



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. 4 № 1 2023**

**Vol. 4 No. 1 2023**



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](http://intphysiology.ru)  
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1>  
2023. Том 4, № 1  
2023. Vol. 4, no. 1

# 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](mailto: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](mailto:izdat@herzen.spb.ru)  
Phone: +7 (812) 312-17-41

Объем 11,0 Мб

Подписано к использованию 06.04.2023

Published at 06.04.2023

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 Е. В. Новосельцева  
Оформление обложки О. В. Рудневой  
Верстка А. М. Ходан



Санкт-Петербург, 2023

© Российский государственный  
педагогический университет им. А. И. Герцена, 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

Приветствие главного редактора.....	4
Приветствие академика Ю. В. Наточина участникам конференции «Интегративная физиология»..	6
<b>Обзоры .....</b>	<b>8</b>
<i>Noble D.</i> Physiology returns to the centre of biology.....	8
<i>Силькис И. Г.</i> Возможные механизмы взаимозависимой обработки разномодальной сенсорной и пространственной информации в ЦНС .....	18
<i>Попова М. А., Палюшкевич А. С.</i> Адаптация обской финно-угорской группы коренных народов Севера к урбанизации нефтегазодобывающих районов Западной Сибири.....	43
<b>Экспериментальные статьи .....</b>	<b>58</b>
<i>Zelena Z., Zelena D., Körner A.</i> Beneficial effects of low carbohydrate diet and sports in patients with type 1 diabetes .....	58
<i>Сухов И. Б., Чистякова О. В., Баюнова Л. В., Шестакова Н. Н.</i> Оценка побочных эффектов применения ингибитора Na-Ca обменника KB-R7943 как противоболевого препарата при диабетической нейропатии у крыс .....	69
<i>Буткевич И. П., Михайленко В. А., Вершинина Е. А.</i> Гипоксия и флуоксетин у новорожденных самок крыс повышают производительность пространственной долговременной памяти и реактивность гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы во взрослом возрасте .....	79
<i>Никитина Е. А.</i> Обучение и память у дрозофилы: роль мутации <i>white</i> .....	91
<i>Брагина Ю. В., Беседина Н. Г., Даниленкова Л. В., Камышева Е. А., Ларина О. Н., Бурлакова А. А., Камышев Н. Г.</i> Влияние факторов космического полета на поведение самцов <i>Drosophila melanogaster</i> .....	103
<i>Рыжова И. В., Тобиас Т. В.</i> Сравнительный аспект нейроиммунологического влияния интерферона и дефенсина на активность афферентного синапса вестибулярного аппарата. .	111
<b>Краткие сообщения.....</b>	<b>122</b>
<i>Shandybina N. D., Ananov S. S., Klishkovskaia T. A., Aksenov A. Yu., Moshonkina T. R.</i> Breathing parameters in healthy men and women in supine, sitting, and standing positions .....	122

## CONTENTS

Letter from the Editor-in-Chief.....	4
Welcome address to the participants of the conference Integrative Physiology from the academician Yu. V. Natochin.....	6
<b>Reviews.....</b>	<b>8</b>
<i>Noble D.</i> Physiology returns to the centre of biology.....	8
<i>Silkis I. G.</i> Possible mechanisms of interdependent processing of multimodal sensory and spatial information in the CNS.....	18
<i>Popova M. A., Palyushkevich A. S.</i> Adaptation of the Ob Finno-Ugric group of the indigenous peoples of the North to the urbanization of oil and gas producing territories of Western Siberia .....	43
<b>Experimental articles .....</b>	<b>58</b>
<i>Zelena Z., Zelena D., Körner A.</i> Beneficial effects of low carbohydrate diet and sports in patients with type 1 diabetes .....	58
<i>Sukhov I. B., Chistyakova O. V., Bayunova L. V., Shestakova N. N.</i> Evaluation of side effects of Na-Ca exchange inhibitor KB-R7943 used as an analgesic drug in diabetic neuropathy in rats.....	69
<i>Butkevich I. P., Mikhailenko V. A., Vershinina E. A.</i> Hypoxia and fluoxetine in newborn female rats increase the performance of spatial long-term memory and reactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system in adulthood.....	79
<i>Nikitina E. A.</i> Learning and memory in <i>Drosophila</i> : Role of <i>white</i> mutation .....	91
<i>Bragina Yu. V., Besedina N. G., Danilenkova L. V., Kamysheva E. A., Larina O. N., Burlakova A. A., Kamyshev N. G.</i> The effect of spaceflight on behavior of <i>Drosophila melanogaster</i> males.....	103
<i>Ryzhova I. V., Tobias T. V.</i> Comparative aspect of the neuroimmunological effect of interferon and defensin on the activity of the vestibular afferent synapse .....	111
<b>Brief notes .....</b>	<b>122</b>
<i>Shandybina N. D., Ananov S. S., Klishkovskaia T. A., Aksenov A. Yu., Moshonkina T. R.</i> Breathing parameters in healthy men and women in supine, sitting, and standing positions .....	122

