2010; Xiong, Zhang 2013).

Диагностика поражений мозга у новорожденных, причиной которых является перинатальная гипоксия-ишемия, в большинстве случаев затруднительна. Разработка методов диагностики и лечения последствий пренатальной гипоксии-ишемии является первостепенной задачей для большинства исследователей и клиницистов, работающих в этой области. Исследования молекулярно-клеточных и эпигенетических механизмов, лежащих в основе нарушений поведения и способности к обучению, возникающих в результате действия повреждающих воздействий в критические периоды пренатального онтогенеза, невозможны без использования модельных экспериментов на животных, которые могут воспроизводить эмбриональное развитие человека, особенно развитие мозга плода. Такие исследования могут охватывать весь жизненный цикл — от пренатального онтогенеза до старости.

Изучение влияния пренатальной гипоксии началось в 50-е годы прошлого века и является актуальным до настоящего времени. В последние годы, чтобы лучше понять влияние пренатальной гипоксии на нарушения поведения и способности к обучению и лежащие в их основе молекулярно-клеточные механизмы у потомства, широко использовались и пересматривались модели пренатальной гипоксии

на животных, включая крыс, мышей, кроликов, кур и овец. Совершенствование подходов, особенно применение современных молекулярно-клеточных методов в этих исследованиях помогают понять механизмы вызываемых повреждений и разработать стратегию компенсаторной терапии. Предполагается, что на основе этих исследований будут созданы предпосылки для прорыва в области разработки методов лечения, позволяющих эффективно справляться с патологиями подобного рода и улучшать качество жизни.

Крысы и мыши являются наиболее популярными и удобными моделями грызунов, и обе они могут быть использованы в исследованиях пренатальной гипоксии. Различные модели пренатальной гипоксии у крыс (Дубровская, Журавин 2008; Cai et al. 1999; Delcour et al. 2012b; Jia et al. 2020; Sosedova et al. 2019; Vasilev et al. 2016; Vetrovoy et al. 2020; 2021; Wei et al. 2016; Zuravin et al. 2019) и мышей (Golan et al. 2004; 2009; Louzoun-Kaplan et al. 2008) приводят к дефициту памяти и нарушению способности к обучению, двигательной активности в раннем постнатальном онтогенезе и у взрослого потомства, что хорошо согласуется с наблюдаемыми последствиями внутриутробного кислородного голодания у человека.

В последнее время в качестве модели внутриутробной гипоксии/ишемии используют овец. Овца, как одно из крупных экспериментальных животных, считается наиболее подходящей моделью для исследований плода, поскольку реакцию плода можно наблюдать непосредственно с помощью записи электрокортикограмм (ЭКГ) внутриутробно. Длительная гипоксемия у плода овцы приводит к изменению цереброваскулярного сопротивления и потере массы мозга, аналогично человеческим плодам с ишемической болезнью сердца. Эта уникальная модель предоставляет возможности для изучения патологического процесса, лежащего в основе связанных с ишемической болезнью сердца плода нарушений развития головного мозга, и для оценки потенциальных методов нейропротекторной терапии (Lawrence et al. 2019; McClendon et al. 2017; McGovern et al. 2020).

Другие животные также могут быть использованы в исследованиях пренатальной гипоксии. У цыплят пренатальная гипоксия также может привести к дефициту памяти (Camm et al. 2001; 2005). У кроликов ишемия матки продолжительностью 30, 37, 38 или 40 мин на 21–22-й день беременности может привести к гипертонии и нарушениям двигательного контроля (Derrick

et al. 2004). У морских свинок пренатальная гипоксия приводила к снижению выживаемости нейронов в коре головного мозга и снижению плотности нейронов, обладающих иммунореактивностью, в области CA1 гиппокампа (Blutstein et al. 2013; Chung et al. 2015).

Последствия гипоксии проявляются не сразу, но независимо от того, на каком этапе внутриутробного развития действуют условия кислородной недостаточности, они влекут за собой длительно текущий процесс. Особенно пагубно действие гипоксии в критические периоды развития мозга.

Весь процесс беременности и родов имеет решающее значение для здорового развития плода. Однако в процессах закладки каждого органа и ткани существуют особо чувствительные периоды, когда неблагоприятные воздействия окружающей среды могут привести к отклонениям в развитии. В критические периоды плод становится высокореактивным и лабильным по отношению к внешним воздействиям. Вредоносные воздействия на зародыш приводят к избирательным нарушениям именно того органа, который находится в стадии наиболее интенсивного формирования — роста и дифференциации. Изменения в ходе критического периода носят необратимый характер, в результате чего структура и функция приобретают законченную форму, нечувствительную к модифицирующим воздействиям в более позднем возрасте. Весьма вероятно, что критические периоды наиболее характерны для анатомо-морфологических изменений в ходе развития (Отеллин 2003).

В экспериментальных и клинических исследованиях неоднократно было показано, что в пре- и перинатальном онтогенезе можно выделить периоды, характеризующиеся повышенной восприимчивостью мозга к различным повреждающим факторам. Предъявление повреждающего воздействия до или после закладки определенной структуры мозга приводит к менее разрушительным последствиям, чем воздействие в период его созревания (Rice, Barone 2000). Мозг наиболее уязвим в период «максимально быстрого развития мозга» (Dobbing 1968). Исследования молекулярно-клеточных основ развития мозга и нейрональной дифференциации выявили несколько периодов, названных «критическими». Критические периоды развития наиболее чувствительны к самым разнообразным внешним воздействиям, когда происходит наиболее активное деление клеток и их дифференциация. Хотя в основе всех подобных периодов лежит временное повышение

чувствительности к некоторым внешним влияниям, каждый из них имеет свои характерные особенности: сущность происходящих изменений; факторы, к которым повышается чувствительность; степень избирательности к восприятию; временной режим; последствия неадекватной реализации; обратимость результата.

Каждая структура мозга имеет свои характеристики созревания: начало, скорость, конец процесса и соответствующий этому период максимальной чувствительности. Использование моделей на животных применительно к человеку требует соотношения основных поведенческих характеристик и критических периодов. При сопоставлении модели гипоксии-ишемии на животных с человеком важное место занимает возраст (сроки) предъявления воздействия, критические сроки наибольшей уязвимости нейронов и глии в период беременности и новорожденности. Учитывая, что пренатальная гипоксия приводит к нарушениям поведения и способности к обучению наибольший интерес для исследователей представляют гиппокамп и новая кора. 14–16 сутки эмбрионального развития головного мозга крыс соответствуют 5–7 неделе беременности, а 17–19 сутки гестации — 8–10 недели (Bayer et al. 1993; Golan, Huleihel 2006). Как в неокортексе, так и в гиппокампе крыс и мышей на 14–16 сутки гестации происходит активное деление клеток-предшественников и их миграция. В этот период закладываются все области гиппокампа (Bayer 1980) и формируются V, VI слои неокортекса (Dehay, Kennedy 2007). Затем, на 17–19 сутки гестации в неокортексе окончательно закладываются II, III и IV слои и происходит настройка первичных связей между нейронами различных образований головного мозга. Кроме того, надо учитывать различия в синхронизации клеточной пролиферации, миграции клеток и синаптогенеза (Дубровская, Журавин 2008; Журавин и др. 2009; Резников 1981; Herlenius, Lagercrantz 2004). При разработке моделей на животных надо принимать во внимание все эти аспекты.

Общепринято, что незрелый мозг «устойчив» к повреждающему действию гипоксии-ишемии. Согласно представлениям о норме для взрослых плод в матке находится в условиях глубокой гипоксии. Считается, что плод не страдает от недостатка кислорода потому, что его потребности гораздо ниже, чем у взрослого, а гемоглобин плода обладает более высоким сродством к кислороду. Наряду с этим высказывается предположение, что внутриутробная гипоксия является необходимым условием раз-

вития организма (Аршавский 1982). В пользу этих предположений свидетельствуют данные, показавшие, что гипоксия способствует усилению пролиферации и накоплению прогениторных клеток в условиях культуры (Zhao et al. 2008).

По времени течения и скорости возникновения выделяют острую и хронически развивающуюся гипоксию плода. Возникновение острой гипоксии плода обычно связано с аномалиями и осложнениями родового акта — стремительными или затяжными родами, прижатием или выпадением пуповины, длительным сдавливанием головки в родовых путях. Острая гипоксия может возникать также на самых различных сроках беременности как неспецифическое проявление токсикозов и болезней сердечно-сосудистой и дыхательной систем, курение и употребление алкоголя во время беременности, в случае разрыва матки или преждевременной отслойки плаценты и т. п. При острой гипоксии стремительно нарастают нарушения функций жизненно важных органов плода. Острая гипоксия характеризуется учащением сердцебиения плода (более 160 уд. в мин) или его урежением (менее 120 уд. в мин), аритмией, глухостью тонов; усилением или ослаблением двигательной активности и т. д. Нередко на фоне острой гипоксии развивается асфиксия плода.

К хронической гипоксии приводит длительный умеренный дефицит кислорода, в условиях которого развивается плод. Хроническая недостаточность кислорода развивается преимущественно на фоне определенных заболеваний у беременных. Способствуют развитию этого отклонения в первую очередь патологии сердца и сосудов, такие как пороки сердца, гипертония, ишемия, сбой в сердечном ритме, а также хроническая анемия, эндокринные нарушения, болезни крови. Сахарный диабет, прогрессирующий у женщины, нередко вызывает гипоксические состояния во время беременности, провоцирует нарушение кровотока, многоводие. При хроническом дефиците кислорода возникает внутриутробная гипотрофия; в случае истощения компенсаторных возможностей плода развиваются те же нарушения, что и при остром варианте течения. Гипоксия плода или новорожденного может развиваться в ходе беременности или родов и представляет длительно текущий стадийный патологический процесс. Совершенно особое место занимает стадия, которая наступает вслед за острой гипоксией и характеризуется, с одной стороны, расстройством мозгового кровообращения, а с другой —

глубокими нарушениями процессов роста и дифференцировки клеточных элементов головного и спинного мозга. Именно эта стадия совпадает с наиболее ответственными периодами постнатальной адаптации и созревания организма, особенно его мозга. Морфологические изменения со стороны сосудистой системы мозга свидетельствуют о состоянии хронической гипоксии в этот период, в основе которой лежат не только нарушения процессов доставки кислорода и субстратов окисления, но и глубокая дезорганизация клеточного метаболизма.

Модели пренатальной гипоксии

В зависимости от экспериментальной модели пренатальной гипоксии, от ее длительности и тяжести гипоксического воздействия выявляются различные механизмы повреждения мозга.

Пренатальную гипоксию можно, в зависимости от локализации ее причины, разделить на два типа:

- 1) Гипоксия окружающей среды — и мать, и плод находятся в состоянии гипоксии, причиной является изменение внешней или материнской среды.
- 2) Гипоксия плаценты — у матери нормоксичность, но у плода гипоксия из-за нарушения функции плаценты.

В качестве модели недостатка кислорода в организме матери часто используют нормобарическую, гипобарическую и токсическую формы гипоксии. При такого рода воздействиях повреждающий фактор разделяется на две составляющих — с одной стороны это недостаток кислорода в организме матери, с другой — стрессорное воздействие гипоксии на организм матери. Факторы стресса опосредуют свое влияние на плод через организм матери и плаценту (Hompes et al. 2012), запуская каскад событий, включающий выброс стрессовых гормонов в кровь матери и структурно-функциональные изменения в материнской и фетальной частях плаценты, что может являться причиной патологических процессов и изменений состояния плода, ассоциированных с пренатальным стрессом (Buss et al. 2012; Miranda, Sousa 2018; Pryce 2008). Уровни глюкокортикоидов в период пренатального онтогенеза являются одним из наиболее важных факторов, вносящих вклад в феномен, названный «онтогенетическое программирование» или «эпигенетическое программирование» неврологических расстройств внутриутробного происхождения (Li et al. 2012; Moisiadis, Matthews 2014a; 2014b;

Waffarn, Davis 2012). Стрессорный ответ матери во время беременности может подготавливать плод к выживанию в суровых условиях после рождения. Взаимодействие развивающегося плода с внешней средой через глюкокортикоидную систему матери влияет на функционирование глюкокортикоидной системы потомства в постнатальном онтогенезе. Особую важность представляет длительность воздействия и временная точка, на которую приходится выброс глюкокортикоидов.

Вопрос, в какой степени нарушения развития мозга обусловлены гипоксическим фактором, а в какой — стрессорным, до сих пор остается открытым. В модельных экспериментах по введению глюкокортикоидных гормонов в те же сроки, что и гипоксические воздействия, показаны нарушения поведения и обучения у потомства, которые обусловлены нарушениями на молекулярно-клеточном уровне. Однако направленность и амплитуда этих нарушений отличается от последствий гипоксического воздействия (Ватаева и др. 2018; Тюлькова и др. 2015; 2020).

Модель нормобарической гипоксии

Большинство исследователей используют в своих исследованиях нормобарическую форму гипоксии. Эта модель воспроизводит в основном заболевания легких матери, апноэ во сне или другие нарушения, связанные с дыханием у людей (Ujhazy et al. 2013). Беременных самок крыс помещают в гипоксическую камеру со сниженным содержанием кислорода (с 20,7% до 7–10%) во вдыхаемом воздухе при нормальном атмосферном давлении в течение определенного периода гестации. В работах на грызунах (Baud et al. 2004; Gonzalez-Rodriguez et al. 2014; Peyronnet et al. 2000; Shchelchkova et al. 2020; Shen et al. 2020; Ujhazy et al. 2013; Wang et al. 2013; Wei et al. 2016 и др.) исследователи используют смесь 10% O₂ и 90% N₂ в течение длительных сроков беременности, охватывающих органогенез, гистогенез, нейрогенез.

Ряд авторов (Журавин и др. 2009; Piesova et al. 2020; Vasilev et al. 2016) подвергали самок кратковременному воздействию нормобарической гипоксии (7% кислорода) в определенные сроки беременности (14,5 или 17–18 сутки пренатального онтогенеза — периоды критические для созревания гиппокампа и неокортекса). Во всех исследованиях были показаны изменения эмоционально-исследовательского поведения, полового поведения, нарушения памяти, способности к обучению, поиска информации.

Было показано, что формирование неокортекса в постнатальном онтогенезе крыс, перенесших гипоксию в период пролиферации и миграции нейробластов, сопровождается не только изменением клеточного состава разных слоев коры в раннем онтогенезе, но пренатальная гипоксия снижает и количество нейронов, а также плотность сосудов и синапсов в гиппокампе, значительно ухудшая память у взрослого потомства (Васильев и др. 2008; Samm et al. 2021). Показано, что нормобарическая гипоксия оказывает значительное влияние на экспрессию и сплайсинг мРНК множества генов, участвующих в нормальной функции мозга и их эпигенетической регуляции. Это приводит к изменениям в паттернах экспрессии мРНК и белка и их посттрансляционных модификациях, включая неправильное формирование трехмерной структуры белка и его деградацию. Применение острой нормобарической гипоксии в модели на мышах приводит к усилению апоптоза (6% O₂, 6 ч на 19,5 сутки гестации) (Chen et al. 2015), нарушениям развития гиппокампа и неокортекса, повышает вероятность возникновения неонатальных припадков эпилепсии, двигательным нарушениям и ухудшению памяти у взрослого потомства (9% O₂ 2 ч на E17) (Golan et al. 2004), обусловленных снижением уровней ключевых белков ГАМК-пути в коре головного мозга (Louzoun-Kaplan et al. 2008).

Кроме того, нормобарическую гипоксию применяют в модели энцефалопатии новорожденных или модели недоношенной беременности. Крыс подвергают острой нормобарической гипоксии в перинатальном онтогенезе на вторые сутки после рождения. В это время реализуются запрограммированные гистогенетические процессы пролиферации, миграции и дифференцировки всех структурных элементов нервной ткани. Происходит становление и упорядочение слоев неокортекса, активно протекают синаптогенез и ангиогенез (Отеллин и др. 2012). В этой модели также показаны длительные изменения в поведении, выявлены нарушения ультраструктурной организации нейронов (Отеллин и др. 2021).

Модель гипобарической гипоксии

Менее распространена модель гипобарической гипоксии, хотя в качестве острой гипоксии ее применение является очень удобным, поскольку она легко дозируется и встречается в обычной жизни (Maresová et al. 2001). Подъем на 2500 м считается большой высотой для человека и также является одной из причин внутриутробной гипоксии. Около 140 миллионов

человек по всему миру проживает на больших высотах по сравнению с уровнем моря. Беременность на большой высоте протекает при сниженном уровне рО₂ в материнской артериальной крови, что негативно влияет на рост и нормальное функционирование плаценты (Patterson, Zhang 2010; Zamudio 2003). Однако грызуны более устойчивы к подъему на высоту по сравнению с человеком и для получения нарушений поведения и обучения при краткосрочном воздействии, сравнимых с расстройствами у человека, грызунов надо подвергать гораздо более тяжелым воздействиям. Подъем на 10–11,5 км (5% кислорода) приводит к неврологическим последствиям, наблюдаемым у людей (Graf et al. 2022). Тяжесть воздействия усугубляется еще и гипобарической составляющей. При применении нормобарической даже кратковременной гипоксии снижение содержания кислорода менее 7% для крыс невозможно. Применение тяжелой гипобарической гипоксии в период активного нейрогенеза (14–16 сутки гестации) в различных областях развивающегося мозга, в первую очередь гиппокампа, приводит к устойчивым нарушениям двигательного, эмоционального, исследовательского поведения и способности к обучению (Ватаева и др. 2018; Стратиллов и др. 2021).

Исследования последних лет показали, что патологии развития мозга, вызванные пренатальной гипоксией, помимо нарушения кислородного снабжения определяются неадекватным уровнем глюкокортикоидной стимуляции плода, которая ведет к снижению чувствительности гиппокампа к глюкокортикоидам и последующему проявляющемуся с возрастом ослаблению периферической регуляции глюкокортикоид-зависимых процессов (Vetrovoy et al. 2020). Однако на той же модели показано, что тяжелая гипобарическая гипоксия в начале третьей недели гестации крыс вызывает продолжительное увеличение содержания и активности транскрипционного фактора HIF1 α , сохраняющееся у новорожденных животных (Ветровой и др. 2020). Увеличение количества и активности HIF1 в незрелых предшественниках нейронов гиппокампа посредством вовлечения эпигенетических механизмов может способствовать стабильному изменению экспрессии генов энергетического метаболизма, тем самым нарушая функциональную активность нервных клеток в дальнейшем онтогенезе (Ma, Zhang 2015; Togher et al. 2014). Следовательно, одним из важных механизмов показанных долговременных нарушений развития мозга вследствие воздействия тяжелой гипобарической гипоксии,

предъявляемой крысам на 14–16 сутки гестации, лежат HIF1-зависимые изменения метаболизма в гиппокампе на ранних стадиях онтогенеза. Изменения функциональной активности гиппокампа также проявляются в нарушении индуцируемой гипоксией работы сигнальных систем клеток и дисфункции глутаматэргической медиаторной системы гиппокампа, приводящим к дефициту пространственной памяти и ранней потере нейронов (Vetrovoy et al. 2020; 2021). Эти изменения связаны с устойчивыми изменениями эпигенетического статуса (Тюлькова и др. 2020; Togher et al. 2014). Перепрограммирование эпигенома в течение раннего развития организма является очень сложно организованным процессом, включающим взаимодействие молекулярных изменений ДНК и гистоновых белков, определяющим баланс экспрессии генов, участвующих в поддержании пластичности клеток при адаптации к изменяющимся условиям среды (Ma, Zhang 2015). Показано изменение модификации гистонов и метилирования ДНК неокортекса и гиппокампа вследствие воздействия гипоксии на 14–16 сутки гестации у ювенильных и взрослых крыс, которое сохраняется до старости (Тюлькова и др. 2020).

Гипоксические воздействия приводят зачастую к противоречивым результатам в зависимости от сроков воздействия. Гипобарическая гипоксия на 14–16, но не на 17–19 сутки пренатального онтогенеза приводит к нарушениям пространственного обучения, изменениям уровней про- и антиоксидантных систем мозга. Тяжелая гипобарическая гипоксия на 14–16 сутки пренатального онтогенеза приводит к снижению уровня глутамата в гиппокампе крыс самцов (Vetrovoy et al. 2021), а примененная на 20 сутки — к его повышению у самок и неизменному уровню у самцов (Graf et al. 2022).

Модели гипоксии токсической природы

Альтернативными моделями хронической пренатальной гипоксии являются модели гипоксии токсической природы — нитритная интоксикация или введение высоких доз фенитоина (Mach et al. 2006; Sosedova et al. 2019) в течение 12 дней беременным самкам крыс. При такой форме гипоксии также показаны ухудшение пространственного обучения и развитие депрессии.

Модель унилатерального повреждения головного мозга новорожденных крыс, вызванного ишемическим инсультом

Длительная гипоксия ослабляет сердечную функцию, снижает кровяное давление и приводит к брадикардии. Слабеющая сердечно-сосудистая система больше не в состоянии обеспечивать ткани достаточным кровоснаб-

жением и питанием, и возникает ишемия. Наличие ишемии резко ухудшает воздействие гипоксии и снижает шансы нейронов на выживание. Снижение парциального давления кислорода в тканях связано со снижением уровня глюкозы, что может привести к снижению доступности энергии для клеток, разрушению нейронов и смерти (De Courten-Myers et al. 2020). Хотя гипоксия-ишемия не очень часто встречается у детей, родившихся в срок, более половины недоношенных детей и новорожденных с низкой массой тела при рождении страдают от нее (Delcour et al. 2012a). Для изучения такого рода патофизиологии асфиксического повреждения головного мозга младенцев была разработана модель Райса-Вануцци — модель унилатерального повреждения головного мозга новорожденных крыс, вызванного ишемическим инсультом (Rice et al. 1981; Vannucci, Perlman 1997; Vannucci et al. 1999). Позже эта модель была модифицирована для ее использования на мышцах (Sheldon et al. 1998). Метод заключается в полной перевязке сонной артерии на 7 сутки постнатального развития с последующей экспозицией животного к гипоксии, которая предполагает подачу газовой смеси, состоящей из кислорода (8%) и азота при постоянной температуре 37 °С. С такой перевязкой семисуточные крысята способны сохранять жизнедеятельность до 2,5–3 часов; при более длительной гипоксии наступает массовая гибель животных.

Эта модель была первоначально описана в «Annals of Neurology» в 1981 году и за более чем 40 лет, прошедших с момента этой публикации, в лабораториях по всему миру были проведены многочисленные исследования с использованием этого метода. В этой модели гипоксия приводит к гипоксемии, которая усугубляется гиперкапнией, вызываемой гипервентиляцией; гиперкапния компенсирует метаболический ацидоз, возникающий вследствие накопления лактата, и, как результат, системное рН в этих условиях не отличается от контрольного. Во время гипоксии системное кровяное давление падает на 25–30%, а внутримозговое кровоснабжение полушария, расположенного ипсилатерально по отношению к перевязанной сонной артерии, снижается на 40–69% по сравнению с таковым у контрольных крыс (Vannucci, Vannucci 2005). Внутримозговое кровоснабжение восстанавливается немедленно, сразу после возвращения в условия нормоксии. Важно отметить, что гиперемия, характерная для периода реперфузии после ишемии у взрослых животных, у незрелых крысят не развивается (Mujscje et al. 1990). У крысят, переживших

2–3-часовую экспозицию, гипоксия-ишемия вызывает массовую гибель нейронов или появление геморрагических очагов; в ряде случаев и то, и другое происходит одновременно. Гипоксия-ишемия, как правило, вызывает поражения коры головного мозга, субкортикального и перивентрикулярного белого вещества мозга, а также стриаталамической системы и гиппокампа. Подобные нарушения редко наблюдаются в контралатеральном полушарии, практически отсутствуют у крысят, подвергавшихся воздействиям не ишемических форм гипоксии (Towfighi et al. 1995; Vannucci, Perlman 1997).

Модель ишемии плаценты

Хроническая гипоксия плода может быть вызвана нарушением функций плаценты, которые могут быть вызваны дефектом плацентации, сбоем в развитии плаценты или нарушением ее функции (Piesova, Mach 2020; Wang et al. 2016). Нарушение развития плаценты на ранних сроках беременности так же, как и недостаточное поступление кислорода из кровообращения матери на более поздних сроках беременности, могут вызывать плод-плацентарную гипоксию и преэклампсию (Eskild et al. 2016). Плод-плацентарная гипоксия может развиваться в последней трети беременности, когда у матерей потребность в кислороде наиболее высока. Предполагается, что дисфункция плаценты при сниженном содержании кислорода в крови матери на ранних сроках беременности не может быть основной причиной плод-плацентарной гипоксии и преэклампсии. Напротив, при таких беременностях усиленный рост плаценты может быть важен в качестве компенсаторного механизма для улучшения транспорта кислорода из крови матери плоду. В группу плацентарных факторов входят различные патологии пуповины — наличие истинного, реже ложного узла пуповины, особенности прикрепления (оболочечное или краевое). Также сюда относятся заболевания, связанные с нарушенной инвазией трофобласта — преэклампсия и задержка роста плода, различные аномалии расположения плаценты, а также ее инфаркты и объемные образования (тромбы, инфаркты или опухоли). Вместе с нарушением снабжения плода кислородом дисфункция плаценты приводит к снижению снабжения плода питательными веществами. Гипоксия также влияет на поступление питательных веществ к плоду путем ингибирования плацентарного комплекса рапамицина 1 (mTORC1), ответственного за рост, пролиферацию и метаболизм клеток (Kimball

et al. 2015). Во время пренатальной гипоксии может наблюдаться снижение доступности незаменимых аминокислот (в основном фенилаланина, тирозина и серина) из-за их пониженного плацентарного транспорта и повышенного катаболизма для выработки энергии (Jansson, Powell 2007).

Причиной повреждения головного мозга во время внутриутробной гипоксии также может быть недостаточное развитие самой плаценты. Плацентарная недостаточность, связанная с внутриутробной гипоперфузией, считается наиболее частой причиной аномального развития плода (Nardoza et al. 2017).

Влияние умеренной внутриутробной гипоперфузии на развивающийся мозг неясно. Доступные в настоящее время модели внутриутробной гипоперфузии/ишемии на животных в основном включают либо тяжелую гипоперфузию, либо градиентную степень гипоперфузии с реперфузией или без нее (Coq et al. 2016; Jantzie et al. 2015; Kubo et al. 2017).

В настоящее время, как правило, используют модели ишемии плаценты на грызунах — перевязка либо маточной, либо яичниковой артерии, и двухстороннее отсечение яичниковых артерий и аорты (Delcour et al. 2011; Gilbert et al. 2007; Granger et al. 2006; Mazur et al. 2010; Olivier et al. 2005; Robinson et al. 2005). Наиболее часто в экспериментах применяют одностороннюю перевязку маточной артерии у беременных крыс. Используют как хроническое воздействие (перевязка на несколько суток в течение беременности) (Delcour et al. 2012b; So et al. 2017), так и краткосрочное воздействие (перезакрытие артерии на короткий срок в определенные дни беременности) (Cai et al. 1999; Sab et al. 2013). В этой модели гипоксия плода сопровождается недостаточным питанием плода из-за хронической гипоперфузии плаценты.

Показано (Delcour 2012a), что ишемия плаценты у грызунов воспроизводит некоторые из основных пороков, наблюдаемых у недоношенных детей, таких как повреждение белого и серого вещества, дефицит миелинизации, нарушения двигательной, сенсомоторной и кратковременной памяти, а также связанные с ними скелетно-мышечные и нейроанатомические гистопатологии. Взрослые крысы, рожденные от матерей с ишемией плаценты, проявляли спонтанную исследовательскую и моторную гиперактивность, дефицит в кодировании информации и нарушения кратковременной и долгосрочной памяти при запоминании объекта, но не имели нарушений в пространственном обучении или рабочей памяти в водном

лабиринте Морриса. Эти результаты соответствовали повреждению белого вещества и повреждениям в медиальной и латеральной энторинальной коре, выявленным по дегенерации аксонов, астроглиозу и плотности нейронов. Степень последующего повреждения головного мозга коррелирует со временем и продолжительностью пренатальной ишемии (Robinson et al. 2005).

Эта модель также используется на других животных. Гипоксия-ишемия на 22 день беременности у кроликов (вся продолжительность беременности составляет 30 дней) или на 30–35 день у морских свинок (беременность длится 65 дней) широко используются в качестве моделей церебрального паралича, поскольку они вызывают обширное повреждение белого вещества головного мозга (Coq et al. 2016).

Одним из недостатков этих моделей является обширная межплодная вариабельность, варьирующая от плодов с глубокой гипоперфузией до плодов с почти неизменной перфузией, в зависимости от положения плода в пределах артериальной аркады маточных и яичниковых артерий. Другим недостатком этих моделей является их неспособность различать положение каждого плода после рождения; следовательно, исследователи не могут определить тяжесть внутриутробной гипоперфузии, испытываемой отдельным плодом после его рождения.

Модель неполной ишемии плаценты

Была разработана модель неполной ишемии плаценты на крысах, включающая стеноз множественных артерий (Ohshima et al. 2016) — наложение металлических микроспиралей на проксимальные части всех артерий, снабжающих матку, т. е. на двусторонние маточные артерии и артерии яичников, на 17-й день эмбрионального развития (что эквивалентно 20–25 неделе эмбрионального развития у людей) (Rice, Varone 2000), что вызывает значительное, но умеренное уменьшение притока крови к плаценте и плодам. Уменьшение кровотока после наложения спиралей на все четыре артерии, питающие матку, практически одинаково для каждой плаценты и плода. Уровень смертности плодов составляет менее 20%. Самопроизвольные роды происходят на один — два дня раньше, чем обычно, и вес крысят, как правило, значительно ниже, чем у контрольных животных. Объемы серого и белого вещества уменьшаются без явного повреждения тканей. У экспериментальных крысят наблюдается задержка приобретения рефлексов новорожденного, мышечная слабость и измененная спонтанная активность. Эта модель

хорошо имитирует клинические признаки и симптомы преждевременно родившихся детей.

Хотя большинство морфологических изменений, наблюдаемых в пренатальной гипоксически-ишемической модели у крыс, аналогичны пренатальным повреждениям человеческого мозга, двигательные нарушения этих крыс не идентичны дефектам и спастичности, наблюдаемым у детей с церебральным параличом. Поэтому предполагается, что грызуны более устойчивы к гипоксии, чем люди, и для проявления спастических симптомов им требуется более сильная перинатальная ишемия мозга (Robinson et al. 2005).

Модель искусственной матки

В последние годы для разработки потенциальных методов нейропротекторной терапии на ранних этапах онтогенеза была разработана еще одна уникальная модель, имитирующая нарушения развития головного мозга, связанные с ишемической болезнью сердца плода. Врожденный порок сердца обуславливает аномальное развитие мозга плода, феномен, который может быть связан со снижением доставки кислорода в мозг внутриутробно при сохранении нормального снабжения плода питательными веществами. Для проверки этой гипотезы была использована модель искусственной матки (хроническая внутриутробная гипоксия) (Lawrence et al. 2019; McGovern et al. 2020). Экспериментальные (гипоксические) эмбриональные ягнята (средний гестационный возраст 111 ± 3 дня) и нормоксические животные (112 дней) содержались в искусственной матке в среднем 22 ± 6 дней. Доставка кислорода была снижена до $15,6 \pm 1,0$ мл/кг/мин у животных с гипоксией по сравнению с $21,6 \pm 2,0$ мл/кг/мин у контрольных животных. Биохимический анализ крови и ультразвуковое исследование проводили ежедневно. Дополнительная контрольная группа ($n = 7$) была рождена как обычно для овец на 134 ± 4 сутки гестации. По сравнению с нормоксическими и контрольными животными у гипоксических плодов была снижена масса мозга (по данным МРТ) и плотность нейронов, увеличена толщина внешнего зернистого слоя мозжечка, кроме того, гипоксические плоды имели повышенную плотность капилляров в белом веществе. Показатель целостности кортикального миелина был ниже в гипоксической группе по сравнению с нормоксическими и контрольными животными. Наблюдалась значительная отрицательная корреляция между целостностью миелина и плотностью капилляров. Хроническая гипоксия плода приводит

к повышенной васкуляризации белого вещества, снижению плотности нейронов мозжечка и нарушению миелинизации, аналогично невропатологическим результатам, наблюдаемым у детей с врожденными пороками сердца. Эти результаты подтверждают гипотезу о том, что гипоксия плода, даже при нормальном потреблении калорий, ухудшает развитие нервной системы.

Заключение

При изучении влияния пренатальной гипоксии-ишемии на животных используется большое количество протоколов, различающихся по виду и возрасту животных, по применяемому воздействию, его степени и продолжительности, а также по возрасту, когда происходит тестирование изучаемых параметров. Практически во всех представленных моделях показано отставание в развитии мозга, нарушения поведения и способности к обучению. Как правило, они связаны не столько с потерей нейронов у взрослых животных, как с изменениями их функциональной активности. Несмотря на большое количество исследований в этом направлении, полного понимания молекулярно-клеточных механизмов, лежащих в основе этих процессов, еще нет. Степень и направленность изменений на молекулярно-клеточном уровне, зачастую бывает различной в зависимости от типа и сроков воздействия. В настоящее время существует множество гипотез о механизмах влияния недостатка кислорода на эпигенетические модификации, нарушения эндокринной

оси, окислительное повреждение и митохондриальные дисфункции. Дальнейшие исследования моделей пренатальной гипоксии позволят лучше понять механизм нарушений функциональной активности нейронов и глии во время внутриутробного развития плода и разработать новые стратегии профилактики для сохранения целостности мозга и нормального поведения. Для этого необходимы максимально комплексные исследования всех сторон развития мозга в одной модели.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The author declares that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

В работе представлены данные литературы и результаты собственных ранее опубликованных исследований. Работу с животными не проводили.

Ethics Approval

The paper features the data from literature and the results of the author's previously published studies. The research did not involve animal experiments.

Список литературы

- Аршавский, И. А. (1982) *Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития*. М.: Наука, 270 с.
- Барашнев, Ю. И. (2000) Клинико-морфологическая характеристика и исходы церебральных расстройств при гипоксически-ишемических энцефалопатиях. *Акушерство и гинекология*, № 5, с. 39–42.
- Васильев, Д. С., Туманова, Н. А., Журавин, И. А. (2008) Структурные изменения в нервной ткани новой коры в онтогенезе крыс после гипоксии на разных сроках эмбриогенеза. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, т. 44, № 3, с. 258–267.
- Ватаева, Л. А., Тюлькова, Е. И., Алехин, А. Н., Стратилов, В. А. (2018) Влияние гипоксии или дексаметазона в различные сроки гестации на проявление условно-рефлекторного страха у взрослых крыс. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, т. 54, № 6, с. 392–398. <https://doi.org/10.1134/S0044452918060037>
- Ветровой, О. В., Нирицкий, П. П., Тюлькова, Е. И., Рыбникова, Е. А. (2020) Содержание и активность гипоксия-индуцируемого фактора HIF1 α увеличены в гиппокампе новорожденных крысят, переживших пренатальную гипоксию на 14–16 сутки эмбриогенеза. *Нейрохимия*, т. 37, № 3, с. 228–232. <https://doi.org/10.31857/S1027813320030127>
- Дубровская, Н. М., Журавин, И. А. (2008) Онтогенетические особенности поведения крыс, перенесших гипоксию на 14-е или 18-е сутки эмбриогенеза. *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*, т. 58, № 6, с. 718–727.
- Журавин, И. А., Туманова, Н. А., Васильев, Д. С. (2009) Структурные изменения нервной ткани гиппокампа в онтогенезе крыс после пренатальной гипоксии. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, т. 45, № 1, с. 138–140.