## Приветствие главного редактора

*Глубокоуважаемые коллеги!*

Перед вами первый за 2023 год номер журнала «Интегративная физиология», важнейшая цель которого — способствовать развитию интегративной физиологии, нацеленной на понимание, каким образом каждый компонент организма работает как часть, интегрированная в функционирование организма как единого целого, в здоровье и болезни.

Журнал «Интегративная физиология» выступает за укрепление позиций физиологии, одной из важнейших фундаментальных наук, без прогресса которой невозможно представить устойчивое развитие медицины. О возвращении физиологии на центральную позицию провозгласил на конгрессе Международного союза физиологических наук (International Union Physiological Sciences, IUPS) в Бразилии в 2017 году Президент IUPS Денис Нобл. Это стало девизом IUPS для развития физиологии.

На укрепление позиций физиологии, интегративной физиологии нацелено и проведение в Институте физиологии им. И. П. Павлова РАН ежегодной Всероссийской конференции с международным участием «Интегративная физиология». Традиционно конференция проводится в декабре, в дни, близкие к 5 декабря, дню рождения Института. В 2023 году она планируется 6–8 декабря.

На прошедшей 7–9 декабря 2022 года конференции (<https://www.infran.ru/наука/научные мероприятия/>) участников приветствовали выдающиеся физиологи современности Юрий Викторович Наточин и Денис Нобл (Oxford University), которые внесли и вносят неоценимый вклад в сохранение, укрепление, развитие и возрождение физиологии как ключевой из биологических наук.

Позднее, 27 декабря 2022 года, стало известно, что высшая награда Российской академии наук Большая золотая медаль РАН им. М. В. Ломоносова в 2022 году присуждена выдающимся физиологам Юрию Викторовичу Наточину и Денису Ноблу. Впервые эта медаль присуждена физиологам. Награждение состоится на Общем собрании РАН (23–24 мая 2023 года).

Редколлегия журнала «Интегративная физиология» сердечно поздравляет академика РАН Юрия Викторовича Наточина и иностранного члена РАН Дениса Нобла с присуждением высшей награды Российской академии наук — Большой золотой медали РАН им. М. В. Ломоносова.

Мы благодарим Ю. В. Наточина и Дениса Нобла за возможность публикации в первом номере журнала их приветствия и обзорной статьи.

Из приветствия на конференции Ю. В. Наточина: тренд современной физиологии — *«приблизиться к заветной мечте великих умов наших предшественников физиологов XIX–XX веков воссоздать образ функций целостного организма как высшего приоритета физиологии»*.

Из приветствия на конференции Дениса Нобла: «Физиология — центр биологии».

*«The third decade of the 21<sup>st</sup> Century must and will see the Return of Physiology to Centre Stage in the biological sciences»* — «Третье десятилетие 21-го века должно стать свидетелем возвращения физиологии на центральное место в биологических науках».

Приветствуя читателей первого номера журнала «Интегративная физиология», выражаю надежду на получение рукописей, содержащих новые знания о физиологических процессах целостного организма.

С благодарностью ко всем, кто сделал реальностью выпуск первого номера журнала «Интегративная физиология» за 2023 год.

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

## Greeting from the Editor-in-Chief

*Dear Colleagues,*

I am pleased to introduce the first issue of the journal *Integrative Physiology* in 2023. Its mission is to encourage the development of integrative physiology. It is a science that aims to gain an insight into the way every part of human body works to facilitate its effective functioning as a whole, in health and disease.

We stand for strengthening the position of physiology as one of the most important fundamental sciences. It is hardly possible to imagine the sustainable development of medicine without its progress. The return of physiology to central stage was announced at the Congress of the International Union of Physiological Sciences (IUPS) in Brazil, 2017, by Denis Noble, the-then President of IUPS. This has become the IUPS motto and has added more momentum to the development of physiology.

*Integrative Physiology* is also a namesake annual Russian conference with international participation hosted by the Pavlov Institute of Physiology, RAS. It shares the mission of strengthening the positions of physiology and integrative physiology. Traditionally, the conference is held in December, on the days close to 5 December, the birthday of the Institute. In 2023, it is scheduled for 6–8 December.

At the conference that took place 7–9 December, 2022 ([https://www.infran.ru/наука/научные мероприятия/](https://www.infran.ru/наука/научные_мероприятия/)), the participants were welcomed by Yuri V. Natochin (Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg) and Denis Noble (Oxford University)—two outstanding physiologists who have made an invaluable contribution to the preservation, strengthening, development and revival of physiology as a key biological science.

Later, 27 December 2022, it was announced that Yuri V. Natochin and Denis Noble were awarded the Lomonosov Grand Gold Medal RAS—the highest award of the Russian Academy of Sciences. It is the first time this medal has been awarded to physiologists. The award ceremony will take place at the General Meeting of the Russian Academy of Sciences, 23–24 May 2023.

The Editorial Board of *Integrative Physiology* extends its heartfelt congratulations to Academician of the Russian Academy of Sciences Yuri V. Natochin and Foreign Member of the Russian Academy of Sciences Denis Noble on receiving the highest award of the Russian Academy of Sciences, the Lomonosov Grand Gold Medal RAS.

We would like to thank Yuri V. Natochin and Denis Noble for the opportunity to publish their welcome address and a review article in the first issue of the Journal in 2023.

In his welcome address to the conference participants Yuri V. Natochin says that the vistas for modern physiology are “*To get closer to the dream cherished by the great 19<sup>th</sup>–20<sup>th</sup> century physiologists—to recreate the image of the whole organism functions as the highest priority of physiology.*”

At the conference *Physiology is the Centre of Biology* Denis Noble said, “*The third decade of the 21<sup>st</sup> century must and will see the return of physiology to centre stage in the biological sciences.*”

I welcome the readers of the first issue of the journal *Integrative Physiology* in 2023 and invite manuscripts containing new knowledge about the body’s physiological processes at the whole organism level.

I would like to extend my appreciation to all those who made the first issue of the journal *Integrative Physiology* for 2023 a reality.

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

*Приветствие академика Ю. В. Наточина*

УДК 612

## Участникам конференции «Интегративная физиология»

Ю. В. Наточин<sup>✉1</sup>

<sup>1</sup> Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук, 194223, Россия, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44

### *Сведения об авторе*

Юрий Викторович Наточин, SPIN-код: [8488-3727](#), ORCID: [0000-0003-2075-5403](#), Scopus AuthorID: [35557160500](#), e-mail: [natochin1@mail.ru](mailto:natochin1@mail.ru)