- Отеллин, В. А. (2003) Формирование патологий головного мозга в эмбриональный период. *Природа*, № 9, с. 30–35.
- Отеллин, В. А., Хожай, Л. И., Ватаева, Л. А. (2012) Влияние гипоксии в раннем пренатальном онтогенезе на поведение и структурные характеристики головного мозга. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, т. 48, № 5, с. 467–473.
- Отеллин, В. А., Хожай, Л. И., Шишко, Т. Т., Вершинина, Е. А. (2021) Ультраструктура ядрышек нейронов сенсомоторной области неокортекса крыс в неонатальный период после воздействия перинатальной гипоксии и фармакологической коррекции. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, т. 57, № 6, с. 494–499. <https://doi.org/10.31857/S0044452921050065>
- Резников, К. Ю. (1981) *Пролиферация клеток мозга позвоночных в условиях нормального развития мозга и при его травме*. М.: Наука, 149 с.
- Стратилов, В. А., Ветровой, О. В., Ватаева, Л. А., Тюлькова, Е. И. (2021) Ассоциированные с возрастом изменения в исследовательской активности в тесте «Открытое поле» у крыс, переживших пренатальную гипоксию. *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*, т. 71, № 3, с. 428–436. <https://doi.org/10.31857/S0044467721030102>
- Тюлькова, Е. И., Ватаева, Л. А., Ветровой, О. В., Романовский, Д. Ю. (2015) Пренатальная гипоксия модифицирует рабочую память и активность полифосфоинозитидной системы гиппокампа крыс. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, т. 51, № 2, с. 115–121.
- Тюлькова, Е. И., Ватаева, Л. А., Стратилов, В. А. и др. (2020) Особенности метилирования ДНК и гистона H3 в гиппокампе и неокортексе крыс, переживших патологические воздействия в пренатальном периоде развития. *Нейрохимия*, т. 37, № 1, с. 64–74. <https://doi.org/10.31857/S1027813320010197>
- Barker, D. J. (2004) Developmental origins of adult health and disease. *Journal of Epidemiology and Community Health*, vol. 58, no. 2, pp. 114–115. <https://doi.org/10.1136/jech.58.2.114>
- Barker, D. J., Osmond, C., Kajantie, E., Eriksson, J. G. (2009) Growth and chronic disease: Findings in the Helsinki birth cohort. *Annals of Human Biology*, vol. 36, no. 5, pp. 445–458. <https://doi.org/10.1080/03014460902980295>
- Baud, O., Daire, J.-L., Dalmaz, Y. et al. (2004) Gestational hypoxia induces white matter damage in neonatal rats: A new model of periventricular leukomalacia. *Brain Pathology*, vol. 14, no. 1, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2004.tb00492.x>
- Bayer, S. A. (1980) Development of the hippocampal region in the rat I. Neurogenesis examined with ³H-thymidine autoradiography. *The Journal of Comparative Neurology*, vol. 190, no. 1, pp. 87–114. <https://doi.org/10.1002/cne.901900107>
- Bayer, S. A., Altman, J., Russo, R. J., Zhang, X. (1993) Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology*, vol. 14, no. 1, pp. 83–144. PMID: 8361683
- Bennet, L., Davidson, J. O., Koome, M., Gunn, A. J. (2012) Glucocorticoids and preterm hypoxic-ischemic brain injury: The good and the bad. *Journal of Pregnancy*, vol. 2012, article 751694. <https://doi.org/10.1155/2012/751694>
- Blutstein, T., Castello, M. A., Viechweg, S. S. et al. (2013) Differential responses of hippocampal neurons and astrocytes to nicotine and hypoxia in the fetal guinea pig. *Neurotoxic Research*, vol. 24, no. 1, pp. 80–93. <https://doi.org/10.1007/s12640-012-9363-2>
- Buss, C., Davis, E. P., Shahbaba, B. et al. (2012) Maternal cortisol over the course of pregnancy and subsequent child amygdala and hippocampus volumes and affective problems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 109, no. 20, pp. E1312–E1319. <https://doi.org/10.1073/pnas.1201295109>
- Cai, Z., Xiao, F., Lee, B. et al. (1999) Prenatal hypoxia-ischemia alters expression and activity of nitric oxide synthase in the young rat brain and causes learning deficits. *Brain Research Bulletin*, vol. 49, no. 5, pp. 359–365. [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(99\)00076-3](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(99)00076-3)
- Calkins, K., Devaskar, S. U. (2011) Fetal origins of adult disease. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, vol. 41, no. 6, pp. 158–176. <https://doi.org/10.1016/j.cppeds.2011.01.001>
- Camm, E. J., Cross, C. M., Kane, A. D. et al. (2021) Maternal antioxidant treatment protects adult offspring against memory loss and hippocampal atrophy in a rodent model of developmental hypoxia. *The FASEB Journal*, vol. 35, article e21477. <https://doi.org/10.1096/fj.202002557RR>
- Camm, E. J., Gibbs, M. E., Harding, R. (2001) Restriction of prenatal gas exchange impairs memory consolidation in the chick. *Developmental Brain Research*, vol. 132, no. 2, pp. 141–150. [https://doi.org/10.1016/s0165-3806\(01\)00305-4](https://doi.org/10.1016/s0165-3806(01)00305-4)
- Camm, E. J., Gibbs, M. E., Harding, R. et al. (2005) Prenatal hypoxia impairs memory function but does not result in overt structural alterations in the postnatal chick brain. *Developmental Brain Research*, vol. 160, no. 1, pp. 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.devbrainres.2005.07.015>
- Chen, Q., Zhang, F., Wang, Y. et al. (2015) The transcription factor c-Myc suppresses MiR-23b and MiR-27b transcription during fetal distress and increases the sensitivity of neurons to hypoxia-induced apoptosis. *PLoS One*, vol. 10, no. 3, article e0120217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120217>

- Chung, Y., So, K., Kim, E. et al. (2015) Immunoreactivity of neurogenic factor in the guinea pig brain after prenatal hypoxia. *Annals of Anatomy*, vol. 200, pp. 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2015.02.003>
- Coq, J.-O., Delcour, M., Massicotte, V. S. et al. (2016) Prenatal ischemia deteriorates white matter, brain organization, and function: Implications for prematurity and cerebral palsy. *Developmental Medicine & Child Neurology*, vol. 58, no. 4, pp. 7–11. <https://doi.org/10.1111/dmcn.13040>
- De Boo, H. A., Harding, J. E. (2006) The developmental origins of adult disease (Barker) hypothesis. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, vol. 46, no. 1, pp. 4–14. <https://doi.org/10.1111/j.1479-828X.2006.00506.x>
- De Courten-Myers, G. M., Xi, G., Hwang, J. H. et al. (2000) Hypoglycemic brain injury: Potentiation from respiratory depression and injury aggravation from hyperglycemic treatment overshoots. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, vol. 20, no. 1, pp. 82–92. <https://doi.org/10.1097/00004647-200001000-00012>
- Dehay, C., Kennedy, H. (2007) Cell-cycle control and cortical development. *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 8, no. 6, pp. 438–450. <https://doi.org/10.1038/nrn2097>
- Delcour, M., Olivier, P., Chambon, C. et al. (2012a) Neuroanatomical, sensorimotor and cognitive deficits in adult rats with white matter injury following prenatal ischemia. *Brain Pathology*, vol. 22, no. 1, pp. 1–16. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2011.00504.x>
- Delcour, M., Russier, M., Amin, M. et al. (2012b) Impact of prenatal ischemia on behavior, cognitive abilities and neuroanatomy in adult rats with white matter damage. *Behavioural Brain Research*, vol. 232, no. 1, pp. 233–244. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.03.029>
- Delcour, M., Russier, M., Xin, D. L. et al. (2011) Mild musculoskeletal and locomotor alterations in adult rats with white matter injury following prenatal ischemia. *International Journal of Developmental Neuroscience*, vol. 29, no. 6, pp. 593–607. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2011.02.010>
- Derrick, M., Luo, N. L., Bregman, J. C. et al. (2004) Preterm fetal hypoxia-ischemia causes hypertonia and motor deficits in the neonatal rabbit: A model for human cerebral palsy? *Journal of Neuroscience*, vol. 24, no. 1, pp. 24–34. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2816-03.2004>
- Dobbing, J. (1968) Vulnerable periods in developing brain. In: A. N. Davison, J. Dobbing (eds.). *Applied neurochemistry*. Oxford: Blackwell Publ., pp. 287–316.
- Du Plessis, A. J., Volpe, J. J. (2002) Perinatal brain injury in the preterm and term newborn. *Current Opinion in Neurology*, vol. 15, no. 2, pp. 151–157. <https://doi.org/10.1097/00019052-200204000-00005>
- Dudley, K. J., Li, X., Kobar, M. S. et al. (2011) Epigenetic mechanisms mediating vulnerability and resilience to psychiatric disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 35, no. 7, pp. 1544–1551. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.12.016>
- Eskild, A., Strøm-Roum, E. M., Haavaldsen, C. (2016) Does the biological response to fetal hypoxia involve angiogenesis, placental enlargement and preeclampsia? *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, vol. 30, no. 3, pp. 305–309. <https://doi.org/10.1111/ppe.12283>
- Getahun, D., Rhoads, G. G., Demissie, K. et al. (2013) In utero exposure to ischemic-hypoxic conditions and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Pediatrics*, vol. 131, no. 1, pp. e53–e61. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-1298>
- Giannopoulou, I., Pagida, M. A., Briana, D. D., Panayotacopoulou, M. T. (2018) Perinatal hypoxia as a risk factor for psychopathology later in life: The role of dopamine and neurotrophins. *Hormones*, vol. 17, no. 1, pp. 25–32. <https://doi.org/10.1007/s42000-018-0007-7>
- Gilbert, J. S., Babcock, S. A., Granger, J. P. (2007) Hypertension produced by reduced uterine perfusion in pregnant rats is associated with increased soluble fms-like tyrosine kinase-1 expression. *Hypertension*, vol. 50, no. 6, pp. 1142–1147. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.096594>
- Gluckman, P. D., Hanson, M. A. (2004) Living with the past: Evolution, development, and patterns of disease. *Science*, vol. 305, no. 5691, pp. 1733–1736. <https://doi.org/10.1126/science.1095292>
- Gluckman, P. D., Hanson, M. A., Cooper, C., Thornburg, K. L. (2008) Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *New England Journal of Medicine*, vol. 359, no. 1, pp. 61–73. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0708473>
- Golan, H., Huleihel, M. (2006) The effect of prenatal hypoxia on brain development: Short- and long-term consequences demonstrated in rodent models. *Developmental Science*, vol. 9, no. 4, pp. 338–349. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7687.2006.00498.x>
- Golan, H., Kashtuzki, I., Hallak, M. et al. (2004) Maternal hypoxia during pregnancy induces fetal neurodevelopmental brain damage: Partial protection by magnesium sulfate. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 78, no. 3, pp. 430–441. <https://doi.org/10.1002/jnr.20269>
- Golan, M. H., Mane, R., Molczadzki, G. et al. (2009) Impaired migration signaling in the hippocampus following prenatal hypoxia. *Neuropharmacology*, vol. 57, no. 5-6, pp. 511–522. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.07.028>

- Gonzalez-Rodriguez, P. J., Xiong, F., Li, Y. et al. (2014) Fetal hypoxia increases vulnerability of hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats: Role of glucocorticoid receptors. *Neurobiology of Disease*, vol. 65, pp. 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.01.020>
- Gopagondanahalli, K. R., Li, J., Fahey, M. C. et al. (2016) Preterm hypoxic-ischemic encephalopathy. *Frontiers in Pediatrics*, vol. 4, article 114. <https://doi.org/10.3389/fped.2016.00114>
- Graf, A. V., Maslova, M. V., Artiukhov, A. V. et al. (2022) Acute prenatal hypoxia in rats affects physiology and brain metabolism in the offspring, dependent on sex and gestational. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 5, article 2579. <https://doi.org/10.3390/ijms23052579>
- Granger, J. P., LaMarca, B. B. D., Cockrell, K. et al. (2006) Reduced uterine perfusion pressure (RUPP) model for studying cardiovascular-renal dysfunction in response to placental ischemia. In: M. J. Soares, J. S. Hunt (eds.). *Placenta and Trophoblast. Methods in Molecular Medicine*. Vol. 122. Totowa: Humana Press Publ., pp. 383–392. <https://doi.org/10.1385/1-59259-989-3:381>
- Harris, A., Seckl, J. (2011) Glucocorticoids, prenatal stress and the programming of disease. *Hormones and Behavior*, vol. 59, no. 3, pp. 279–289. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.06.007>
- Herlenius, E., Lagercrantz, H. (2004) Development of neurotransmitter systems during critical periods. *Experimental Neurology*, vol. 190, no. 1, pp. S8–S21. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2004.03.027>
- Hompes, T., Vrieze, E., Fieuws, S. et al. (2012) The influence of maternal cortisol and emotional state during pregnancy on fetal intrauterine growth. *Pediatric Research*, vol. 72, no. 3, pp. 305–315. <https://doi.org/10.1038/pr.2012.70>
- Inder, T. E., Volpe, J. J. (2000) Mechanisms of perinatal brain injury. *Seminars in Neonatology*, vol. 5, no. 1, pp. 3–16. <https://doi.org/10.1053/siny.1999.0112>
- Jansson, T., Powell, T. L. (2007) Role of the placenta in fetal programming: Underlying mechanisms and potential interventional approaches. *Clinical Science*, vol. 113, no. 1, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1042/CS20060339>
- Jantzie, L. L., Corbett, C. J., Firl, D. J., Robinson, S. (2015) Postnatal erythropoietin mitigates impaired cerebral cortical development following subplate loss from prenatal hypoxia-ischemia. *Cerebral Cortex*, vol. 25, no. 9, pp. 2683–2695. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu066>
- Jia, L., Wang, J., Cao, H. et al. (2020) Activation of PGC-1 α and mitochondrial biogenesis protects against prenatal hypoxic-ischemic. *Brain Injury. Neuroscience*, vol. 432, pp. 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.02.035>
- Katz, J. M., Pacia, S. V., Devinsky, O. (2001) Current management of epilepsy and pregnancy: Fetal outcome, congenital malformations, and developmental delay. *Epilepsy & Behavior*, vol. 2, no. 2, pp. 119–123. <https://doi.org/10.1006/ebeh.2001.0158>
- Kimball, R., Wayment, M., Merrill, D. et al. (2015) Hypoxia reduces placental mTOR activation in a hypoxia-induced model of intrauterine growth restriction (IUGR). *Physiological Reports*, vol. 3, no. 12, article e12651. <https://doi.org/10.14814/phy2.12651>
- Kubo, K. I., Deguchi, K., Nagai, T. et al. (2017) Association of impaired neuronal migration with cognitive deficits in extremely preterm infants. *JCI Insight*, vol. 2, no. 10, article e88609. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.88609>
- Langley-Evans, S. C., McMullen, S. (2010) Developmental origins of adult disease. *Medical Principles and Practice*, vol. 19, no. 2, pp. 87–98. <https://doi.org/10.1159/000273066>
- Lawrence, K. M., McGovern, P. E., Mejjaddam, A. et al. (2019) Chronic intrauterine hypoxia alters neurodevelopment in fetal sheep. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, vol. 157, no. 5, pp. 1982–1991. <https://doi.org/10.1016%2Fj.jtcvs.2018.12.093>
- Leonard, C. T., Goldberger, M. E. (1987) Consequences of damage to the sensorimotor cortex in neonatal and adult cats. I. Sparing and recovery of function. *Developmental Brain Research*, vol. 32, no. 1, pp. 1–14. [https://doi.org/10.1016/0165-3806\(87\)90133-7](https://doi.org/10.1016/0165-3806(87)90133-7)
- Li, Y., Gonzalez, P., Zhang, L. (2012) Fetal stress and programming of hypoxic/ischemic-sensitive phenotype in the neonatal brain: Mechanisms and possible interventions. *Progress in Neurobiology*, vol. 98, no. 2, pp. 145–165. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2012.05.010>
- Louzoun-Kaplan, V., Zuckerman, M., Perez-Polo, J. R., Golan, H. M. (2008) Prenatal hypoxia down regulates the GABA pathway in newborn mice cerebral cortex; partial protection by MgSO₄. *International Journal of Developmental Neuroscience*, vol. 26, no. 1, pp. 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2007.09.002>
- Ma, Q., Zhang, L. (2015) Epigenetic programming of hypoxic-ischemic encephalopathy in response to fetal hypoxia. *Progress in Neurobiology*, vol. 124, pp. 28–48. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2014.11.001>
- Mach, M., Dubovicky, M., Navarová, J. et al. (2006) Vitamin E supplementation in phenytoin induced developmental toxicity in rats: Postnatal study. *Neuro Endocrinology Letters*, vol. 27, no. 2, pp. 69–73. PMID: [17159783](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17159783/)
- Maresová, D., Valkounová, I., Jandová, K. et al. (2001) Excitability changes of cortical neurons during the postnatal period in rats exposed to prenatal hypobaric hypoxia. *Physiological Research*, vol. 50, no. 2, pp. 215–219. PMID: [11522050](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11522050/)

- Mazur, M., Miller, R. H., Robinson, S. (2010) Postnatal erythropoietin treatment mitigates neural cell loss after systemic prenatal hypoxic-ischemic injury. *Journal of Neurosurgery: Pediatrics*, vol. 6, no. 3, pp. 206–221. <https://doi.org/10.3171/2010.5.PEDS1032>
- McClendon, E., Shaver, D. C., Degener-O'Brien, K. et al. (2017) Transient hypoxemia chronically disrupts maturation of preterm fetal ovine subplate neuron arborization and activity. *Journal of Neuroscience*, vol. 37, no. 49, pp. 11912–11929. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2396-17.2017>
- McGovern, P. E., Lawrence, K., Baumgarten, H. et al. (2020) Ex utero extracorporeal support as a model for fetal hypoxia and brain dysmaturity. *The Annals of Surgery*, vol. 109, no. 3, pp. 810–819. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2019.08.021>
- Miller, S. L., Huppi, P. S., Mallard, C. (2016) The consequences of fetal growth restriction on brain structure and neurodevelopmental outcome. *The Journal of Physiology*, vol. 594, no. 4, pp. 807–823. <https://doi.org/10.1113/jp271402>
- Miranda, A., Sousa, N. (2018) Maternal hormonal milieu influence on fetal brain development. *Brain and Behavior*, vol. 8, no. 2, article e00920. <https://doi.org/10.1002/brb3.920>
- Moisiadis, V. G., Matthews, S. G. (2014a) Glucocorticoids and fetal programming part 1: Outcomes. *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 10, no. 7, pp. 391–402. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.73>
- Moisiadis, V. G., Matthews, S. G. (2014b) Glucocorticoids and fetal programming part 2: Mechanisms. *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 10, no. 7, pp. 403–411. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.74>
- Mujisce, D. J., Christensen, M. A., Vannucci, R. C. (1990) Cerebral blood flow and edema in perinatal hypoxic-ischemic brain damage. *Pediatric Research*, vol. 27, no. 5, pp. 450–453. <https://doi.org/10.1203/00006450-199005000-00007>
- Nalivaeva, N. N., Turner, A. J., Zhuravin, I. A. (2018) Role of prenatal hypoxia in brain development, cognitive functions, and neurodegeneration. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 12, article 825. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00825>
- Nardoza, L. M. M., Caetano, A. C. R., Zamarian, A. C. P. et al. (2017) Fetal growth restriction: Current knowledge. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, vol. 295, no. 5, pp. 1061–1077. <https://doi.org/10.1007/s00404-017-4341-9>
- Nyakas, C., Buwalda, B., Luiten, P. G. M. (1996) Hypoxia and brain development. *Progress in Neurobiology*, vol. 49, no. 1, pp. 1–51. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(96\)00007-x](https://doi.org/10.1016/0301-0082(96)00007-x)
- Ohshima, M., Coq, J.-O., Otani, K. et al. (2016) Mild intrauterine hypoperfusion reproduces neurodevelopmental disorders observed in prematurity. *Scientific Reports*, vol. 6, article 39377. <https://doi.org/10.1038/srep39377>
- Olivier, P., Baud, O., Evrard, P. et al. (2005) Prenatal ischemia and white matter damage in rats. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, vol. 64, no. 11, pp. 998–1006. <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000187052.81889.57>
- Owens, E. B., Hinshaw, S. P. (2013) Perinatal problems and psychiatric comorbidity among children with ADHD. *Journal of Clinical Child & Adolescent Psychology*, vol. 42, no. 6, pp. 762–768. <https://doi.org/10.1080/15374416.2013.785359>
- Patterson, A. J., Zhang, L. (2010) Hypoxia and fetal heart development. *Current Molecular Medicine*, vol. 10, no. 7, pp. 653–666. <https://doi.org/10.2174/156652410792630643>
- Peyronnet, J., Roux, J. C., Géloën, A. et al. (2000) Prenatal hypoxia impairs the postnatal development of neural and functional chemoafferent pathway in rat. *Journal of Physiology*, vol. 524, no. 2, pp. 525–537. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.00525.x>
- Phillips, T. J., Scott, H., Menassa, D. A. et al. (2017) Treating the placenta to prevent adverse effects of gestational hypoxia on fetal brain development. *Scientific Reports*, vol. 7, article 9079. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06300-1>
- Piešová, M., Mach, M. (2020) Impact of perinatal hypoxia on the developing brain. *Physiological Research*, vol. 69, no. 2, pp. 199–213. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934198>
- Pryce, C. R. (2008) Postnatal ontogeny of expression of the corticosteroid receptor genes in mammalian brains: Inter-species and intra-species differences. *Brain Research Reviews*, vol. 57, no. 2, pp. 596–605. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.08.005>
- Rice, D., Barone, S. (2000) Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: Evidence from humans and animal models. *Environmental Health Perspectives*, vol. 108, no. 3, pp. 511–533. <https://doi.org/10.1289/ehp.00108s3511>
- Rice, J. E., Vannucci, R. C., Brierley, J. B. (1981) The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat. *Annals of Neurology*, vol. 9, no. 2, pp. 131–141. <https://doi.org/10.1002/ana.410090206>
- Robinson, S., Petelenz, K., Li, Q. et al. (2005) Developmental changes induced by graded prenatal systemic hypoxic-ischemic insults in rats. *Neurobiology of Disease*, vol. 18, no. 3, pp. 568–581. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2004.10.024>
- Roland, E. H., Poskitt, K., Rodriguez, E. et al. (1998) Perinatal hypoxic-ischemic thalamic injury: Clinical features and neuroimaging. *Annals of Neurology*, vol. 44, no. 2, pp. 161–166. <https://doi.org/10.1002/ana.410440205>

- Sab, I. M., Ferraz, M. M., Amaral, T. A. et al. (2013) Prenatal hypoxia, habituation memory and oxidative stress. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, vol. 107, pp. 24–28. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.04.004>
- Shchelchkova, N. A., Kokaya, A. A., Bezhenar, V. F. et al. (2020) The role of brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor in chronic fetal oxygen deprivation. *Modern Technologies in Medicine*, vol. 12, no. 1, pp. 25–31. <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.1.03>
- Sheldon, R. A., Sedik, C., Ferriero, D. M. (1998) Strain-related brain injury in neonatal mice subjected to hypoxia-ischemia. *Brain Research*, vol. 810, no. 1-2, pp. 114–122. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(98\)00892-0](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(98)00892-0)
- Shen, G., Hu, S., Zhao, Z. et al. (2020) Antenatal hypoxia accelerates the onset of Alzheimer's disease pathology in 5xFAD mouse model. *Frontiers in Aging Neuroscience*, vol. 12, article 251. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00251>
- Skogen, J. C., Øverland, S. (2012) The fetal origins of adult disease: A narrative review of the epidemiological literature. *JRSM Short Reports*, vol. 3, no. 8, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1258/shorts.2012.012048>
- So, K., Chung, Y., Yu, S.-K., Jun, Y. (2017) Regional immunoreactivity of Pax6 in the neurogenic zone after chronic prenatal hypoxia. *In Vivo*, vol. 31, no. 6, pp. 1125–1129. <https://doi.org/10.21873/invivo.11178>
- Sosedova, L. M., Vokina, V. A., Kapustina, E. A. (2019) Contribution of fetal programming in the formation of cognitive impairments induced by lead poisoning in white rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 166, no. 5, pp. 617–621. <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04404-4>
- Togher, K. L., O'Keeffe, M. M., Khashan, A. S. et al. (2014) Epigenetic regulation of the placental HSD11B2 barrier and its role as a critical regulator of fetal development. *Epigenetics*, vol. 9, no. 6, pp. 816–822. <https://doi.org/10.4161/epi.28703>
- Towfighi, J., Zec, N., Yager, J. et al. (1995) Temporal evolution of neuropathologic changes in an immature rat model of cerebral hypoxia: A light microscopic study. *Acta Neuropathologica*, vol. 90, no. 4, pp. 375–386. <https://doi.org/10.1007/BF00315011>
- Tuor, U. I., Del Bigio, M. R., Chumas, P. D. (1996) Brain damage due to cerebral hypoxia/ischemia in the neonate: Pathology and pharmacological modification. *Cerebrovascular & Brain Metabolism Review*, vol. 8, no. 2, pp. 159–193. PMID: 8727185
- Ujhazy, E., Dubovicky, M., Navarova, J. et al. (2013) Subchronic perinatal asphyxia in rats: Embryo-foetal assessment of a new model of oxidative stress during critical period of development. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 61, pp. 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.023>
- Vannucci, R. C. (2000) Hypoxic-ischemic encephalopathy. *American Journal of Perinatology*, vol. 17, no. 3, pp. 113–120. <https://doi.org/10.1055/s-2000-9293>
- Vannucci, R. C., Connor, J. R., Mauger, D. T. et al. (1999) Rat model of perinatal hypoxic-ischemic brain damage. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 55, no. 2, pp. 158–163. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19990115\)55:2<158::AID-JNR3>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19990115)55:2<158::AID-JNR3>3.0.CO;2-1)
- Vannucci, C. R., Perlman, J. M. (1997) Interventions for perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*, vol. 100, no. 6, pp. 1004–1014. <https://doi.org/10.1542/peds.100.6.1004>
- Vannucci, R. C., Vannucci, S. J. (2005) Perinatal hypoxic-ischemic brain damage: Evolution of an animal model. *Developmental Neuroscience*, vol. 27, no. 2-4, pp. 81–86. <https://doi.org/10.1159/000085978>
- Vasilev, D. S., Dubrovskaya, N. M., Tumanova, N. L., Zhuravin, I. A. (2016) Prenatal hypoxia in different periods of embryogenesis differentially affects cell migration, neuronal plasticity, and rat behavior in postnatal ontogenesis. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 10, article 126. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00126>
- Vetrovoy, O., Stratilov, V., Nimiritsky, P. et al. (2021) Prenatal hypoxia induces premature aging accompanied by disturbed function of glutamatergic system in rat hippocampus. *Neurochemical Research*, vol. 46, no. 3, pp. 550–563. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03191-z>
- Vetrovoy, O., Tyulkova, E., Stratilov, V. et al. (2020) Long-term effects of prenatal severe hypoxia on central and peripheral components of the glucocorticoid system in rats. *Developmental Neuroscience*, vol. 42, no. 2-4, pp. 145–158. <https://doi.org/10.1159/000512223>
- Volpe, J. J. (1992) Brain injury in the premature infant—current concepts of pathogenesis and prevention. *Biology of the Neonate*, vol. 62, no. 4, pp. 231–242. <https://doi.org/10.1159/000243876>
- Waffarn, F., Davis, E. P. (2012) Effects of antenatal corticosteroids on the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis of the fetus and newborn: Experimental findings and clinical considerations. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 207, no. 6, pp. 446–454. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2012.06.012>
- Wang, X., Meng, F.-S., Liu, Z.-Y. et al. (2013) Gestational hypoxia induces sex-differential methylation of *Crhr1* linked to anxiety-like behavior. *Molecular Neurobiology*, vol. 48, no. 3, pp. 544–555. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8444-4>
- Wang, W.-T., Lee, P., Dong, Y. et al. (2016) In vivo neurochemical characterization of developing guinea pigs and the effect of chronic fetal hypoxia. *Neurochemical Research*, vol. 41, no. 7, pp. 1831–1843. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-1924-y>

- Warner, M. J., Ozanne, S. E. (2010) Mechanisms involved in the developmental programming of adulthood disease. *Biochemical Journal*, vol. 427, no. 3, pp. 333–347. <https://doi.org/10.1042/bj20091861>
- Wei, B., Li, L., He, A. et al. (2016) Hippocampal NMDAR-Wnt-Catenin signaling disrupted with cognitive deficits in adolescent offspring exposed to prenatal hypoxia. *Brain Research*, vol. 1631, pp. 157–164. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.11.041>
- Xiong, F., Zhang, L. (2013) Role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in developmental programming of health and disease. *Frontiers in Neuroendocrinology*, vol. 34, no. 1, pp. 27–46. <https://doi.org/doi:10.1016/j.yfrne.2012.11.002>
- Zamudio, S. (2003) The placenta at high altitude. *High Altitude Medicine & Biology*, vol. 4, no. 2, pp. 171–191. <https://doi.org/10.1089/152702903322022785>
- Zhao, T., Zhang, C. P., Liu, Z. H. et al. (2008) Hypoxia-driven proliferation of embryonic neural stem/progenitor cells—role of hypoxia-inducible transcription factor-1 α . *FEBS Journal*, vol. 275, no. 8, pp. 1824–1834. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06340.x>
- Zhuravin, I. A., Dubrovskaya, N. M., Vasilev, D. S. et al. (2019). Prenatal hypoxia produces memory deficits associated with impairment of long-term synaptic plasticity in young rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 164, article 107066. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2019.107066>

References

- Arshavskij, I. A. (1982) *Fiziologicheskie mekhanizmy i zakonomernosti individual'nogo razvitiya [Physiological mechanisms and patterns of individual development]*. Moscow: Nauka Publ., 270 p. (In Russian)
- Barashnev, Yu. I. (2000) Kliniko-morfologicheskaya kharakteristika i iskhody tserebral'nykh rasstrojstv pri gipoksicheski-ishemicheskikh entsefalopatiyakh [Clinical and morphological characteristics and outcomes of cerebral disorders in hypoxic-ischemic encephalopathies]. *Akusherstvo i ginekologiya — Obstetrics and Gynecology*, no. 5, pp. 39–42. (In Russian)
- Barker, D. J. (2004) Developmental origins of adult health and disease. *Journal of Epidemiology and Community Health*, vol. 58, no. 2, pp. 114–115. <https://doi.org/10.1136/jech.58.2.114> (In English)
- Barker, D. J., Osmond, C., Kajantie, E., Eriksson, J. G. (2009) Growth and chronic disease: Findings in the Helsinki birth cohort. *Annals of Human Biology*, vol. 36, no. 5, pp. 445–458. <https://doi.org/10.1080/03014460902980295> (In English)
- Baud, O., Daire, J.-L., Dalmaz, Y. et al. (2004) Gestational hypoxia induces white matter damage in neonatal rats: A new model of periventricular leukomalacia. *Brain Pathology*, vol. 14, no. 1, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2004.tb00492.x> (In English)
- Bayer, S. A. (1980) Development of the hippocampal region in the rat I. Neurogenesis examined with ³H-thymidine autoradiography. *The Journal of Comparative Neurology*, vol. 190, no. 1, pp. 87–114. <https://doi.org/10.1002/cne.901900107> (In English)
- Bayer, S. A., Altman, J., Russo, R. J., Zhang, X. (1993) Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology*, vol. 14, no. 1, pp. 83–144. PMID: [8361683](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8361683/) (In English)
- Bennet, L., Davidson, J. O., Koome, M., Gunn, A. J. (2012) Glucocorticoids and preterm hypoxic-ischemic brain injury: The good and the bad. *Journal of Pregnancy*, vol. 2012, article 751694. <https://doi.org/10.1155/2012/751694> (In English)
- Blutstein, T., Castello, M. A., Viechweg, S. S. et al. (2013) Differential responses of hippocampal neurons and astrocytes to nicotine and hypoxia in the fetal guinea pig. *Neurotoxic Research*, vol. 24, no. 1, pp. 80–93. <https://doi.org/10.1007/s12640-012-9363-2> (In English)
- Buss, C., Davis, E. P., Shahbaba, B. et al. (2012) Maternal cortisol over the course of pregnancy and subsequent child amygdala and hippocampus volumes and affective problems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 109, no. 20, pp. E1312–E1319. <https://doi.org/10.1073/pnas.1201295109> (In English)
- Cai, Z., Xiao, F., Lee, B. et al. (1999) *Prenatal hypoxia-ischemia alters expression and activity of nitric oxide* [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(99\)00076-3](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(99)00076-3) (In English)
- Calkins, K., Devaskar, S. U. (2011) Fetal origins of adult disease. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, vol. 41, no. 6, pp. 158–176. <https://doi.org/10.1016/j.cppeds.2011.01.001> (In English)
- Camm, E. J., Cross, C. M., Kane, A. D. et al. (2021) Maternal antioxidant treatment protects adult offspring against memory loss and hippocampal atrophy in a rodent model of developmental hypoxia. *The FASEB Journal*, vol. 35, article e21477. <https://doi.org/10.1096/fj.202002557RR> (In English)
- Camm, E. J., Gibbs, M. E., Harding, R. (2001) Restriction of prenatal gas exchange impairs memory consolidation in the chick. *Developmental Brain Research*, vol. 132, no. 2, pp. 141–150. [https://doi.org/10.1016/s0165-3806\(01\)00305-4](https://doi.org/10.1016/s0165-3806(01)00305-4) (In English)

- Camm, E. J., Gibbs, M. E., Harding, R. et al. (2005) Prenatal hypoxia impairs memory function but does not result in overt structural alterations in the postnatal chick brain. *Developmental Brain Research*, vol. 160, no. 1, pp. 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.devbrainres.2005.07.015> (In English)
- Chen, Q., Zhang, F., Wang, Y. et al. (2015) The transcription factor c-Myc suppresses MiR-23b and MiR-27b transcription during fetal distress and increases the sensitivity of neurons to hypoxia-induced apoptosis. *PLoS One*, vol. 10, no. 3, article e0120217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120217> (In English)
- Chung, Y., So, K., Kim, E. et al. (2015) Immunoreactivity of neurogenic factor in the guinea pig brain after prenatal hypoxia. *Annals of Anatomy*, vol. 200, pp. 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2015.02.003> (In English)
- Coq, J.-O., Delcour, M., Massicotte, V. S. et al. (2016) Prenatal ischemia deteriorates white matter, brain organization, and function: Implications for prematurity and cerebral palsy. *Developmental Medicine & Child Neurology*, vol. 58, no. 4, pp. 7–11. <https://doi.org/10.1111/dmcn.13040> (In English)
- De Boo, H. A., Harding, J. E. (2006) The developmental origins of adult disease (Barker) hypothesis. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, vol. 46, no. 1, pp. 4–14. <https://doi.org/10.1111/j.1479-828X.2006.00506.x> (In English)
- De Courten-Myers, G. M., Xi, G., Hwang, J. H. al. (2000) Hypoglycemic brain injury: Potentiation from respiratory depression and injury aggravation from hyperglycemic treatment overshoots. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, vol. 20, no. 1, pp. 82–92. <https://doi.org/10.1097/00004647-200001000-00012> (In English)
- Dehay, C., Kennedy, H. (2007) Cell-cycle control and cortical development. *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 8, no. 6, pp. 438–450. <https://doi.org/10.1038/nrn2097> (In English)
- Delcour, M., Olivier, P., Chambon, C. et al. (2012a) Neuroanatomical, sensorimotor and cognitive deficits in adult rats with white matter injury following prenatal ischemia. *Brain Pathology*, vol. 22, no. 1, pp. 1–16. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2011.00504.x> (In English)
- Delcour, M., Russier, M., Amin, M. et al. (2012b) Impact of prenatal ischemia on behavior, cognitive abilities and neuroanatomy in adult rats with white matter damage. *Behavioural Brain Research*, vol. 232, no. 1, pp. 233–244. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.03.029> (In English)
- Delcour, M., Russier, M., Xin, D. L. et al. (2011) Mild musculoskeletal and locomotor alterations in adult rats with white matter injury following prenatal ischemia. *International Journal of Developmental Neuroscience*, vol. 29, no. 6, pp. 593–607. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2011.02.010> (In English)
- Derrick, M., Luo, N. L., Bregman, J. C. et al. (2004) Preterm fetal hypoxia-ischemia causes hypertonia and motor deficits in the neonatal rabbit: A model for human cerebral palsy? *Journal of Neuroscience*, vol. 24, no. 1, pp. 24–34. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2816-03.2004> (In English)
- Dobbing, J. (1968) Vulnerable periods in developing brain. In: A. N. Davison, J. Dobbing (eds.). *Applied neurochemistry*. Oxford: Blackwell Publ., pp. 287–316. (In English)
- Du Plessis, A. J., Volpe, J. J. (2002) Perinatal brain injury in the preterm and term newborn. *Current Opinion in Neurology*, vol. 15, no. 2, pp. 151–157. <https://doi.org/10.1097/00019052-200204000-00005> (In English)
- Dubrovskaya, N. M., Zhuravin, I. A. (2008) Ontogeneticheskie osobennosti povedeniya krysa, perenesshikh gipoksiyu na 14-e ili 18-e sutki embriogeneza [Specificity of ontogenetic development of behavior of rats subjected to prenatal hypoxia on the 14-th or 18-th days of embryogenesis]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 58, no. 6, pp. 718–727. (In Russian)
- Dudley, K. J., Li, X., Kobor, M. S. et al. (2011) Epigenetic mechanisms mediating vulnerability and resilience to psychiatric disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 35, no. 7, pp. 1544–1551. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.12.016> (In English)
- Eskild, A., Strøm-Roum, E. M., Haavaldsen, C. (2016) Does the biological response to fetal hypoxia involve angiogenesis, placental enlargement and preeclampsia? *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, vol. 30, no. 3, pp. 305–309. <https://doi.org/10.1111/ppe.12283> (In English)
- Getahun, D., Rhoads, G. G., Demissie, K. et al. (2013) In utero exposure to ischemic-hypoxic conditions and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Pediatrics*, vol. 131, no. 1, pp. e53–e61. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-1298> (In English)
- Giannopoulou, I., Pagida, M. A., Briana, D. D., Panayotacopoulou, M. T. (2018) Perinatal hypoxia as a risk factor for psychopathology later in life: The role of dopamine and neurotrophins. *Hormones*, vol. 17, no. 1, pp. 25–32. <https://doi.org/10.1007/s42000-018-0007-7> (In English)
- Gilbert, J. S., Babcock, S. A., Granger, J. P. (2007) Hypertension produced by reduced uterine perfusion in pregnant rats is associated with increased soluble fms-like tyrosine kinase-1 expression. *Hypertension*, vol. 50, no. 6, pp. 1142–1147. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.096594> (In English)
- Gluckman, P. D., Hanson, M. A. (2004) Living with the past: Evolution, development, and patterns of disease. *Science*, vol. 305, no. 5691, pp. 1733–1736. <https://doi.org/10.1126/science.1095292> (In English)
- Gluckman, P. D., Hanson, M. A., Cooper, C., Thornburg, K. L. (2008) Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *New England Journal of Medicine*, vol. 359, no. 1, pp. 61–73. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0708473> (In English)
- Golan, H., Huleihel, M. (2006) The effect of prenatal hypoxia on brain development: Short- and long-term consequences demonstrated in rodent models. *Developmental Science*, vol. 9, no. 4, pp. 338–349. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7687.2006.00498.x> (In English)

- Golan, H., Kashtuzki, I., Hallak, M. et al. (2004) Maternal hypoxia during pregnancy induces fetal neurodevelopmental brain damage: Partial protection by magnesium sulfate. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 78, no. 3, pp. 430–441. <https://doi.org/10.1002/jnr.20269> (In English)
- Golan, M. H., Mane, R., Molczadzki, G. et al. (2009) Impaired migration signaling in the hippocampus following prenatal hypoxia. *Neuropharmacology*, vol. 57, no. 5-6, pp. 511–522. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.07.028> (In English)
- Gonzalez-Rodriguez, P. J., Xiong, F., Li, Y. et al. (2014) Fetal hypoxia increases vulnerability of hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats: Role of glucocorticoid receptors. *Neurobiology of Disease*, vol. 65, pp. 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.01.020> (In English)
- Gopagondanahalli, K. R., Li, J., Fahey, M. C. et al. (2016) Preterm hypoxic-ischemic encephalopathy. *Frontiers in Pediatrics*, vol. 4, article 114. <https://doi.org/10.3389/fped.2016.00114> (In English)
- Graf, A. V., Maslova, M. V., Artiukhov, A. V. et al. (2022) Acute prenatal hypoxia in rats affects physiology and brain metabolism in the offspring, dependent on sex and gestational. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 5, article 2579. <https://doi.org/10.3390/ijms23052579> (In English)
- Granger, J. P., LaMarca, B. B. D., Cockrell, K. et al. (2006) Reduced uterine perfusion pressure (RUPP) model for studying cardiovascular-renal dysfunction in response to placental ischemia. In: M. J. Soares, J. S. Hunt (eds.). *Placenta and Trophoblast. Methods in Molecular Medicine*. Vol. 122. Totowa: Humana Press Publ., pp. 383–392. <https://doi.org/10.1385/1-59259-989-3:381> (In English)
- Harris, A., Seckl, J. (2011) Glucocorticoids, prenatal stress and the programming of disease. *Hormones and Behavior*, vol. 59, no. 3, pp. 279–289. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.06.007> (In English)
- Herlenius, E., Lagercrantz, H. (2004) Development of neurotransmitter systems during critical periods. *Experimental Neurology*, vol. 190, no. 1, pp. S8–S21. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2004.03.027> (In English)
- Hompes, T., Vrieze, E., Fieuws, S. et al. (2012) The influence of maternal cortisol and emotional state during pregnancy on fetal intrauterine growth. *Pediatric Research*, vol. 72, no. 3, pp. 305–315. <https://doi.org/10.1038/pr.2012.70> (In English)
- Inder, T. E., Volpe, J. J. (2000) Mechanisms of perinatal brain injury. *Seminars in Neonatology*, vol. 5, no. 1, pp. 3–16. <https://doi.org/10.1053/siny.1999.0112> (In English)
- Jansson, T., Powell, T. L. (2007) Role of the placenta in fetal programming: Underlying mechanisms and potential interventional approaches. *Clinical Science*, vol. 113, no. 1, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1042/CS20060339> (In English)
- Jantzie, L. L., Corbett, C. J., Firl, D. J., Robinson, S. (2015) Postnatal erythropoietin mitigates impaired cerebral cortical development following subplate loss from prenatal hypoxia-ischemia. *Cerebral Cortex*, vol. 25, no. 9, pp. 2683–2695. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu066> (In English)
- Jia, L., Wang, J., Cao, H. et al. (2020) Activation of PGC-1 α and mitochondrial biogenesis protects against prenatal hypoxic-ischemic. *Brain Injury. Neuroscience*, vol. 432, pp. 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.02.035> (In English)
- Katz, J. M., Pacia, S. V., Devinsky, O. (2001) Current management of epilepsy and pregnancy: Fetal outcome, congenital malformations, and developmental delay. *Epilepsy & Behavior*, vol. 2, no. 2, pp. 119–123. <https://doi.org/10.1006/ebbeh.2001.0158> (In English)
- Kimball, R., Wayment, M., Merrill, D. et al. (2015) Hypoxia reduces placental mTOR activation in a hypoxia-induced model of intrauterine growth restriction (IUGR). *Physiological Reports*, vol. 3, no. 12, article e12651. <https://doi.org/10.14814/phy2.12651> (In English)
- Kubo, K. I., Deguchi, K., Nagai, T. et al. (2017) Association of impaired neuronal migration with cognitive deficits in extremely preterm infants. *JCI Insight*, vol. 2, no. 10, article e88609. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.88609> (In English)
- Langley-Evans, S. C., McMullen, S. (2010) Developmental origins of adult disease. *Medical Principles and Practice*, vol. 19, no. 2, pp. 87–98. <https://doi.org/10.1159/000273066> (In English)
- Lawrence, K. M., McGovern, P. E., Mejaddam, A. et al. (2019) Chronic intrauterine hypoxia alters neurodevelopment in fetal sheep. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, vol. 157, no. 5, pp. 1982–1991. <https://doi.org/10.1016%2Fj.jtcvs.2018.12.093> (In English)
- Leonard, C. T., Goldberger, M. E. (1987) Consequences of damage to the sensorimotor cortex in neonatal and adult cats. I. Sparing and recovery of function. *Developmental Brain Research*, vol. 32, no. 1, pp. 1–14. [https://doi.org/10.1016/0165-3806\(87\)90133-7](https://doi.org/10.1016/0165-3806(87)90133-7) (In English)
- Li, Y., Gonzalez, P., Zhang, L. (2012) Fetal stress and programming of hypoxic/ischemic-sensitive phenotype in the neonatal brain: Mechanisms and possible interventions. *Progress in Neurobiology*, vol. 98, no. 2, pp. 145–165. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2012.05.010> (In English)
- Louzoun-Kaplan, V., Zuckerman, M., Perez-Polo, J. R., Golan, H. M. (2008) Prenatal hypoxia down regulates the GABA pathway in newborn mice cerebral cortex; partial protection by MgSO₄. *International Journal of Developmental Neuroscience*, vol. 26, no. 1, pp. 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2007.09.002> (In English)