### *Глубокоуважаемые участники Конференции!*

Людмила Павловна пригласила меня сказать вам несколько слов Приветствия. Проблемы, которые вы будете обсуждать, современны и своевременны, ваши встречи становятся традиционными, привлекают все больше участников. Знакомство с программой Конференции говорит не только об очень широком охвате проблем физиологии сенсорных и висцеральных систем, двигательных систем и поведения, но и стремления продемонстрировать современный уровень проникновения в молекулярные механизмы интеграции каждой из функций в конструкциях целостного организма, выяснить генетические основы их осуществления. Это отражает тренд современной физиологии в попытке на основе огромных массивов экспериментальных данных приблизиться к заветной мечте великих умов наших предшественников физиологов XIX–XX веков воссоздать образ функций целостного организма как высшего приоритета физиологии. Достижения молекулярной биологии и генетики последних десятилетий позволили не только приблизиться к пониманию функциональной организации отдельных элементов организма, но и сделать новый шаг для проникновения в святая святых — механизмы, обеспечивающие разумные действия архитектурного физиологического ансамбля целостного организма. Такой подход имеет важное значение для клинической медицины, решения многих прикладных задач. Желаю успешных выступлений, острых дискуссий, радости познания, нового шага для расцвета физиологии.

*Ю. В. Наточин,  
академик,  
председатель Национального комитета физиологов России*

# Welcome address to the participants of the conference *Integrative Physiology*

Yu. V. Natochin✉<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences,  
44 Toreza Ave., Saint Petersburg 194223, Russia

## *Author*

Yuri V. Natochin, SPIN: [8488-3727](#), ORCID: [0000-0003-2075-5403](#), Scopus AuthorID: [35557160500](#), e-mail: [natochin1@mail.ru](mailto:natochin1@mail.ru)

*Dear Delegates,*

Prof. Lyudmila P. Filaretova kindly invited me to give a welcome address. Attracting a growing number of experts every year, the conference is becoming a tradition and offers its guests and participants a topical and relevant agenda. The Conference programme embraces a wide range of issues in the physiology of sensory, visceral, motor systems and behavior. It also aims to share insights into the molecular and genetic mechanisms that facilitate the integration of these functions in the organism as a whole. This is indicative of the vistas for modern physiology, namely, to use substantial experimental data to get closer to the dream cherished by the great 19<sup>th</sup>–20<sup>th</sup> century physiologists—to recreate the image of the whole organism functions as the highest priority of physiology. A few recent decades have seen huge advances in molecular biology and genetics. They bring us closer to the understanding of how separate parts of body form a functional whole. On top of that, they open up new opportunities to gain an insight into the holy of the holies—the mechanisms that ensure a reasonable behaviour of the physiological architecture of the body as a whole. This approach is crucial for clinical medicine and may prove effective in solving numerous applied tasks. I wish all the participants success with their presentations, a heated debate, the joy of learning. I hope the Conference will blaze new trails to encourage the flourishing of physiology.

*Academician Yuri V. Natochin  
Head of the Russian National Committee of Physiologists*



УДК 612

EDN ZXIICC

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-8-17>

# Physiology returns to the centre of biology

D. Noble<sup>✉1</sup>

<sup>1</sup> University of Oxford, Parks Road, Oxford OX1 3PT, United Kingdom

## Author

Denis Noble, Scopus AuthorID: 7102287830, e-mail: [denis.noble@dpag.ox.ac.uk](mailto:denis.noble@dpag.ox.ac.uk)

**For citation:** Noble, D. (2023) Physiology returns to the centre of biology. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 1, pp. 8–17. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-8-17> EDN ZXIICC

**Received** 10 February 2023; reviewed 15 March 2023; accepted 16 March 2023.

**Funding:** The study did not receive any external funding.

**Copyright:** © D. Noble (2023). 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 Neo-Darwinist Modern Synthesis of evolutionary biology mistakenly relied on Crick's Central Dogma of molecular biology as excluding any control of genome sequences by organisms. The mistake can be unraveled by considering how DNA is replicated. The most important part of that process is open to control by organisms. The reason is that only a small part of the process can be attributed to a mechanism of replication "like a crystal", as proposed by the Selfish Gene theory. The larger part is attributable to extensive proof-correction by cut and paste enzymes that are coordinated by the living cell. That process reduces the error rate of replication from 1 to 10<sup>4</sup> nucleotides to 1 in 10<sup>10</sup>, which is a million-fold increase in accuracy. There is therefore no replicator separate from its vehicle, the living cell. That error rate is under control by organisms. The mechanisms by which Electro-Transcription (ET) coupling is achieved have now been identified. Similar mechanisms must exist for Electro-Gene-engineering (EG) coupling. Such mechanisms change the fundamentals of biology.

**Keywords:** physiology of evolution, Electro-Transcription coupling, jumping genes, DNA replication and repair, Central Dogma, Weismann Barrier, trans-generational inheritance

*Без знания того, кто я и зачем я здесь,  
жизнь невозможна.  
Without knowing who I am and why I am here,  
life is impossible.  
Lev Tolstoy "Anna Karenina"*

## Where the Modern Synthesis theory of Evolution went wrong

I begin with a question: Why was physiology excluded from the central problem in biology: how organisms evolved? The answer to that question comes from studying the way in which the theory of evolution developed into the Modern Synthesis in 1942, and how the subsequent development of that theory became hardened and dogmatic in the mid 1960s.

The Modern Synthesis was first defined by Julian Huxley in his book *Evolution: The Modern Synthesis* (Huxley 1942). That book was subtitled "The Modern Synthesis" because it explained how evolutionary biology had developed during the first half of the 20<sup>th</sup> century from a synthesis of neo-Darwinism and Mendelian genetics. Neo-Darwinism contributed the ideas of the Weismann

## Introduction

This article sets out the reasons why physiology was systematically excluded from developments of the theory of evolution, why that exclusion was a profound mistake, and how physiology now needs to rise to the challenge of repairing the damage to the fundamentals of biology. This is nothing less than "The Fight for the Future of Biology" (Noble 2022c).

Barrier (strict isolation of the germline cells from influences from the body and environment) and the elimination of organism choice (Darwin's sexual selection idea, and Lamarck's "pouvoir de la vie"). Mendelian genetics provided the basis for a gene-centric view of evolution, using the Weismann Barrier as justification for isolation of the genome from the body and environment. The Weismann Barrier idea eliminated the inheritance of acquired characteristics, as Weismann himself intended (Weismann 1892; 1893). This became the motivating factor for the Modern Synthesis.

Yet, there was no experimental evidence for the Weismann Barrier (Noble 2016). Moreover, the first edition of Huxley's book was a relatively broad interpretation of evolutionary biology within its chosen framework. It did not, for example, commit itself to what exactly constituted the Mendelian idea of a gene. As Johannsen said, it was seen as anything (*ein Etwas*) that could transmit the phenotype characteristic from generation to generation (Johannsen 1909). Although it was a gene-centric view of evolution, the question what exactly is a gene was open. In fact, Huxley's book included many physiological processes by which evolution occurs (see historical analysis in Noble, Noble 2023b), even including control of the genetic material in response to stress. Full-blown gene-centrism, and the consequent marginalization of physiology, had to wait until the nature of the genetic material became clearer.

That happened when DNA was found to contain the templates on the basis of which organisms could determine the amino acid sequences for building proteins. When the double helical nature of DNA was discovered by Watson and Crick, using the X-ray data of Rosalind Franklin, the idea grew that gene centrism could become what Crick called the Central Dogma of Molecular Biology (Crick 1958; 1970). This idea (which should never have been called a 'dogma') is that DNA templates are used first to create RNA templates, which are then used to specify amino acid sequences in proteins, with no possibility of 'back-translation' from proteins to DNA.

On the basis of Crick's 'dogma', Julian Huxley and other adherents to the Modern Synthesis concluded that molecular biology had "dethroned proteins in favour of DNA" and that "the Weismann Barrier was now embodied in the Central Dogma" (Huxley 1963). The full history of this development can be found in Noble and Noble works (Noble, Noble 2023a; 2023b). Gould called this the hardening of the Modern Synthesis, in which the study of development and functions within organisms became rigidly excluded from playing any role

whatsoever in the evolutionary process (Gould 2002). Physiology became completely excluded from evolutionary biology and, in many countries, evolutionary biology was no longer taught within physiology and medical courses in universities. Nor has physiology been taught in Evolutionary Biology courses. Several generations of scientists have now been brought up to think that the two subjects have nothing to contribute to each other since the Weismann Barrier was interpreted to be absolute.