- Ma, Q., Zhang, L. (2015) Epigenetic programming of hypoxic-ischemic encephalopathy in response to fetal hypoxia. *Progress in Neurobiology*, vol. 124, pp. 28–48. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2014.11.001> (In English)
- Mach, M., Dubovicky, M., Navarová, J. et al. (2006) Vitamin E supplementation in phenytoin induced developmental toxicity in rats: Postnatal study. *Neuro Endocrinology Letters*, vol. 27, no. 2, pp. 69–73. PMID: [17159783](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17159783/) (In English)
- Maresová, D., Valkounová, I., Jandová, K. et al. (2001) Excitability changes of cortical neurons during the postnatal period in rats exposed to prenatal hypobaric hypoxia. *Physiological Research*, vol. 50, no. 2, pp. 215–219. PMID: [11522050](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11522050/) (In English)
- Mazur, M., Miller, R. H., Robinson, S. (2010) Postnatal erythropoietin treatment mitigates neural cell loss after systemic prenatal hypoxic-ischemic injury. *Journal of Neurosurgery: Pediatrics*, vol. 6, no. 3, pp. 206–221. <https://doi.org/10.3171/2010.5.PEDS1032> (In English)
- McClendon, E., Shaver, D. C., Degener-O'Brien, K. et al. (2017) Transient hypoxemia chronically disrupts maturation of preterm fetal ovine subplate neuron arborization and activity. *Journal of Neuroscience*, vol. 37, no. 49, pp. 11912–11929. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2396-17.2017> (In English)
- McGovern, P. E., Lawrence, K., Baumgarten, H. et al. (2020) Ex utero extracorporeal support as a model for fetal hypoxia and brain dysmaturity. *The Annals of Surgery*, vol. 109, no. 3, pp. 810–819. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2019.08.021> (In English)
- Miller, S. L., Huppi, P. S., Mallard, C. (2016) The consequences of fetal growth restriction on brain structure and neurodevelopmental outcome. *The Journal of Physiology*, vol. 594, no. 4, pp. 807–823. <https://doi.org/10.1113/jp271402> (In English)
- Miranda, A., Sousa, N. (2018) Maternal hormonal milieu influence on fetal brain development. *Brain and Behavior*, vol. 8, no. 2, article e00920. <https://doi.org/10.1002/brb3.920> (In English)
- Moisiadis, V. G., Matthews, S. G. (2014a) Glucocorticoids and fetal programming part 1: Outcomes. *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 10, no. 7, pp. 391–402. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.73> (In English)
- Moisiadis, V. G., Matthews, S. G. (2014b) Glucocorticoids and fetal programming part 2: Mechanisms. *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 10, no. 7, pp. 403–411. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.74> (In English)
- Mujscje, D. J., Christensen, M. A., Vannucci, R. C. (1990) Cerebral blood flow and edema in perinatal hypoxic-ischemic brain damage. *Pediatric Research*, vol. 27, no. 5, pp. 450–453. <https://doi.org/10.1203/00006450-199005000-00007> (In English)
- Nalivaeva, N. N., Turner, A. J., Zhuravin, I. A. (2018) Role of prenatal hypoxia in brain development, cognitive functions, and neurodegeneration. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 12, article 825. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00825> (In English)
- Nardoza, L. M. M., Caetano, A. C. R., Zamarian, A. C. P. et al. (2017) Fetal growth restriction: Current knowledge. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, vol. 295, no. 5, pp. 1061–1077. <https://doi.org/10.1007/s00404-017-4341-9> (In English)
- Nyakas, C., Buwalda, B., Luiten, P. G. M. (1996) Hypoxia and brain development. *Progress in Neurobiology*, vol. 49, no. 1, pp. 1–51. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(96\)00007-x](https://doi.org/10.1016/0301-0082(96)00007-x) (In English)
- Ohshima, M., Coq, J.-O., Otani, K. et al. (2016) Mild intrauterine hypoperfusion reproduces neurodevelopmental disorders observed in prematurity. *Scientific Reports*, vol. 6, article 39377. <https://doi.org/10.1038/srep39377> (In English)
- Olivier, P., Baud, O., Evrard, P. et al. (2005) Prenatal ischemia and white matter damage in rats. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, vol. 64, no. 11, pp. 998–1006. <https://doi.org/10.1097/01.jnen.0000187052.81889.57> (In English)
- Otellin, V. A. (2003) Formirovanie patologij golovnogo mozga v embrional'nyj period [Formation of brain pathologies in the embryonic period]. *Priroda*, no. 9, pp. 30–35. (In Russian)
- Otellin, V. A., Khozhaj, L. I., Shishko, T. T., Vershinina, E. A. (2021) Ul'trastruktura yadryshek neyronov sensomotornoj oblasti neokorteksa krysa v neonatal'nyj period posle vozdejstviya perinatal'noj gipoksii i farmakologicheskoy korrleksii [Nucleolar ultrastructure in neurons of the rat neocortical sensorimotor area during the neonatal period after perinatal hypoxic exposure and its pharmacological correction]. *Zhurnal evolyucionnoj biokhimii i fiziologii — Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 57, no. 6, pp. 494–499. <https://doi.org/10.31857/S0044452921050065> (In Russian)
- Otellin, V. A., Khozhaj, L. I., Vataeva, L. A. (2012) Vliyanie gipoksii v rannem prenatal'nom ontogeneze na povedenie i strukturnye kharakteristiki golovnogo mozga [Effect of hypoxia in early perinatal ontogenesis on behavior and structural characteristics of the rat brain]. *Zhurnal evolyucionnoj biokhimii i fiziologii — Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 48, no. 5, pp. 467–473. (In Russian)
- Owens, E. B., Hinshaw, S. P. (2013) Perinatal problems and psychiatric comorbidity among children with ADHD. *Journal of Clinical Child & Adolescent Psychology*, vol. 42, no. 6, pp. 762–768. <https://doi.org/10.1080/15374416.2013.785359> (In English)
- Patterson, A. J., Zhang, L. (2010) Hypoxia and fetal heart development. *Current Molecular Medicine*, vol. 10, no. 7, pp. 653–666. <https://doi.org/10.2174/156652410792630643> (In English)

- Peyronnet, J., Roux, J. C., Gélouën, A. et al. (2000) Prenatal hypoxia impairs the postnatal development of neural and functional chemoafferent pathway in rat. *Journal of Physiology*, vol. 524, no. 2, pp. 525–537. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.00525.x> (In English)
- Phillips, T. J., Scott, H., Menassa, D. A. et al. (2017) Treating the placenta to prevent adverse effects of gestational hypoxia on fetal brain development. *Scientific Reports*, vol. 7, article 9079. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06300-1> (In English)
- Piešová, M., Mach, M. (2020) Impact of perinatal hypoxia on the developing brain. *Physiological Research*, vol. 69, no. 2, pp. 199–213. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934198> (In English)
- Pryce, C. R. (2008) Postnatal ontogeny of expression of the corticosteroid receptor genes in mammalian brains: Inter-species and intra-species differences. *Brain Research Reviews*, vol. 57, no. 2, pp. 596–605. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.08.005> (In English)
- Reznikov, K. Yu. (1981) *Proliferatsiya kletok mozga pozvonochnykh v usloviyakh normal'nogo razvitiya mozga i pri ego travme [Proliferation of vertebrate brain cells in normal brain development and injury]*. Moscow: Nauka Publ., 149 p. (In Russian)
- Rice, D., Barone, S. (2000) Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: Evidence from humans and animal models. *Environmental Health Perspectives*, vol. 108, no. 3, pp. 511–533. <https://doi.org/10.1289/ehp.00108s3511> (In English)
- Rice, J. E., Vannucci, R. C., Brierley, J. B. (1981) The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat. *Annals of Neurology*, vol. 9, no. 2, pp. 131–141. <https://doi.org/10.1002/ana.410090206> (In English)
- Robinson, S., Petelenz, K., Li, Q. et al. (2005) Developmental changes induced by graded prenatal systemic hypoxic-ischemic insults in rats. *Neurobiology of Disease*, vol. 18, no. 3, pp. 568–581. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2004.10.024> (In English)
- Roland, E. H., Poskitt, K., Rodriguez, E. et al. (1998) Perinatal hypoxic-ischemic thalamic injury: Clinical features and neuroimaging. *Annals of Neurology*, vol. 44, no. 2, pp. 161–166. <https://doi.org/10.1002/ana.410440205> (In English)
- Rong, G., Weijian, H., Yaffing, D. et al. (2010) Brain injury caused by chronic fetal hypoxemia is mediated by inflammatory cascade activation. *Reproductive Sciences*, vol. 17, no. 6, pp. 540–548. <https://doi.org/10.1177/1933719110364061> (In English)
- Sab, I. M., Ferraz, M. M., Amaral, T. A. et al. (2013) Prenatal hypoxia, habituation memory and oxidative stress. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, vol. 107, pp. 24–28. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.04.004> (In English)
- Shchelchkova, N. A., Kokaya, A. A., Bezhenar', V. F. et al. (2020) The role of brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor in chronic fetal oxygen deprivation. *Modern Technologies in Medicine*, vol. 12, no. 1, pp. 25–31. <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.1.03> (In English)
- Sheldon, R. A., Sedik, C., Ferriero, D. M. (1998) Strain-related brain injury in neonatal mice subjected to hypoxia-ischemia. *Brain Research*, vol. 810, no. 1-2, pp. 114–122. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(98\)00892-0](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(98)00892-0) (In English)
- Shen, G., Hu, S., Zhao, Z. et al. (2020) Antenatal hypoxia accelerates the onset of Alzheimer's disease pathology in 5xFAD mouse model. *Frontiers in Aging Neuroscience*, vol. 12, article 251. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00251> (In English)
- Skogen, J. C., Øverland, S. (2012) The fetal origins of adult disease: A narrative review of the epidemiological literature. *JRSM Short Reports*, vol. 3, no. 8, pp. 1–7. <https://doi.org/10.1258/shorts.2012.012048> (In English)
- So, K., Chung, Y., Yu, S.-K., Jun, Y. (2017) Regional immunoreactivity of Pax6 in the neurogenic zone after chronic prenatal hypoxia. *In Vivo*, vol. 31, no. 6, pp. 1125–1129. <https://doi.org/10.21873/invivo.11178> (In English)
- Sosedova, L. M., Vokina, V. A., Kapustina, E. A. (2019) Contribution of fetal programming in the formation of cognitive impairments induced by lead poisoning in white rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 166, no. 5, pp. 617–621. <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04404-4> (In English)
- Stratilov, V. A., Vetrovoj, O. V., Vataeva, L. A., Tyul'kova, E. I. (2021) Assotsirovannyye s vozrastom izmeneniya v issledovatel'skoj aktivnosti v teste "Otkrytoe pole" u krysa, perezhivshikh prenatal'nyuyu gipoksiyu [Age-associated changes in exploratory activity in the open field test in rats surviving prenatal hypoxia]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 71, no. 3, pp. 428–436. <https://doi.org/10.31857/S0044467721030102> (In Russian)
- Togher, K. L., O'Keeffe, M. M., Khashan, A. S. et al. (2014) Epigenetic regulation of the placental HSD11B2 barrier and its role as a critical regulator of fetal development. *Epigenetics*, vol. 9, no. 6, pp. 816–822. <https://doi.org/10.4161/epi.28703> (In English)
- Towfighi, J., Zec, N., Yager, J. et al. (1995) Temporal evolution of neuropathologic changes in an immature rat model of cerebral hypoxia: A light microscopic study. *Acta Neuropathologica*, vol. 90, no. 4, pp. 375–386. <https://doi.org/10.1007/BF00315011> (In English)
- Tuor, U. I., Del Bigio, M. R., Chumas, P. D. (1996) Brain damage due to cerebral hypoxia/ischemia in the neonate: Pathology and pharmacological modification. *Cerebrovascular & Brain Metabolism Review*, vol. 8, no. 2, pp. 159–193. PMID: [8727185](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8727185/) (In English)

- Tyul'kova, E. I., Vataeva, L. A., Vetrovoj, O. V., Romanovskij, D. Yu. (2015) Prenatal'naya gipoksiya modifitsiruet rabochuyu pamyat' i aktivnost' polifosfoinozidnoj sistemy gippokampa kryss [Prenatal hypoxia modifies working memory and the activity of hippocampal polyphosphoinositide system in rats]. *Zhurnal evolyutsionnoj biokhimii i fiziologii — Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 51, no. 2, pp. 115–121. (In Russian)
- Tyul'kova, E. I., Vataeva, L. A., Stratilov, V. A. et al. (2020) Osobennosti metilirovaniya DNK i gistona H3 v gippokampe i neokortekse kryss, perezhivshikh patologicheskie vozdejstviya v prenatal'nom periode razvitiya [Peculiarities of DNA and histone H3 methylation in the hippocampus and neocortex of rats subjected to pathological treatments during the prenatal period]. *Neyrokhiimiya — Neurochemical Journal*, vol. 37, no. 1, pp. 64–74. <https://doi.org/10.31857/S1027813320010197> (In Russian)
- Ujhazy, E., Dubovicky, M., Navarova, J. et al. (2013) Subchronic perinatal asphyxia in rats: Embryo-foetal assessment of a new model of oxidative stress during critical period of development. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 61, pp. 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.023> (In English)
- Vannucci, R. C. (2000) Hypoxic-ischemic encephalopathy. *American Journal of Perinatology*, vol. 17, no. 3, pp. 113–120. <https://doi.org/10.1055/s-2000-9293> (In English)
- Vannucci, R. C., Connor, J. R., Mauger, D. T. et al. (1999) Rat model of perinatal hypoxic-ischemic brain damage. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 55, no. 2, pp. 158–163. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19990115\)55:2<158::AID-JNR3>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19990115)55:2<158::AID-JNR3>3.0.CO;2-1) (In English)
- Vannucci, C. R., Perlman, J. M. (1997) Interventions for perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*, vol. 100, no. 6, pp. 1004–1014. <https://doi.org/10.1542/peds.100.6.1004> (In English)
- Vannucci, R. C., Vannucci, S. J. (2005) Perinatal hypoxic-ischemic brain damage: Evolution of an animal model. *Developmental Neuroscience*, vol. 27, no. 2-4, pp. 81–86. <https://doi.org/10.1159/000085978> (In English)
- Vasilev, D. S., Dubrovskaya, N. M., Tumanova, N. L., Zhuravin, I. A. (2016) Prenatal hypoxia in different periods of embryogenesis differentially affects cell migration, neuronal plasticity, and rat behavior in postnatal ontogenesis. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 10, article 126. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00126> (In English)
- Vasil'ev, D. S., Tumanova, N. L., Zhuravin, I. A. (2008) Strukturnye izmeneniya v nervnoy tkani novoj kory v ontogeneze kryss posle gipoksii na raznykh srokakh embriogeneza [Structural changes in the neocortex nervous tissue in rat ontogenesis after hypoxia at various terms of embryogenesis]. *Zhurnal evolyutsionnoj biokhimii i fiziologii — Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 44, no. 3, pp. 258–267. (In Russian)
- Vataeva, L. A., Tyul'kova, E. I., Alekhin, A. N., Stratilov, V. A. (2018) Vliyanie gipoksii ili deksametazona v razlichnye sroki gestatsii na proyavlenie uslovno-reflektornogo strakha u vzroslykh kryss [Effects of hypoxia or dexamethasone at different gestation periods on fear conditioning in adult rats]. *Zhurnal evolyutsionnoj biokhimii i fiziologii — Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 54, no. 6, pp. 392–398. <https://doi.org/10.1134/S0044452918060037> (In Russian)
- Vetrovoj, O. V., Nimiritskij, P. P., Tyul'kova, E. I., Rybnikova, E. A. (2020) Soderzhanie i aktivnost' gipoksiya-indutsiruemogo faktora HIF1 α uvelicheny v gippokampe novorozhdennykh kryssyat, perezhivshikh prenatalnyu gipoksiyu na 14–16 sutki embriogeneza [The content and activity of the hypoxia-inducible factor HIF1 α increases in the hippocampus of newborn rats that were subjected to the prenatal hypoxia on 14–16 days of embryogenesis]. *Neyrokhiimiya — Neurochemical Journal*, vol. 37, no. 3, pp. 228–232. <https://doi.org/10.31857/S1027813320030127> (In Russian)
- Vetrovoj, O., Stratilov, V., Nimiritsky, P. et al. (2021) Prenatal hypoxia induces premature aging accompanied by disturbed function of glutamatergic system in rat hippocampus. *Neurochemical Research*, vol. 46, no. 3, pp. 550–563. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03191-z> (In English)
- Vetrovoj, O., Tyul'kova, E., Stratilov, V. et al. (2020) Long-term effects of prenatal severe hypoxia on central and peripheral components of the glucocorticoid system in rats. *Developmental Neuroscience*, vol. 42, no. 2-4, pp. 145–158. <https://doi.org/10.1159/000512223> (In English)
- Volpe, J. J. (1992) Brain injury in the premature infant—current concepts of pathogenesis and prevention. *Biology of the Neonate*, vol. 62, no. 4, pp. 231–242. <https://doi.org/10.1159/000243876> (In English)
- Waffarn, F., Davis, E. P. (2012) Effects of antenatal corticosteroids on the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis of the fetus and newborn: Experimental findings and clinical considerations. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 207, no. 6, pp. 446–454. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2012.06.012> (In English)
- Wang, X., Meng, F.-S., Liu, Z.-Y. et al. (2013) Gestational hypoxia induces sex-differential methylation of *Crhr1* linked to anxiety-like behavior. *Molecular Neurobiology*, vol. 48, no. 3, pp. 544–555. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8444-4> (In English)
- Wang, W.-T., Lee, P., Dong, Y. et al. (2016) In vivo neurochemical characterization of developing guinea pigs and the effect of chronic fetal hypoxia. *Neurochemical Research*, vol. 41, no. 7, pp. 1831–1843. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-1924-y> (In English)
- Warner, M. J., Ozanne, S. E. (2010) Mechanisms involved in the developmental programming of adulthood disease. *Biochemical Journal*, vol. 427, no. 3, pp. 333–347. <https://doi.org/10.1042/bj20091861> (In English)
- Wei, B., Li, L., He, A. et al. (2016) Hippocampal NMDAR-Wnt-Catenin signaling disrupted with cognitive deficits in adolescent offspring exposed to prenatal hypoxia. *Brain Research*, vol. 1631, pp. 157–164. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.11.041> (In English)

- Xiong, F., Zhang, L. (2013) Role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in developmental programming of health and disease. *Frontiers in Neuroendocrinology*, vol. 34, no. 1, pp. 27–46. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2012.11.002> (In English)
- Zamudio, S. (2003) The placenta at high altitude. *High Altitude Medicine & Biology*, vol. 4, no. 2, pp. 171–191. <https://doi.org/10.1089/152702903322022785> (In English)
- Zhao, T., Zhang, C. P., Liu, Z. H. et al. (2008) Hypoxia-driven proliferation of embryonic neural stem/progenitor cells—role of hypoxia-inducible transcription factor-1 α . *FEBS Journal*, vol. 275, no. 8, pp. 1824–1834. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06340.x> (In English)
- Zhuravin, I. A., Dubrovskaya, N. M., Vasilev, D. S. et al. (2019). Prenatal hypoxia produces memory deficits associated with impairment of long-term synaptic plasticity in young rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 164, article 107066. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2019.107066> (In English)
- Zhuravin, I. A., Tumanova, N. L., Vasil'ev, D. S. (2009) Strukturnye izmeneniya nervnoj tkani gippokampa v ontogeneze krysa posle prenatal'noj gipoksii [Structural changes of the hippocampus nervous tissue in rat ontogenesis after prenatal hypoxia]. *Zhurnal evolyutsionnoj biokhimii i fiziologii — Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 45, no. 1, pp. 138–140. (In Russian)



УДК 612.826

EDN IMBITD

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-455-462>

ГАМК_A-рецепторная регуляция уровня внеклеточного таурина в прилежащем ядре (*nucleus accumbens*)

Н. Б. Саульская✉¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторе

Наталья Борисовна Саульская, SPIN-код: 2293-7451, Scopus AuthorID: 6602537765, ResearcherID: K-2386-2018, ORCID: 0000-0003-3349-2235, e-mail: saulskayanb@infran.ru

Для цитирования: Саульская, Н. Б. (2022) ГАМК_A-рецепторная регуляция уровня внеклеточного таурина в прилежащем ядре (*nucleus accumbens*). *Интегративная физиология*, т. 3, № 4, с. 455–462. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-455-462> EDN IMBITD

Получена 24 сентября 2022; прошла рецензирование 20 октября 2022; принята 21 октября 2022.

Финансирование: Исследование не имело финансовой поддержки.

Права: © Н. Б. Саульская (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. Таурин является эндогенным агонистом ГАМК_A-рецепторов, усиливающим ГАМКергическую передачу. Целью работы было изучить возвратные ГАМКергические влияния, опосредованные ГАМК_A-рецепторами, на высвобождение таурина в прилежащем ядре. Актуальность работы определяется накапливающимися данными об участии таурина прилежащего ядра в контроле его функций и малой изученностью ГАМК_A-зависимых механизмов регуляции выброса таурина в этой структуре. На крысах линии Спрег-Доули методами прижизненного внутримозгового микродиализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с электрохимической детекцией показано, что диализная инфузия в прилежащее ядро мусцимола, селективного агониста ГАМК_A-рецепторов (10 мкМ и 50 мкМ), доза-зависимым образом снижает концентрацию внеклеточного таурина в этой структуре. И напротив, диализная инфузия в прилежащее ядро селективного антагониста ГАМК_A-рецепторов бикикуллина (20 мкМ и 60 мкМ) повышала, также в зависимости от дозы, концентрацию внеклеточного таурина в прилежащем ядре. Полученные данные свидетельствуют, что высвобождение таурина в прилежащем ядре находится под тоническим тормозным ГАМК_A-зависимым контролем, возможно обеспечивающим опосредованную внеклеточным таурином гомеостатическую регуляцию активности ГАМКергической системы прилежащего ядра по механизму обратной связи.

Ключевые слова: выброс таурина, прилежащее ядро, прижизненный внутримозговой микродиализ, ГАМК_A-рецепторы, бикикуллин, мусцимол

GABA_A receptor regulation of extracellular taurine level in the nucleus accumbens

N. B. Saulskaya^{✉1}

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Author

Natalia B. Saulskaya, SPIN: 2293-7451, Scopus AuthorID: 6602537765, ResearcherID: K-2386-2018, ORCID: 0000-0003-3349-2235, e-mail: saulskayanb@infran.ru

For citation: Saulskaya, N. B. (2022) GABA_A receptor regulation of extracellular taurine level in the nucleus accumbens. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 4, pp. 455–462. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-455-462>
EDN [IMBITD](#)

Received 24 September 2022; reviewed 20 October 2022; accepted 21 October 2022.

Funding: The study did not receive any external funding.

Copyright: © N. B. Saulskaya (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Taurine is an endogenous GABA_A receptor agonist that enhances GABAergic transmission. The article reports the results of the study that investigated the recurrent GABAergic effects mediated by GABA_A receptors on taurine release in the nucleus accumbens. The study is relevant due to the growing evidence indicating the involvement of taurine in the regulation of the nucleus accumbens functions and, at the same time, due to the lack of evidence showing GABA_A-dependent mechanisms of taurine release regulation in this brain area. Using *in vivo* microdialysis and high-performance liquid chromatography combined with electrochemical detection in Sprague-Dawley rats, we have shown that administration of the GABA_A receptor agonist muscimol (10 μM, 50 μM) into the nucleus accumbens dose-dependently reduces the concentration of extracellular taurine in this brain area. Intra-accumbal administration of the GABA_A receptor antagonist bicuculline (20 μM, 60 μM), on the contrary, increased the concentration of extracellular taurine, also in a dose-dependent manner. The obtained data indicate that taurine release in the nucleus accumbens is under tonic inhibitory GABA_A-dependent control. This feedback mechanism operating via taurine release may be responsible for the homeostatic regulation of GABAergic activity in the nucleus accumbens.

Keywords: taurine release, nucleus accumbens, *in vivo* microdialysis, GABA_A receptors, bicuculline, muscimol

Введение

Небелковая аминокислота таурин является важным фактором нормального развития и функционирования мозга и организма в целом за счет своего трофического, осморегулирующего, нейропротекторного, противовоспалительного и нейромодулирующего действия (Jakaria et al. 2019; Rafiee et al. 2022). Таурин как нейромодулятор оказывает тормозное действие на нейроны ЦНС (Albrecht, Schousboe 2005; Rafiee et al. 2022), связываясь в качестве эндогенного агониста с рецепторами ГАМК (Pierce et al. 2021), глицина (Wang et al. 2005), по некоторым данным, с собственными тормозными рецепторами (Wu, Prentice 2010), а также уменьшая активацию постсинаптических NMDA рецепторов за счет нескольких прямых механизмов (Chan et al. 2014). Дефицит таурина, вызванный нокаутом по декарбоксилазе цистеинсульфонової кислоты (ключевому ферменту синтеза таурина), приводит к появлению элек-

трофизиологических маркеров гипервозбудимости в коре, к гиперрефлексии, ретинопатии (Mekawy et al. 2021). И напротив, на моделях психопатологии и нейродегенеративных расстройств показаны анксиолитические, антидепрессантные и нейропротекторные эффекты таурина (Jakaria et al. 2019; Rafiee et al. 2022; Wu et al. 2017). В ЦНС таурин синтезируется в нейронах и глиальных клетках (Oja, Saransaari 2017) и высвобождается с использованием мембранных транспортеров таурина (Baliou et al. 2020). В экспериментах *in vivo* и *in vitro* продемонстрировано, что глутаматергическая активация запускает высвобождение таурина в ряде отделов мозга, включая прилежащее ядро (*nucleus accumbens*) (Del Arco et al. 2000). В корковых областях мозга (кора, гиппокамп) выброс таурина находится, кроме того, под контролем ГАМКергической системы, опосредованном преимущественно ГАМК_B-рецепторами (Saransaari, Oja 2000), хотя ГАМК_A-зависимые

влияния тоже показаны (Saransaari, Oja 2000; Umino et al. 2017). В литературе мы не нашли данных об участии ГАМКергической передачи и ГАМК_A-рецепторов в регуляции высвобождения таурина в прилежащем ядре. Получение таких сведений является актуальным с учетом значимости прилежащего ядра для процессов мотивации, селекции и подкрепления в норме и при психопатологии (Floresco 2015; Höflich et al. 2019), а также в свете накапливающихся данных о вовлечении таурина в обеспечении функций этой структуры (Dahchour, de Witte 2000; Strasser et al. 2019; Ulenius et al. 2020).

Цель настоящего исследования заключалась в изучении влияния локальных ГАМКергических сигналов, опосредуемых ГАМК_A-рецепторами, на высвобождение таурина в прилежащем ядре мозга крыс. Для этого были изучены эффекты введения в прилежащее ядро селективного агониста ГАМК_A-рецепторов мусцимола и селективного антагониста ГАМК_A-рецепторов бикикуллина на концентрацию внеклеточного таурина в этой области мозга.

Методика

В работе были использованы самцы крыс линии Спрег-Доули массой 270–370 г из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем» (Санкт-Петербург). Животных содержали индивидуально, соблюдая естественный режим освещения. Доступ к воде и корму не ограничивали.

Имплантация диализных канюль в медиальный отдел прилежащего ядра осуществляли под наркозом по координатам черепа. Детали процедуры опубликованы нами ранее (Saulskaya, Fofonova 2006). Через два дня после имплантации проводили микродиализные эксперименты. Каждую крысу помещали в бокс (26 x 15 x 15 см) со слоем опилок из домашней клетки. Ко входу имплантированной канюли подключали диализный насос, который в течение всего эксперимента прокачивал через канюлю искусственную спинномозговую жидкость (ИСМЖ) (Saulskaya, Fofonova 2006). Скорость потока была 2 мкл/мин. Животных не фиксировали и их перемещения в боксе не ограничивали. Через час (стабилизационный период) начинали собирать фоновые порции оттекающего из выхода канюли диализата (8–10 порций, по 5 мин каждая). По окончании сбора фоновых образцов формировали четыре группы крыс. Крысам группы 1 (n = 12) в ИСМЖ для диализной перфузии добавляли агонист ГАМК_A-рецепторов

мусцимол (10 мкМ, «Sigma», США) и собирали 10 порций диализата. Крысам группы 2 (n = 7) в ИСМЖ добавляли 50 мкМ мусцимола и тоже собирали 10 пятиминутных порций диализата. После этого с животными группы 2 эксперименты прекращали, а части крыс группы 1 (n = 8) в ИСМЖ для диализной перфузии прилежащего ядра добавляли 50 мкМ мусцимола. Спустя 50 мин концентрацию мусцимола, вводимого этим животным, увеличивали до 150 мкМ и продолжали диализную перфузию в течение 50 мин. Крысам группы 3 (n = 8) и группы 4 (n = 6) по окончании сбора фоновых образцов диализата в ИСМЖ добавляли бикикуллин (Fluka, Швейцария), антагонист ГАМК_A-рецепторов, в концентрациях 20 мкМ и 60 мкМ, соответственно, и собирали по 8 пятиминутных порций диализата. После этого эксперимент завершали.

Для определения концентрации таурина в диализате была использована высокоэффективная жидкостная хроматография с электрохимической детекцией, а также метод предколонной дериватизации аминокислот ортофталевым альдегидом, как ранее описано (Savel'ev et al. 2005). Использована хроматографическая система «Shimadzu GmbH», Германия (Saulskaya, Fofonova 2006). Хроматограммы регистрировали и обрабатывали в режиме реального времени (МультиХром 1.7, Россия). Концентрацию таурина в образцах диализата высчитывали в мкМ/л, а затем — в процентах к собственному среднему фоновому уровню перед введением препаратов. В конце экспериментов производили забой животных, извлекали мозг для оценки попаданий в прилежащее ядро.

Для статистической обработки был использован статистический пакет SigmaStat (3.0). Данные представляли как среднее ± ошибка среднего. Использовали однофакторный (фактор — время или группа; F-критерий) и двухфакторный (факторы — время и группа; F-критерий) дисперсионный анализ и t-критерий Бонферрони для апостериорного анализа (post hoc). Использовали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты

Уровень таурина в фоновых образцах диализата прилежащего ядра был в этих экспериментах $0,51 \pm 0,03$ мкМ (n = 33) что, с учетом эффективности используемых диализных канюль (3%), близко к данным литературы (Raffiee et al. 2022).

Введение 10 мкМ мусцимола в прилежащее ядро крысам группы 1 (n = 12) понижало уровень внеклеточного таурина в этой области (рис. 1а; $F_{(19, 209)} = 18,9$, $p < 0,001$). Среднее снижение составляло до $84 \pm 1\%$ относительно фонового уровня перед введением (рис. 1b; $t = 13,9$, $p < 0,001$). Введение в прилежащее ядро животным группы 2 (n = 7) 50 мкМ мусцимола сопровождалось значительным падением уровня таурина в этой области (рис. 1а; $F_{(19, 114)} = 40,2$, $p < 0,001$) в среднем, до $65 \pm 1\%$ относительно фона (рис. 1b; $t = 22,1$, $p < 0,001$). Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что степень снижения уровня внеклеточного таурина при введении 50 мкМ мусцимола была сильнее, чем при введении 10 мкМ мусцимола ($F_{(19, 340)} = 6,1$, $p < 0,001$), что подтверждается сравнением средних изменений уровня таурина за весь период введения по каждой из концентраций (рис. 1b, $t = 13,4$, $p < 0,001$).

Продолжение введения мусцимола (50 мкМ и 150 мкМ) в прилежащее ядро части животных группы 1 (n = 8) после введения им 10 мкМ этого препарата приводило к дальнейшему падению уровня внеклеточного таурина (рис. 2а,

$F_{(39, 273)} = 19,7$, $p < 0,001$). В среднем за весь период введения, это падение составляло до $69 \pm 1\%$ (50 мкМ) ($t = 17,8$, $p < 0,001$) и до $64 \pm 2\%$ (150 мкМ) ($t = 20,3$, $p < 0,001$) относительно фона (рис. 2b), что достоверно ниже для обеих концентраций, чем снижение уровня таурина при введении 10 мкМ мусцимола (до $84 \pm 1\%$) ($t = 6,8$, $p < 0,001$ и $t = 9,3$, $p < 0,001$, соответственно). Но изменения уровня таурина при введении 150 мкМ мусцимола не отличались значимо от этого показателя при введении 50 мкМ мусцимола ($t = 2,6$, $p = 0,07$). Эти данные свидетельствуют о доза-зависимости наблюдаемого эффекта мусцимола в диапазоне концентраций 10–50 мкМ и об отсутствии такой зависимости в диапазоне 50–150 мкМ.

Введение 20 мкМ бикуккуллина, антагониста ГАМК_A-рецепторов, в прилежащее ядро животных группы 3 (n = 8), вызывало подъем уровня внеклеточного таурина в этой структуре (рис. 3а; $F_{(15, 105)} = 6,3$, $p < 0,001$). Но этот подъем был небольшим по амплитуде (в среднем, $114 \pm 2\%$ относительно фона) (рис. 3b; $t = 7,3$, $p < 0,001$) и, по данным апостериорного анализа, он значимо отличался от фоновых значений только

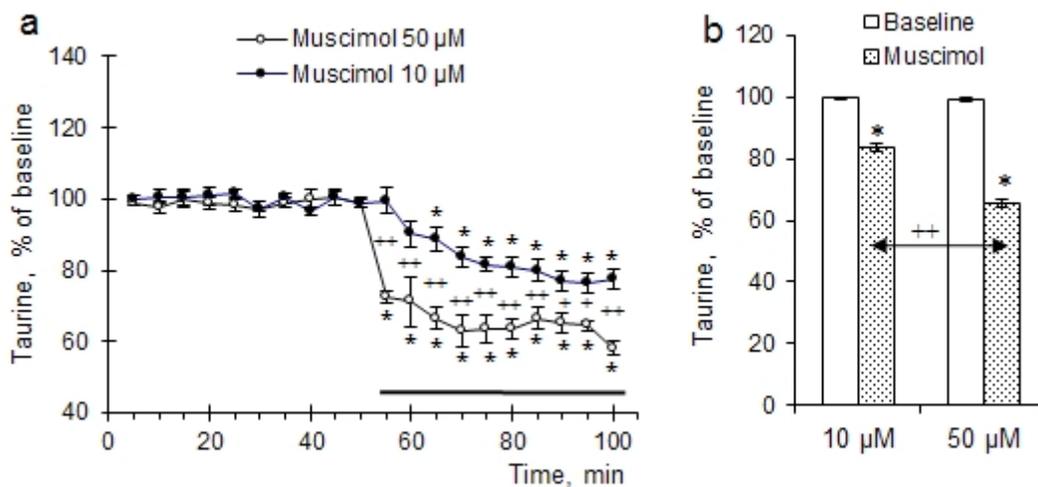


Рис. 1. Эффекты введения в прилежащее ядро 10 мкМ и 50 мкМ мусцимола на уровень внеклеточного таурина в этой структуре. (а) — динамика изменений уровня таурина в ходе эксперимента и (б) — средний (за весь период введения) уровень внеклеточного таурина в прилежащем ядре при введении данной концентрации мусцимола. По оси X — время, мин; по оси Y — уровень таурина, % к фону; разброс на графике и диаграмме — ошибка среднего. Горизонтальная линия — период введения мусцимола. (а, б) * — $p < 0,001$ — при сравнении с фоном; + — $p < 0,01$; ++ — $p < 0,001$ — при межгрупповом сравнении

Fig. 1. Effects of intra-accumbal administration of 10 μM and 50 μM muscimol on the level of extracellular taurine in this structure. (a) Dynamics of changes in the level of taurine during the experiment and (b) average (for the entire period of administration) level of extracellular taurine in the nucleus accumbens during administration of a given concentration of muscimol. X-axis—time, min; Y-axis—the level of taurine, % of baseline; the deviation in the plot and the diagram—errors of the mean. The horizontal line is the period of muscimol administration. (a, b) *— $p < 0,001$ —compared with baseline; +— $p < 0,01$; ++— $p < 0,001$ —intergroup comparison

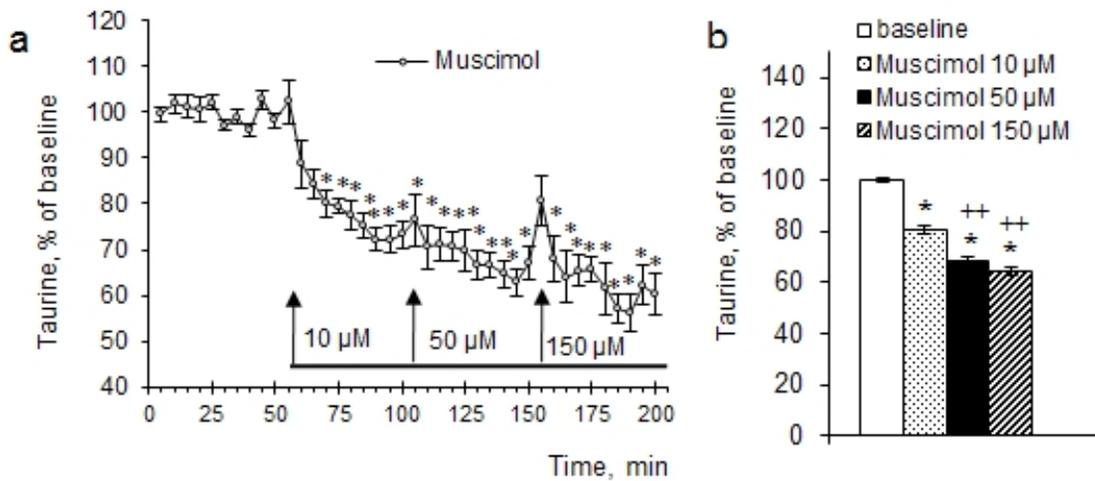


Рис. 2. Эффекты последовательных введений в прилежащее ядро 10 мкМ, 50 мкМ и 150 мкМ мусцимола на уровень внеклеточного таурина в этой структуре. (а) — динамика изменений и (б) — средний за весь период введения данной дозы мусцимола уровень внеклеточного таурина. Вертикальные стрелки — начало введения данной дозы мусцимола. Остальные обозначения как на рис. 1

Fig. 2. The effect of sequential administration of muscimol (10 μM, 50 μM, 150 μM) into the nucleus accumbens on the level of extracellular taurine in this structure. (a) Dynamics of changes in taurine levels and (b) average (for the entire period of muscimol administration at a given dose) levels of extracellular taurine. Vertical arrows—the beginning of the muscimol administration at a given dose. For other symbols see Fig. 1

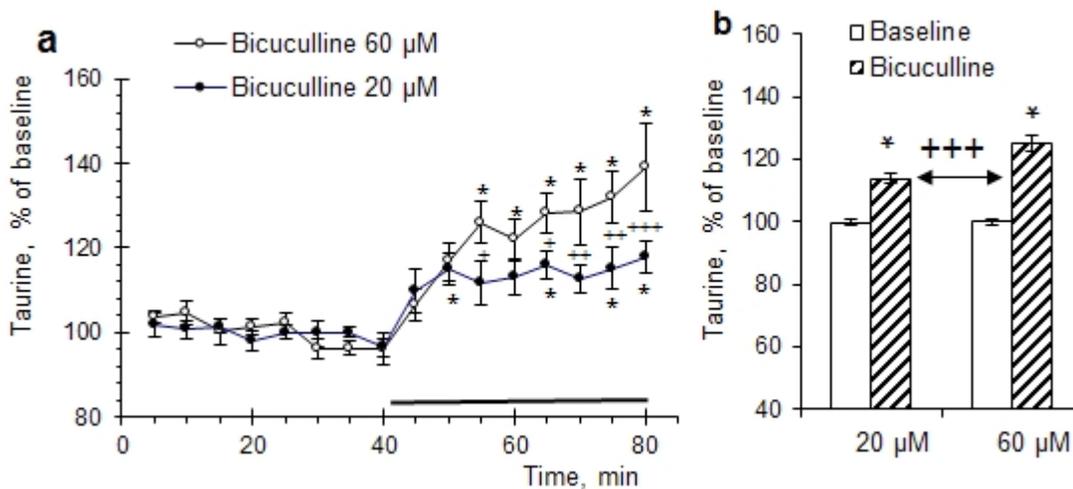


Рис. 3. Эффекты введения в прилежащее ядро бикуккуллина в концентрациях 20 мкМ и 60 мкМ на уровень внеклеточного таурина в этой структуре. (а) — динамика изменений уровня таурина в ходе эксперимента и (б) — средний (за весь период введения) уровень внеклеточного таурина в прилежащем ядре при введении данной концентрации бикуккуллина.

(а) * — $p < 0,05$ — при сравнении с фоном; + — $p < 0,05$; ++ — $p < 0,01$; +++ — $p < 0,001$ — при межгрупповом сравнении. (б) * — $p < 0,001$ — при сравнении с фоном; +++ — $p < 0,001$ — при межгрупповом сравнении. Остальные обозначения как на рис. 1

Fig. 3. Effects of intra-accumbal administration of bicuculline (20 μM and 60 μM) on the level of extracellular taurine in this structure. (a) Dynamics of changes in the level of taurine during the experiment and (b) average (for the entire period of administration) level of extracellular taurine in the nucleus accumbens during administration of a given concentration of bicuculline. (a) *— $p < 0.05$ —compared with baseline; +— $p < 0.05$; ++— $p < 0.01$; +++— $p < 0.001$ —intergroup comparison; (b) *— $p < 0.001$ —compared with baseline; +++— $p < 0.001$ —intergroup comparison. For other symbols see Fig. 1

в половине временных точек введения препарата (рис. 3а). Введение 60 мкМ бикикуллина в прилежащее ядро крыс группы 4 ($n = 6$) сопровождалось более выраженным (в среднем, $125 \pm 3\%$ относительно фона, $t = 11,1$, $p < 0,001$) и стабильным увеличением уровня внеклеточного таурина в этой структуре (рис. 3а, б; $F_{(15,75)} = 11,3$, $p < 0,001$). Межгрупповое сравнение показало, что введение 60 мкМ бикикуллина вызывает больший подъем уровня внеклеточного таурина в прилежащем ядре по сравнению с этим показателем при введении 20 мкМ бикикуллина. Об этом свидетельствуют данные двухфакторного дисперсионного анализа при сравнении динамики изменений уровней таурина в группах 3 и 4 (рис. 3а; $F_{(15,192)} = 2,1$, $p < 0,01$) и сравнение средних подъемов за весь период введения при каждой концентрации препарата (рис. 3б; $t = 6,6$, $p < 0,001$).

Обсуждение результатов

Прилежащее ядро, как и другие отделы неостриатума, состоит на 95% из ГАМКергических шипиковых проекционных нейронов (Chen et al. 2021). Их аксоны, идущие к выходным структурам (вентральный паллидум, латеральный гипоталамус, вентральная тегментальная область и др.), отдают коллатерали внутри ядра с синапсами на соседних проекционных нейронах, образуя сети латерального торможения (Castro, Bruchas 2019). Около 5% нейронной популяции прилежащего ядра составляют интернейроны, большинство которых тоже являются ГАМКергическими клетками, тормозящими активность проекционных нейронов (Castro, Bruchas 2019). Высокий ГАМКергический «тонус» прилежащего ядра поддерживают тонически активированные несинаптические ГАМК_A-рецепторы (Nie et al. 2011), локализованные на проекционных нейронах ядра (Brickley, Mody 2012). Такие рецепторы, обнаруженные в ряде отделов мозга, имеют особый субъединичный состав (Kasargod et al. 2022) и являются потенциальной мишенью для внеклеточного таурина, микромолярные концентрации которого усиливают при взаимодействии с ними электрофизиологические эффекты ГАМК (Jia et al. 2008; Ochoa-de la Paz et al. 2019).

Основным результатом настоящей работы являются данные, демонстрирующие, что ГАМК_A-рецепторы, в свою очередь, могут регулировать высвобождение таурина в прилежащем ядре, поскольку их локальная активация введением мусцимола приводит к падению уровня внеклеточного таурина в этой структуре. Это,

как можно ожидать, уменьшает действие таурина на его мишени, в том числе, и на чувствительные к таурину ГАМК_A-рецепторы, снижая их активацию с использованием отрицательной обратной связи. Такие опосредуемые таурином возвратные влияния могут служить гомеостатическим механизмом, стабилизирующим активность ГАМКергической системы прилежащего ядра.

Продемонстрированный в работе тормозный эффект мусцимола на высвобождение таурина в прилежащем ядре является доза-зависимым, что свидетельствует в пользу его физиологической релевантности. Максимальное падение уровня таурина при введении мусцимола в этих экспериментах составляло менее 35% относительно фоновых значений. То есть ГАМК_A-рецепторная активация прилежащего ядра вносит умеренный вклад в тормозную регуляцию уровня внеклеточного таурина.

Значимым результатом работы явились данные, что в прилежащем ядре ГАМК_A-зависимое торможение высвобождения таурина носит тонический характер, поскольку его устранение локальными введениями антагониста ГАМК_A-рецепторов бикикуллина, приводило к росту уровня внеклеточного таурина в этой структуре. Источником такого постоянного тонического торможения могут быть упомянутые выше тонически активированные несинаптические ГАМК_A-рецепторы, играющие по данным литературы (Nie et al. 2011) важную роль в обеспечении одной из функций прилежащего ядра, в формировании алкогольной зависимости. Интересно, что в литературе есть сведения о вовлечении таурина прилежащего ядра в регуляцию этих же процессов (Dahchour, de Witte 2000), что косвенно свидетельствует о функциональном взаимодействии ГАМК и таурина.

Результаты настоящей работы о тормозном регулировании ГАМК_A-рецепторами фонового выброса таурина соответствуют данным литературы, полученным в экспериментах *in vitro*, в которых было продемонстрировано усиление базального выброса ³H-таурина из срезов гиппокампа при введении бикикуллина (Saransaari, Oja 2000). Вместе с тем, показаны тормозные эффекты бикикуллина на выброс таурина, индуцируемого калиевой деполяризацией (срезы гиппокампа) (Saransaari, Oja 2000), а также на высвобождение таурина, вызываемого активацией NMDA рецепторов медиальной префронтальной коры (микродиализ) (Umino et al. 2017). То есть, по крайней мере, в корковых областях ГАМК_A-зависимая регуляция базального и индуцируемого выброса таурина, по всей

видимости, реализуется за счет разных механизмов. Нужны дальнейшие исследования, чтобы выяснить, существуют ли такие закономерности в прилежащем ядре.

В целом полученные в настоящей работе новые данные позволяют заключить, что в прилежащем ядре ГАМКергические сигналы, действующие через ГАМК_A-рецепторы, оказывают тонические тормозные влияния на высвобождение таурина, возможно обеспечивающие опосредуемую внеклеточным таурином гомеостатическую регуляцию активности ГАМКергической системы прилежащего ядра по механизму отрицательной обратной связи.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The author declares that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Исследования с участием животных соответствуют принципам международной этики.

Ethics Approval

The author declares that the study complies with all international ethical principles applicable to animal research.

Благодарности

Автор благодарит старшего лаборанта Е. А. Терехову за помощь в проведении экспериментов.

Acknowledgements

The author thanks the senior laboratory assistant E. A. Terekhova for her assistance during the experiments.

References

- Albrecht, J., Schousboe, A. (2005) Taurine interaction with neurotransmitter receptors in the CNS: An update. *Neurochemical Research*, vol. 30, no. 12, pp. 1615–1621. <https://doi.org/10.1007/s11064-005-8986-6> (In English)
- Baliou, S., Kyriakopoulos, A. M., Goulielmaki, M. et al. (2020) Significance of taurine transporter (TauT) in homeostasis and its layers of regulation (Review). *Molecular Medicine Reports*, vol. 22, no. 3, pp. 2163–2173. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11321> (In English)
- Brickley, S. G., Mody, I. (2012) Extrasynaptic GABA_A receptors: Their function in the CNS and implications for disease. *Neuron*, vol. 73, no. 1, pp. 23–34. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.12.012> (In English)
- Castro, D. C., Bruchas, M. R. (2019) A motivational and neuropeptidergic hub: Anatomical and functional diversity within the *nucleus accumbens* shell. *Neuron*, vol. 102, no. 3, pp. 529–552. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.03.003> (In English)
- Chan, C. Y., Sun, H. S., Shah, S. M. et al. (2014) Modes of direct modulation by taurine of the glutamate NMDA receptor in rat cortex. *European Journal of Pharmacology*, vol. 728, pp. 167–175. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.01.025> (In English)
- Chen, R., Blosser, T. R., Djekidel, M. N. et al. (2021) Decoding molecular and cellular heterogeneity of mouse nucleus accumbens. *Nature Neuroscience*, vol. 24, no. 12, pp. 1757–1771. <https://doi.org/10.1038/s41593-021-00938-x> (In English)
- Dahchour, A., de Witter, P. (2000) Taurine blocks the glutamate increase in the nucleus accumbens microdialysate of ethanol-dependent rats. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*, vol. 65, no. 2, pp. 345–350. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(99\)00197-5](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(99)00197-5) (In English)
- Del Arco, A., Segovia, G., Mora, F. (2000) Effects of endogenous glutamate on extracellular concentrations of taurine in striatum and nucleus accumbens of the awake rat: Involvement of NMDA and AMPA/kainate receptors. *Amino Acids*, vol. 19, no. 3-4, pp. 729–738. <https://doi.org/10.1007/s007260070018> (In English)
- Floresco, S. B. (2015) The nucleus accumbens: An interface between cognition, emotion, and action. *Annual Review of Psychology*, vol. 66, pp. 25–52. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010213-115159> (In English)
- Höflich, A., Michenthaler, P., Kasper, S., Lanzenberger, R. (2019) Circuit mechanisms of reward, anhedonia, and depression. *International Journal of Neuropsychology*, vol. 22, no. 2, pp. 105–118. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyy081> (In English)
- Jakaria, Md., Azam, S., Haque, Md. E. et al. (2019) Taurine and its analogs in neurological disorders: Focus on therapeutic potential and molecular mechanisms. *Redox Biology*, vol. 24, article 101223. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101223> (In English)
- Jia, F., Yue, M., Chandra, D. et al. (2008) Taurine is a potent activator of extrasynaptic GABA_A receptors in the thalamus. *The Journal of Neuroscience*, vol. 28, no. 1, pp. 106–115. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3996-07.2008> (In English)

- Kasaragod, V. B., Mortensen, M., Hardwich, S. W. et al. (2022) Mechanisms of inhibition and activation of extrasynaptic $\alpha\beta$ GABA_A receptors. *Nature*, vol. 602, no. 7897, pp. 529–533. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04402-z> (In English)
- Mekawy, N., Bendaoud, M., Yachou, Y. et al. (2021) Hyperreflexia and enhanced ripple oscillations in the taurine-deficient mice. *Amino Acids*, vol. 53, no. 5, pp. 701–712. <https://doi.org/10.1007/s00726-021-02977-x> (In English)
- Nie, H., Rewal, M., Gill, M. et al. (2011) Extrasynaptic δ -containing GABA_A receptors in the nucleus accumbens dorsomedial shell contribute to alcohol intake. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, vol. 108, no. 11, pp. 4459–4464. <https://doi.org/10.1073/pnas.1016156108> (In English)
- Ochoa-de la Paz, L., Zenteno, E., Gullias-Cañizo, R., Quiroz-Mercado, H. (2019) Taurine and GABA neurotransmitter receptors, a relationship with therapeutic potential? *Expert Review of Neurotherapeutics*, vol. 19, no. 4, pp. 289–291. <https://doi.org/10.1080/14737175.2019.1593827> (In English)
- Oja, S. S., Saransaari, P. (2017) Significance of taurine in the brain. In: Dh. Lee, S. W. Schaffer, E. Park, H. W. Kim (eds.). *Taurine 10. Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 975. Dordrecht: Springer Publ., pp. 89–94. https://doi.org/10.1007/978-94-024-1079-2_8 (In English)
- Pierce, S. R., Germann, A. L., Akk, G. (2021) Activation of the $\alpha 1\beta 2\gamma 2L$ GABA_A receptor by physiological agonists. *Biomolecules*, vol. 11, no. 12, article 1864. <https://doi.org/10.3390/biom11121864> (In English)
- Rafiee, Z., Garcia-Serrano, A. M., Duarte, J. M. N. (2022) Taurine supplementation as a neuroprotective strategy upon brain dysfunction in metabolic syndrome and diabetes. *Nutrients*, vol. 14, no. 6, article 1292. <https://doi.org/10.3390/nu14061292> (In English)
- Saransaari, P., Oja, S. S. (2000) Taurine release modified by GABAergic agents in hippocampal slices from adult and developing mice. *Amino Acids*, vol. 18, no. 1, pp. 17–30. <https://doi.org/10.1007/s007260050002> (In English)
- Saulskaya, N. B., Fofonova, N. V. (2006) Effects of N-methyl-D-aspartate on extracellular citrulline level in the rat nucleus accumbens. *Neuroscience Letters*, vol. 407, no. 1, pp. 91–95. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.08.010> (In English)
- Savel'ev, S. A., Repkina, N. S., Saul'skaya, N. B. (2005) Chuvstvitel'nyy metod opredeleniya tsitrullina dlya prizhiznennogo monitoringa produktsii oksida azota v TSNS [A sensitive technique for determining citrulline for the purpose of in vivo monitoring of the nitric oxide production in the CNS]. *Rossiyskiy fiziologicheskij zhurnal imeni I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 91, no. 5, pp. 587–591. (In Russian)
- Strasser, A., Xin, L., Gruetter, R. et al. (2019) Nucleus accumbens neurochemistry in human anxiety: A7T¹H-MRS study. *European Neuropsychopharmacology*, vol. 29, no. 3, pp. 365–375. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2018.12.015> (In English)
- Ulenius, L., Andrén, A., Adermark, L. et al. (2020) Sub-chronic taurine administration induces behavioral sensitization but does not influence ethanol-induced dopamine release in the nucleus accumbens. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, vol. 188, article 172831. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2019.172831> (In English)
- Umino, A., Ishiwata, S., Iwama, H. et al. (2017) Evidence for tonic control by the GABA_A receptor of extracellular d-serine concentrations in the medial prefrontal cortex of rodents. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, vol. 10, article 240. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00240> (In English)
- Wang, F., Xiao, C., Ye, J. H. (2005) Taurine activates excitatory non-synaptic glycine receptors on dopamine neurons in ventral tegmental area of young rats. *The Journal of Physiology*, vol. 565, no. 2, pp. 503–516. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.085423> (In English)
- Wu, G.-F., Ren, S., Tang, R.-Y. et al. (2017) Antidepressant effect of taurine in chronic unpredictable mild stress-induced depressive rats. *Scientific Reports*, vol. 7, article 4989. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05051-3> (In English)
- Wu, J.-Y., Prentice, H. (2010) Role of taurine in the central nervous system. *Journal of Biomedical Science*, vol. 17, no. 1, article S1. <https://doi.org/10.1186/1423-0127-17-S1-S1> (In English)



УДК 616.892

EDN JFOTLJ

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-463-473>

Анализ степени мультифрактальности различных компонент электроэнцефалограмм при сердечно-сосудистой патологии

О. Е. Дик^{✉1}

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторах

Ольга Евгеньевна Дик, ORCID: [0000-0001-5056-1779](https://orcid.org/0000-0001-5056-1779), e-mail: dickviola@gmail.com

Для цитирования: Дик, О. Е. (2022) Анализ степени мультифрактальности различных компонент электроэнцефалограмм при сердечно-сосудистой патологии. *Интегративная физиология*, т. 3, № 4, с. 463–473. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-463-473> EDN JFOTLJ

Получена 30 сентября 2022; прошла рецензирование 17 ноября 2022; принята 18 ноября 2022.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке Программы «Фундаментальные научные исследования для долгосрочного развития и обеспечения конкурентоспособности общества и государства» (47_110_ДРиОК, раздел 64.1).

Права: © О. Е. Дик (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. Статья посвящена применению метода автоспектрального анализа с нерегулярной передискретизацией и метода мультифрактального анализа на основании поиска максимумов модулей вейвлет-коэффициентов к выявлению изменений в структуре паттернов электрической активности мозга человека при сердечно-сосудистой патологии, связанной с фибрилляцией предсердий постоянной формы по сравнению с паттернами здорового человека. Показаны возможность применения этих методов для определения количественной оценки различий в динамике последовательных значений в анализируемых паттернах, что может быть полезно для диагностики патологических изменений функционального состояния нервной системы при нарушениях ритма сердца. Анализируемые паттерны электроэнцефалограмм разложены на три составляющих, соответствующих тета-, альфа- и бета-диапазонам. Оба метода подтверждают мультифрактальность всех трех исследуемых компонент. Основные отличия в мультифрактальных свойствах здорового мозга и мозга при нарушениях сердечного ритма содержатся в альфа- и тета-компонентах электроэнцефалограммы (ЭЭГ), которые характеризуются исключительно долговременными корреляциями для контрольной группы для альфа-компоненты, коррелированной и антикоррелированной динамикой для группы с фибрилляцией предсердий для этой же компоненты и антикоррелированной динамикой для тета-компоненты.

Ключевые слова: сердечно-сосудистая патология, фибрилляция предсердий, частотные компоненты ЭЭГ, фрактальный и колебательный компоненты спектра, степень мультифрактальности

Analysis of the degree of multifractality of various components of electroencephalograms in cardiovascular pathology

O. E. Dick✉¹

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Author

Olga E. Dick, ORCID: 0000-0001-5056-1779, e-mail: dickviola@gmail.com

For citation: Dick, O. E. (2022) Analysis of the degree of multifractality of various components of electroencephalograms in cardiovascular pathology. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 4, pp. 463–473. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-463-473> EDN JFOTLJ

Received 30 September 2022; reviewed 17 November 2022; accepted 18 November 2022.

Funding: The study was supported by the Program “Basic Scientific Research for Long-Term Development and Competitiveness of State and Society” (47_110_DRiOK, section 64.1).

Copyright: © O. E. Dick (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Abstract. The article discusses the application of autospectral analysis with irregular resampling and multifractal analysis based on the search for the maxima of wavelet coefficient modules for detecting changes in the patterns of electrical activity of the human brain in cardiovascular pathology associated with permanent atrial fibrillation compared with the patterns of a healthy person. The article describes possible applications of these methods in quantitative assessment of differences in the dynamics of successive values in the analyzed patterns. This may be useful in diagnosing pathological changes in the functional state of the nervous system under heart rhythm disturbances. The analyzed patterns of electroencephalograms are decomposed into three components corresponding to theta, alpha and beta ranges. Both methods confirm the multifractality of all three studied components. The main differences in the multifractal properties of the healthy brain and the brain with heart rhythm disturbances are found in the alpha and theta components of the EEG. These components are characterized by exceptionally long correlations for the control group for the alpha component, the correlated and anticorrelated dynamics for the group with atrial fibrillation for the same component, and the anticorrelated dynamics for theta components.

Keywords: cardiovascular pathology, atrial fibrillation, EEG frequency components, fractal and oscillatory spectrum components, degree of multifractality

Введение

В настоящее время множество экспериментальных работ посвящено изучению нелинейной динамики биоэлектрической активности головного мозга при различных патологиях. Как правило, это касается заболеваний, связанных с психическими нарушениями, например, болезнь Альцгеймера, шизофрения, депрессия и эпилепсия (Alamian et al. 2022; Lee et al. 2021; Mukli et al. 2018; Racz et al. 2020; 2021; Slezin et al. 2007; Suckling et al. 2008). При этом изменения в биоэлектрической активности головного мозга при таких нарушениях могут быть связаны как с колебательными, так и с фрактальными составляющими колебаний, т. е. не только с изменениями частотных диапазонов (Harris et al. 2006; John et al. 2009), но и с изменениями фрактальных свойств колебаний (Dick, Svyatogor 2012; Dick et al. 2022; Eke et al. 2002; Racz et al. 2021).

Наличие фрактальности означает сохранение самоподобия после усреднения по статистически

независимым выборкам сигнала (Pavlov, Anishchenko 2007; Scafetta et al. 2007). Оценка фрактальности физиологических сигналов является весьма актуальной в связи с тем, что изменения в этих сигналах могут быть связаны не только с колебательными, но и с фрактальными составляющими этих сигналов, и часто даже более с широкополосным фрактальным компонентом, чем с ритмическим колебательным компонентом (Dick 2017; Lee et al. 2021; Mukli et al. 2018; Racz et al. 2020; 2021; Sassi et al. 2009). Это еще одно подтверждение важности фрактального анализа сигналов. Под изменениями колебательных составляющих подразумевают изменения частотного диапазона сигналов, однако колебательные процессы с характерными частотами могут проявлять также фрактальное (безмаштабное) поведение. При этом на спектр колебательной мощности, содержащий эти характерные частоты, накладывается фрактальный спектр, в котором мощность обратно пропор-

циональна частоте, а связь устанавливается через степенную функцию с масштабным коэффициентом β (Racz et al. 2021; Wen, Liu 2016). Используя автоспектральный анализ с нерегулярной передискретизацией (IRASA) (Wen, Liu 2016), можно разделить спектр мощности на две его составляющие, т. е. выделить спектр колебательной активности без смешивающих эффектов широкополосной активности и спектр фрактальной компоненты сигнала с последующей оценкой его коэффициента спектрального масштабирования β . При выделении нескольких масштабных коэффициентов β , связанных с различающимися наклонами в анализируемых спектрах можно судить не о фрактальности, а уже о мультифрактальности исследуемого сигнала.

Анализ фрактальных свойств перспективен для клинической диагностики в связи с тем, что, как показано в многочисленных работах (Eke et al. 2002; Lee et al. 2021; Mukli et al. 2018; Racz et al. 2020; 2021), эти свойства существенно зависят от функционального состояния центральной нервной системы (Dick 2017; Dick, Svyatogor 2012; Ihlen, Vereijken, 2010; Suckling et al. 2008). Так, в работах Дик с соавторами (Dick, Mochovikova, 2011; Dick, Svyatogor 2012) показано, что при возникновении эпилептического разряда в случае приступа фокальной эпилепсии происходит изменение фрактальных свойств паттернов электроэнцефалограмм (ЭЭГ) и возврат к исходным значениям после прекращения приступа. Нервные расстройства, связанные с тревожной фобией в сочетании с головной болью, тахикардией или нарушением ритма дыхания, также приводят к изменению фрактальных свойств паттернов ЭЭГ (Dick, Svyatogor 2015). В работах Ван с соавторами и Рагхавендра с соавторами (Raghavendra et al. 2009; Wang et al. 2004) выявлены различия во фрактальных свойствах ЭЭГ больных с положительными симптомами шизофрении (бред и галлюцинации) по сравнению с ЭЭГ больных с негативными симптомами шизофрении (апатия, безволие) и с паттернами ЭЭГ контрольной группы здоровых лиц (Dick et al. 2022).

Нарушения гемодинамики, связанные с сердечно-сосудистой патологией по типу мерцательной аритмии (фибрилляции предсердий), повышают риск возникновения нарушений когнитивных функций мозга (Kwok et al. 2011; Mielke et al. 2007; Santangeli et al. 2012). В связи с этим для пациентов с сердечно-сосудистой патологией важной является оценка функционального состояния не только сердечно-сосудистой системы, но и нервной системы.

Одним из вариантов такой оценки может служить фрактальный анализ паттернов ЭЭГ.

Целью настоящей работы является сравнительный анализ мультифрактальных свойств различных компонент ЭЭГ в норме и при постоянной форме фибрилляции предсердий.

Материалы и методы

Экспериментальные данные

Были проанализированы записи ЭЭГ в теменных отведениях P3, P4, височных отведениях T3, T4, T5, T6 и в затылочных отведениях O1 и O2, полученные от 16 пациентов (мужчин) в возрасте от 50 до 67 лет с основным диагнозом: ишемическая болезнь сердца. Нарушение сердечного ритма по типу фибрилляции предсердий не превышало первой стадии (по классификации сердечной недостаточности, предложенной Нью-Йоркской Ассоциацией кардиологов), т. е. без ограничений физической активности и влияния на качество жизни пациента. Данные предоставлены клиникой военно-морской терапии Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова. В качестве контроля рассмотрены ЭЭГ 16 здоровых человек в возрасте от 56 до 62 лет.

Данные были зарегистрированы на 21-канальном электроэнцефалографе фирмы «Мицар-ЭЭГ» (Россия, Санкт-Петербург). Активные электроды располагали по стандартной схеме 10/20. В качестве индифферентного электрода использовали усредненный электрод Av. Частота дискретизации составляла 500 Гц. Длительность анализируемых паттернов — 180 секунд. Анализируемые сегменты ЭЭГ содержали 92160 отсчетов и были разложены на колебания тета (3–7 Гц), альфа (8–12 Гц) и бета (14–25 Гц) диапазонов с использованием оптимального фильтра Чебышева с конечной импульсной характеристикой, рассчитанной с помощью алгоритма Паркса — Макклеллана. Частоты среза полосы заграждения составляли $[f_1 - 0.5, f_2 + 0.5]$ Гц по отношению к частотам среза полосы пропускания $[f_1, f_2]$ Гц. Полученные три диапазона были использованы в мультифрактальном анализе.

Для оценки различий в степени мультифрактальности колебаний в этих диапазонах применяли метод поиска максимумов модулей вейвлет-коэффициентов (WTMM — wavelet transform modulus maxima) (Arneodo et al. 1995).

Разделение спектра мощности на две составляющие

На входе в процедуру разделения спектра использовали выделенные компоненты ЭЭГ, т. е. колебания тета (3–7 Гц), альфа (8–12 Гц) и бета (14–25 Гц) диапазонов.

Алгоритм метода автоспектрального анализа с нерегулярной передискретизацией (IRASA) (Wen, Liu 2016) состоит из следующей последовательности процедур.

- 1) Анализируемый временной ряд делится на 10 перекрывающихся сегментов, каждый из которых составляет 90% общей длины исходного ряда. Для каждого сегмента рассчитывается спектр мощности с использованием быстрого преобразования Фурье, при этом количество точек выбирается равным удвоенной наименьшей степени двойки, превышающей количество точек в каждом сегменте. В результате получается исходный (смешанный) спектр мощности.
- 2) Затем для каждого сегмента сигнал передискретизируется с использованием диапазона коэффициентов повторной выборки (k) и их обратных значений ($1/k$), где k варьирует от 1,1 до 1,9 с шагом 0,05. Для неравномерного повышения дискретизации сигнала на коэффициент k , сигнал интерполируется методом кубического сплайна. Для нерегулярного понижения дискретизации сигнала сначала применяется сглаживающий фильтр нижних частот, а затем интерполяция сплайном. После этого вычисляются спектры мощности передискретизированных сигналов и рассчитывается среднее этих спектров; в результате чего получается фрактальная составляющая исходного (смешанного) спектра.
- 3) Колебательный компонент спектра вычисляется как разность среднего смешанного спектра и фрактального компонента спектра.

Мультифрактальный анализ паттернов ЭЭГ

Метод мультифрактального анализа основан на поиске локальных максимумов вейвлетного спектра и определения скорости уменьшения вейвлет-коэффициентов при уменьшении частоты f (Arneodo et al. 1995).

Анализируемый сигнал может быть представлен суммой двух компонент: полинома $P_n(t)$, описывающего регулярное поведение анализируемого сигнала, и слагаемого, описывающего его нерегулярное поведение (Pavlov, Anishchenko 2007):

$$x(t) = P_n(t) + c|t - b|^{h(b)}$$

Алгоритм метода нахождения экспонент Гельдера, $h(b)$, состоит из следующей последовательности процедур:

1) для анализируемого сигнала $x(t)$ применяется непрерывное вейвлет-преобразование:

$$W(a, b) = \frac{1}{a} \int_{-\infty}^{+\infty} x(t) \psi^* \left(\frac{t - b}{a} \right) dt,$$

где a — параметр масштаба, b — параметр временного сдвига, $\psi((t - b)/a)$ — вейвлетная функция, полученная из базисного вейвлета $\psi(t)$ путем растяжения или сжатия и сдвига по времени, символ ψ^* означает комплексное сопряжение;

2) для каждого значения a находится множество $L(a)$ линий локальных максимумов модулей вейвлет-коэффициентов, т. е. линий, для которых выполняется условие

$$\frac{\partial |W(a, b)|}{\partial t} = 0;$$

3) вдоль каждой линии для значений масштабов, меньших заданного значения a , вычисляются частичные функции $Z(q, a)$ как сумма q степеней максимумов модулей вейвлет-коэффициентов:

$$Z(q, a) = \sum_{l \in L(a)} \left(\sup_{a^* \leq a} |W(a^*, t_l(a^*))| \right)^q,$$

где $t_l(a^*)$ определяет положение максимума, соответствующего линии l на этом масштабе;

4) в силу того, что при $a \rightarrow 0$ частичная функция $Z(q, a) \sim a^{\tau(q)}$ (Vacry et al. 1993), показатель $\tau(q)$ вычисляется по формуле:

$$\tau(q) \sim \log_{10} Z(q, a) / \log_{10} a$$

5) при этом в случае линейной зависимости $\tau(q)$ значение экспоненты Гельдера h единственно и сигнал монофрактален, в случае нелинейной зависимости $\tau(q)$ сигнал мультифрактален, и распределение экспонент Гельдера (спектр сингулярности) вычисляется по формуле:

$$D(h) = qh(q) - \tau(q)$$

В качестве базисного вейвлета $\psi(t)$ использовался вейвлет Морле

$$\psi(t) = \pi^{-1/4} e^{i\omega_0 t} e^{-t^2/2}$$

при значении параметра $\omega_0 = 2\pi$, обеспечивающего простое соотношение $f = 1/a$ между масштабом a и частотой f .

Ширина этого спектра сингулярности $\Delta h = h_{\max} - h_{\min}$, где $h_{\max} = h|_{q=q_{\min}}$ и $h_{\min} = h|_{q=q_{\max}}$ — максимальное и минимальное значения показателя Гёльдера, соответствующие минимальной и максимальной флуктуации сигнала, соответственно. Эта величина Δh характеризует степень мультифрактальности анализируемого сигнала в связи с тем, что чем больше Δh , тем выше степень мультифрактальности.

Положение спектра сингулярности $D(h)$ дает информацию о степени коррелированности последовательных значений сигнала, поскольку значения экспонент Гёльдера $h < 0,5$ соответствуют антикоррелированной динамике, в то время как $h > 0,5$ — коррелированной (Васгу et al. 1993). Коррелированность последовательных значений сигнала означает, что с большей вероятностью за большим значением сигнала следует большее, и наоборот. В случае, если динамика является одновременно коррелированной и антикоррелированной, спектр сингулярности будет находиться в интервале $0 < h < 1$.

Для сравнения средних значений ширины спектров сингулярности, полученных для разных групп, применяли однофакторный дисперсион-

ный анализ. Если статистика, полученная по F -критерию Фишера, превышала критическое значение $F_{\text{crit}} = F_{1,31} = 4,2$, то нулевая гипотеза о равенстве средних отвергалась. Значения 1 и 31 выбраны исходя из того, что количество групп $k = 2$, количество усредненных значений в каждой группе равно 16, общее количество наблюдений $N = 16 \times 2 = 32$, поэтому $k - 1 = 1$, $N - k = 31$. Статистически значимые различия между группами определяли на основании значений $p < 0,049$ в связи с тем, что $n = k(k - 1)/2 = 1$ и $1 - 0,951/n = 0,049$.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены примеры спектров мощности, полученных для здорового человека и человека из группы с фибрилляцией предсердий с использованием метода IRASA. Исходные (смешанные) спектры мощности показаны на рис. 1a, d. Усредненные смешанные и фрактальные спектры представлены на рис. 1b, e, при этом усредненные смешанные спектры отмечены синим цветом, а фрактальные составляющие этих спектров — красным цветом. На рис. 1c, f изображены усредненные колебательные спектры.

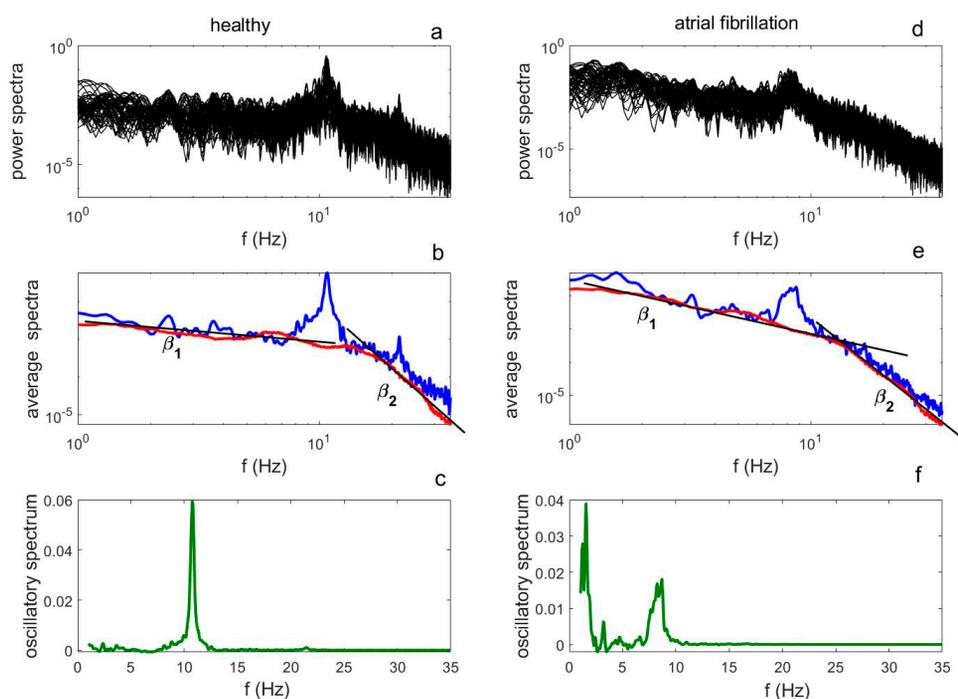


Рис. 1. Примеры спектров для здорового человека (a–c) и пациента с фибрилляцией предсердий (d–f). Исходные (смешанные) спектры мощности (a, d), усредненные смешанные спектры отмечены синим цветом, фрактальные составляющие спектров — красным цветом (b, e), усредненные колебательные спектры (c, f)

Fig. 1. The examples of power spectra for the healthy subject (a–c) and the patient with atrial fibrillation (O1 site). The original (mixed) power spectra (a, d). Averaged mixed power spectra are marked blue and fractal power spectra are marked red (b, e), averaged oscillatory spectra (c, f)

Для здорового испытуемого колебательный спектр имеет частотный пик в альфа-диапазоне (рис. 1с), а для человека из группы с фибрилляцией предсердий частотные пики находятся в тета- и альфа-диапазонах (рис. 1f). Фрактальные спектры для обоих испытуемых имеют как минимум два разных наклона в частотных диапазонах 1–13 Гц и 13–30 Гц, соответственно (рис. 1b, 1e), что дает возможность вычислять значения их скейлинговых показателей β_1 и β_2 , характеризующих эти наклоны. Это свидетельствует о том, что анализируемые паттерны ЭЭГ мультифрактальны.

На рис. 2 представлены усредненные спектры сингулярности $D(h)$, построенные по различным отведениям одного испытуемого из контрольной группы (рис. 2a–c) и по различным отведениям одного пациента из группы с фибрилляцией предсердий (рис. 2d–f). Форма зависимости $D(h)$ отфильтрованных составляющих в тета-, альфа- и бета-диапазонах свидетельствует о мультифрактальности этих компонент. Эта форма в теменных отведениях P3, P4, височных отве-

дениях T3, T4, T5, T6 и в затылочных отведениях O1 и O2 практически не менялась для конкретного испытуемого. Мультифрактальность паттернов ЭЭГ для всех групп испытуемых объясняется множественностью экспонент Гельдера h , т. е. наличием распределения экспонент Гельдера (спектра сингулярности), а не единственной экспоненты.

Отсутствие зависимости мультифрактальных свойств от расположения электродов в различных областях мозга у этих испытуемых подтверждается данными таблицы 1, в которой приведены усредненные (по испытуемым) ширины спектра сингулярности для разных отведений.

Для контрольной группы в паттернах ЭЭГ составляющих в тета-диапазоне и в бета-диапазоне колебания являются как коррелированными, так и антикоррелированными, так как спектры сингулярности находятся в области значений экспонент Гельдера $0 < h < 0,84$ (рис. 2a) и в области $(-0,1 < h < 0,96)$ (рис. 2c), соответственно. В отличие от этого, для альфа-компоненты

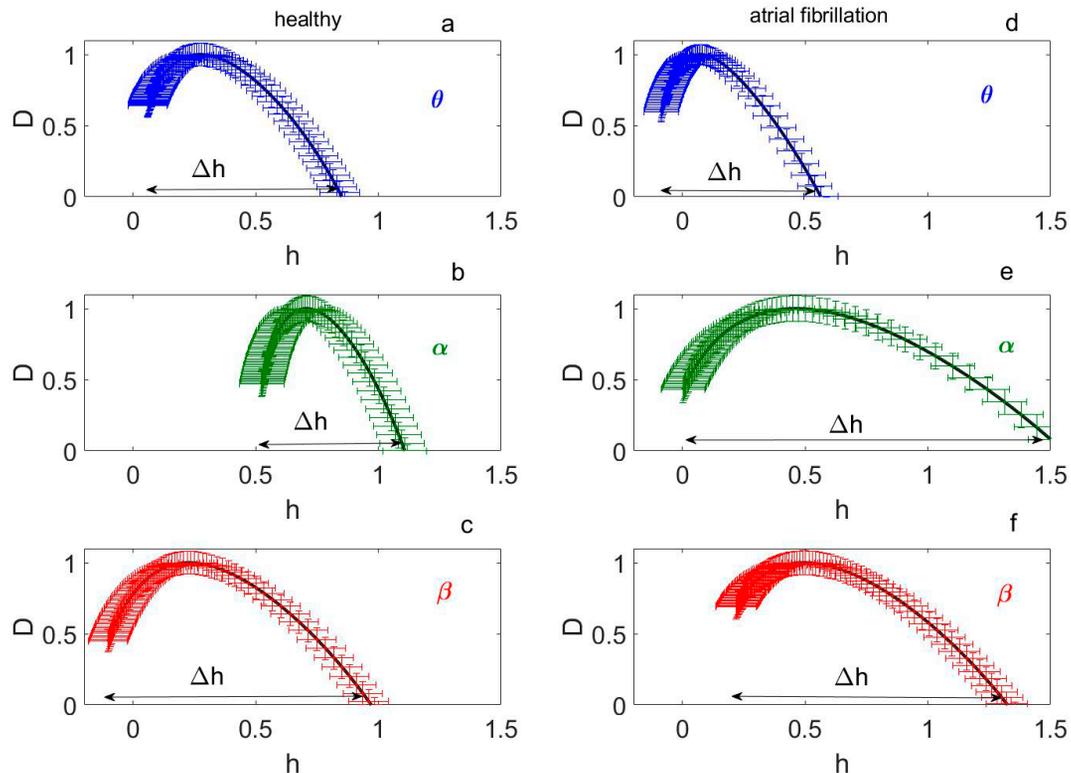


Рис. 2. Усредненные спектры сингулярности $D(h)$ для испытуемого из контрольной группы для различных отведений (a–c) и для пациента из группы с фибрилляцией предсердий (d–f). Вертикальные и горизонтальные отрезки отражают доверительные интервалы с уровнем доверия 0,95

Fig. 2. Averaged spectra of singularity $D(h)$ for the subject from the control group for various leads (a–c) and for the patient from the group with atrial fibrillation (d–f). The vertical and horizontal bars are confidence intervals with a confidence level of 0.95

Табл. 1. Сравнение усредненных (по испытуемым) величин Δh для разных отведений

отведения	тета	альфа	бета
<i>контрольная группа</i>			
P3	0,81 ± 0,07	0,53 ± 0,05	0,91 ± 0,09
P4	0,87 ± 0,08	0,56 ± 0,05	0,97 ± 0,09
T3	0,92 ± 0,09	0,52 ± 0,05	0,89 ± 0,09
T4	0,79 ± 0,07	0,49 ± 0,05	0,92 ± 0,09
T5	0,83 ± 0,08	0,47 ± 0,05	0,90 ± 0,09
T6	0,91±0,09	0,51±0,05	0,93 ± 0,09
O1	0,87 ± 0,07	0,48 ± 0,05	0,95±0,09
O2	0,91 ± 0,09	0,57 ± 0,05	0,88 ± 0,09
<i>группа с фибрилляцией предсердий</i>			
P3	0,57 ± 0,06	1,42 ± 0,11	1,21 ± 0,11
P4	0,51 ± 0,05	1,49 ± 0,13	1,19 ± 0,09
T3	0,52 ± 0,05	1,37 ± 0,11	1,26 ± 0,11
T4	0,58 ± 0,06	1,48 ± 0,13	1,24 ± 0,11
T5	0,49 ± 0,05	1,52 ± 0,14	1,20 ± 0,11
T6	0,53 ± 0,05	1,45 ± 0,12	1,18 ± 0,09
O1	0,50 ± 0,05	1,41 ± 0,12	1,27 ± 0,12
O2	0,48 ± 0,05	1,39 ± 0,11	1,22 ± 0,11

Table 1. Comparison of averaged (across the subjects) values of Δh for different leads

abductions	theta	alpha	beta
<i>control group</i>			
P3	0.81 ± 0.07	0.53 ± 0.05	0.91 ± 0.09
P4	0.87 ± 0.08	0.56 ± 0.05	0.97 ± 0.09
T3	0.92 ± 0.09	0.52 ± 0.05	0.89 ± 0.09
T4	0.79 ± 0.07	0.49 ± 0.05	0.92 ± 0.09
T5	0.83 ± 0.08	0.47 ± 0.05	0.90 ± 0.09
T6	0.91 ± 0.09	0.51 ± 0.05	0.93 ± 0.09
O1	0.87 ± 0.07	0.48 ± 0.05	0.95 ± 0.09
O2	0.91 ± 0.09	0.57 ± 0.05	0.88 ± 0.09
<i>atrial fibrillation group</i>			
P3	0.57 ± 0.06	1.42 ± 0.11	1.21 ± 0.11
P4	0.51 ± 0.05	1.49 ± 0.13	1.19 ± 0.09
T3	0.52 ± 0.05	1.37 ± 0.11	1.26 ± 0.11
T4	0.58 ± 0.06	1.48 ± 0.13	1.24 ± 0.11
T5	0.49 ± 0.05	1.52 ± 0.14	1.20 ± 0.11
T6	0.53 ± 0.05	1.45 ± 0.12	1.18 ± 0.09
O1	0.50 ± 0.05	1.41 ± 0.12	1.27 ± 0.12
O2	0.48 ± 0.05	1.39 ± 0.11	1.22 ± 0.11

колебания характеризуются исключительно долговременными корреляциями, и спектр сингулярности находится в области значений экспонент Гёльдера $0,52 < h < 1,09$ (рис. 2b).

Для пациента из группы с фибрилляцией предсердий в паттернах ЭЭГ составляющих в альфа- и бета-диапазонах колебания являются как коррелированными, так и антикоррелированными, так как спектры сингулярности находятся в области значений экспонент Гёльдера $0,01 < h < 1,51$ (рис. 2e) и $0,23 < h < 1,32$ (рис. 2f). При этом ширина спектра сингулярности для колебаний в альфа-диапазоне превышает ширину спектра сингулярности в бета-диапазоне. Колебания в тета-диапазоне являются антикоррелированными в связи с тем, что спектр сингулярности находится в области значений экспонент Гёльдера $0,08 < h < 0,56$ (рис. 2d).

В таблице 2 представлены данные о средних значениях ширины спектра сингулярности разных компонент ЭЭГ в анализируемых группах.

Однофакторный дисперсионный анализ выявил статистически значимые различия усредненных ширины спектра сингулярности Δh

в исследованных группах для всех трех компонент ЭЭГ. Статистика, полученная по F -критерию Фишера, превышала критическое значение $F_{crit} = 4,2$. Уровень значимости критерия Фишера (p), т. е. максимальная вероятность ложного отклонения нулевой гипотезы о равных средних, когда она верна, составила порядка 3×10^{-5} , т. е. была близка к нулю.

Для контрольной группы наименьшая степень мультифрактальности характерна для альфа-компоненты ЭЭГ, так как ширина усредненного спектра сингулярности Δh для этой компоненты меньше, чем для тета- и бета-компонент (табл. 2).

Для группы пациентов с фибрилляцией предсердий степень мультифрактальности минимальна для тета-компоненты (ширина усредненного спектра сингулярности составляет $\Delta h \approx 0,5$, а для альфа- и бета-компонент эта величина значительно выше ($\Delta h > 0,8$) (табл. 2). При этом снижение степени мультифрактальности для тета-компоненты связано с преимущественным смещением спектра сингулярности в область антикоррелированных значений ($0 < h < 0,5$) (табл. 2).