### Discoveries of new maternal and paternal physiological effects

Yet, physiologists have of course continued to discover many embryonic and early life effects that must have epigenetic, not genetic, origins. These have been fully reviewed elsewhere (Allis et al. 2015; Hanson, Gluckman 2014; Hanson, Skinner 2016). These are only some of the many experimental discoveries that require re-examination of the hardened version of the Modern Synthesis (see Noble 2021; Shapiro, Noble 2021 for many further examples), but they alone are sufficient to demand an answer to the question: How can such processes somehow bypass the prohibition of the Central Dogma? Would they require back-translation of amino acid sequences to nucleotide sequences?

Surprising as it may seem to many scientists brought up on acceptance of the Central Dogma, there is no reason why such back-translation should ever be required! It is not required because, as I shall show, this is not how organisms can control their genomes. The key to resolving this issue lies in the way in which DNA replicates.

### DNA replication processes

Accurate copying during cell division cannot be explained in the way "how crystals are formed" (Dawkins 1976, 17). On the contrary, it becomes replicated via two quite distinct processes (Noble 2018), only one of which bears any resemblance to crystal formation:

*The first process* allows us to draw an analogy with the way crystals self-replicate. Crystals do this when molecules in solution fit themselves into the crystal lattice somewhat as a key fits into a lock. DNA in a living cell is not at all like a crystal. Instead, it takes the form of a flexible double helical thread, where each of the two threads mirrors the other, so that an A bonds with a T and a C with a G, and when the threads are unwound, an A will attract a T, and a C will attract a G. This bears comparison with the process of crystal replication, and in organisms such as prokaryotes, that is all there

is to the process of DNA replication—two new double helical threads can be formed almost automatically from one. *Almost* — but in eukaryotes ‘almost’ is far from sufficient.

This purely biochemical process cannot be accurate enough in nucleotide strands of more than around 10,000 base pairs (Noble 2018; Rennie 1991). The natural error rate of the process is one error in around 10,000 base pairs. Such short genomes, for which this error rate is not critical, are found only in small viruses. In a human genome of 3 billion base pairs that error rate would generate nearly a million errors (Preston et al. 2010). Organisms would not be able to survive such a high error rate. The genome would become seriously degraded and useless after only a few cell duplications. So, there must be, and there is, another and more important process.

*The second process* is the organisation by the living cell, *and only by the living cell*, of a set of cut and paste enzymes that proof-read and correct almost all of those errors. This is a physiologically controlled process, and living organisms use that control precisely to side-step the Central Dogma! Here is the central mistake in the Modern Synthesis of evolutionary theory: in contradiction to Dawkins’ (1976) selfish gene theory, the replicator (DNA) is not separate from its vehicle, the living cell. Furthermore, such physiological control is universal in biology. Physiological control must continually sense what is needed to drive the correction, in the case of genome replication, these are the mismatch errors.

As an example, consider the way in which the immune system constructs new immunoglobulins with the correctly shaped variable part designed

to fit and neutralize a new invading virus or bacterium. In a highly targeted part of the genome, that forms the template for the variable part of the immunoglobulin protein, the cell generates new immunoglobulin sequences using a non-random cut and splice process (Fig. 1). This region of the genome then hypermutates to augment specificity. The result is that large numbers of new DNA sequences are generated through the creation of targeted stochasticity. When some of those succeed in producing the correct shape of immunoglobulin to neutralize the new invader, the successful cells are induced to reproduce. Others are induced to apoptose. I call this kind of process the harnessing of stochasticity (Noble 2017), since it uses chance to generate a highly targeted functional outcome. The harnessing of stochasticity breaks the fundamental rule of the Modern Synthesis, according to which all DNA variations must be purely random and cannot be physiologically functional. Once a variation gets selected and harnessed, we can no longer call it random. Neo-Darwinists should have no difficulty in understanding this form of selection because it is precisely what they attribute to the process of Natural Selection. All they need to add is that selection of random change can also occur within organisms, as part of their normal physiological functioning.