Табл. 2. Сравнение усредненных (по испытуемым) интервалов максимального и минимального значений показателя Гёльдера $[h_{min}; h_{max}]$ и ширины спектра сингулярности Δh для разных групп

	тета	альфа	бета
<i>контрольная группа</i>			
$[h_{min}; h_{max}]$	[0,03–0,89]	[0,51–1,04]	[0,01–0,92]
Δh	$0,82 \pm 0,07$	$0,53 \pm 0,05$	$0,91 \pm 0,09$
<i>группа с постоянной формой фибрилляции предсердий</i>			
$[h_{min}; h_{max}]$	[0,01–0,53]	[0,06–1,48]	[0,11–1,32]
Δh	$0,52 \pm 0,06$	$1,42 \pm 0,12$	$1,21 \pm 0,11$

Table 2. Comparison of averaged (across the subjects) intervals of the maximum and minimum values of the Hölder exponent $[h_{min}; h_{max}]$ and the width of the singularity spectrum Δh for different groups

	theta	alpha	beta
<i>control group</i>			
$[h_{min}; h_{max}]$	[0.03–0.89]	[0.51–1.04]	[0.01–0.92]
Δh	0.82 ± 0.07	0.53 ± 0.05	0.91 ± 0.09
<i>group with permanent atrial fibrillation</i>			
$[h_{min}; h_{max}]$	[0.01–0.53]	[0.06–1.48]	[0.11–1.32]
Δh	0.52 ± 0.06	1.42 ± 0.12	1.21 ± 0.11

Таким образом, основные отличия в мультифрактальных свойствах здорового мозга и мозга при нарушениях сердечного ритма содержатся в альфа- и тета-компонентах ЭЭГ, которые характеризуются исключительно долгосрочными корреляциями для контрольной группы ($0,5 < h < 1$) для альфа-компоненты, коррелированной и антикоррелированной динамикой для группы с фибрилляцией предсердий ($0 < h < 1,5$) для этой же компоненты и антикоррелированной динамикой ($0 < h < 0,5$) для тета-компоненты.

Высокая степень мультифрактальности обуславливается значительными флуктуациями в паттернах компонент ЭЭГ с преобладанием как однонаправленных, так и разнонаправленных изменений в последовательных значениях сигнала, что связано с уменьшением влияния определенных ритмов и повышением их зашумленности (Mukli et al. 2018; Racz et al. 2020). В анализируемых отведениях спектры мощности контрольной группы содержали преимущественно колебания альфа-диапазона, а для группы пациентов с фибрилляцией предсердий преобладали колебания тета-диапазона. Полученные данные о том, что наименьшая степень мультифрактальности для контрольной группы характерна именно для альфа-компоненты, а для группы с фибрилляцией предсердий — для тета-компоненты, косвенно подтверждают предположение о том, что преобладание определенного ритма в паттернах ЭЭГ может влиять на фрактальные характеристики из-за наибольшего вклада этих составляющих.

Увеличение ширины спектра и, соответственно, степени мультифрактальности отражает более случайные связи между активациями нейронов, что может приводить к когнитивным нарушениям (Nikulín et al. 2012; Takahashi et al. 2009), а риск таких нарушений как раз и увеличивается при постоянной форме мерцательной аритмии (Kwok et al. 2011; Mielke et al. 2007; Santangeli et al. 2012). В связи с этим изменение мультифрактальных свойств в паттернах биоэлектрической активности мозга у лиц с сердечно-сосудистой патологией, по сравнению со здоровыми лицами, может служить прогностическим показателем возможных когнитивных нарушений.

Таким образом, полученные в настоящей работе результаты свидетельствуют, во-первых, о высокой степени устойчивости мультифрактальности различных компонент ЭЭГ для определенной тестируемой группы, и, во-вторых, говорят о преимущественно коррелированной динамике последовательных значений альфа-компонент здоровых лиц и об антикоррелиро-

ванной динамике, т. е. о полном исчезновении долгосрочных корреляций в тета-компонентах ЭЭГ для группы с постоянной формой фибрилляции предсердий.

Наши данные согласуются с работой (Popivanov et al. 2006), в которой показано, что при различных условиях выполнения задачи зрительно-моторного слежения здоровыми испытуемыми (как воображаемого, так и реального зрительно-моторного слежения), мультифрактальные свойства отфильтрованных компонентов ЭЭГ очень стабильны для разных мест расположения электродов. При этом внешние события (условия задачи) оказывают слабое влияние на результаты анализа мультифрактальных свойств. Таким образом, мультифрактальная динамика является эндогенным свойством такой самоорганизующейся системы как мозг, обеспечивающим его целенаправленное поведение (Popivanov et al. 2006).

Ранее в работе (Dick et al. 2022) мы показали стабильность мультифрактальных свойств широкополосных (нефильтрованных, т. е. не разделенных на компоненты определенных диапазонов) ЭЭГ, демонстрируя отсутствие значимых различий в спектрах сингулярности внутри каждой группы для разных электродных отведений у пациентов с психическими расстройствами и выявили наличие исключительно долгосрочных корреляций последовательных значений паттернов ЭЭГ для контрольной группы, антикоррелированную динамику для больных депрессией и сочетание коррелированной и антикоррелированной динамики для больных шизофренией. Таким образом, в работе (Dick et al. 2022) было выявлено, что мультифрактальные характеристики действительно могут служить информативными показателями нейрональных нарушений.

Заключение

В настоящей работе с помощью метода максимума модуля вейвлет-преобразования вычислены распределения экспонент Гельдера (спектры сингулярности) для тета-, альфа- и бета-компонент ЭЭГ здоровых людей и лиц с постоянной формой фибрилляции предсердий. Основные различия в мультифрактальных характеристиках биоэлектрической активности мозга в норме и при сердечно-сосудистой патологии найдены в альфа- и тета-компонентах ЭЭГ и это связано с изменениями в корреляционных свойствах этих компонент. Выявленные различия могут служить информативными показателями когнитивных нарушений при сердечно-сосудистой патологии.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The author declares that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Регистрация электроэнцефаллограмм соответствовала этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ.

Ethics Approval

The EEG procedure complied with ethical standards approved by Russian legislation.

References

- Alamian, G., Lajnef, T., Pascarella, A. et al. (2022) Altered brain criticality in schizophrenia: New insights from magnetoencephalography. *Frontiers in Neural Circuits*, vol. 16, article 630621. <https://doi.org/10.3389/fncir.2022.630621> (In English)
- Arneodo, A., Bacry, E., Muzy, J. F. (1995) The thermodynamics of fractals revisited with wavelets. *Physica A*, vol. 213, no. 1–2, pp. 232–275. [https://doi.org/10.1016/0378-4371\(94\)00163-N](https://doi.org/10.1016/0378-4371(94)00163-N) (In English)
- Bacry, E., Muzy, J. F., Arnéodo, A. (1993) Singularity spectrum of fractal signals: Exact results. *Journal of Statistical Physics*, vol. 70, no. 3-4, pp. 635–674. <https://doi.org/10.1007/BF01053588> (In English)
- Dick, O. E. (2017) From healthy to pathology through a fall in dynamical complexity of involuntary oscillations of the human hand. *Neurocomputing*, vol. 243, pp. 142–154. <https://doi.org/10.1016/j.neucom.2017.03.008> (In English)
- Dick, O. E., Mochovikova, I. A. (2011) Multifractal and wavelet analysis of epileptic seizures. In: C. H. Skiadas, I. Dimotikalis, C. Skiadas (eds.). *Chaos theory: Modeling, simulation and applications*. Singapore: World Scientific Publ., pp. 159–166. (In English)
- Dick, O. E., Murav'eva, S. V., Lebedev, V. S., Shelepin, Yu. E. (2022) Fractal structure of brain electrical activity of patients with mental disorders. *Frontiers in Physiology*, vol. 13, article 905318. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.905318> (In English)
- Dick, O. E., Svyatogor, I. A. (2012) Potentialities of the wavelet and multifractal techniques to evaluate changes in the functional state of the human brain. *Neurocomputing*, vol. 82, pp. 207–215. <https://doi.org/10.1016/j.neucom.2011.11.013> (In English)
- Dick, O. E., Svyatogor, I. A. (2015) Wavelet and multifractal estimation of the intermittent photic stimulation response in the electroencephalogram of patients with dyscirculatory encephalopathy. *Neurocomputing*, vol. 165, pp. 361–374. <https://doi.org/10.1016/j.neucom.2015.03.025> (In English)
- Eke, A., Hermann, P., Kocsis, L., Kozak, L. R. (2002) Fractal characterization of complexity in temporal physiological signals. *Physiological Measurement*, vol. 23, no. 1, pp. R1–R38. <https://doi.org/10.1088/0967-3334/23/1/201> (In English)
- Harris, A., Melkonian, D., Williams, L., Gordon, E. (2006) Dynamic spectral analysis findings in first episode and chronic schizophrenia. *International Journal of Neuroscience*, vol. 116, no. 3, pp. 223–246. <https://doi.org/10.1080/00207450500402977> (In English)
- Ihlen, E. A. F., Vereijken, B. (2010) Interaction dominant dynamics in human cognition: Beyond $1/f\alpha$ fluctuations. *Journal of Experimental Psychology: General*, vol. 139, no. 3, pp. 436–463. <https://doi.org/10.1037/a0019098> (In English)
- John, J. P., Rangaswamy, M., Thennarasu, K. et al. (2009) EEG power spectra differentiate positive and negative subgroups in neuroleptic-naive schizophrenia patients. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, vol. 21, no. 2, pp. 160–172. <https://doi.org/10.1176/jnp.2009.21.2.160> (In English)
- Kwok, C. S., Loke, Y. K., Hale, R. et al. (2011) Atrial fibrillation and incidence of dementia: A systematic review and meta-analysis. *Neurology*, vol. 76, no. 10, pp. 914–922. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31820f2e38> (In English)
- Lee, Y.-J., Huang, S.-Y., Lin, C.-P. et al. (2021) Alteration of power law scaling of spontaneous brain activity in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, vol. 238, pp. 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2021.08.026> (In English)
- Mielke, M. M., Rosenberg, P. B., Tschanz, J. et al. (2007) Vascular factors predict rate of progression in Alzheimer disease. *Neurology*, vol. 69, no. 19, pp. 1850–1858. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000279520.59792.fe> (In English)
- Mukli, P., Nagy, Z., Racz, F. S. et al. (2018) Impact of healthy aging on multifractal hemodynamic fluctuations in the human prefrontal cortex. *Frontiers in Physiology*, vol. 9, article 1072. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01072> (In English)

- Nikulin, V. V., Jönsson, E. G., Brismar, T. (2012). Attenuation of long-range temporal correlations in the amplitude dynamics of alpha and beta neuronal oscillations in patients with schizophrenia. *NeuroImage*, vol. 61, no. 1, pp. 162–169. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.03.008> (In English)
- Pavlov, A. N., Anishchenko, V. S. (2007) Mul'tifraktnyj analiz kopleksnykh signalov [Multifractal analysis of complex signals]. *Uspekhi fizicheskikh nauk*, vol. 50, no. 8, pp. 819–834. <https://doi.org/10.3367/UFNr.0177.200708d.0859> (In Russian)
- Popivanov, D., Stomonyakov, V., Minchev, Z. et al. (2006) Multifractality of decomposed EEG during imaginary and real visual-motor tracking. *Biological Cybernetics*, vol. 94, no. 2, pp. 149–156. <https://doi.org/10.1007/s00422-005-0037-5> (In English)
- Racz, F. S., Stylianou, O., Mukli, P., Eke, A. (2020) Multifractal and entropy-based analysis of delta band neural activity reveals altered functional connectivity dynamics in schizophrenia. *Frontiers in Systems Neuroscience*, vol. 14, article 49. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2020.00049> (In English)
- Racz, F. S., Farkas, K., Stylianou, O. et al. (2021) Separating scale-free and oscillatory components of neural activity in schizophrenia. *Brain and Behavior*, vol. 11, no. 5, article e02047. <https://doi.org/10.1002/brb3.2047> (In English)
- Raghavendra, B. S., Dutt, D. N., Halahalli, H. N., John, J. P. (2009) Complexity analysis of EEG in patients with schizophrenia using fractal dimension. *Physiological Measurement*, vol. 30, no. 8, pp. 795–808. <https://doi.org/10.1088/0967-3334/30/8/005> (In English)
- Santangeli, P., Di Biase, L., Bai, R. et al. (2012) Atrial fibrillation and the risk of incident dementia: A meta-analysis. *Heart Rhythm*, vol. 9, no. 11, pp. 1761–1768. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2012.07.026> (In English)
- Sassi, R., Signorini, M. G., Cerutti, S. (2009) Multifractality and heart rate variability. *Chaos*, vol. 19, no. 2, article 028507. <https://doi.org/10.1063/1.3152223> (In English)
- Scafetta, N., Moon, R. E., West, B. J. (2007) Fractal response of physiological signals to stress conditions, environmental changes, and neurodegenerative diseases. *Complexity*, vol. 12, no. 5, pp. 12–17. <https://doi.org/10.1002/cplx.20183> (In English)
- Slezin, V., Korsakova, E. A., Dytjatkovsky, M. A. et al. (2007) Multifractal analysis as an aid in the diagnostics of mental disorders. *Nordic Journal of Psychiatry*, vol. 61, no. 5, pp. 339–342. <https://doi.org/10.1080/08039480701643175> (In English)
- Suckling, J., Wink, A. M., Bernard, F. A. et al. (2008) Endogenous multifractal brain dynamics are modulated by age, cholinergic blockade and cognitive performance. *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 174, no. 2, pp. 292–300. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2008.06.037> (In English)
- Takahashi, T., Kosaka, H., Murata, T. et al. (2009) Application of a multifractal analysis to study brain white matter abnormalities of schizophrenia on T2-weighted magnetic resonance imaging. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, vol. 171, no. 3, pp. 177–188. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2008.03.009> (In English)
- Wang, W., Zhang, S., Ning, X. (2004) A significant increase of multifractal behavior of schizophrenia's EEG. *Chinese Biomedical Engineering Transaction*, vol. 23, pp. 511–515. (In English)
- Wen, H. G., Liu, Z. M. (2016) Separating fractal and oscillatory components in the power spectrum of neurophysiological signal. *Brain Topography*, vol. 29, no. 1, pp. 13–26. <https://doi.org/10.1007/s10548-015-0448-0> (In English)



УДК: 314.8+612.8+571.27+57.026

EDN BTARVN

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-474-489>

Воздействие разных доз иммуномодулятора Тактивина на поведение в тестах на тревожность у крыс при стандартном и скученном содержании

Е. В. Лосева^{✉1}, А. В. Крючкова², Н. А. Логинова¹, А. А. Потехина¹, А. Н. Иноземцев³

¹ Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,
117485, Россия, г. Москва, ул. Бутлерова, д. 5а

² ООО «НИИ ХимРар», 121205, Россия, г. Москва, тер. Сколково Инновационного Центра, Большой б-р, д. 40

³ Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
119991, Россия, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1

Сведения об авторах

Елена Владимировна Лосева, SPIN-код: [7159-1186](#), Scopus AuthorID: [24399472300](#), ORCID: [0000-0003-0941-670X](#),
ResearcherID: [AAC-3893-2022](#), e-mail: losvnd@mail.ru

Алина Викторовна Крючкова, SPIN-код: [9901-2282](#), e-mail: likkavolkhova@mail.ru

Надежда Александровна Логинова, SPIN-код: [1132-3134](#), Scopus AuthorID: [18037445200](#), ORCID: [0000-0002-2539-5331](#),
ResearcherID: [AAC-4755-2022](#), e-mail: nadezhda.loginova1982@gmail.com

Анастасия Александровна Потехина, SPIN-код: [5237-8256](#), e-mail: unsinn2@yandex.ru

Анатолий Николаевич Иноземцев, SPIN-код: [7119-9015](#), Scopus AuthorID: [7003866681](#), ORCID: [0000-0002-5059-3241](#),
e-mail: a_inozemtsev@mail.ru

Для цитирования: Лосева, Е. В., Крючкова, А. В., Логинова, Н. А., Потехина, А. А., Иноземцев, А. Н. (2022) Воздействие разных доз иммуномодулятора Тактивина на поведение в тестах на тревожность у крыс при стандартном и скученном содержании. *Интегративная физиология*, т. 3, № 4, с. 474–489. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-474-489> EDN BTARVN

Получена 6 октября 2022; прошла рецензирование 20 октября 2022; принята 21 октября 2022.

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации на 2021–2023 гг.

Права: © Е. В. Лосева, А. В. Крючкова, Н. А. Логинова, А. А. Потехина, А. Н. Иноземцев (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Антистрессорные свойства природных иммуномодуляторов активно изучаются. Цель работы — определить, как влияют разные дозы полипептидного иммуностимулятора Тактивина на поведение в тестах на тревожность у крыс при скученном или стандартном содержании. Крысы-самцы Вистар месяц жили в стандартных условиях (n = 5 в клетке). Далее их содержали в стандартных или скученных (n = 17 в клетке) условиях. По две группы (n = 7–8 в каждой) в разных условиях получали интраназально 6 дней до скучивания и до конца эксперимента Тактивин в малой (0,25 мкг/кг) или большой (5 мкг/кг) дозах. Двум контрольным группам (n = 14 в каждой) аналогично вводили физиологический раствор. Тесты «открытое поле» (ОП), «свет-темнота» и «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) проводили со второго по 11 дни скученности. При стандартном содержании Тактивин в обеих дозах снижал у крыс периоды неподвижности в ОП, в малой дозе увеличивал исследовательскую активность в тестах ОП и «свет-темнота», а также эмоциональность в ПКЛ, а в большой дозе тормозил двигательную активность и активировал груминг в ПКЛ. Скученность в ОП снижала двигательную и исследовательскую активность, а в ПКЛ активировала груминг и поведение в открытых рукавах. Эти показатели в ОП нормализовались под действием Тактивина в малой дозе, а в ПКЛ — в обеих дозах. У скученных групп малая доза Тактивина в ОП увеличивала исследовательскую активность и груминг, а большая доза в ПКЛ снижала двигательную активность и увеличивала тревожность. Тактивин можно использовать для коррекции у крыс нарушенного при скученности поведения, но с осторожностью, поскольку это может привести к активации или торможению некоторых неизмененных поведенческих реакций. Применение Тактивина без стресса скученности нежелательно из-за возможных схожих изменений поведения.

Ключевые слова: иммуномодулятор Тактивин, интраназальное введение, крысы, скученность, стандартное содержание, тревожность, тест «открытое поле», тест «свет-темнота», тест «приподнятый крестообразный лабиринт»

Effects of different doses of the immunomodulator Tactivin on the behavior of rats kept in standard and overcrowded conditions: Results of anxiety tests

E. V. Loseva^{✉1}, A. V. Kryuchkova², N. A. Loginova¹, A. A. Potekhina¹, A. N. Inozemtsev³

¹ Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, 5a Butlerov Str., Moscow 117485, Russia

² ChemRar Research and Development Institute, Skolkovo Innovation Center, 40 Bolshoy Ave., Moscow 121205, Russia

³ Lomonosov Moscow State University, 1 Leninskie Gory Str., Moscow 119991, Russia

Authors

Elena V. Loseva, SPIN: 7159-1186, Scopus AuthorID: 24399472300, ORCID: 0000-0003-0941-670X, ResearcherID: AAC-3893-2022, e-mail: losvnd@mail.ru

Alina V. Kryuchkova, SPIN: 9901-2282, e-mail: likkavolkhova@mail.ru

Nadezhda A. Loginova, SPIN: 1132-3134, Scopus AuthorID: 18037445200, ORCID: 0000-0002-2539-5331, ResearcherID: AAC-4755-2022, e-mail: nadezhda.loginova1982@gmail.com

Anastasiia A. Potekhina, SPIN: 5237-8256, e-mail: unsinn2@yandex.ru

Anatoliy N. Inozemtsev, SPIN: 7119-9015, Scopus AuthorID: 7003866681, ORCID: 0000-0002-5059-3241, e-mail: a_inozemtsev@mail.ru

For citation: Loseva, E. V., Kryuchkova, A. V., Loginova, N. A., Potekhina, A. A., Inozemtsev, A. N. (2022) Effects of different doses of the immunomodulator Tactivin on the behavior of rats kept in standard and overcrowded conditions: Results of anxiety tests. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 4, pp. 474–489. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-474-489> EDN BTARVN

Received 6 October 2022; reviewed 20 October 2022; accepted 21 October 2022.

Funding: This work was accomplished as part of the state assignment of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation for the years 2021–2023.

Copyright: © E. V. Loseva, A. V. Kryuchkova, N. A. Loginova, A. A. Potekhina, A. N. Inozemtsev (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Abstract. The study aimed to determine how different doses of the immunostimulator Tactivin affect the behavior of rats in anxiety tests under overcrowded and standard conditions. Male Wistar rats after living (one month) in standard (n=5 in a cage) conditions were kept in standard or overcrowded (n=17 in a cage) conditions. Two groups (n=7–8 in each) from standard and overcrowded conditions received Tactivin in small (0.25 mcg/kg) or large (5 mcg/kg) doses intranasally every single day for 17 days. Two control groups (n=14 in each) received saline. Open field (OF), light-dark choice and elevated plus maze (EPM) tests were carried out from day 2 to day 11 of overcrowding. In standard conditions Tactivin in both doses reduced periods of immobility in OF, in a small dose it increased exploratory behavior in rats in OF and light-dark choice tests, while increasing emotionality in EPM. In a large dose it inhibited motor activity and activated grooming in EPM. Overcrowding in OF reduced motor and exploratory behavior, and in EPM activated grooming and behavior in open arms. These indicators normalized in OF under the action of Tactivin in a small dose, and in both doses in EPM. A small dose in OF increased exploratory behavior and grooming, and a large dose in EMP reduced motor activity and increased anxiety. Tactivin can be used to correct rat behavior disturbed by overcrowding. However, care should be taken, since Tactivin can lead to activation or inhibition of some unchanged behavioral reactions. Using Tactivin without overcrowding stress is undesirable due to possible behavior changes.

Keywords: immunomodulator Tactivin, intranasal administration, rats, overcrowding, standard maintenance conditions, anxiety, open field test, light-dark choice test, elevated plus maze test

Введение

Согласно литературным и собственным данным, психосоциальный стресс скученности (Ск) может привести к целому ряду неблагоприятных последствий для нервной и иммунной систем организма, в частности, к развитию тревожно-депрессивных состояний (Loseva 2021). Для коррекции таких состояний обычно используют транквилизаторы и антидепрессанты, которые могут вызывать сильное побочное действие. Поэтому активно ведется поиск природных препаратов с подобной активностью, не вызывающих таких осложнений. Большое внимание при этом уделяется цитокинам, играющим важнейшую роль в интегративной деятельности нервной, иммунной и эндокринной систем (Алмаев, Grinevich 2001). Одним из таких веществ является интерферон-альфа (ИФН-альфа) — цитокин с нейроиммуномодуляторными свойствами (Wichers et al. 2007). Известно, что в больших дозах он может вызывать тяжелые неврологические расстройства у пациентов. В нашей работе была исследована возможность использования небольших доз (малой — 50 МЕ/кг или средней — 8000 МЕ/кг) ИФН-альфа для коррекции вызванных Ск нарушений поведения у крыс в тестах на тревожность и депрессию. Был показан анксиолитический эффект, главным образом, малой дозы и антидепрессивный эффект обеих доз ИФН-альфа при Ск у крыс (Loginova et al. 2012). Однако в стандартных (Ст) условиях вивария средняя доза усиливала тревожное поведение, а обе дозы препарата приводили и к депрессивно-подобному поведению (Loseva et al. 2018). Мы предположили, что длительное интраназальное введение здоровым людям не только средних, но и малых доз ИФН-альфа может приводить к тревожно-депрессивному поведению. В то же время введение малых доз ИФН-альфа при стрессе, сопровождаемом тревожно-депрессивными расстройствами, с большой долей вероятности может нормализовать показатели тревожно-депрессивного поведения, и, следовательно, быть полезно.

Настоящая работа посвящена исследованию влияния другого иммуностимулирующего препарата Тактивина («Биомед», Россия) на поведение в тестах на тревожность у крыс при Ск и Ст содержания, то есть при тех же условиях, которые использовали в экспериментах с ИФН-альфа. Тактивин — отечественный препарат, он был создан в 1981 г. В. Я. Арионом. Тактивин представляет собой полипептидный препарат из тимуса крупного рогатого скота. Он сильный

иммуностимулятор и иммунокорректор и широко применяется в клинике для лечения разнообразных иммунодефицитных состояний. Кроме того, Тактивин является индуктором интерферонов. В состав Тактивина входят пептиды с молекулярной массой от 1,5 до 6 кДа (Smirnov 2003). Благодаря малой молекулярной массе препарат должен проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Кроме того, Тактивин обладает нейромодуляторными свойствами. Например, он может улучшать обучение и память (Novoseletskaia et al. 2015a), снижать негативные последствия стрессов (Kiseleva et al. 2009; Novoseletskaia et al. 2015b). Выбор этого препарата в наших экспериментах обусловлен тем, что он не только нейроиммуномодулятор, но и индуктор интерферонов. Так, пептид тимозин- α 1, входящий в состав Тактивина, способен отменять фазу рефрактерности в процессе синтеза эндогенного интерферона (Smirnov 2003).

В 1 мл Тактивина содержится 0,1 мг экстракта тимуса, который является действующим веществом препарата. Обычно в клинике раствор Тактивина вводят подкожно из расчета действующего вещества взрослым 1–2 мкг/кг, а детям — 2–3 мкг/кг один раз в сутки. Продолжительность курсов лечения зависит от тяжести заболевания (Инструкция по применению Тактивина, Регистр лекарственных средств России, 2000–2022). Для удобства изложения далее дозы экстракта тимуса из препарата, выраженные в мкг/кг, будут считаться дозами Тактивина. В эксперименте чаще всего используют внутрибрюшинное или интраназальное введение тактивина. Так, в работе по исследованию влияния Тактивина на поведение крыс препарат вводили интраназально в дозе 5 мкг/кг (Olkhovik, Novoseletskaia 2015). Эта большая доза сходна с применяемой в клинике при подкожном введении для лечения стойких иммунодефицитных состояний у взрослых. Дозы Тактивина, применяемые в клинике, не вызывают неврологических расстройств, в отличие от больших доз ИФН-альфа, однако могут вызывать активацию гнойных процессов разной этиологии и аллергические реакции (Инструкция по применению Тактивина, Регистр лекарственных средств России, 2020–2022). В наших экспериментах для интраназального введения крысам мы решили использовать суточные малую (0,25 мкг/кг) и большую (5 мкг/кг) дозы Тактивина.

Цель настоящей работы — сравнить, как влияют разные дозы иммуностимулятора Тактивина при интраназальном введении на поведение в тестах на тревожность («открытое

поле», «свет-темнота» и «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ)) у крыс при скученном или стандартном содержании.

Методика

Работа проведена на крысах-самцах Вистар ($n = 62$) ($m = 177 \pm 1,4$ г), которых после привоза из питомника Столбовая содержали в Ст условиях вивария (4–5 в клетке размером $55 \times 30 \times 20$ см) четыре недели. Затем 34 крысы из нескольких клеток были скучены по 17 в двух клетках и жили в условиях Ск 11 дней до конца эксперимента. Остальные 28 крыс продолжали эти 11 дней жить в Ст условиях. Животным при разных условиях содержания шесть дней до Ск и 11 дней Ск вводили интраназально по разработанной нами методике (Loseva et al. 2016) Тактивин в малой дозе (0,25 мкг/кг, T1) или большой дозе (5 мкг/кг, T2), доведенных до объема 100 мкл физиологическим раствором (ФР). Растворы Тактивина были изготовлены на основе лекарственной формы препарата «Тактивин», выпускаемой ОАО «Биомед» им. И. И. Мечникова. Контрольным группам крыс, живущим в условиях Ск или Ст, вводили 100 мкл ФР.

Таким образом, в Ст условиях были сформированы три группы крыс: Ст ($n = 14$), Ст + T1 ($n = 7$) и Ст + T2 ($n = 7$), и в условиях Ск — три группы крыс: Ск ($n = 14$), Ск + T1 ($n = 8$) и Ск + T2 ($n = 7$). Оставшиеся пять скученных крыс были использованы для другого эксперимента.

Изучали поведение всех групп крыс в тестах на тревожность, которые широко используют в мировой практике — «открытое поле», «свет-темнота», «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). За поведением одного животного в каждом тесте наблюдали в течение пяти минут. Проводили полуавтоматическую регистрацию показателей поведения животного с помощью компьютерной программы RealTimer (НПК «Открытая наука», Россия).

Тест «открытое поле»

Все крысы были протестированы в тесте «открытое поле» трижды — до Ск (первый сеанс) для формирования однородных групп по двигательной активности, на ранних (второй день Ск, восьмой день введения препаратов — второй сеанс) и поздних (11 день Ск, 17 день введения препаратов — третий сеанс) сроках Ск.

Установка «открытое поле» представляла собой квадратную арену 100×100 см, разделенную на 25 (5×5) равных квадратов со стороной 20 см с норковым отверстием (диаметр — 2,5 см) в каждом. Всего в открытом поле один централь-

ный (ЦК), восемь медиальных (МК) и 16 периферических (ПК) квадратов. Установка была окружена деревянным барьером высотой 40 см. Освещение обеспечивалось лампой мощностью 60 Вт, помещенной над центром арены на высоте 150 см.

За поведением животного наблюдали в течение пяти минут в каждый сеанс эксперимента. В начале опыта крысу помещали в ЦК. Исследовали число пересечений ЦК, МК и ПК квадратов, а также общее число пересеченных квадратов (общая двигательная активность), число норковых реакций в ЦК, МК и ПК, а также общее число норковых реакций (горизонтальная исследовательская активность), число стоек (вертикальная исследовательская активность), число и длительность (с) периодов неподвижности, длительность (с) грумминга.

Тест «свет-темнота»

У всех животных исследовали поведение в тесте «свет-темнота» на третий день скученности и десятый день введения препаратов.

Светло-темная камера представляла собой установку $50 \times 30 \times 30$ см, состоящую из двух отсеков — светлого $30 \times 30 \times 30$ см и темного $20 \times 30 \times 30$ см. Светлый отсек (СО) был сделан из белого пластика и открыт сверху, темный отсек (ТО) — из черного пластика и закрыт со всех сторон. ТО был отделен от СО центральным отверстием. СО освещался лампой мощностью 60 Вт.

За поведением животного наблюдали в течение пяти минут. В начале опыта крысу помещали в СО хвостом к отверстию. Измеряли следующие параметры: латентный период захода в ТО (с), длительность пребывания в СО при выходах из ТО (с), число выходов в СО, латентный период первого выглядывания из ТО (с), число и общую длительность выглядываний из ТО, общее число стоек, число стоек при первом пребывании в СО и при выходах из ТО.

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт»

Тест ПКЛ проводили на четвертый день скученности и десятый день введения препаратов.

Установка была выполнена НПК «Открытая наука» (Россия). Она состояла из крестообразно расходящихся от центральной площадки (центр) под прямым углом четырех рукавов (50×15 см): двух противоположных без стенок открытых (ОР), и двух со стенками высотой 30 см — закрытых (ЗР). Равномерное освещение открытых рукавов обеспечивалось двумя лампами, расположенными на расстоянии 30 см от

торцов каждого ОР, мощностью 60 Вт. Установка была приподнята над полом на высоту 50 см. Каждый рукав условно делился на три квадрата, центр также считался квадратом.

Поведение одной крысы тестировали в течение пяти минут. В начале опыта крысу помещали в центральную зону носом к открытому рукаву. Измеряли следующие параметры: число пересеченных квадратов, число выходов в центр и время (с) пребывания в нем, число заходов и время (с) пребывания в ЗР и ОР, число, общую и среднюю длительность (с) выглядываний из ЗР, число, общую и среднюю длительность (с) свешиваний с ОР, число стоек, число, общую и среднюю длительность (с) актов груминга, число, общую и среднюю длительность (с) периодов неподвижности. Животных тестировали в ПКЛ на 11 день эксперимента (четвертый день скученности).

Статистическая обработка

Статистический анализ данных для всех групп крыс был выполнен по показателям поведения во всех тестах с использованием двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Различия между отдельными группами были оценены с помощью *post hoc* сравнений с применением теста Ньюмена-Кейлса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ и на уровне статистической тенденции при $p < 0,1$. Для полноты картины отмечали еще различия, где $p < 0,2$, которые будут указаны в тексте и на рисунках.

Результаты

Тест «открытое поле»

В тесте «открытое поле» при проведении ANOVA были получены следующие результаты. Фактор «условия содержания» оказал влияние на двигательную активность в третьем сеансе: значимо различалось количество пересеченных ПК ($F(1,51) = 4,166, p < 0,05$), а также сумма всех пересеченных квадратов ($F(1,51) = 3,617, p < 0,1$). Во втором и третьем сеансах этот фактор также повлиял на суммарное число норковых реакций ($F(1,51) = 3,167, p < 0,1$; $F(1,51) = 12,605, p < 0,001$ соответственно), число периодов неподвижности ($F(1,51) = 3,026, p < 0,01$; $F(1,51) = 20,845, p < 0,0001$) и длительность груминга ($F(1,51) = 5,002, p < 0,05$; $F(1,51) = 10,159, p < 0,01$).

Фактор «введение Тактивина» оказал влияние на число пересечений ЦК в обоих сеансах ($F(2,51) = 2,554, p < 0,01$; $F(2,51) = 4,336, p < 0,05$ соответственно) и на число пересечений МК

в третьем сеансе ($F(2,51) = 2,836, p < 0,01$). В третьем сеансе данный фактор повлиял на число норковых реакций в МК ($F(2,51) = 4,531, p < 0,05$) и ПК ($F(2,51) = 5,270, p < 0,01$), а во втором сеансе — на число норковых реакций в ЦК ($F(2,51) = 4,482, p < 0,05$). Также введение Тактивина повлияло на число стоек во втором сеансе ($F(2,51) = 4,432, p < 0,05$), на продолжительность периодов неподвижности в третьем сеансе ($F(2,51) = 3,237, p < 0,05$) и на продолжительность груминга во втором сеансе ($F(2,51) = 3,111, p < 0,05$).

Взаимодействие факторов обнаружено только в третьем сеансе при сравнении числа пересечений ЦК ($F(2,51) = 3,063, p < 0,05$) и числа периодов неподвижности ($F(2,51) = 9,151, p < 0,001$).

Результаты исследования эффектов обеих доз Тактивина на показатели поведения в тесте «открытое поле» (второй и третий сеансы, ранние и поздние сроки скученности соответственно), у крыс, содержащихся в Ст или Ск условиях, представлены в таблице 1. Результаты первого сеанса, который был выполнен до введения препаратов с целью подбора сходных по двигательной активности всех шести групп крыс, не показаны, так как различий между группами по показателям поведения обнаружено не было.

При сравнении групп, содержащихся в Ст условиях вивария, оказалось, что на фоне введения Тактивина в малой дозе (группа Ст + Т1), по сравнению с группой Ст, в третьем (но не во втором) сеансе увеличилось число норковых реакций в ПК открытого поля и суммарное число норковых реакций. Под воздействием препарата в большой дозе (группа Ст + Т2) такого усиления горизонтальной исследовательской активности не наблюдали. Тактивин в обеих дозах (в большей степени в большой дозе) уменьшил число периодов неподвижности в третьем сеансе.

В группе Ск (скученный контроль), по сравнению с группой Ст, были снижены двигательная активность (число пересеченных ПК и общее число пересеченных квадратов) и исследовательская активность (число норковых реакций в ПК и их общее количество) только в третьем сеансе. Все эти изменения не были статистически значимыми, а выявлялись только на уровне $p < 0,2$. То есть, на 11 день Ск у животных наблюдали некоторые признаки депрессивно-подобного поведения.

При сравнении скученных групп крыс, получавших Тактивин, с группами Ст и Ск оказалось, что на фоне препарата в малой дозе в третьем сеансе увеличивалось число пересечений ЦК,

Табл. 1. Показатели поведения в тесте «открытое поле» у групп крыс, содержащихся в стандартных (Ст) условиях или при скученности (Ск) в контроле и на фоне интраназального введения Тактивина в малой (0,25 мкг/кг, Т1) или большой (5 мкг/кг, Т2) дозах

Показатели поведения	Стандартные условия (Ст), группы крыс			Скученность (Ск), группы крыс		
	Ст (n = 14)	Ст + Т1 (n = 7)	Ст + Т2 (n = 7)	Ск (n = 14)	Ск + Т1 (n = 8)	Ск + Т2 (n = 7)
ЦК, число пересечений, 3 сеанс	1,2 ± 0,22	1,3 ± 0,29	1,1 ± 0,14	1,1 ± 0,11	2,3 ± 0,45*#+^	1,0 ± 0,00»
ПК, число пересечений, 3 сеанс	31 ± 8,18	34,6 ± 5,65	37,9 ± 8,8	18,3 ± 5,36*	35,6 ± 6,52	15,7 ± 3,75
Общее число пересеченных квадратов, 3 сеанс	35,3 ± 9,69	39,7 ± 6,78	41,4 ± 8,86	20,7 ± 5,56*#	42,8 ± 7,09	18,3 ± 3,91#
Норковые реакции в ЦК, число, 2 сеанс	0 ± 0	0 ± 0	0,3 ± 0,18	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,13	0,4 ± 0,2*#^»
Норковые реакции в МК, число, 3 сеанс	0,6 ± 0,18	1,3 ± 0,42	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,18	1,1 ± 0,48*	0,3 ± 0,18#
Норковые реакции в ПК, число, 3 сеанс	11,4 ± 1,83	18,7±2,93*	12,3±2,24#	6,3±1,32*##	11,5±1,9#	7,6 ± 2,22*##
Общее число норковых реакций, 3 сеанс	12,1 ± 1,79	20,3 ± 3,15*	12,9 ± 2,23#	6,8 ± 1,33*###+	13 ± 1,41#	7,9 ± 2,22*###
Стойки, число, 2 сеанс	11,1 ± 1,68	10,9 ± 2,59	7,7 ± 1,6	9,5 ± 1,19	15,5 ± 2,99*+^	5,9 ± 0,96»
Неподвижность, число периодов, 3 сеанс	10 ± 1,53	4,9 ± 1,22*	1,6 ± 0,65**#	9,6 ± 1,24#+++	9,6 ± 1,19#+++	13,3 ± 2,25*##+++»
Неподвижность, продолжительность, с, 3 сеанс	85,6 ± 12,28	39,7 ± 18,31	69,1 ± 32,14	99,4 ± 20,57	56,8 ± 10,85	131,3 ± 32,35#+++»
Груминг, продолжительность, с, 2 сеанс	15,2 ± 3,14	20,7 ± 3,86	43,6 ± 20,68	29,5 ± 7,03	59,6 ± 15,89*#^	47,1 ± 8,15
Груминг, продолжительность, с, 3 сеанс	35,6 ± 9,81	42,9 ± 11,4	55 ± 9,34	18,7 ± 4,54#+	34,4 ± 5,23^	18,4 ± 4,61+

Примечание: Группы крыс при Ст условиях содержания: Ст — контроль на фоне введения физиологического раствора (ФР); Ст + Т1 — на фоне введения Тактивина в малой дозе Т1; Ст + Т2 — на фоне введения Тактивина в большой дозе Т2. Группы крыс при содержании в условиях Ск: Ск — контроль на фоне введения ФР; Ск + Т1 — на фоне введения Тактивина в малой дозе Т1; Ск + Т2 — на фоне введения Тактивина в большой дозе Т2. Второй сеанс — второй день скученности, восьмой день введения препаратов; третий сеанс — 11 день скученности, 17 день введения препаратов. ЦК — центральный квадрат, МК — медиальные квадраты, ПК — периферические квадраты. Данные представлены в mean ± SEM: * — p < 0,2, * — p < 0,1, * — p < 0,05, по сравнению с группой Ст; # — p < 0,2, # — p < 0,1, # — p < 0,05, ## — p < 0,01, ### — p < 0,001 по сравнению с группой Ст + Т1, + — p < 0,2, + — p < 0,1, + — p < 0,05, ++ — p < 0,01 по сравнению с группой Ст + Т2, ^ — p < 0,2, ^ — p < 0,1, ^ — p < 0,05, по сравнению с группой Ск, « — p < 0,2, « — p < 0,05, по сравнению с группой Ск + Т1 (сравнение групп по тесту Ньюмена — Кейлса). Данные сравнения групп по ANOVA представлены в тексте.

Table 1. Behavioral parameters in the open field test in groups of rats kept under standard (St) conditions or under overcrowding (Oc) in control and during intranasal administration of Tactivin in a small (0.25 µg/kg, T1) or a large (5 µg /kg, T2) dose

Behavioral parameters	Standard condition (St), rat groups			Overcrowding (Oc), rat groups		
	St (n = 14)	St + T1 (n = 7)	St + T2 (n = 7)	Oc (n = 14)	Oc + T1 (n = 8)	Oc + T2 (n = 7)
Number of crossings of the central square, third session	1.2±0.22	1.3±0.29	1.1±0.14	1.1±0.11	2.3±0.45*#+^	1.0 ± 0.00»
Number of crossings of the peripheral squares, third session	31 ± 8.18	34.6 ± 5.65	37.9 ± 8.8	18.3 ± 5.36*	35.6 ± 6.52	15.7 ± 3.75
Sum of all crossed squares, third session	35.3 ± 9.69	39.7 ± 6.78	41.4 ± 8.86	20.7 ± 5.56*#	42.8 ± 7.09	18.3 ± 3.91#
Number of hole poking in central square, second session	0 ± 0	0 ± 0	0.3 ± 0.18	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.13	0.4 ± 0.2*#^»
Number of hole poking in medial squares, third session	0.6 ± 0.18	1.3 ± 0.42	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.18	1.1 ± 0.48*	0.3 ± 0.18#
Number of hole poking in peripheral squares, third session	11.4 ± 1.83	18.7 ± 2.93*	12.3 ± 2.24#	6.3 ± 1.32*##	11.5 ± 1.9#	7.6 ± 2.22*##
Number of hole poking, third session	12.1 ± 1.79	20.3 ± 3.15*	12.9 ± 2.23#	6.8 ± 1.33*###+	13 ± 1.41#	7.9 ± 2.22*###
Number of rears, second session	11.1 ± 1.68	10.9 ± 2.59	7.7 ± 1.6	9.5 ± 1.19	15.5 ± 2.99*+^	5.9 ± 0.96»
Number of immobility periods, third session	10 ± 1.53	4.9 ± 1.22*	1.6 ± 0.65**#	9.6 ± 1.24###+	9.6 ± 1.19###+	13.3 ± 2.25*###+»
Total duration of immobility, s, third session	85.6 ± 12.28	39.7 ± 18.31	69.1 ± 32.14	99.4 ± 20.57	56.8 ± 10.85	131.3 ± 32.35#+»
Total duration of grooming, s, second session	15.2 ± 3.14	20.7 ± 3.86	43.6 ± 20.68	29.5 ± 7.03	59.6 ± 15.89*#^	47.1 ± 8.15
Total duration of grooming, s, third session	35.6 ± 9.81	42.9 ± 11.4	55 ± 9.34	18.7 ± 4.54#+	34.4 ± 5.23^	18.4 ± 4.61+

Note: Groups of rats under St conditions: St—control receiving saline; St+T1—Tactivin in a small dose of T1; St+T2—Tactivin in a large dose of T2. Groups of rats kept under Oc conditions: Oc—control receiving saline; Oc+T1—Tactivin in a small dose of T1; Oc+T2—Tactivin in a large dose of T2. The second session—the 2nd day of crowding, the 8th day on medication; the third session—the 11th day of crowding, the 17th day on medication. Data are presented in mean±SEM: *—p < 0.2, *—p < 0.1, *—p < 0.05, compared with the St group; #—p < 0.2, #—p < 0.1, #—p < 0.05, ##—p < 0.01, ###—p < 0.001 compared with the St + T1 group, +—p < 0.2, +—p < 0.1, +—p < 0.05, ++—p < 0.01 compared with the St + T2 group, ^—p < 0.2, ^—p < 0.1, ^—p < 0.05, compared with the Oc group, “—p < 0.2, “—p < 0.05, compared with the Oc + T1 group (comparison of groups based on the Newman—Keuls test). ANOVA-based comparative data for groups are presented in the text of the article.

по сравнению с обеими группами, и число норковых реакций в МК ($p < 0,2$), по сравнению с группой Ст. В то же время, во втором сеансе у группы Ск + Т1 на уровне $p < 0,2$ было большее количество стоек и большее время груминга, чем в группах Ст и Ск. То есть Тактивин в малой дозе приводил к активации некоторых поведенческих реакций у скученных крыс как на ранних, так и на поздних сроках Ск, при этом снижения двигательной и исследовательской активности, которое выявлялось при Ск, не наблюдали.

При Ск на фоне Тактивина в большой дозе (группа Ск + Т2) во втором сеансе было больше норковых реакций в ЦК, по сравнению с группой Ст и Ск, а в третьем сеансе, по сравнению с группой Ст, на уровне $p < 0,2$ уменьшалось число норковых реакций в ПК и в сумме, как и в группе Ск, но увеличивалось число актов неподвижности. То есть Тактивин в большой дозе на поздних сроках Ск не улучшал горизонтальную исследовательскую активность и еще больше снижал двигательную активность, которые нарушались при Ск без введения препарата.

Таким образом, в тесте «открытое поле» в Ст условиях только через 17 (но не через восемь) дней введения Тактивина в обеих дозах у крыс снижалось число эпизодов неподвижности, а в малой дозе — возрастала исследовательская активность (увеличивалось число норковых реакций). Ск в течение 11 дней привела к снижению двигательной (число пересечений квадратов) и исследовательской (норковые реакции) активности. Эти показатели нормализовались на фоне Тактивина только в малой дозе. Кроме того, при Ск на фоне малой дозы возрастала исследовательская активность (число стоек во втором сеансе и количество пересечений ЦК в третьем сеансе) и время груминга (в третьем сеансе). Большая доза не оказывала воздействия на поведение скученных крыс. То есть показано, что в тесте «открытое поле» при длительном введении разные дозы Тактивина оказывали неодинаковое влияние на поведение крыс, содержащихся как в Ст условиях, так и в условиях Ск (11 дней).

Тест «свет-темнота»

В тесте «свет-темнота» при проведении двухфакторного анализа ANOVA были получены следующие результаты.

Фактор «условия содержания» оказал влияние на время пребывания в СО после выходов из ТО ($F(1,51) = 6,921, p < 0,05$), на общее число стоек ($F(1,51) = 4,206, p < 0,05$) и на число стоек после выходов из ТО ($F(1,51) = 5,763, p < 0,05$).

Фактор «введение Тактивина» оказал влияние на латентный период первого выглядывания из ТО ($F(2,51) = 3,875, p < 0,05$), на длительность выглядывания из ТО ($F(2,51) = 3,304, p < 0,05$), на число актов выглядывания из ТО ($F(2,51) = 2,448, p < 0,1$), на число стоек до первого захода в ТО ($F(2,51) = 1,942, p < 0,2$).

Взаимодействие факторов обнаружено только для длительности пребывания в СО после выходов из ТО ($F(2,51) = 3,232, p < 0,05$), для числа выходов в СО ($F(2,51) = 2,649, p < 0,1$) и для числа стоек после выходов из ТО ($F(2,51) = 1,670, p < 0,2$).

Результаты исследования эффектов обеих доз Тактивина на показатели поведения в тесте «свет-темнота» у крыс, содержащихся в условиях Ск или Ст, представлены на рисунке 1.

Было показано, что в Ст условиях вивария в группе Ст + Т1, по сравнению с группой Ст, увеличивались время пребывания в СО после выходов из ТО и число выходов в СО ($p < 0,2$), возрастало общее число стоек ($p < 0,2$) и число стоек после выходов из ТО. Группа Ст + Т2 не отличалась от группы Ст, а по сравнению с группой Ст + Т1 у нее были меньшими время пребывания в СО после выхода из ТО, латентный период первого выглядывания из ТО и число стоек после выходов из ТО.

Группа Ск (скученный контроль) не отличалась от групп Ст и Ст + Т2, но по сравнению с группой Ст + Т1, в ней были меньшими время пребывания в СО после выходов из ТО, латентный период первого выглядывания, общее число стоек ($p < 0,2$) и число стоек после выходов в СО.

Обе группы скученных крыс на фоне разных доз Тактивина практически не отличались между собой и от групп Ст, Ст + Т2 и Ск. По сравнению с группой Ст + Т1, в них так же, как и в группе Ск, были ниже время пребывания в СО после выходов в него ($p < 0,2$ для группы Ск + Т1), латентный период выглядывания ($p < 0,2$ для группы Ск + Т1), общее число стоек ($p < 0,2$ для обеих групп) и число стоек после выходов в СО. В группе Ск + Т1 число выходов в СО было еще меньшим.

Таким образом, в тесте «свет-темнота» (девятый день введения препаратов, третий день скученности) в Ст условиях вивария на фоне Тактивина только в малой дозе у крыс увеличилось количество выходов в СО, а также время пребывания и число стоек в нем. Это может свидетельствовать как об уменьшении базового уровня тревожности, так и о повышении активности крыс на фоне введения малой дозы Тактивина в течение девяти дней. Ск не оказала

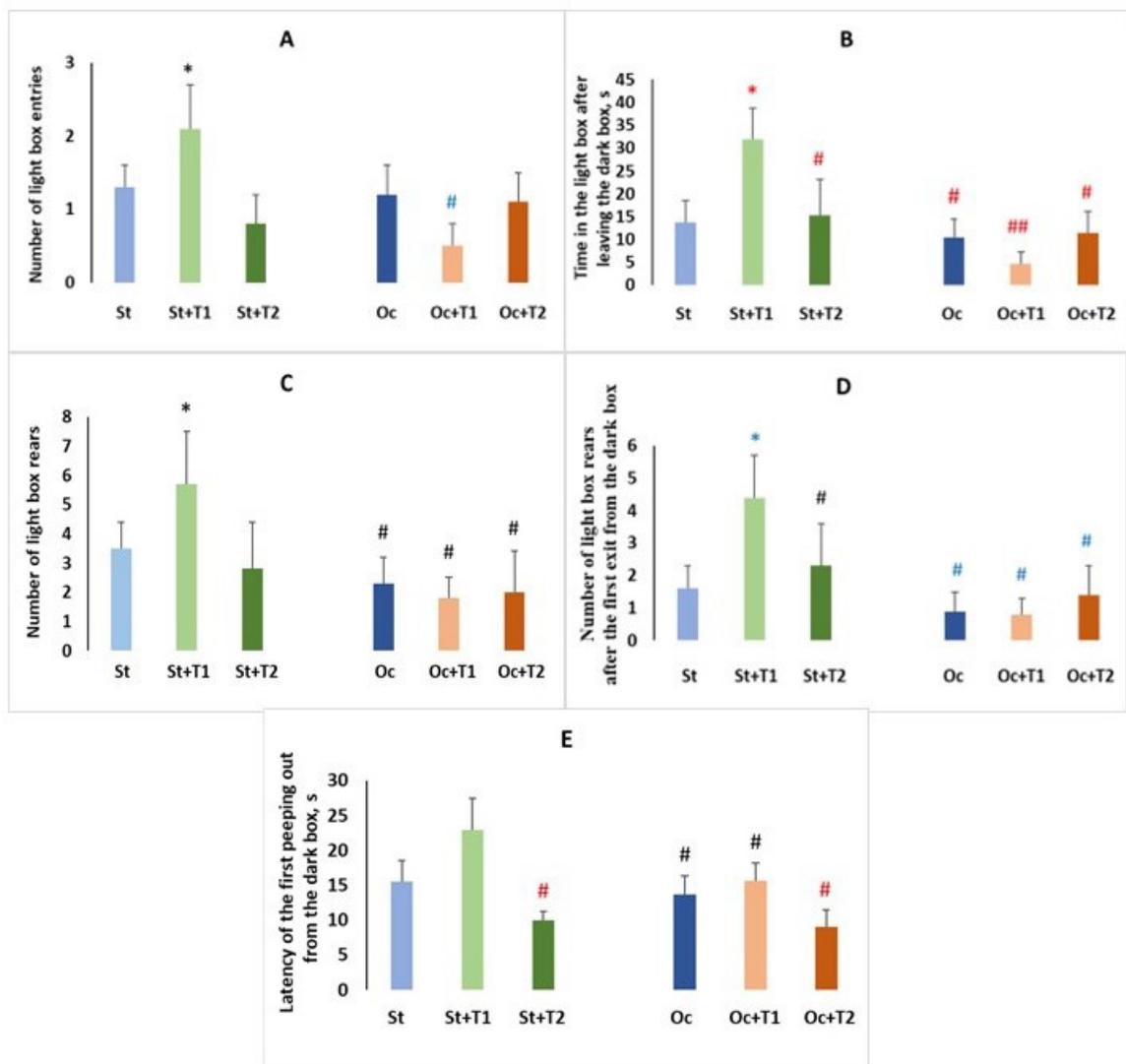


Рис. 1. Показатели поведения в тесте «свет-темнота» у групп крыс, содержащихся в стандартных (St) условиях вивария или в условиях скученности (Oc) в контролях и на фоне интраназального введения Тактивина в малой (0,25 мкг/кг, T1) или большой (5 мкг/кг, T2) дозах. Группы крыс при стандартных условиях содержания: St (голубой столбик) — контроль; St + T1 (светло-зеленый столбик) — на фоне введения Тактивина в дозе T1; St + T2 (зеленый столбик) — на фоне введения Тактивина в дозе T2. Группы крыс при содержании в условиях скученности: Oc (синий столбик) — контроль; Oc + T1 (бежевый столбик) — на фоне введения Тактивина в дозе T1; Oc + T2 (оранжевый столбик) — на фоне введения Тактивина в дозе T2. Показатели поведения: А) число выходов в СО; В) время в светлом отсеке (СО) камеры при выходах из темного отсека (ТО), с; С) общее число стоек, шт.; D) число стоек во время выходов в СО; E) латентный период первого выглядывания из ТО, с. Данные представлены в mean+SEM: * — $p < 0,2$, * — $p < 0,1$, * — $p < 0,05$, по сравнению с группой St; # — $p < 0,2$, # — $p < 0,1$, # — $p < 0,05$, ## — $p < 0,01$ по сравнению с группой St + T1 (сравнение групп по тесту Ньюмана-Кеулса). Данные сравнения групп по ANOVA представлены в тексте

Fig. 1. Behavioral parameters in the light-dark test in groups of rats kept under standard (St) conditions or under overcrowding (Oc) in control and during intranasal administration of Tactivin in a small (0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, T1) or a large (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, T2) dose. Groups of rats under St conditions: St (light blue column)—control group receiving saline; St + T1 (light green column)—Tactivin in a small dose; St + T2 (green column)—Tactivin in a large dose. Groups of rats kept under Oc conditions: Oc (blue column)—control receiving saline; Oc + T1 (beige column)—Tactivin in a small dose; Oc + T2 (orange column)—Tactivin in a large dose. Behavioral parameters: A) Number of light box entries; B) Time in the light box after leaving the dark box, s; C) Number of light box rears; D) Number of light box rears after the first exit from the dark box; E) Latency of the first peeping out from the dark box, s. Data are presented in mean+SEM: *— $p < 0.2$, *— $p < 0.1$, *— $p < 0.05$, compared with the St group; #— $p < 0.2$, #— $p < 0.1$, #— $p < 0.05$, ##— $p < 0.01$ compared with the St+T1 group (comparison of groups based on the Newman-Keuls test). ANOVA-based comparative data for groups are presented in the text of the article

влияния на поведение крыс. Тактивин в обеих дозах не изменил поведение скученных крыс по всем показателям. То есть в тесте «свет-темнота» только малая доза Тактивина оказала влияние на поведение крыс, содержащихся в Ст условиях. Остальные группы, как в Ст условиях, так и при Ск, не отличались между собой.

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт»

В тесте ПКЛ при проведении двухфакторного анализа ANOVA были получены следующие результаты.

Фактор «условия содержания» оказал влияние на латентный период выхода в ОР ($F(1,51) = 4,875$, $p < 0,05$), число актов груминга ($F(1,51) = 6,681$, $p < 0,05$) и среднюю длительность груминга ($F(1,51) = 3,296$, $p < 0,1$).

Фактор «введение Тактивина» оказал влияние на число пересечений квадратов ($F(2,51) = 7,659$, $p < 0,01$), число выходов в центр ($F(2,51) = 4,152$, $p < 0,05$), длительность пребывания в центре ($F(2,51) = 2,973$, $p = 0,05$), число заходов в ЗР ($F(2,51) = 3,025$, $p < 0,1$), длительность пребывания в ЗР ($F(2,51) = 4,718$, $p = 0,01$), латентный период выхода в ОР ($F(2,51) = 2,640$, $p < 0,1$), число выходов в ОР ($F(2,51) = 5,203$, $p < 0,01$) и длительность пребывания в них ($F(2,51) = 7,197$, $p < 0,01$), количество ($F(2,51) = 5,898$, $p < 0,01$) и длительность выглядываний из ЗР ($F(2,51) = 3,422$, $p < 0,05$), количество свешиваний ($F(2,51) = 2,572$, $p < 0,1$), длительность груминга ($F(2,51) = 3,268$, $p < 0,05$) и среднюю продолжительность периодов неподвижности ($F(2,51) = 6,247$, $p < 0,01$).

Взаимодействия факторов не выявлено.

Результаты исследования эффектов обеих доз Тактивина на показатели поведения в тесте ПКЛ у крыс, содержащихся в стандартных или скученных условиях, представлены на рисунке 2.

Были выявлены следующие отличия между группами крыс, содержащихся в Ст условиях. Группа Ст + Т1 отличалась от группы Ст (контроль) только большим числом выглядываний из ЗР ($p < 0,2$). В группе Ст + Т2, по сравнению с группой Ст, было меньшим число пересечений квадратов, а большими — средняя длительность груминга ($p < 0,2$) и периода неподвижности ($p < 0,2$). Кроме того, группа Ст+Т2 отличалась на уровне $p < 0,2$ от группы Ст + Т1 по ряду показателей. В ней были меньшими число выглядываний, но большими средняя длительность акта груминга, общее и среднее время акта неподвижности. То есть эта группа была более тревожной, чем группы Ст и Ст + Т1.

Группа Ск отличалась от всех нескученных групп (Ст, Ст + Т1, Ст + Т2) увеличением дли-

тельности пребывания в ОР и числа актов груминга. В ней было меньшим время пребывания в ЗР, по сравнению с группами Ст + Т1 ($p < 0,2$) и Ст + Т2. По сравнению с группой Ст + Т1, в группе Ск на уровне $p < 0,2$ было большим число выходов в ОР. По сравнению с группой Ст + Т2 в группе Ск было больше пересечений квадратов и выходов в центр ($p < 0,2$), меньше среднее время акта груминга, а также общей длительности ($p < 0,2$) и среднего времени периода неподвижности. То есть в группе Ск наблюдалась активация поведения по двум показателям по сравнению с группой Ст, и по целому ряду показателей по сравнению с группами, получавшими Тактивин в Ст условиях. Вероятно, эти данные свидетельствуют о развитии ажитированной тревожности в ПКЛ у группы Ск на четвертый день Ск, по сравнению с группами крыс, содержащихся в Ст условиях. Картина этого поведения существенно отличается от повышенной тревожности в принятом понимании в группе Ст + Т2.

В группе Ск + Т1 (скученные крысы, получавшие Тактивин в малой дозе), латентный период выхода в ОР был большим, чем у остальных пяти групп, время пребывания в ОР было меньшим, чем в группе Ск, число выглядываний было большим на уровне $p < 0,2$, чем в группах Ст и Ск; на уровне $p < 0,2$ число актов груминга было большим, чем в группе Ст + Т2 и меньшим, чем в группе Ск, а среднее время периода неподвижности — меньшим, чем в группе Ст + Т2.

В группе Ск + Т2 (скученные крысы, получавшие Тактивин в большой дозе) число пересечений квадратов было меньшим, чем в группах Ст и Ск ($p < 0,2$); время пребывания в ЗР было большим, чем в группе Ск; латентный период выходов в ОР был меньшим, чем в группе Ск + Т1, число выходов в ОР ($p < 0,2$) и время пребывания в них были меньшими, чем в группе Ск; число актов груминга было меньшим, чем в группе Ск, а среднее время груминга — меньшим, чем в группе Ст + Т2 ($p < 0,2$). При этом на уровне $p < 0,2$ время неподвижности было большим, чем в группах Ст + Т1 и Ск, а среднее время акта неподвижности — большим, чем в группе Ск.

Итак, в тесте ПКЛ поведение крыс на фоне обеих доз Тактивина в условиях Ск мало отличалось от поведения контрольных крыс в Ст условиях (группа Ст) по большинству показателей. Однако крысы из группы Ск + Т1 дольше других групп не выходили в ОР и чаще, чем крысы из групп Ст и Ск, выглядывали из ЗР, что говорит о повышенной тревожности. При этом число актов груминга и время в ОР снизились

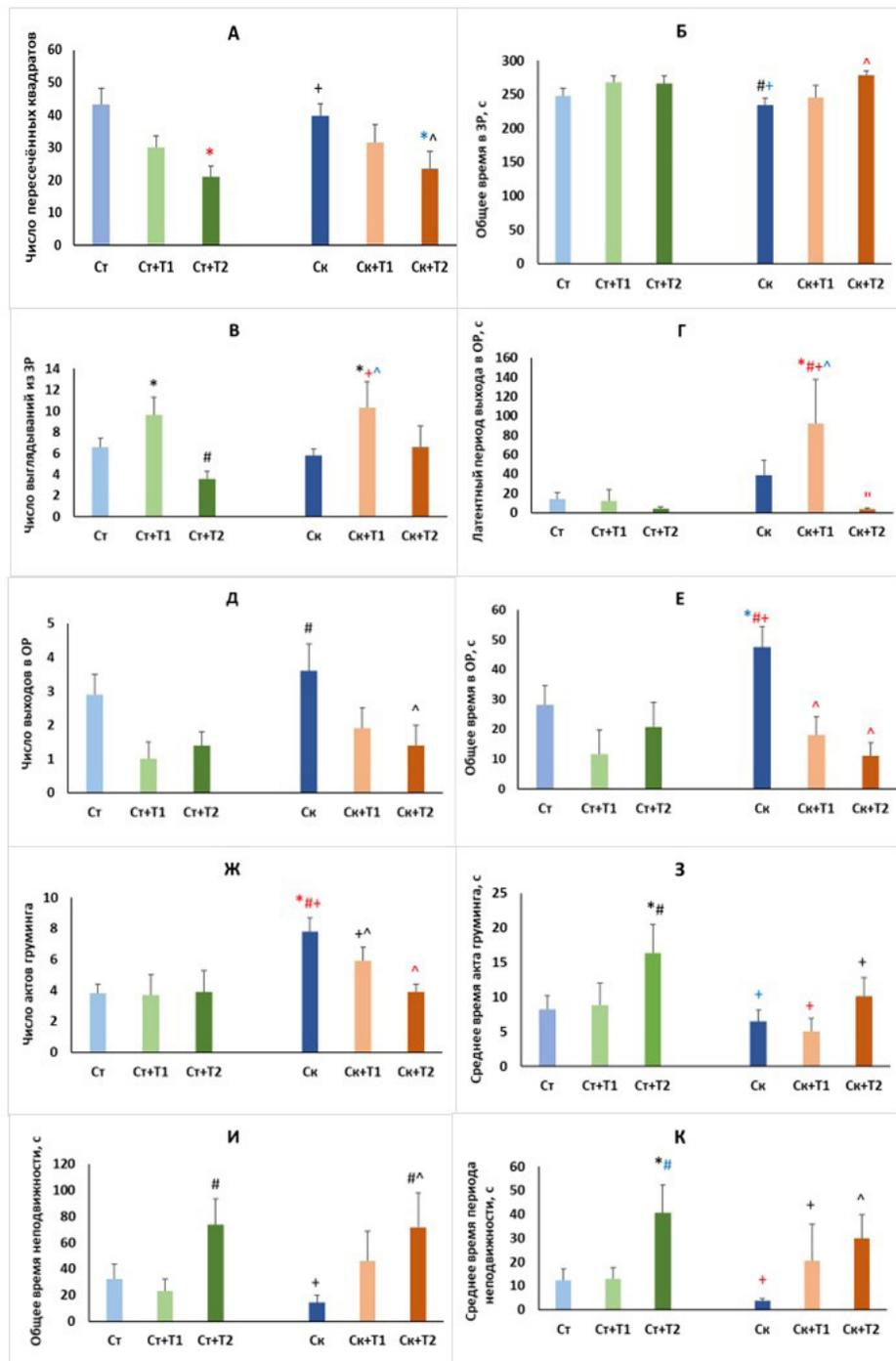


Рис. 2. Показатели поведения в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) у групп крыс, содержащихся в стандартных (Ст) условиях вивария или при скученности (Ск) в контролях и на фоне интраназального введения Тактивина в малой (0,25 мкг/кг, Т1) или большой (5 мкг/кг, Т2) дозах. Группы крыс при Ст условиях содержания: Ст (голубой столбик) — контроль; Ст + Т1 (светло-зеленый столбик) — на фоне введения Тактивина в малой дозе; Ст + Т2 (зеленый столбик) — на фоне введения Тактивина в большой дозе. Группы крыс при содержании в условиях Ск: Ск (синий столбик) — контроль; Ск + Т1 (бежевый столбик) — на фоне введения Тактивина в малой дозе; Ск + Т2 (оранжевый столбик) — на фоне введения Тактивина в большой дозе. Показатели поведения: А) число пересеченных квадратов; Б) время в закрытых рукавах (ЗР), с; В) число выглядываний из ЗР; Г) латентный период выхода в открытый рукав (ОР); Д) число выходов в ОР; Е) время в ОР, с; Ж) число актов груминга; З) среднее время акта груминга, с; И) время неподвижности, с; К) среднее время периода неподвижности, с. Данные представлены в mean±SEM: * — $p < 0,2$, * — $p < 0,1$, * — $p < 0,05$, по сравнению с группой Ст; # — $p < 0,2$, # — $p < 0,05$ по сравнению с группой Ст + Т1; + — $p < 0,2$, + — $p < 0,1$, + — $p < 0,05$ по сравнению с группой Ст + Т2, ^ — $p < 0,2$, ^ — $p < 0,1$, ^ — $p < 0,05$, по сравнению с группой Ск, « — $p < 0,05$, по сравнению с группой Ск + Т1 (сравнение групп по тесту Ньюмана — Кеулса). Данные сравнения групп по ANOVA представлены в тексте

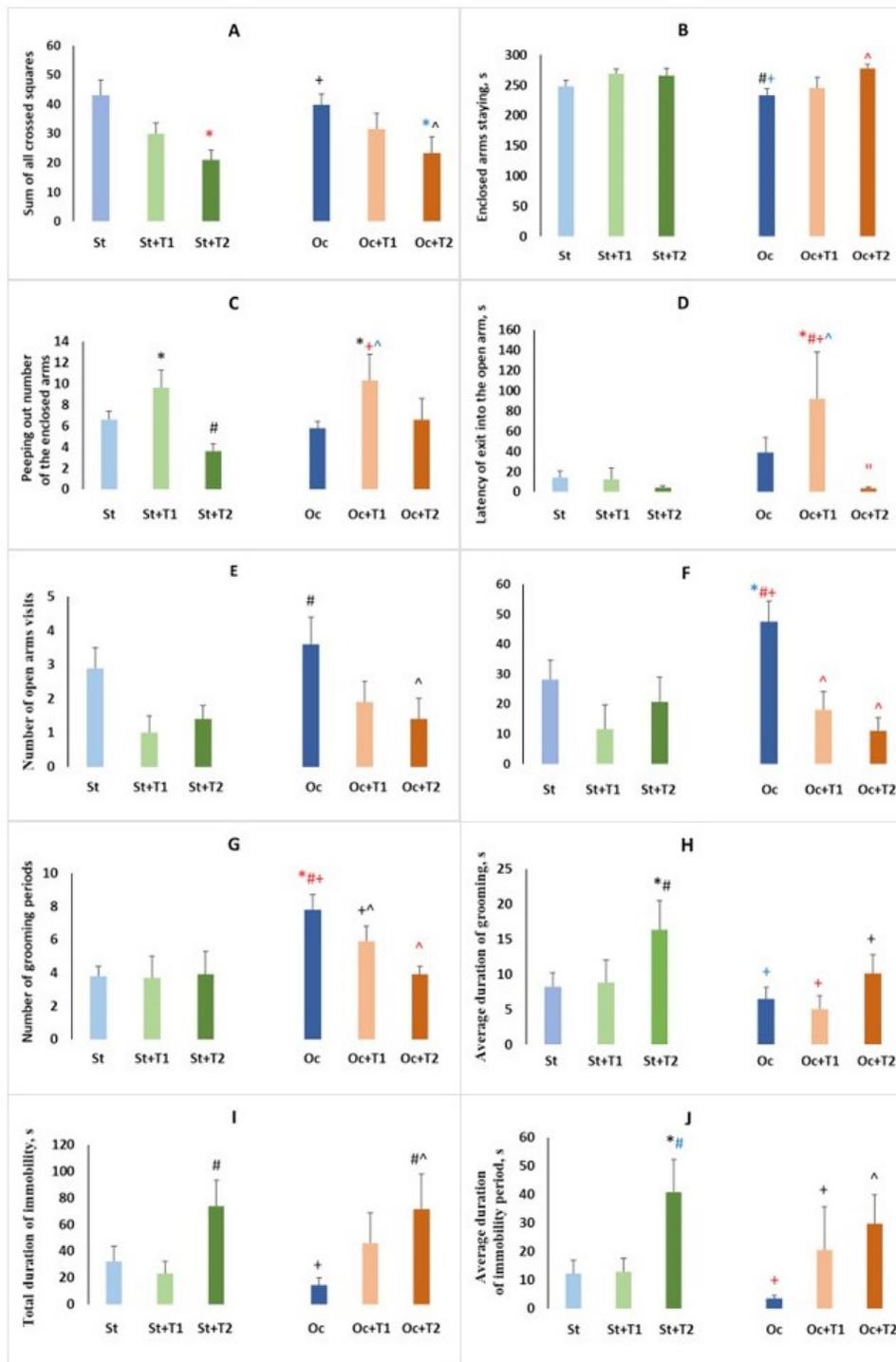


Fig. 2. Behavioral parameters in the evaluated plus maze test in groups of rats kept under standard (St) conditions or under overcrowding (Oc) in control and during intranasal administration of Tactivin in a small (0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, T1) or a large (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, T2) dose. Groups of rats under St conditions: St (light blue column)—control receiving saline; St + T1 (light green column)—Tactivin in a small dose; St + T2 (green column)—Tactivin in a large dose. Groups of rats kept under Oc conditions: Oc (blue column)—control receiving saline; Oc + T1 (beige column)—Tactivin in a small dose; Oc+T2 (orange column)—Tactivin in a large dose. Behavioral parameters: A) Number of crossed squares; B) Time spent in enclosed arms, s; C) Peepings-out from enclosed arms; D) Latency of exit into the open arms, s; E) Number of open arms visits; F) Overall time spent in open arms, s; G) Number of grooming periods; H) Average duration of grooming, s; I) Total duration of immobility, s; J) Average duration of immobility, s. Data are presented in mean+SEM: *— $p < 0.2$, *— $p < 0.1$, *— $p < 0.05$, compared with the St group; #— $p < 0.2$, #— $p < 0.05$ compared with the St + T1 group; +— $p < 0.2$, +— $p < 0.1$, +— $p < 0.05$ compared with the St + T2 group, ^— $p < 0.2$, ^— $p < 0.1$, ^— $p < 0.05$, compared with the Oc group; ^— $p < 0.05$, compared with the Oc + T1 group (comparison of groups based on the Newman-Keuls test).

ANOVA-based comparative data for groups are presented in the text of the article

по сравнению со скученным контролем, достигая показателей нескученного контроля. Группа Ск + Т2 по поведению не отличалась от группы Ст, но по ряду показателей отличалась от группы Ск.

Таким образом, в тесте ПКЛ в Ст условиях на фоне Тактивина в малой дозе увеличивалось число выглядываний из ЗР, а в большой дозе — снижалась двигательная активность и увеличивалось среднее время акта груминга, что говорит о повышенной тревожности. При Ск у крыс увеличивалось время пребывания в ОР и число актов груминга, что свидетельствует об активации поведения. Эти показатели при Ск не отличались от нескученного контроля на фоне обеих доз Тактивина. По другим показателям малая доза Тактивина практически не изменяла поведение скученных крыс. На фоне большой дозы препарата поведение крыс отличалось по ряду показателей от скученного контроля и в большей степени, чем на фоне малой дозы, приближалось к поведению контрольных крыс при стандартном содержании. То есть в тесте ПКЛ разные дозы Тактивина оказывали разное влияние на группы крыс как при стандартном, так и при скученном их содержании.

Обсуждение результатов

В состав Тактивина, который использовали в настоящей работе, входят пептиды из тимуса крупного рогатого скота. Эти пептиды являются индукторами интерферонов (ИФН) (Smirnov 2003), в частности, ИФН-альфа, который считают одним из важнейших цитокинов в нейроиммунной регуляции. Поскольку в больших дозах ИФН-альфа может приводить к тяжелым неврологическим и психическим расстройствам вплоть до депрессии и суицида (Wichers et al. 2007), в нашей многолетней работе было исследовано влияние на нервную систему только малых и средних доз этого препарата. Ранее мы показали, что при интраназальном ежедневном введении малой (50 МЕ/кг) и средней (8000 МЕ/кг) доз человеческого лейкоцитарного ИФН-альфа может изменяться поведение крыс в тестах на тревожность как при стандартном, так и при непродолжительном (десять дней) скученном их содержании (Loginova et al. 2014). В настоящей работе мы при тех же условиях эксперимента исследовали влияние другого нейроиммуномодулятора Тактивина в малой (0,25 мкг/кг) и большой (5 мкг/кг) дозах на поведение крыс в тех же тестах — «открытое поле», «свет-темнота», ПКЛ. Поскольку ранее мы показали,

что социальный стресс скученного содержания приводит к снижению интерферонового статуса у крыс (Loseva et al. 2013), то гипотетически введение ИФН-альфа и/или его индуктора Тактивина может снижать негативные последствия влияния скученности на организм. Анализируя данные тестов на тревожность на фоне ИФН-альфа (Loginova et al. 2014) и Тактивина в настоящем исследовании у крыс при стандартном и скученном содержании, можно сделать вывод, что оба препарата могут изменять поведение этих в тестах у крыс при разных условиях их содержания, но изменения эти имеют свои особенности. Корректирующее, нормализующее действие на поведение крыс в тестах на тревожность при стрессе скученного содержания оказывает как ИФН-альфа (в большей степени в малой дозе), так и Тактивин (в обеих дозах). Но оба препарата в обеих дозах могут изменять поведение крыс и при их стандартном содержании. Поэтому применять ИФН-альфа и его индуктор Тактивин без необходимости при отсутствии стрессового воздействия нецелесообразно и даже опасно, так как такой прием может привести к возбуждению или торможению поведенческих реакций.

Имеются только единичные работы, посвященные исследованию влияния Тактивина на поведение животных в тестах на тревожность при их содержании в стандартных условиях вивария. Так, при интраназальном введении Тактивина в дозе 5 мкг/кг беспородным крысам в течение пяти дней в круглом открытом поле во втором тестировании по сравнению с первым (до введения препаратов) наблюдали снижение числа посещений периферической зоны арены и норковых реакций (Olkhovik, Novoseleckaya 2015), то есть двигательная и исследовательская активность уменьшилась. В другой работе было показано, что при внутрибрюшинном введении Тактивина в течение десяти дней в дозе 0,5 мг/кг наблюдали снижение тревожности у крыс в тесте открытое поле — увеличивалось число выходов в центр и усиливалась исследовательская активность (Kuz'menko, Kiseleva 2011). В наших же экспериментах у групп крыс Вистар, содержащихся в стандартных условиях и получавших Тактивин в дозах 0,25 мкг/кг и 5 мкг/кг в течение восьми дней, различий по показателям поведения в тесте «открытое поле» по сравнению с контролем не наблюдали. Если же препараты вводили 17 дней, то обе дозы Тактивина приводили к уменьшению числа периодов неподвижности, а малая доза — к усилению исследовательской активности (норковые реакции),

то есть тревожность снижалась, как и в приведенной работе.

Работ по воздействию Тактивина на поведение в тестах на тревожность у крыс, содержащихся в условиях скученности, которая является моделью психосоциального стресса, в известной нам литературе обнаружить не удалось. Однако на других моделях стрессов анксиолитический эффект Тактивина был выявлен. Например, при выработке условного рефлекса активного избегания тока у крыс уменьшалось число межсигнальных побегов под действием Тактивина, который вводили внутрибрюшинно в дозе 0,5 мг/кг в течение пяти дней (Novoseletskaya et al. 2015a). Кроме того, у крыс, которым по той же схеме вводили Тактивин, после непродолжительного (3 и 12 часов) иммобилизационного стресса увеличивался порог болевой чувствительности в тесте «отдергивание хвоста» (Novoseletskaya et al. 2014). Анксиолитический эффект Тактивина был показан на стрессорных моделях «подвешивание за хвост» и «тесте отчаяния» в бассейне Порсолта при такой же схеме введения препарата крысам (Novoseletskaya et al. 2012). В настоящей работе несмотря на то, что мы применяли гораздо меньшие дозы Тактивина, чем в вышеописанных работах, также был показан анксиолитический эффект этого препарата при психосоциальном стрессе скученности у крыс в тестах «открытое поле» (доза 0,25 мкг/кг) и ПКЛ (дозы 0,25 мкг/кг и 5 мкг/кг). В открытом поле у животных нормализовались двигательная и исследовательская активности, сниженные к 11 дню скученности, а в ПКЛ к контрольным значениям приходил груминг и поведение в открытых рукавах, которые активизировались в скученном контроле на четвертый день скученности.

Заключение

Результаты настоящей работы показали, что в стандартных условиях содержания Тактивин в малой (0,25 мкг/кг) и большой (5 мкг/кг) дозах снижал число периодов неподвижности в тесте «открытое поле» (17 дней введения), в малой дозе — увеличивал двигательную активность в тесте «свет-темнота» и оказывал активирующее воздействие на исследовательскую активность крыс в тестах «открытое поле» и «свет-темнота», а также на эмоциональность в ПКЛ (десять дней введения), а в большой дозе — тормозил двигательную активность и активировал груминг в ПКЛ.

При скученности (11 дней) в открытом поле у крыс снижалась двигательная и исследовательская (норковые реакции) активность, а в ПКЛ (четыре дня) активировался груминг и поведение в открытых рукавах. Эти показатели в открытом поле нормализовались под действием Тактивина в малой дозе, а в ПКЛ — в малой и большой дозах. То есть показано корректирующее влияние обеих доз Тактивина на нарушенное при скученности поведение.

У скученных крыс в открытом поле Тактивин в малой дозе увеличивал исследовательскую активность (второй день скученности — стойки, 11 день — выходы в центр) и груминг (11 день), а в большой дозе в ПКЛ (четвертый день) снижал двигательную активность и увеличивал тревожность, по сравнению с контролями без введения препарата. Таким образом, Тактивин в малой дозе активировал, а в большой дозе тормозил некоторые показатели поведения, не измененные при скученности.

Мы считаем, что Тактивин может быть использован для коррекции поведения, нарушенного при социальном стрессе скученности, но с осторожностью, так как в данной работе в малой дозе он активировал исследовательскую активность и груминг (открытое поле), а в большой дозе тормозил двигательную активность и увеличивал тревожность (ПКЛ) — показатели поведения крыс, не измененные при скученности. Введение Тактивина здоровым крысам может изменить нормальные показатели поведения. Так, у крыс, содержащихся в стандартных условиях, Тактивин в малой дозе активировал двигательную и исследовательскую активность («открытое поле» и «свет-темнота»), а также эмоциональность (ПКЛ), а в большой дозе — активировал («открытое поле») или тормозил двигательную активность и увеличивал груминг (ПКЛ). С учетом полученных данных возможны неблагоприятные побочные эффекты Тактивина у людей, для их исключения требуются дополнительные исследования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Процедуры выращивания животных и протоколы экспериментов были одобрены Комиссией по этике Института ВНД и НФ РАН, эксперименты выполняли в соответствии с требованиями Директивы Совета Европейского парламента по защите животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (2010/63EU).

Ethics Approval

Animal husbandry and experimental protocols were approved by the Ethics Commission of the Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences; the experiments were performed in accordance with the Requirements of the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes.

Вклад авторов

а. Лосева Елена Владимировна — идея работы и планирование эксперимента, сбор и обработка поведенческих данных, написание рукописи;

б. Крючкова Алина Викторовна — подготовка разных доз и интраназальное введение кры-

сам препаратов, сбор и обработка поведенческих данных;

с. Логинова Надежда Александровна — подготовка разных доз и интраназальное введение крысам препаратов, сбор и обработка поведенческих данных;

д. Потехина Анастасия Александровна — сбор и обработка поведенческих данных, редактирование рукописи;

е. Иноземцев Анатолий Николаевич — идея работы и планирование эксперимента, редактирование рукописи.

Author Contributions

a. Elena V. Loseva developed the research concept and planned the experiment; collected and processed the behavioral data; drafted the manuscript;

b. Alina V. Kryuchkova prepared different doses and performed intranasal administration of drugs to rats; collected and processed the behavioral data;

c. Nadezhda A. Loginova prepared different doses and performed intranasal administration of drugs to rats; collected and processed the behavioral data;

d. Anastasiia A. Potekhina collected and processed the behavioral data; edited the manuscript;

e. Anatoliy N. Inozemtsev developed the research concept and planned the experiment; edited the manuscript.

Список сокращений

ИФН-альфа — интерферон-альфа, ЗР — закрытый рукав, МК — медиальные квадраты, ОР — открытый рукав, ПК — периферические квадраты, ПКЛ — приподнятый крестообразный лабиринт, Ск — скученность, Ст — стандартное содержание, СО — светлый отсек, ТО — темный отсек, ЦК — центральные квадраты.

List of Abbreviations

CS—central squares; EA—enclosed arm; DB—dark box; IFN-alpha—interferon-alpha; LB—light box; MS—medial squares; Oc—overcrowding; OA—open arm; PS—peripheral squares; EPM—elevated plus maze; St—standard.