Is the immune system just a rare example? Not at all. Barbara McClintock (1953), in plants, and James Shapiro (2011; 2013; 2022), in bacteria, found much the same control of chance variations to achieve new functional DNA sequences. McClintock’s work on Indian corn (maize) showed that the process can cause large sections of chro-

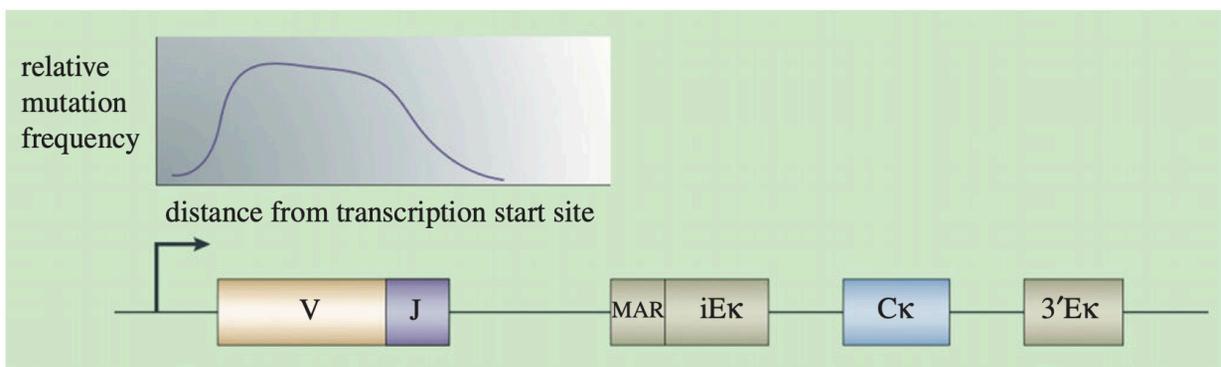


Fig. 1. Schematic diagram of gene-specific targeted hypermutation in immunoglobulin gene loci. The mutation rate is greatly increased only in the variable part of the genome, which is an approximately 1.5 kb region in each of the three immunoglobulin loci. In this figure, the graph above the rearranged variable (V) and joining (J) gene segments that form the variable region of Igk depicts the mutation domain in the k-light chain (Igk) locus. 30Ek, Igk 30 enhancer; Ck, Igk constant; iEk, Igk intronic enhancer; MAR, matrix attachment region (from Odegard, Schatz 2006)

mosomes to jump around in the cell nucleus, so discovering the phenomenon of 'jumping genes', for which she won the Nobel Prize in 1983 (McClintock 1984). A similar process can occur in bacteria as they rapidly evolve resistance to antibiotics. Cancer tumours also use hypermutation to evade aggressive forms of chemo- and radiotherapy (Shapiro, Noble 2021b). The process of physiologically controlled hypermutation seems to be universal in organisms.

Have these processes been involved in macroevolution leading to speciation over millions of years? Clear evidence for that being true emerged when the first results of the human genome project were announced in 2001 (International Human Genome... 2001). Figure 2 shows domain accretion in chromatin proteins. From this we can see that these proteins must have evolved when species like yeast, worms, flies, vertebrates, humans diverged from their common ancestors. The chances of such

domain accretion occurring entirely by chance are effectively zero. Organisms must therefore have the ability to select functional parts of the genome when shifting them around, just as the immune system is able to select just the variable domain of immunoglobulins.

This highly significant outcome offers a marvellous opportunity for further investigations in physiology. Just as it is impossible for the immune system to function without careful targeting of specific regions of the immunoglobulin genome, so it must be true that organisms have the ability to distinguish functional from non-functional regions in other protein-coding genome domains. The opportunity arises because, in both cases, we do not yet know precisely how physiological control processes achieve these outcomes. We just know that they do, and that those processes must exist. I predict major accolades for those researchers who can discover the precise pathways involved.