References

- Akmaev, I. G., Grinevich, V. V. (2001) From neuroendocrinology to neuroimmunoendocrinology. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 131, no. 1, pp. 15–23. <https://doi.org/10.1023/A:1017566226140> (In English)
- Kiseleva, N. M., Novoseletskaya, A. V., Zimina, I. V. et al. (2009) Effect of tactivin on functional disturbances in avoidance reaction in rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 147, no. 1, pp. 70–72. <https://doi.org/10.1007/s10517-009-0446-x> (In English)
- Kuz'menko, L. G., Kiseleva, N. M. (2011) Timus i stress v klinike i eksperimente [Thymus and stress in the clinic history and experiment]. *Vestnik Rossijskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Meditsina — RUDN Journal of Medicine*, no. 3, pp. 89–94. (In Russian)
- Loginova, N. A., Sarkisova, K. Yu., Kurskaya, O. V, et al. (2012) Effects of intranasal administration of interferon-alpha on rat behavior. In: M. Sebastian, N. Ninan, A. K. Haghi (eds.). *Nanomedicine and Drug Delivery*. Toronto; New Jersey: Apple Academic Press Publ., pp. 168–177. (In English)

- Loseva, E. V. (2021) Psichosotsial'nyj stress perenaselennosti (skuchennosti): negativnye posledstviya dlya organizma cheloveka i gryzunov [Psychosocial stress of overpopulation (crowding): Negative consequences for the human body and rodents]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 2, no. 1, pp. 33–40. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-1-33-40> (In Russian)
- Loseva, E. V., Loginova, N. A., Mezentseva, M. V. et al. (2013) Immunological parameters of the blood and monoamine content in the brain of rats during long-term overcrowding. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 155, no. 4, pp. 470–473. <https://doi.org/10.1007/s10517-013-2181-6> (In English)
- Loseva, E. V., Loginova, N. A., Sarkisova, K. Y. et al. (2018) Behavioral symptoms of anxiety and depression and brain monoamine contents in rats after chronic intranasal administration of interferon- α . *Neuroscience Behavior Physiology*, vol. 48, no. 8, pp. 954–962. <https://doi.org/10.1007/s11055-018-0655-8> (In English)
- Loseva, E. V., Mezentseva, M. V., Russu, L. I. et al. (2016) Suppression of cytokine synthesis in spleen and brain and small changes in c-fos expression in rat brain after intranasal administration of single-walled carbon nanotubes. *Nanotechnologies in Russia*, vol. 11, no. 3-4, pp. 237–246. <https://doi.org/10.1134/S1995078016020129> (In English)
- Novoseletskaya, A. V., Inozemtsev, A. N., Kiseleva, N. M. et al. (2012) Vliyanie preparata peptidov timusa (taktivina) na uroven' trevozhnosti krysa [Influence of thymic peptides preparation (t-activin) on anxiety level in rats]. *Vestnik Rossijskogo universiteta družby narodov. Seriya: Meditsina — RUDN Journal of Medicine*, no. 3, pp. 12–15. (In Russian)
- Novoseletskaya, A. V., Kiseleva, N. M., Zimina, I. V. et al. (2014) The effect of tactivin on analgesia induced by acute and chronic immobilization. *Doklady Biological Sciences*, vol. 458, no. 1, pp. 275–277. <https://doi.org/10.1134/S0012496614050093> (In English)
- Novoseletskaya, A. V., Kiseleva, N. M., Zimina, I. V. et al. (2015a) Thymus polypeptide preparation tactivin restores learning and memory in thymectomized rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 159, no. 5, pp. 623–625. <https://doi.org/10.1007/s10517-015-3030-6> (In English)
- Novoseletskaya, A. V., Kiseleva, N. M., Zimina, I. V. et al. (2015b) Stress-protective effect of thymic peptides. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 158, no. 6, pp. 753–755. <https://doi.org/10.1007/s10517-015-2854-4> (In English)
- Olkhovik, A. Yu., Novoseletskaya, A. V. (2015) Vliyanie intranazal'nogo vvedeniya peptidov timusa na povedenie i obuchenie krysa [Influence of intranasal introduction thymus peptides for behavior and training in rats]. *Medline.ru. Rossijskij biomeditsinskij zhurnal*, vol. 16, pp. 1106–1117. (In Russian)
- Smirnov, V. S. (2003) Peptidy timusa i peptidnye timomimetiki [Thymus peptides and peptide thymomimetics]. In: V. S. Smirnov (ed.). *Klinicheskaya farmakologiya timogena [Clinical pharmacology of thymogen]*. Saint Petersburg: Tsitomed Publ., pp. 13–19. (In Russian)
- Wichers, M. C., Kenis, G., Koek, G. H. et al. (2007) Interferon- α -induced depressive symptoms are related to changes in the cytokine network but not to cortisol. *Journal of Psychosomatic Research*, vol. 62, no. 2, pp. 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2006.09.007> (In English)



УДК 612.328.8

EDN FFVZGM

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-490-499>

Влияние стрессорного пре- и посткондиционирования на образование и заживление эрозивных повреждений слизистой оболочки желудка, индуцированных индометацином

О. Ю. Морозова ¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторе

Ольга Юрьевна Морозова, Scopus AuthorID: 55398596500, ResearcherID: F-6041-2012, e-mail: olga_morozova_68@mail.ru

Для цитирования: Морозова, О. Ю. (2022) Влияние стрессорного пре- и посткондиционирования на образование и заживление эрозивных повреждений слизистой оболочки желудка, индуцированных индометацином.

Интегративная физиология, т. 3, № 4, с. 490–500. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-490-500>

EDN FFVZGM

Получена 11 октября 2022; прошла рецензирование 21 ноября 2022; принята 22 ноября 2022.

Финансирование: Работа поддержана грантом РФФИ № 19-15-00430.

Права: © О. Ю. Морозова (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. Прием нестероидных противовоспалительных препаратов, в том числе и индометацина, может приводить к повреждениям желудка в виде эрозий. Одним из немедикаментозных подходов для защиты слизистой оболочки желудка от повреждений, вызываемых сильными воздействиями, является стрессорное преко́ндиционирование умеренными воздействиями. Цель работы заключалась в исследовании на крысах эффектов стрессорного пре- и посткондиционирования на образование и заживление, соответственно, эрозий в желудке, индуцированных индометацином (35 мг/кг). В качестве стрессорного пре- и посткондиционирования использовали 30-минутную иммобилизацию крыс в пластиковых пенах при температуре 6 °С с последующей 1-часовой иммобилизацией при комнатной температуре (20–22 °С). Для оценки эффекта преко́ндиционирования на образование эрозий в желудке крыс декапитировали через 4 ч после введения индометацина, а для оценки эффекта посткондиционирования на заживление эрозий — через 24 ч после образования эрозий (образование эрозий происходило через 4 ч после введения индометацина). Во время декапитации собирали пробы крови для оценки уровня кортикостерона в крови. Результаты показали, что стрессорное преко́ндиционирование не оказывает значимого влияния на образование геморрагических эрозий, индуцированных индометацином. При этом стрессорное посткондиционирование ускоряло заживление индометацин-индуцированных эрозий. Таким образом, одно и то же стрессорное воздействие может влиять или не влиять на состояние слизистой оболочки желудка в зависимости от того, в каком режиме оно предъявляется: пре- или посткондиционирования.

Ключевые слова: индометацин, слизистая оболочка желудка, эрозии, заживление, гастропротекция, стрессорное преко́ндиционирование, стрессорное посткондиционирование, глюкокортикоидные гормоны

Effect of stress preconditioning and postconditioning on the development and healing of indomethacin-induced gastric erosion

O. Yu. Morozova✉¹

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Author

Olga Yu. Morozova, Scopus AuthorID: 55398596500, ResearcherID: F-6041-2012, e-mail: olga_morozova_68@mail.ru

For citation: Morozova, O. Yu. (2022) Effect of stress preconditioning and postconditioning on the development and healing of indomethacin-induced gastric erosion. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 4, pp. 490–499. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-490-499> EDN FFVZGM

Received 11 October 2022; reviewed 21 November 2022; accepted 22 November 2022.

Funding: This research was supported by the Russian Science Foundation, grant no. 19-15-00430.

Copyright: © O. Yu. Morozova (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), including indomethacin, are commonly used, their use, however, is associated with risks, including injuries of gastric mucosa and the development of gastric erosion. One of the non-drug approaches is stress preconditioning with moderate exposures to protect the gastric mucosa against injury caused by severe exposures. The aim of this work was to study the effects of stress pre- and post-conditioning on the development and healing, respectively, of gastric erosions induced by indomethacin (35 mg/kg). As stress pre- and post-conditioning, the study involved 30-min immobilization of rats in plastic cages at a temperature of 6 °C followed by 1-h immobilization at room temperature (20–22 °C). In experiments with preconditioning, rats were decapitated 4 hours after indomethacin injection to assess the effect on the development of gastric erosion. In experiments with postconditioning, rats were decapitated 24 hours after the development of gastric erosion to assess the healing of erosions. During decapitation, blood samples were collected to estimate the blood glucocorticoids levels. According to the obtained results, stress preconditioning had no significant effect on the development of gastric hemorrhagic erosions induced by indomethacin. At the same time, stress post-conditioning accelerated the healing of indomethacin-induced gastric erosions. Thus, the same stressor may either affect or fail to affect the gastric mucosa, depending on its application as pre- or post-conditioning.

Keywords: indomethacin, gastric mucosa, erosion, healing, gastroprotection, stress preconditioning, stress postconditioning, glucocorticoids

Введение

Прием нестероидных противовоспалительных препаратов (НСПВП) и сильные стрессорные воздействия могут приводить к повреждениям желудка в виде эрозий и язв (Laine et al. 2008; Morozova 2021). В связи с этим востребованными являются новые подходы к профилактике и лечению язвенной патологии в желудке. Одним из немедикаментозных подходов, исследуемых в экспериментах на животных, является преко́ндиционирование умеренными воздействиями для защиты организма от повреждений, вызываемых сильными воздействиями. Изучаются эффекты и механизмы ишемического и стрессорного преко́ндиционирования на разные системы организма, в том числе и на желудочно-кишечный тракт (Bagaeva et al. 2012; Bobryshev et al. 2010; Brzozowski et al. 2000; Filaretova et al. 2021; Song et al. 2012; Tanaka et

al. 2007; Thompson et al. 2013; Uramoto et al. 1990; Wallace et al. 1983; Yarushkina, Filaretova 2019). При этом ишемическое преко́ндиционирование (короткие эпизоды ишемии) перед длительной ишемией-реперфузией наиболее часто используется для защиты различных органов: мозга, сердца, почек, печени, легких, желудка (Brzozowski et al. 2004; Song et al. 2012; Tappia et al. 2022; Thompson et al. 2013). Кроме локального ишемического преко́ндиционирования существуют и модели дистанционного ишемического преко́ндиционирования. Дистанционное ишемическое преко́ндиционирование широко применяется для защиты сердца (Cheng et al. 2022) и кишечника (Taha et al. 2012).

Наряду с ишемическим преко́ндиционированием показано защитное действие и ишемического постко́ндиционирования на сердце и желудок в разных экспериментальных моделях (Heusch 2015; Khaliulin et al. 2021; Staat et al. 2005;

Wang et al. 2014). Важно отметить, что эффективность ишемического посткондиционирования зависит от условий его проведения и времени, прошедшего после ишемии-реперфузии (Barsukevich et al. 2015). Существуют сведения о том, что ишемическое пре- и посткондиционирование одинаково эффективно. Общие механизмы активации эндогенных защитных сигнальных каскадов при действии ишемического пре- и посткондиционирования описаны для кардиопротекции, которая в этом отношении является наиболее исследованной (Garcia-Dorado et al. 2006).

Ранее в экспериментальных исследованиях нашей лаборатории было показано, что локальное ишемическое преко́ндиционирование желудка, а также дистанционное ишемическое преко́ндиционирование, вызванное пережатием задней лапы крыс, приводит к защите слизистой оболочки желудка от повреждений, вызванных длительной ишемией-реперфузией желудка (Bagaeva et al. 2012; Bobryshev et al. 2010; Filaretova et al. 2021). Главным и новым при этом было выявление того факта, что глюкокортикоидные гормоны вносят вклад в гастропротективные эффекты как локального, так и дистанционного ишемического преко́ндиционирования (Bagaeva et al. 2012; Bobryshev et al. 2009; Filaretova et al. 2021).

Стрессорное преко́ндиционирование, в отличие от ишемического, является менее распространенной моделью. Одной из возможных причин этого является преобладающее отношение исследователей к стрессу как к негативному феномену. Второй причиной может быть сложность и нестабильность воспроизведения эффектов стрессорного преко́ндиционирования. Тем не менее, существует ряд исследований, результаты которых демонстрируют защитный эффект предварительного влияния умеренного стресса (или стрессорного преко́ндиционирования) на слизистую оболочку желудка при ulcerогенных воздействиях (Brzozowski et al. 2000; Tanaka et al. 2007; Uramoto et al. 1990; Wallace et al. 1983).

Результаты, полученные ранее в нашей лаборатории, не только подтвердили гастропротективное действие стрессорного преко́ндиционирования, но и впервые доказали участие в его реализации глюкокортикоидных гормонов (Filaretova 2017; Filaretova et al. 2008). При этом гастропротективное действие стрессорного преко́ндиционирования сначала было показано в стрессорных ulcerогенных моделях (когда умеренный стрессор предъявляли перед сильным стрессорным воздействием, вызывающим об-

разование эрозивных повреждений слизистой оболочки желудка) (Filaretova 2017; Filaretova et al. 2008). Позднее, принимая во внимание широкое распространение язвенной патологии желудка, индуцированной НСПВП, в лаборатории исследовали эффекты стрессорного преко́ндиционирования на формирование повреждений желудка, а также кишечника, индуцированных индометацином, широко используемым в клинике НСПВП. При этом были выявлены защитные эффекты стрессорного преко́ндиционирования на образование повреждений в желудке (Yarushkina, Filaretova 2019). Эти данные можно рассматривать как многообещающие, но требующие дальнейших исследований. В настоящей статье представлены некоторые из результатов этих продолжающихся исследований.

Кроме хороших возможностей стрессорного преко́ндиционирования теоретически существуют и аналогичные возможности посткондиционирования. С практической точки зрения естественен особый интерес к эффектам стрессорного посткондиционирования, поскольку кондиционирование после воздействия повреждающего, ulcerогенного, стимула позволило бы корректировать уже возникшую патологию, что важно для клиники. Однако эффекты стрессорного посткондиционирования ранее не изучали.

Цель работы заключалась в исследовании на крысах эффектов стрессорного пре- и посткондиционирования на образование и заживление в слизистой оболочке желудка эрозий, индуцированных индометацином.

Материалы и методы

Работу проводили на самцах крыс линии Спрейг-Доули (масса тела 270–320 г) из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем» (Санкт-Петербург). Эксперименты были проведены в полном соответствии с Директивой Европейского Совета (The European Council Directive (86/609/EEC)) по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными и одобрены Комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при ФГБУН «Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН».

За неделю до начала экспериментов крыс акклиматизировали к стандартным условиям лабораторного вивария: температура 20–22 °С, световой режим 12 ч : 12 ч (включение света в 8 ч, выключение в 20 ч), свободный доступ к воде и пище.

Эрозии в желудке у крыс индуцировали введением индометацина (35 мг/кг в объеме 5 мл/кг, подкожно) после их предварительного голодания в течение 24 ч. Суспензию индометацина (Sigma-Aldrich, St. Louis, США) готовили на основе 0,9% раствора NaCl с добавлением капли Твина 80 («Theodor Schuchardt», Германия).

В качестве стрессорного пре- и посткондиционирования использовали 30-минутную (30-мин) иммобилизацию крыс в пластиковых пеналах при температуре 6 °С с последующей одночасовой (1-ч) иммобилизацией при комнатной температуре (20–22 °С). Контрольные крысы не подвергались иммобилизации и находились все это время в обычных стандартных клетках без пищи (за 24 ч) и воды (в течение четырех часов после введения индометацина). В экспериментах с преко́ндиционированием крыс декапитировали через четыре часа после введения индометацина для оценки эффекта на образование эрозий, а с посткондиционированием — через 24 ч после образования эрозий (образование эрозий — через четыре часа после введения индометацина) для оценки эффекта на заживление эрозий. В экспериментах с исследованием эффектов стрессорного посткондиционирования возобновление кормления крыс после голодания происходило после окончания иммобилизации. После декапитации животных собирали пробы крови для определения в них уровня кортикостерона и извлека-

ли желудки для исследования их слизистой оболочки. Площадь эрозий слизистой оболочки желудка, индуцированных индометацином, оценивали с помощью компьютерной программы Image J. Уровень кортикостерона в плазме крови определяли иммуноферментным методом с использованием набора реагентов «Кортикостерон крыса/мышь — ИФА» («Хема», Россия).

Все данные обрабатывали статистически. Для сравнения площадей эрозий слизистой оболочки желудка использовали непараметрический метод Манна — Уитни, для анализа изменения уровня кортикостерона в крови — t-критерий Стьюдента. Все данные были проанализированы с помощью критерия Колмогорова — Смирнова на наличие нормального распределения.

Результаты исследования и их обсуждение

На рисунке 1 представлены данные о влиянии 30-мин иммобилизации при температуре 6 °С на уровень кортикостерона в плазме крови контрольных крыс (без каких-либо дополнительных вмешательств). Из представленных данных видно, что в результате такого воздействия уровень кортикостерона в крови повышается в 4,6 раза, что позволяет рассматривать такую иммобилизацию как стрессорное воздействие или стрессор.

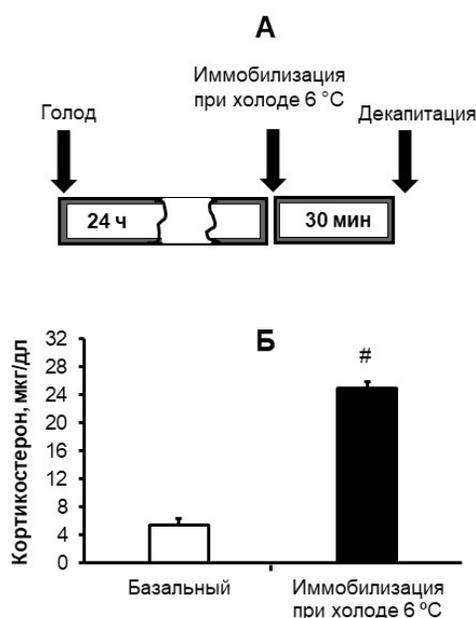


Рис. 1. Влияние 30-мин иммобилизации при температуре 6 °С на уровень кортикостерона в крови: (А) — схема эксперимента, (Б) — результаты. # — статистически значимые различия от базального уровня ($p < 0,05$). Количество случаев $n = 4-6$

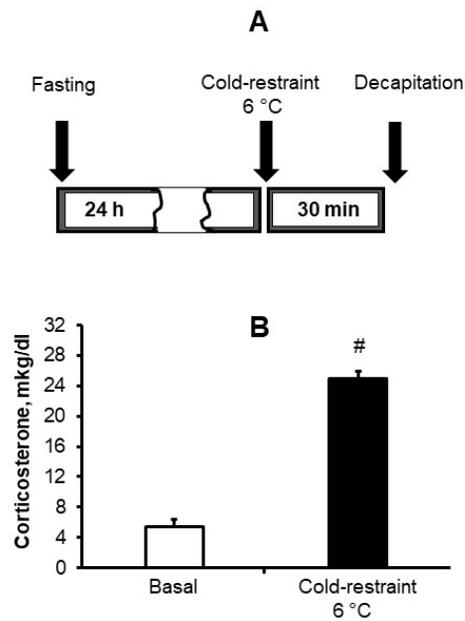


Fig. 1. Effect of 30-min immobilization at T 6 °C on plasma corticosterone levels: (A)—experimental design, (B)—results. #—statistically significant differences from the basal level ($p < 0.05$). Number of cases $n = 4-6$

На следующем этапе мы использовали данный стрессор (30-мин иммобилизацию при холоде) в качестве стрессорного преко́ндиционирования, которое предъявляли до ulcerогенного стимула (введения индометацина), чтобы оценить его влияние на образование индометацин-индуцированных эрозий в слизистой оболочке желудка. При этом индометацин вводили не сразу после 30-мин иммобилизации при холоде, а спустя один час, в течение которого иммобилизация крыс продолжалась, но уже при комнатной температуре (рис. 2А). Введение индометацина через четыре часа приводило к образованию геморрагических эрозий в желудке. Согласно полученным нами данным, стрессорное преко́ндиционирование (30-мин иммобилизация при температуре 6 °C с последующей 1-ч иммобилизацией крыс при комнатной температуре) не оказывало значимого влияния на среднюю площадь геморрагических эрозий, индуцированных индометацином (рис. 2Б). Введение индометацина приводило к повышению уровня кортико́стерона в крови как у контрольных крыс, так и у предварительно стрессированных крыс в сравнении с базальным уровнем (рис. 2Б), что согласуется с предыдущими данными нашей лаборатории (Filaretova et al. 2011). Стрессорное преко́ндиционирование применяли перед введением индометацина, после которого прошло четыре часа, поэтому

оно уже не оказывало влияния на уровень кортико́стерона в крови: не было обнаружено достоверных различий между контрольной группой и группой с преко́ндиционированием (рис. 2).

Отсутствие эффекта стрессорного преко́ндиционирования на образование индометацин-индуцированных эрозий, выявленное в настоящей работе, не согласуется с данными о гастропротективном влиянии стрессорного преко́ндиционирования, полученными ранее в такой же ulcerогенной модели, «индометациновой», в нашей лаборатории (Yarushkina, Filaretova 2019). Вероятной причиной этого может быть различие в «силе» стрессора: температурном режиме при иммобилизации крыс. В ранее опубликованной работе (Yarushkina, Filaretova 2019) иммобилизацию проводили при температуре 10 °C, а в настоящем исследовании — при более низкой температуре 6 °C. Известно, что наличие холодого компонента при иммобилизации является чрезвычайно значимым в случае использования этого стрессора в качестве ulcerогенного стимула, именно он позволяет получать эрозивные повреждения желудка уже через три часа после иммобилизации. Вазоконстрикция в ответ на холод с последующим ухудшением кровоснабжения слизистой оболочки желудка является важным патогенетическим фактором (Filaretova et al. 1999). В настоящем исследовании иммобилизация на холоде продолжалась 30 мин,

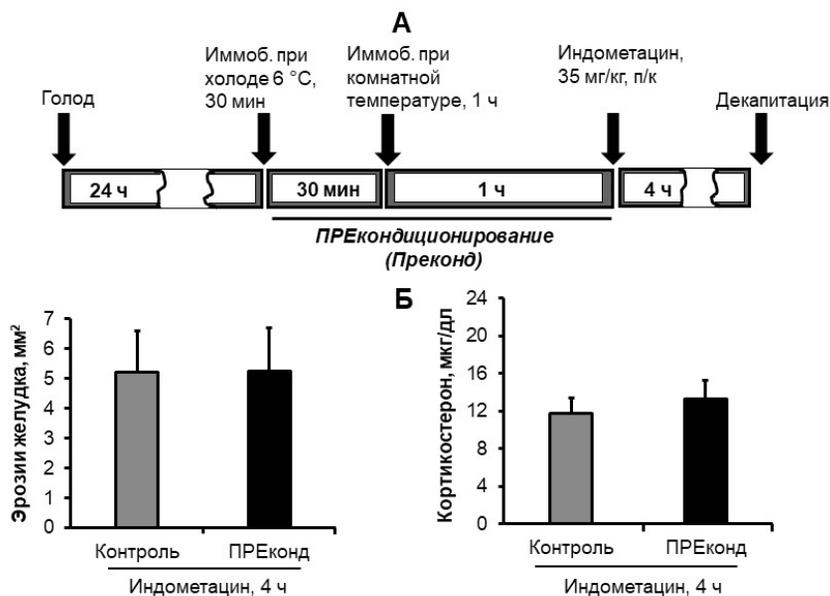


Рис. 2. Влияние стрессорного прекондиционирования (30-мин иммобилизация при температуре 6 °С с последующей 1-ч иммобилизацией при комнатной температуре) на образование эрозий в слизистой оболочке желудка и уровень кортикостерона в крови у крыс через четыре часа после введения индометацина (35 мг/кг, подкожно). (А) — схема эксперимента, (Б) — результаты. Количество случаев n = 12

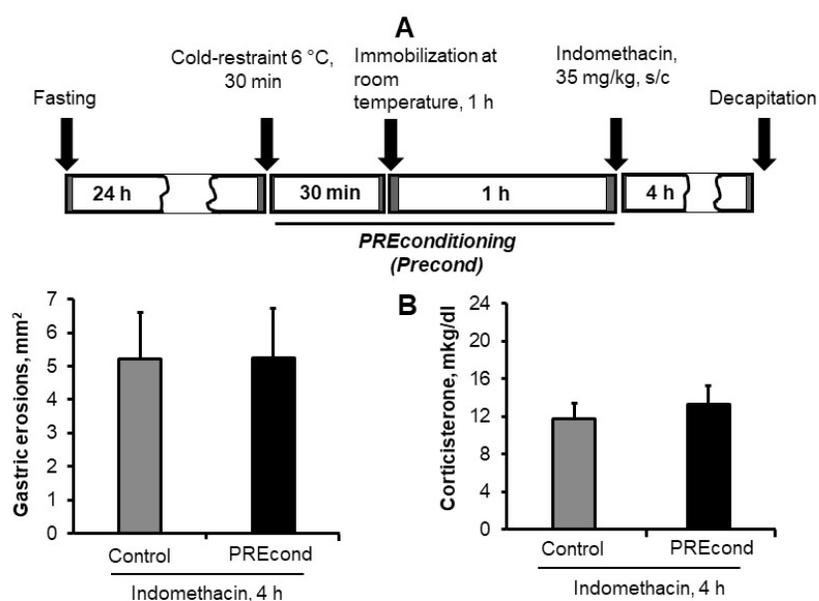


Fig. 2. Effect of stress preconditioning (30-min immobilization at T 6 °C followed by 1-h immobilization at room temperature) on the development of gastric erosions and on plasma corticosterone levels 4 h after indomethacin administration (35 mg/kg, subcutaneously). (A)—experimental design, (B)—results. Number of cases n = 12

а не три часа, как в работе Филаретовой с соавторами (Filaretova et al. 1999), но, возможно, понижение температуры до 6 °С приводило не к гастропротекции, а к проявлению патогенетических механизмов, чем объясняется отсутствие защитного эффекта стрессорного преко́ндиционирования. В любом случае полученные данные показывают зависимость эффектов стрессорного преко́ндиционирования на образование эрозий в желудке, индуцированных индометацином, от условий экспериментальной модели, в данном случае, от температурного режима. О важности конкретных особенностей экспериментальной модели стрессорного преко́ндиционирования свидетельствуют результаты еще одного исследования (Tanaka et al. 2007), в котором продемонстрирована зависимость эффектов стрессорного преко́ндиционирования на образование эрозий в желудке, индуцированных сильным стрессорным воздействием, от продолжительности действия преко́ндиционирования, а также временного интервала между первоначальным умеренным преко́ндиционирующим стрессором и последующим ulcerогенным стрессором. Согласно полученным авторами данным, изменение условий эксперимента может приводить к исчезновению гастропротективного эффекта стрессорного преко́ндиционирования (Tanaka et al. 2007). Можно предположить, что исследования эффектов именно стрессорного преко́ндиционирования не являются распространенными по причине их зависимости от особенностей экспериментальных моделей и негативного отношения к стрессу.

Индометацин-индуцированные эрозии желудка со временем (через 2–3 суток) заживают (Filaretova et al. 2011). В нашей лаборатории было показано ранее, что скорость заживления таких эрозий зависит от уровня кортикостерона в крови крыс. При дефиците кортикостерона у адреналэктомированных крыс процесс заживления останавливается, а заместительная терапия кортикостероном у адреналэктомированных крыс его стимулирует (Filaretova et al. 2001). Достаточный уровень кортикостерона особенно важен в «индометациновой» модели, при которой наблюдается дефицит простагландинов (важных гастропротективных факторов) (Morozova 2021), поскольку, как было показано ранее, глюкокортикоидные гормоны играют важную компенсаторную гастропротективную роль в условиях дефицита простагландинов (Filaretova et al. 2007). Предполагается, что стрессорное посткондиционирующее воздействие может повлиять на процесс заживления эрозий

в желудке, по крайней мере, частично за счет повышенного уровня кортикостерона в крови. Но прежде, чем исследовать роль глюкокортикоидных гормонов, необходимо было оценить сам эффект стрессорного посткондиционирования на заживление индометацин-индуцированных эрозий. В настоящей работе мы оценивали этот эффект. Полученные результаты представлены на рисунке 3. Как видно из рисунка 3, у контрольных крыс через 24 ч после образования эрозий не наблюдали заживления поврежденной слизистой оболочки желудка: средняя площадь эрозий на этом сроке достоверно не отличалась от таковой, наблюдавшейся через четыре часа после введения индометацина. Иная картина имела место в случае группы крыс со стрессорным посткондиционированием. Стрессорное посткондиционирование приводило к достоверному снижению средней площади эрозий, индуцированных индометацином, через 24 ч после образования эрозий, что свидетельствует о заживлении эрозивных повреждений слизистой оболочки желудка (рис. 3Б).

У контрольной группы через 24 ч после образования эрозий уровень кортикостерона был достоверно ниже, чем таковой через четыре часа после введения индометацина, и не отличался от базального уровня. Эти данные хорошо согласуются с ранее полученными в лаборатории результатами (Filaretova et al. 2001). В группе со стрессорным посткондиционированием уровень кортикостерона через 24 ч после образования эрозий, индуцированных индометацином, не отличался от того, который наблюдали у контроля через четыре часа после введения индометацина (рис. 3Б), что, скорее всего, можно расценить как «след» предварительного стрессорного воздействия.

Таким образом, результаты проведенного исследования показывают, что 30-мин иммобилизация при температуре 6 °С с последующей 1-ч иммобилизацией крыс при комнатной температуре в режиме стрессорного преко́ндиционирования не оказывает значимого влияния на образование в слизистой оболочке желудка геморрагических эрозий, индуцированных индометацином. При этом в режиме посткондиционирования 30-мин иммобилизация крыс при температуре 6 °С с последующей 1-ч иммобилизацией крыс при комнатной температуре ускоряет заживление эрозий, индуцированных индометацином. Тот факт, что одно и то же стрессорное воздействие может влиять или не влиять на состояние слизистой оболочки желудка в зависимости от того, в каком режиме

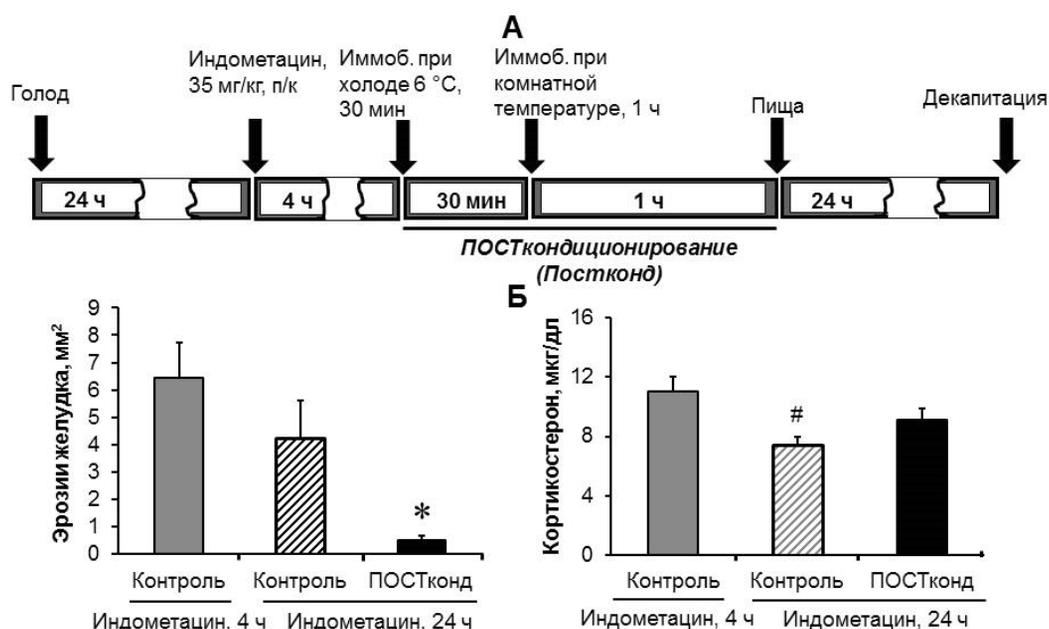


Рис. 3. Влияние стрессорного посткондиционирования (30-мин иммобилизация при температуре 6 °С с последующей 1-ч иммобилизацией при комнатной температуре) на заживление эрозий в слизистой оболочке желудка и уровень кортикостерона в крови у крыс через 24 ч после образования эрозий (образование эрозий — через четыре часа после введения индометацина). (А) — схема эксперимента, (Б) — результаты. * — статистически значимые различия от контрольных групп (индометацин четыре часа и индометацин 24 ч) ($p < 0,05$); # — статистически значимые различия от контроля (индометацин четыре часа) ($p < 0,05$). Количество случаев $n = 12-18$

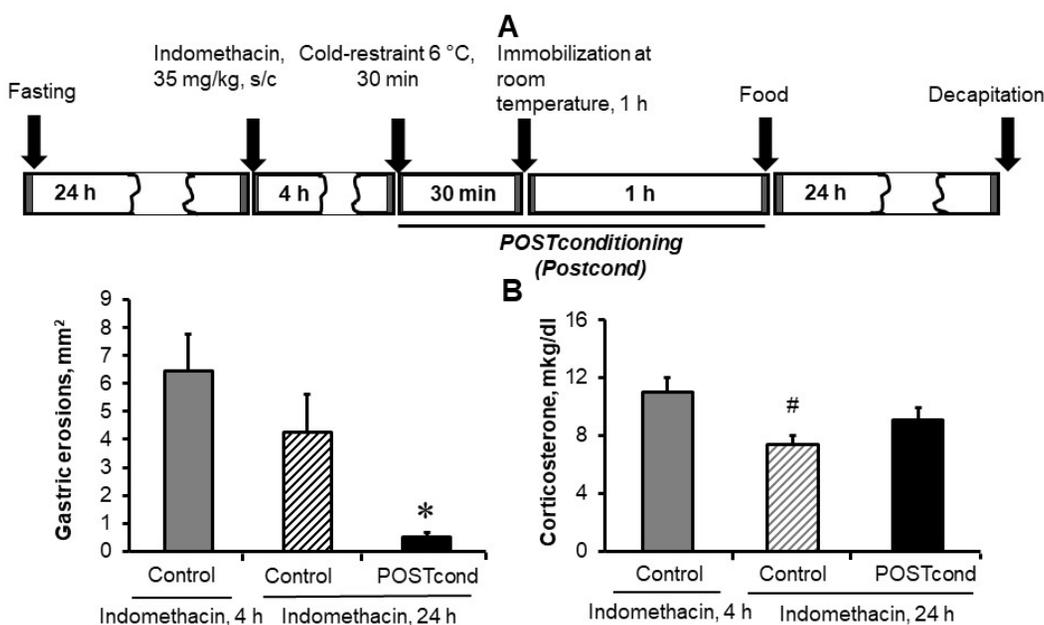


Fig. 3. The effect of stress postconditioning (30-min immobilization at T 6 °C followed by 1-h immobilization at room temperature) on the healing of gastric erosions and on plasma corticosterone levels 24 hours after the development of erosions (erosions developed 4 hours after indomethacin administration). (A)—experimental design, (B)—results. *—statistically significant differences from all groups ($p < 0.05$); #—statistically significant differences from control (indomethacin 4 hours and 24 hours) ($p < 0.05$). Number of cases $n = 12-18$

оно предъявляется (пре- или посткондиционирование), представляется весьма интересным. Можно предположить, почему эффективным оказалось стрессорное воздействие в режиме посткондиционирования. Одно из возможных объяснений — стрессорное посткондиционирование предъявляли уже на фоне дефицита продукции простагландинов, индуцированного действием индометацина, и в этих условиях роль глюкокортикоидных гормонов, продуцирующихся в ответ на стрессорное посткондиционирование, становится чрезвычайно важной. Проверка этого предположения — задача для дальнейших исследований.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The author declares that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Все процедуры, выполненные в исследовании, соответствовали этическим стандартам, утверж-

денным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям этической комиссии Института физиологии им. И. П. Павлова РАН.

Ethics Approval

All procedures performed in the study complied with the ethical standards approved by the Russian legislation, the principles of the Basel Declaration and the recommendations of the Ethical Commission of the Pavlov Institute of Physiology RAS.

Благодарности

Автор выражает благодарность Людмиле Павловне Филаретовой за помощь в подготовке рукописи.

Acknowledgements

The author would like to extend her gratitude to Lyudmila P. Filaretova for her assistance in preparing the manuscript.

References

- Bagaeva, T. R., Bobryshev, P. Yu., Komkova, O. P., Filaretova, L. P. (2012) Rol' glyukokortikoidnykh gormonov i kapsaitsin-chuvstvitel'nykh nejronov v gastroprotektivnom effekte ishemicheskogo pre Konditsionirovaniya [Role of glucocorticoids and capsaicin-sensitive neurons in gastroprotective effect of ischemic preconditioning]. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 98, no. 10, pp. 1242–1249. (In Russian)
- Barsukevich, V., Basalay, M., Sanchez, J. et al. (2015) Distinct cardioprotective mechanisms of immediate, early and delayed ischaemic postconditioning. *Basic Research in Cardiology*, vol. 110, no. 1, article 452. <https://doi.org/10.1007/s00395-014-0452-7> (In English)
- Bobryshev, P., Bagaeva, T., Filaretova, L. (2009) Ischemic preconditioning attenuates gastric ischemia-reperfusion injury through involvement of glucocorticoids. *Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 60, suppl. 7, pp. 155–160. PMID: 20388959 (In English)
- Bobryshev, P. Yu., Bagaeva, T. R., Filaretova, L. P. (2010) Vklad glyukokortikoidnykh gormonov v gastroprotektivnyj effekt ishemicheskogo pre Konditsionirovaniya u krysa v norme i pri defitsite prostaglandinov [Contribution of glucocorticoid hormones to gastroprotective effect of ischemic preconditioning in rats with normal and deficient prostaglandin production]. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 96, no. 6, pp. 609–620. (In Russian)
- Brzozowski, T., Konturek, P. C., Konturek, S. J. et al. (2000) Expression of cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 in adaptive cytoprotection induced by mild stress. *Journal of Physiology—Paris*, vol. 94, no. 2, pp. 83–91. [https://doi.org/10.1016/S0928-4257\(00\)00145-5](https://doi.org/10.1016/S0928-4257(00)00145-5) (In English)
- Brzozowski, T., Konturek, P. C., Konturek, S. J. et al. (2004) Ischemic preconditioning of remote organs attenuates gastric ischemia-reperfusion injury through involvement of prostaglandins and sensory nerves. *European Journal of Pharmacology*, vol. 499, no. 1-2, pp. 201–213. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.07.072> (In English)
- Cheng, X., Li, H., Yan, Z. et al. (2022) Ischemic limb preconditioning-induced anti-arrhythmic effect in reperfusion-induced myocardial injury: Is it mediated by the RISK or SAFE pathway? *Pflügers Archiv—European Journal of Physiology*, vol. 474, no. 9, pp. 979–991. <https://doi.org/10.1007/s00424-022-02716-5> (In English)
- Filaretova, L. (2017) Gastroprotective effect of stress preconditioning: Involvement of glucocorticoids. *Current Pharmaceutical Design*, vol. 23, no. 27, pp. 3923–3927. <https://doi.org/10.2174/1381612823666170215145125> (In English)
- Filaretova, L. P., Bagaeva, T. R., Amagase, K., Takeuchi, K. (2008) Contribution of glucocorticoids to protective influence of preconditioning mild stress against stress-induced gastric erosions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1148, no. 1, pp. 209–212. <https://doi.org/10.1196/annals.1410.005> (In English)

- Filaretova, L. P., Bagaeva, T. R., Morozova, O. Yu., Zelena, D. (2011) The healing of NSAID-induced gastric lesion may be followed by small intestinal and cardiovascular side effects. *Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 62, no. 6, pp. 619–625. PMID: [22314564](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22314564/) (In English)
- Filaretova, L., Bobryshev, P., Bagaeva, T. et al. (2007) Compensatory gastroprotective role of glucocorticoid hormones during inhibition of prostaglandin and nitric oxide production and desensitization of capsaicin-sensitive sensory neurons. *Inflammopharmacology*, vol. 15, no. 4, pp. 146–53. <https://doi.org/10.1007/s10787-007-1589-x> (In English)
- Filaretova, L., Komkova, O., Sudalina, M., Yarushkina, N. (2021) Non-invasive remote ischemic preconditioning may protect the gastric mucosa against ischemia-reperfusion-induced injury through involvement of glucocorticoids. *Frontiers in Pharmacology*, vol. 12, article 682643. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.682643> (In English)
- Filaretova, L., Maltcev, N., Bogdanov, A., Levkovich, Yu. (1999) Role of gastric microcirculation in the gastroprotection by glucocorticoids released during water-restraint stress in rats. *Chinese Journal of Physiology*, vol. 42, no. 3, pp. 145–152. PMID: [10707888](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10707888/) (In English)
- Filaretova, L., Podvigina, T., Bagaeva, T., Makara, G. (2001) Gastroprotective action of glucocorticoids during the formation and the healing of indomethacin-induced gastric erosions in rats. *Journal of Physiology—Paris*, vol. 95, no. 1-6, pp. 201–208. [https://doi.org/10.1016/S0928-4257\(01\)00026-2](https://doi.org/10.1016/S0928-4257(01)00026-2) (In English)
- Garcia-Dorado, D., Vinten-Johansen, J., Michael Piper, H. (2006) Bringing preconditioning and postconditioning into focus. *Cardiovascular Research*, vol. 70, no. 2, pp. 167–169. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.03.009> (In English)
- Heusch, G. (2015) Treatment of myocardial ischemia/reperfusion injury by ischemic and pharmacological postconditioning. *Comprehensive Physiology*, vol. 5, no. 3, pp. 1123–1145. <https://doi.org/10.1002/cphy.c140075> (In English)
- Khaliulin, I., Ascione, R., Maslov, L. N. et al. (2021) Preconditioning or postconditioning with 8-Br-cAMP-AM protects the heart against regional ischemia and reperfusion: A role for mitochondrial permeability transition. *Cells*, vol. 10, no. 5, article 1223. <https://doi.org/10.3390/cells10051223> (In English)
- Laine, L., Takeuchi, K., Tarnawski, A. (2008) Gastric mucosal defense and cytoprotection: Bench to bedside. *Gastroenterology*, vol. 135, no. 1, pp. 41–60. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.05.030> (In English)
- Morozova, O. Yu. (2021) Nesteroidnye protivovospalitel'nye preparaty: povrezhdayushchee dejstvie na slizistuyu obolochku zheludka i sposoby zashchity ot ikh ul'tserogennogo vliyaniya [Non-steroidal anti-inflammatory drugs: Deleterious effect on the gastric mucosa and protection against ulcerogenic effects]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 2, no. 4, pp. 390–398. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-390-398> (In Russian)
- Song, X., Zhang, N., Xu, H. et al. (2012) Combined preconditioning and postconditioning provides synergistic protection against liver ischemic reperfusion injury. *International Journal of Biological Sciences*, vol. 8, no. 5, pp. 707–718. <https://doi.org/10.7150/ijbs.4231> (In English)
- Staat, P., Rioufol, G., Piot, C. et al. (2005) Postconditioning the human heart. *Circulation*, vol. 112, no. 14, pp. 2143–2148. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.558122> (In English)
- Taha, M. O., Miranda-Ferreira, R., Chang, A. C. et al. (2012) Effect of ischemic preconditioning on injuries caused by ischemia and reperfusion in rat intestine. *Transplantation Proceedings*, vol. 44, no. 8, pp. 2304–2308. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2012.07.056> (In English)
- Tanaka, A., Hatazawa, R., Takahira, Y. et al. (2007) Preconditioning stress prevents cold restraint stress-induced gastric lesions in rats: Roles of COX-1, COX-2, and PLA2. *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 52, no. 2, pp. 478–487. <https://doi.org/10.1007/s10620-006-9394-8> (In English)
- Tappia, P. S., Shah, A. K., Ramjiawan, B., Dhalla, N. S. (2022) Modification of ischemia/reperfusion-induced alterations in subcellular organelles by ischemic preconditioning. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 7, article 3425. <https://doi.org/10.3390/ijms23073425> (In English)
- Thompson, J. W., Dave, K. R., Young, J. I., Perez-Pinzon, M. A. (2013) Ischemic preconditioning alters the epigenetic profile of the brain from ischemic intolerance to ischemic tolerance. *Neurotherapeutics*, vol. 10, no. 4, pp. 789–797. <https://doi.org/10.1007/s13311-013-0202-9> (In English)
- Uramoto, H., Ohno, T., Ishihara, T. (1990) Gastric mucosal protection induced by restraint and water-immersion stress in rats. *Japanese Journal of Pharmacology*, vol. 54, no. 3, pp. 287–298. <https://doi.org/10.1254/jpp.54.287> (In English)
- Wallace, J. L., Track, N. S., Cohen, M. M. (1983) Chronic mild restraint protects the rat gastric mucosa from injury by ethanol or cold restraint. *Gastroenterology*, vol. 85, no. 2, pp. 370–375. PMID: [6862160](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6862160/) (In English)
- Wang, T., Zhou, Y.-T., Chen, X.-N. et al. (2014) Remote ischemic postconditioning protects against gastric mucosal lesions in rats. *World Journal of Gastroenterology*, vol. 20, no. 28, pp. 9519–9527. <http://doi.org/10.3748/wjg.v20.i28.9519> (In English)
- Yarushkina, N. I., Filaretova, L. P. (2019) Effects of stress preconditioning on vulnerability of gastric and small intestinal mucosa to ulcerogenic action of indomethacin in rats. *Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 70, no. 6, pp. 873–884. <https://doi.org/10.26402/jpp.2019.6.06> (In English)



УДК 57.023

EDN DHDXDJ

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-500-507>

Дисфункция артерий и сосудов микроциркуляторного русла у крыс при метаболическом синдроме, вызванном диетой с высоким содержанием фруктозы

И. А. Царева^{✉1}, Г. Т. Иванова¹, Г. И. Лобов¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторах

Инна Анатольевна Царева, SPIN-код: 7426-6606, ORCID: 0000-0002-4231-0600, e-mail: tsarevaia@infran.ru

Галина Тажимовна Иванова, SPIN-код: 5398-7584, Scopus AuthorID: 57210290363, ResearcherID: ABD-2457-2020, ORCID: 0000-0003-0188-5173, e-mail: ivanovagt@infran.ru

Геннадий Иванович Лобов, SPIN-код: 6436-1404, Scopus AuthorID: 7003862926, Researcher ID: S-8862-2016, ORCID: 0000-0003-3088-4647, e-mail: lobovgi@infran.ru

Для цитирования: Царева, И. А., Иванова, Г. Т., Лобов, Г. И. (2022) Дисфункция артерий и сосудов микроциркуляторного русла у крыс при метаболическом синдроме, вызванном диетой с высоким содержанием фруктозы. *Интегративная физиология*, т. 3, № 4, с. 500–507. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-500-507> EDN DHDXDJ

Получена 29 августа 2022; прошла рецензирование 13 сентября 2022; принята 15 сентября 2022.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке Программы «Фундаментальные научные исследования для долгосрочного развития и обеспечения конкурентоспособности общества и государства» (47_110_ДРиОК, раздел 64.1).

Права: © И. А. Царева, Г. Т. Иванова, Г. И. Лобов (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. Мы изучили начальные изменения функционального состояния артерий и сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) у молодых крыс Wistar при моделировании метаболического синдрома применением фруктозной нагрузки. У экспериментальной группы были выявлены признаки метаболического синдрома: гипергликемия, инсулинорезистентность, дислипидемия, повышение активности симпатической нервной системы и артериальная гипертензия. Выявлены изменения со стороны брыжеечных артерий: повышение реактивности на фенилэфрин и ослабление ацетилхолин-индуцированной дилатации, что объясняется снижением продукции эндотелием NO. Но данное снижение в определенной степени компенсируется повышением производства эндотелиального гиперполяризующего фактора, реализующего свой эффект через активацию Ca²⁺-чувствительных K⁺-каналов промежуточной проводимости. Изменения в гладкомышечных клетках артерий крыс, вызванные фруктозной нагрузкой, заключались в ингибировании растворимой гуанилатциклазы. Используя метод лазерной доплеровской флоуметрии, нами проанализировано состояние сосудов МЦР кожи крыс. У особей, получавших фруктозную нагрузку, перфузия сохранялась на уровне, характерном для крыс контрольной группы, отмечено повышение нейрогенного тонуса и ослабление эндотелийзависимого тонуса микрососудов кожи. Показано также уменьшение продукции NO в сосудах МЦР, которое компенсируется производством эндотелием других вазодилатирующих факторов.

Ключевые слова: метаболический синдром, лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ), оксид азота, эндотелиальная дисфункция, фруктозная нагрузка

Dysfunction of arteries and microcirculatory vessels in rats with metabolic syndrome caused by a diet high in fructose

I. A. Tsareva^{✉1}, G. T. Ivanova¹, G. I. Lobov¹

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Authors

Inna A. Tsareva, SPIN: 7426-6606, ORCID: 0000-0002-4231-0600, e-mail: tsarevaia@infran.ru

Galina T. Ivanova, SPIN: 5398-7584, Scopus AuthorID: 57210290363, ResearcherID: ABD-2457-2020, ORCID: 0000-0003-0188-5173, e-mail: ivanovagt@infran.ru

Gennady I. Lobov, SPIN: 6436-1404, Scopus AuthorID: 7003862926, Researcher ID: S-8862-2016, ORCID: 0000-0003-3088-4647, e-mail: lobovgi@infran.ru

For citation: Tsareva, I. A., Ivanova, G. T., Lobov, G. I. (2022) Dysfunction of arteries and microcirculatory vessels in rats with metabolic syndrome caused by a diet high in fructose. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 4, pp. 500–507. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-4-500-507> EDN DHDXDJ

Received 29 August 2022; reviewed 13 September 2022; accepted 15 September 2022.

Funding: The study was supported by the Program “Basic Scientific Research for Long-Term Development and Competitiveness of State and Society” (47_110_DRiOK, section 64.1).

Copyright: © I. A. Tsareva, G. T. Ivanova, G. I. Lobov (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Abstract. We studied the initial changes in the cardiovascular system of young Wistar rats when modeling the metabolic syndrome using fructose load. The experimental group showed signs of metabolic syndrome: hyperglycemia, insulin resistance, dyslipidemia, increased activity of the sympathetic nervous system, and arterial hypertension. Changes in the mesenteric arteries were revealed: an increase in reactivity to phenylephrine and a weakening of acetylcholine-induced dilatation, which is explained by a decrease in endothelial NO production. This was compensated to some extent by increased production of endothelial hyperpolarizing factor, which realizes its effect through the activation of Ca²⁺-sensitive K⁺-channels of intermediate conduction. Arterial smooth muscle cells in rats showed changes induced by fructose load: inhibition of soluble guanylate cyclase. In the MCR skin of rats that received fructose load, perfusion remained at the level characteristic of rats in the control group, while an increase in neurogenic tone and a weakening of the endothelium-dependent tone of skin microvessels was found. A decrease in NO production in the MCR vessels was also shown, which is compensated by the production of other vasodilating factors by the endothelium.

Keywords: metabolic syndrome, laser Doppler flowmetry (LDF), nitric oxide, endothelial dysfunction, fructose load

Введение

В настоящее время метаболический синдром (МС) представляет собой серьезную проблему для мирового здравоохранения. Данный недуг поразил уже более миллиарда человек во всем мире. МС определяется как патологическое состояние, включающее наличие абдоминального ожирения, резистентности к инсулину (ИР), гипертонии, гиперлипидемии и других метаболических нарушений, которые рассматриваются как факторы сердечно-сосудистого риска и приводят к развитию сахарного диабета 2 типа (СД2) (Rodríguez-Correa et al. 2020). Ядром синдрома являются четыре фактора риска: резистентность к инсулину (ИР), артериальная гипертензия, висцеральное ожирение и дислипидемия (Bovolini et al. 2021).

В современном обществе это состояние представляет собой основную причину заболеваемости и смертности как в развитых, так и в развивающихся странах, оказывая огромное влияние на их экономику (Rodríguez-Correa et al. 2020). В России распространенность МС высокая и составляет в различных городах среди населения в возрасте от 25 до 74 лет от 35,3% до 53,1% (при использовании трех вариантов критериев МС) (Rotar et al. 2012).

Способы определения МС у детей и подростков остаются спорными, но исследования в этой области демонстрируют, что МС серьезно затронул и эту когорту населения. Одна из причин — повышение потребления детьми и подростками высококалорийной пищи с фруктозой, которая приводит к развитию у них МС.

Распространенность МС у детей в США составляет до 9,8%, у подростков — до 6,3% (DeBoer 2019; Lee et al. 2016).

У детей часто не все компоненты метаболического синдрома встречаются одновременно. Наиболее ранними проявлениями метаболического синдрома являются дислипидемия и артериальная гипертензия (Lee et al. 2016).

Исследование метаболизма фруктозы выявило преимущество фруктозной диеты в индукции метаболического синдрома на животных моделях по сравнению с глюкозой или крахмалом. Существует высокая корреляция между хроническим высоким потреблением фруктозы с повышенным потреблением энергии, массой тела, ожирением, гипертриглицеридемией, гиперлипидемией, АГ и снижением чувствительности к инсулину у лабораторных животных, приводящих к метаболическому синдрому (Johnson et al. 2007; Koo et al. 2008).

Целью настоящей работы было исследование ранних функциональных изменений в артериях и сосудах микроциркуляторного русла молодых крыс при моделировании МС с использованием фруктозной нагрузки.

Материалы и методы

Работа проведена на животных из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем» (Санкт-Петербург). 26 самцов крыс линии Wistar в возрасте четырех недель были разделены случайным образом на две группы: 15 особей получали 20% фруктозную нагрузку в питьевой воде на протяжении 16 недель (крысы high-fructose diet (HFrD); 11 особей — контрольная группа, получали обычную питьевую воду. Обе группы крыс имели свободный доступ к пище и воде (раствору фруктозы). Животных содержали в одинаковых условиях: по пять крыс в стандартной клетке при температуре в помещении 20–22°C и световом режиме 12 ч свет/12 ч темнота. На протяжении 16 недель четырежды (один раз в месяц), с помощью глюкометра измеряли уровень глюкозы в плазме натошак.

На протяжении всего исследования один раз в месяц у крыс измеряли артериальное давление (АД), используя манжеточный метод (на хвосте). Для этого использовали систему неинвазивного измерения кровяного давления у грызунов «Систола» («Нейроботикс», Москва). АД измеряли три раза для каждой особи и рассчитывали среднее значение измерений.

Один раз в месяц осуществляли забор крови для определения уровня гликемии натошак у экспериментальной и контрольной групп. Данную манипуляцию проводили под местной анестезией, (крем EMLA; 2,5% лидокаин, 2,5% прилокаин, Швеция). У животного надрезали скальпелем кончик хвоста и каплю крови помещали на тестовую полоску глюкометра Accu Chek Active (Германия) и считывали результат.

На 16 неделе исследования проводили тесты на толерантность к глюкозе (ГТТ) и инсулинорезистентность (ИР).

В конце 16 недели производили оценку кровотока в микроциркуляторном русле кожи методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с помощью анализатора лазерной микроциркуляции крови «ЛАЗМА ПФ» (НПП «Лазма», Россия). ЛДФ регистрировали в три этапа, каждый продолжительностью по восемь минут: в исходном состоянии, после 2-минутного ионофореза ацетилхолина с помощью прибора для гальванизации и лекарственного ионофореза, после 2-минутного введения нитропрусида натрия. В результате данного исследования были зарегистрированы: показатель микроциркуляции (ПМ), максимальные значения колебаний перфузии в эндотелиальном (Аэ), нейрогенном (Ан) и миогенном (Ам) диапазонах и среднее квадратическое отклонение. Затем рассчитывали эндотелиальный, нейрогенный и миогенный компоненты сосудистого тонуса, которые характеризуют активные механизмы контроля микрогемодинамики.

На следующем этапе исследования *in vivo* оценивали реактивность артерий брыжейки. Крыс наркотизировали раствором Zoletil 100 (Vibras, Франция) из расчета тилетамин/золазепам — 10 мг/кг веса крысы, с предварительной премедикацией раствором Рометара (Bioveta, Чешская Республика) из расчета ксилазин — 5 мг/кг веса крысы. У наркотизированной крысы через разрез брюшной стенки выводили петлю тонкого кишечника и помещали ее в специальный желоб в термостатируемой камере с протекающим физиологическим солевым раствором (PSS) следующего состава (ммоль/л): NaCl — 120,4; KCl — 5,9; CaCl₂ — 2,5; MgCl₂ — 1,2; NaH₂PO₄ — 1,2; NaHCO₃ — 15,5; глюкоза — 11,5. PSS сатурировали газовой смесью, состоящей из 95% O₂ и 5% CO₂. Температуру в камере поддерживали на уровне +37±0,1 °C. Исходный диаметр артерий, выбранных для исследования, составлял 160–330 мкм (второй/третий порядок ветвления от верхней брыжеечной артерии).

В процессе исследования оценивали исходный диаметр артерий, затем осуществляли предконтрактирование посредством введения в омывающий раствор фенилэфрина (ФЭ). Через две минуты воздействия ФЭ приводил к максимальной вазоконстрикции, и далее вновь оценивали диаметр артерий, затем в камеру добавляли ацетилхолин (АХ) и вновь измеряли диаметр сосудов. В последующем вводили L-NAME — неселективный ингибитор NO-синтазы, или TRAM-34, или ODQ (NO-sGC-cGMP). Через 15 минут добавляли ФЭ и на фоне максимальной вазоконстрикции вводили АХ. Амплитуду дилатации на АХ и нитропруссид натрия (НП) выражали в % от амплитуды констрикции сосуда на ФЭ.

По завершении всех этапов исследования крыс декапитировали, осуществляли забор крови для определения липидного профиля плазмы (триглицериды (ТГ), холестерин общий (ХС), холестерин-ЛПНП и холестерин-ЛПВП). Биохимический анализ был выполнен на анализаторе ARCHITECT c8000 (США).

При статистической обработке результатов использовали программу Statistica v.12. Полученные данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Для сравнения двух выборок с нормальным

распределением использовали t-критерий Стьюдента. В случае распределения вариант в выборке, отличным от нормального, при сравнении двух независимых групп применяли U-критерий Манна — Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

На рисунке 1 представлены графики, иллюстрирующие динамику изменения концентрации глюкозы в крови крыс HFrD и крыс контрольной групп. Значимое увеличение уровня глюкозы произошло к восьмой неделе фруктозной диеты, и далее уровень глюкозы непрерывно повышался.

На рисунке 2 представлены графики, иллюстрирующие данные, полученные в ходе проведения ГТТ и теста на ИР. Анализ графиков показывает, что толерантность к глюкозе у крыс HFrD снижена по сравнению с крысами контрольной группы (рис. 2, а). Максимальную разницу в концентрации глюкозы в крови наблюдали в первые 15–30 минут после введения глюкозы. Тест на инсулинорезистентность продемонстрировал повышение резистентности к инсулину у крыс HFrD (рис. 2, б).

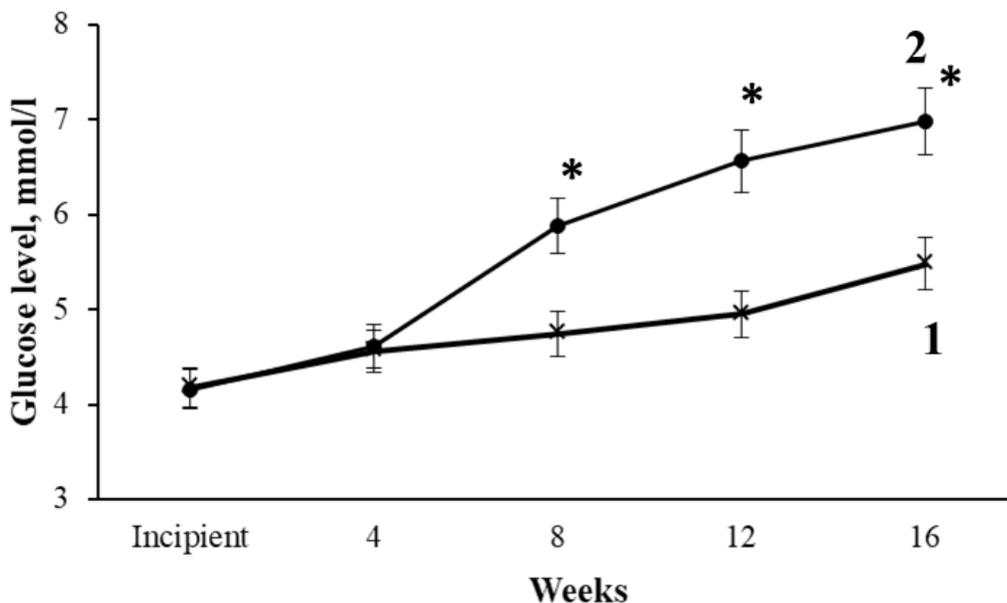


Рис. 1. Концентрация глюкозы в крови крыс, получавших фруктозу (2) и крыс контрольной группы (1) на протяжении 16 недель. * — различия достоверны, $p < 0,05$

Fig. 1. Blood glucose concentration in fructose-treated rats (2) and control rats (1) during 16 weeks. *—differences are significant, $p < 0.05$

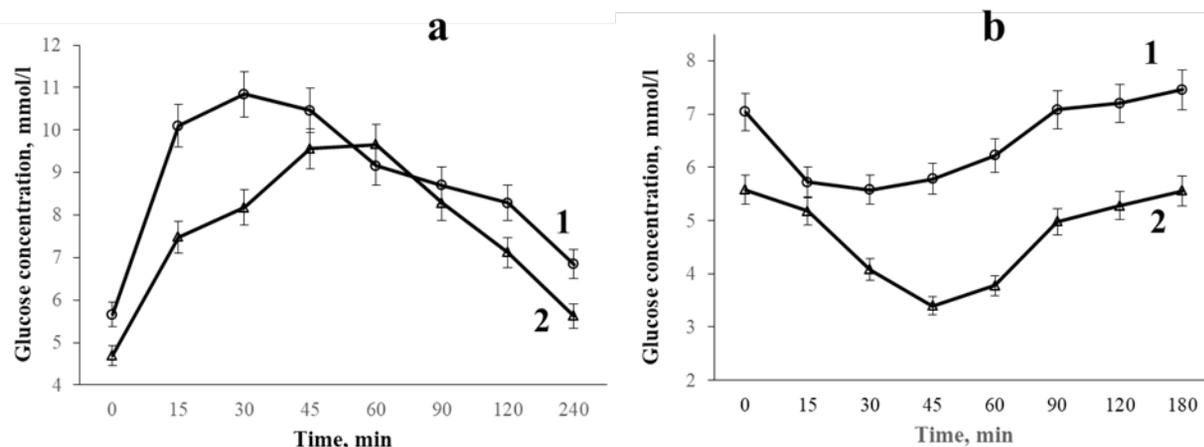


Рис. 2. Тесты на гликемию: а — глюкозотолерантный тест, б — тест на резистентность к инсулину. 1 — график, отражающий динамику концентрации глюкозы в крови крыс, получавших фруктозу, 2 — график, отражающий динамику концентрации глюкозы в крови крыс контрольной группы.

Fig. 2. Glycemia tests: a—glucose-tolerant test, b—insulin resistance test. Graph 1 shows the dynamics of glucose concentration in the blood of fructose-treated rats. Graph 2 shows the dynamics of glucose concentration in the blood of control rats.

Изучив реакции брыжеечных артерий крыс на АХ и НП, необходимо отметить различия в реакциях артерий на ФЭ: средняя амплитуда ФЭ-индуцированного уменьшения диаметра артерий у крыс HFrD составляла $136,4 \pm 8,7\%$ (уменьшение диаметра артерий крыс контрольной группы было принято за 100%). Амплитуда дилатации предконтрактированных артерий на АХ в двух группах крыс была разной: у крыс HFrD она составила $57,3 \pm 4,2\%$ от ФЭ-индуцированного сокращения, а в контрольной группе — $71,6 \pm 5,5\%$. Также отличались и реакции артерий на НП: амплитуда дилатации предконтрактированных артерий крыс HFrD составила $47,4 \pm 2,9\%$, а артерий крыс контрольной группы — $63,2 \pm 3,4\%$.

С целью оценки роли NO в дилатации брыжеечных артерий была проведена серия экспериментов с ингибированием эндотелиальной NO-синтазы. Мы использовали ингибитор NO-синтаз L-NAME. На фоне действия L-NAME амплитуда АХ-индуцированной дилатации брыжеечных артерий значительно уменьшилась: в артериях крыс HFrD дилатация уменьшилась на 36%, а в артериях крыс контрольной группы — на 56%.

С целью изучения роли растворимой гуанилатциклазы гладкомышечных клеток (ГМК) в АХ-индуцированной дилатации артерий мы ингибировали этот фермент посредством добавления в раствор ODQ. На фоне ингибирования

растворимой гуанилатциклазы эффект АХ значительно уменьшился (дилатация брыжеечных артерий крыс HFrD составила $21,6 \pm 1,7\%$, а артерий крыс контрольной группы — $11,3 \pm 1,1\%$). Применение блокатора Ca^{2+} -чувствительных K^+ -каналов TRAM-34 также привело к уменьшению амплитуды АХ-индуцированной дилатации брыжеечных артерий, при этом в артериях крыс HFrD ингибиторный эффект TRAM-34 был более выражен.

Как было отмечено во введении, МС представляет собой сложный симптомокомплекс метаболических нарушений, как правило, сопровождающихся артериальной гипертензией, приводящей к тяжелым сердечно-сосудистым заболеваниям (Rotar et al. 2012; Saklayen 2018). МС широко распространен среди взрослого населения, а в последние десятилетия все чаще выявляется у детей и подростков (Lee et al. 2016). Однако развитие МС у детей и подростков остается спорным вопросом, несмотря на обширные исследования в этой области (Serbis et al. 2020). Именно по этой причине в нашем исследовании моделирование МС было начато на крысах в 4-недельном возрасте. Необходимо отметить, что «идеальной модели» для индуцирования МС не существует. Требования к моделям предусматривают, что они должны быть воспроизводимыми и надежными (Moreno-Fernández et al. 2018). Крысы Wistar в достаточной степени соответствуют этим требованиям

(Estadella et al. 2004). Мы остановились на диете с 20% содержанием фруктозы в питьевой воде. Фруктоза оказывает выраженное влияние на метаболизм и важна при моделировании МС, поскольку приводит не только к гипергликемии, но и индуцирует ИР и резистентность к лептину (Sheludiakova et al. 2012).

Через четыре недели фруктозной нагрузки концентрация глюкозы в крови крыс достоверно повысилась и держалась повышенной на протяжении всего эксперимента (рис. 1). Были выявлены и другие признаки нарушения углеводного обмена: повышенный уровень глюкозы в крови при проведении ГТТ и теста на ИР (рис. 2). Наряду с этими изменениями метаболизма была зарегистрирована выраженная дислипидемия. Со стороны сердечно-сосудистой системы (ССС) изменения заключались в достоверном повышении систолического и диастолического давления.

Таким образом, несмотря на то, что вес крыс HFrD был меньше по сравнению с крысами контрольной группы, гипергликемия, дислипидемия и артериальная гипертензия являются проявлениями МС. Отсутствие ожирения при моделировании МС у крыс встречается довольно часто, диетические вмешательства вызывают только отдельные симптомы МС (Bertram et al. 2001), например, у крыс Sprague Dawley при фруктозной диете развивается ИР, гиперинсулинемия и гипертензия, а вес изменяется незначительно (Oron-Herman et al. 2008). Также у детей и подростков не всегда гиперинсулинемия и ИР связаны с количеством жировой ткани (Litwin et al. 2021).

В нашей работе особое внимание было уделено изменениям в ССС, развивающимся при моделировании МС. Как уже отмечалось, у крыс HFrD достоверно повышались систолическое и диастолическое АД. Известно, что ИР, характерная для МС, приводит к активации симпатической нервной системы, это важнейший механизм повышения АД (da Silva et al. 2020). Гипертриглицеридемия, выявленная в нашем исследовании у крыс HFrD, также является важным фактором сердечно-сосудистого риска и еще одним механизмом развития АГ (Hert et al. 2014). Одновременно с этими изменениями при МС выявляется эндотелиальная дисфункция (Tziomalos et al. 2010), выражающаяся, в частности, в снижении продукции эндотелиоцитами вазодилататоров. Неповрежденный эндотелий продуцирует вазодилатирующие факторы: NO, простаглицлин и эндотелиальный гиперполярирующий фактор, тем самым обеспечивая баланс между вазодилатацией и вазоконстрикцией,

которые определяют диаметр артерий и, следовательно, АД (Spieker et al. 2000).

Исследование брыжеечных артерий крыс обеих групп позволило выявить определенные функциональные изменения в артериях крыс HFrD. В частности, констрикция артерий крыс HFrD на фенилэфрин была значительно большей по сравнению с артериями крыс контрольной группы, что, по-видимому, является проявлением повышенной симпатической активации и повышения экспрессии $\alpha 1$ -адренорецепторов на мембране ГМК артерий, характерной для АГ (Clements et al. 1997).

Также было установлено снижение амплитуды АХ- и НП-индуцированной дилатации брыжеечных артерий крыс HFrD (на 14 и 16%, соответственно). Известно, что неповрежденный эндотелий продуцирует вазодилатирующие факторы, тем самым обеспечивая баланс между вазодилатацией и вазоконстрикцией, которые определяют диаметр артерий и, следовательно, АД (Félétou et al. 2012).

Изучение вазодилатирующего влияния НП на брыжеечные артерии крыс продемонстрировало различия в величине НП-опосредованной дилатации в двух группах, амплитуда дилатации артерий крыс HFrD была достоверно меньше. Наблюдалось снижение амплитуды дилатации в артериях крыс контрольной группы на 60%, а в артериях крыс HFrD — 36% ($p < 0,05$). Полученные данные позволяют заключить, что в ГМК брыжеечных артерий крыс HFrD наблюдается ингибирование растворимой гуанилатциклазы, что приводит к ослаблению NO-опосредованной дилатации.

Исследование состояния сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) кожи крыс HFrD, проведенное методом ЛДФ, показало незначительное уменьшение перфузии кожи по сравнению с крысами контрольной группы. В микрососудах кожи крыс HFrD было зарегистрировано увеличение НТ, что является подтверждением повышения у них симпатической активности.

Заключение

Нами изучены начальные изменения в сердечно-сосудистой системе молодых крыс при моделировании МС с применением фруктозной нагрузки. Отмечено некоторое снижение веса у крыс, находившихся на фруктозной диете, по сравнению с крысами контрольной группы, и у этих животных были выявлены признаки МС: гипергликемия, ИР, дислипидемия, повышение активности симпатической нервной

системы и АГ. Выявленные изменения со стороны брыжеечных артерий заключались в повышении реактивности на ФЭ и ослаблении АХ-индуцированной дилатации, что объясняется снижением продукции эндотелием NO. При этом было установлено, что в этих артериях повышается продукция эндотелиального гиперполяризующего фактора, компенсирующего в определенной степени дефицит NO. Изменения в ГМК артерий заключались в ослаблении эффективности NO-опосредованной сигнализации: было выявлено ингибирование растворимой гуанилатциклазы. В МЦР кожи крыс, получавших фруктозную нагрузку, перфузия сохранялась на уровне, характерном для крыс контрольной группы, но при этом было обнаружено повышение нейрогенного тонуса и ослабление эндотелийзависимого тонуса микрососудов кожи. Отмечено уменьшение продукции NO в сосудах МЦР, которое компенсируется производством эндотелием других вазодилатирующих факторов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Все манипуляции с животными соответствовали этическим стандартам, утвержденным

правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации. Протокол исследований одобрен этической комиссией Института физиологии им. И. П. Павлова РАН.

Ethics Approval

All manipulations with animals complied with ethical standards approved by the Russian legislation and the principles of the Basel Declaration. The research protocol was approved by the Ethical Commission of the I.P. Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences.

Вклад авторов

- a. Царева Инна Анатольевна — обзор литературы, проведение исследования, анализ данных;
- b. Иванова Галина Тажимовна — обзор литературы, проведение исследования, анализ данных;
- c. Лобов Геннадий Иванович — идея работы и планирование эксперимента, редактирование рукописи.

Author Contributions

- a. Inna A. Tsareva screened the literature, conducted the study, analyzed the data;
- b. Galina T. Ivanova screened the literature, conducted the study, analyzed the data;
- c. Gennady I. Lobov developed the research concept, planned the experiment, edited the manuscript.

References

- Bertram, C. E., Hanson, M. A. (2001) Animal models and programming of the metabolic syndrome. *British Medical Bulletin*, vol. 60, no. 1, pp. 103–121. <https://doi.org/10.1093/bmb/60.1.103> (In English)
- Bovolini, A., Garcia, J., Andrade, M. A. et al. (2021) Metabolic syndrome pathophysiology and predisposing factors. *International Journal of Sports Medicine*, vol. 42, no. 3, pp. 199–214. <https://doi.org/10.1055/a-1263-0898> (In English)
- Clements, M. L., Banes, A. J., Faber, J. E. (1997) Effect of mechanical loading on vascular α_{1D} - and α_{1B} -adrenergic receptor expression. *Hypertension*, vol. 29, no. 5, pp. 1156–1164. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.29.5.1156> (In English)
- Da Silva, A. A., do Carmo, J. M., Li, X. (2020) Role of Hyperinsulinemia and insulin resistance in hypertension: Metabolic syndrome revisited. *Canadian Journal of Cardiology*, vol. 36, no. 5, pp. 671–682. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.02.066> (In English)
- DeBoer, M. D. (2019) Assessing and managing the metabolic syndrome in children and adolescents. *Nutrients*, vol. 11, no. 8, article 1788. <https://doi.org/10.3390/nu11081788> (In English)
- Estadella, D., Oyama, L. M., Dâmaso, A. R. et al. (2004) Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition*, vol. 20, no. 2, pp. 218–224. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2003.10.008> (In English)
- Féletou, M., Köhler, R., Vanhoutte, P. M. (2012) Nitric oxide: Orchestrator of endothelium-dependent responses. *Annals of Medicine*, vol. 44, no. 7, pp. 694–716. <https://doi.org/10.3109/07853890.2011.585658> (In English)

- Hert, K. A., Fisk, P. S., Rhee, Y. S., Brunt, A. R. (2014) Decreased consumption of sugar-sweetened beverages improved selected biomarkers of chronic disease risk among US adults: 1999 to 2010. *Nutrition Research*, vol. 34, no. 1, pp. 58–65. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2013.10.005> (In English)
- Johnson, R. J., Segal, M. S., Sautin, Y. et al. (2007) Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 86, no. 4, pp. 899–906. PMID: 17921363 (In English)
- Koo, H.-Y., Wallig, M. A., Chung, B. H. et al. (2008) Dietary fructose induces a wide range of genes with distinct shift in carbohydrate and lipid metabolism in fed and fasted rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta—Molecular Basis of Disease*, vol. 1782, no. 5, pp. 341–348. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2008.02.007> (In English)
- Lee, A. M., Gurka, M. J., DeBoer, M. D. (2016) Trends in metabolic syndrome severity and lifestyle factors among adolescents. *Pediatrics*, vol. 137, no. 3, article e20153177. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-3177> (In English)
- Litwin, M., Kułaga, Z. (2021) Obesity, metabolic syndrome, and primary hypertension. *Pediatric Nephrology*, vol. 36, no. 4, pp. 825–837. <https://doi.org/10.1007/s00467-020-04579-3> (In English)
- Moreno-Fernández, S., Garcés-Rimón, M., Vera, G. et al. (2018) High fat/high glucose diet induces metabolic syndrome in an experimental rat model. *Nutrients*, vol. 10, no. 10, article 1502. <https://doi.org/10.3390/nu10101502> (In English)
- Oron-Herman, M., Kamari, Y., Grossman, E. (2008) Metabolic syndrome: Comparison of the two commonly used animal models. *American Journal of Hypertension*, vol. 21, no. 9, pp. 1018–1022. <https://doi.org/10.1038/ajh.2008.218> (In English)
- Rotar, O. P., Libis, R. A., Isaeva, E. N. et al. (2012) Rasprostranennost' metabolicheskogo sindroma v raznykh gorodakh RF [Metabolic syndrome prevalence in Russian cities]. *Rossiiskij kardiologicheskij zhurnal — Russian Journal of Cardiology*, vol. 17, no. 2, pp. 55–62. (In Russian)
- Rodríguez-Correa, E., González-Pérez, I., Clavel-Pérez, P. I. et al. (2020) Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: What is the best choice? *Nutrition & Diabetes*, vol. 10, no. 1, article 24. <https://doi.org/10.1038/s41387-020-0127-4> (In English)
- Saklayen, M. G. (2018) The global epidemic of the metabolic syndrome. *Current Hypertension Reports*, vol. 20, no. 2, article 12. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z> (In English)
- Serbis, A., Giapros, V., Galli-Tsinopoulou, A. (2020) Metabolic syndrome in children and adolescents: Is there a universally accepted definition? Does it matter? *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, vol. 18, no. 10, pp. 462–470. <https://doi.org/10.1089/met.2020.0076> (In English)
- Sheludiakova, A., Rooney, K., Boakes, R. A. (2012) Metabolic and behavioural effects of sucrose and fructose/glucose drinks in the rat. *European Journal of Nutrition*, vol. 51, no. 4, pp. 445–454. <https://doi.org/10.1007/s00394-011-0228-x> (In English)
- Spieker, L. E., Noll, G., Ruschitzka, F. T. et al. (2000) Working under pressure: The vascular endothelium in arterial hypertension. *Journal of Human Hypertension*, vol. 14, no. 10-11, pp. 617–630. <https://doi.org/10.1038/sj.jhh.1001012> (In English)
- Tziomalos, K., Athyros, V. G., Karagiannis, A. et al. (2010) Endothelial dysfunction in metabolic syndrome: Prevalence, pathogenesis and management. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, vol. 20, no. 2, pp. 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2009.08.006> (In English)

Благодарности

Редакция выражает искреннюю благодарность всем, благодаря чьим усилиям стал возможен выход в свет четырех номеров журнала в 2022 году:

Абрамова Анастасия Юрьевна
Акимов Александр Григорьевич
Александров Александр Алексеевич
Александров Вячеслав Георгиевич
Александрова Нина Павловна
Алексеева Анна Сергеевна
Андреева Лариса Евгеньевна
Анкудинов Александр Витальевич
Астахова Любовь Александровна
Баранова Елизавета Владимировна
Баранова Ксения Александровна
Бажан Надежда Михайловна
Басова Наталия Евгеньевна
Бахтюков Андрей Андреевич
Берлов Дмитрий Николаевич
Благинин Андрей Александрович
Бойцова Юлия Александровна
Бондарева Вера Михайловна
Бубеев Юрий Аркадьевич
Буниатян Марине Арташесовна
Буткевич Ирина Павловна
Быстрова Елена Юрьевна
Бяловский Юрий Юльевич
Васильева Марина Юрьевна
Ведясова Ольга Александровна
Вершинина Елена Андреевна
Виноградова Ольга Леонидовна
Витер Богдан Владимирович
Власова Ольга Леонардовна
Вовенко Евгений Павлович
Воронина Татьяна Александровна
Герасимова-Мейгал Людмила Ивановна
Голубева Инна Юрьевна
Голубкова Елена Валерьевна
Горшкова Оксана Петровна
Громова Людмила Викторовна
Груздков Андрей Андреевич
Дворникова Кристина Алексеевна
Деркач Кира Викторовна
Дик Ольга Евгеньевна
Дмитриева Юлия Владимировна
Донина Жанна Альбертовна
Дыгало Николай Николаевич
Дюжикова Наталья Алековна
Евлахов Вадим Иванович
Егорова Марина Александровна
Екимова Ирина Васильевна
Елсукова Елена Ивановна

Енукашвили Нателла Иосифовна
Жуйкова Светлана Евгеньевна
Жуков Валерий Валентинович
Заломаева Екатерина Сергеевна
Зачепило Татьяна Геннадьевна
Зенько Михаил Юрьевич
Золотарев Василий Авенирович
Иванова Галина Тажимовна
Иванова Полина Николаевна
Иноземцев Анатолий Николаевич
Исакова Карина Витальевна
Камышев Николай Григорьевич
Кокурина Елена Вячеславовна
Кокурина Татьяна Николаевна
Колпакова Мария Эдуардовна
Комиссаров Алексей Сергеевич
Королева Инна Васильевна
Крутецкая Зоя Иринарховна
Крылов Борис Владимирович
Крючкова Алина Викторовна
Лобов Геннадий Иванович
Логинова Надежда Александровна
Лопатина Екатерина Валентиновна
Лопатина Нина Георгиевна
Лосева Елена Владимировна
Лукина Екатерина Алексеевна
Любашина Ольга Анатольевна
Мальшев Алексей Юрьевич
Маслюков Петр Михайлович
Медведев Дмитрий Станиславович
Медведев Святослав Всеволодович
Медведева Анна Владимировна
Михайленко Виктор Анатольевич
Михайлов Евгений Николаевич
Молодцов Владимир Олегович
Морозова Ольга Юрьевна
Мошонкина Татьяна Ромульевна
Муровец Владимир Олегович
Никитин Николай Иванович
Никитина Екатерина Александровна
Николаева Елена Ивановна
Орбели Абгар Леонович
Павлова Марина Борисовна
Панкратова Ирина Викторовна
Пеннийainen Валентина Альбертовна
Пичугин Юрий Александрович
Платонова Ольга Николаевна
Подвигина Дарья Никитична
Подвигина Татьяна Трофимовна
Подзорова Светлана Александровна
Пономарев Валерий Александрович
Попова Елена Вениаминовна
Потехина Анастасия Александровна
Прибышина Алиса Кирилловна

Романов Иван Сергеевич
Ротов Александр Юрьевич
Рощевская Ирина Михайловна
Рыбакова Галина Ивановна
Рыбникова Елена Александровна
Савватеева-Попова Елена Владимировна
Савочкина Елизавета Васильевна
Сайфитдинова Алсу Фаритовна
Саранцева Светлана Владимировна
Саульская Наталья Борисовна
Сафарова Дарья Дилшодовна
Сергеева Мария Сергеевна
Сиваченко Иван Борисович
Силькис Изабелла Гершовна
Смирнитская Ирина Аркадьевна
Смирнова Тамара Андреевна
Солнушкин Сергей Дмитриевич
Стефанов Василий Евгеньевич
Столярова Эльвира Ивановна
Ступин Константин Николаевич
Сурма Сергей Викторович
Тихонравов Дмитрий Леонидович
Туманова Татьяна Сергеевна
Тюлькова Екатерина Иосифовна
Умрюхин Павел Евгеньевич
Филаретова Людмила Павловна
Фирсов Михаил Леонидович
Фоминых Татьяна Аркадьевна
Халисов Максим Миндигалеевич
Хараузов Алексей Кольмарович
Царева Инна Анатольевна
Чалисова Наталья Иосифовна
Чернышёва Марина Павловна
Чиков Александр Евгеньевич
Чихман Валерий Николаевич
Чурилова Анна Викторовна
Шелепин Юрий Евгеньевич
Шептицкий Владимир Александрович
Шпаков Александр Олегович
Щеголев Борис Федорович
Ярушкина Наталья Ильинична
Amagase Kikuko
Chan Julie Y.H.
Fukatsu Haruto
Hamouda Nahla
Jonan Shizuka
Kato Daisuke
Kurismaa Andres
Nakamura Seikou
Otsuki Hikaru
Sugahara Ryo