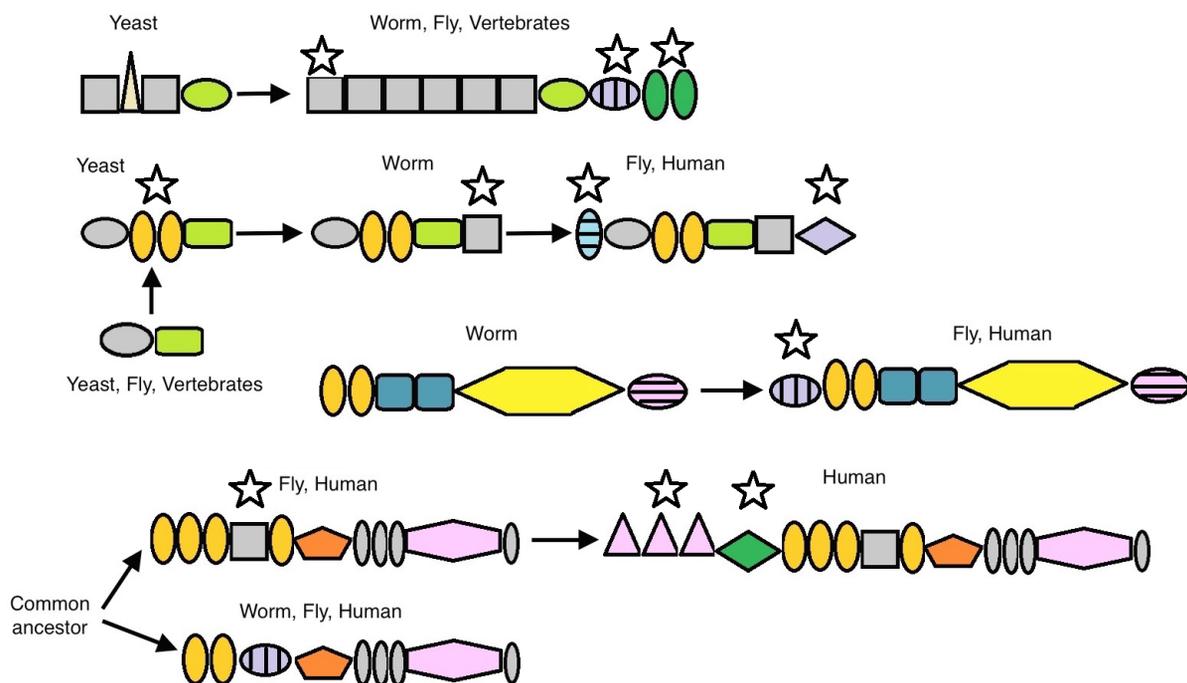


Fig. 2. Evidence for how gene domains must have moved around during evolution to form different functional proteins by domain accretion. This figure shows diagrammatic representations of three groups of individual proteins that contribute to the formation of chromatin, the backbone of chromosomes. Each coloured shape shows a single protein domain. Each protein is made up of several domains. In each case, as we move from yeast (unicellular) to worm, fly, various vertebrates and the human, the number of domains increases. The significant fact is that the development from one to the other did not occur by gradual accumulation of small mutations.

Instead whole domains hundreds of amino acids in length have come together to form the new protein. The white stars show the domains that must have moved in this way. It is extremely unlikely that this result could have been achieved by gradual accumulation of small random mutations (Redrawn from Fig. 42 of International Human Genome... 2001, as Fig. 7-4 in Noble 2016). For full details of the domains and proteins involved see the original Nature paper (Noble 2016)

### Summary of ways of bypassing the Central Dogma

Figure 3 shows what those control processes must be capable of achieving. The diagram is based on the experimental facts I have already presented in this article. But many of the physiological details remain to be worked out.

The processes involved in Crick's formulation of the Central Dogma are shown at the bottom of the diagram. Crick's original 1958 version was severely restricted to the horizontal black arrows: DNA → RNA → protein. The important 1970 modifications are represented by the gray arrows: back transcription from RNA to DNA, and replication of RNAs. Both of these modifications are important

## ENVIRONMENTAL INFLUENCES

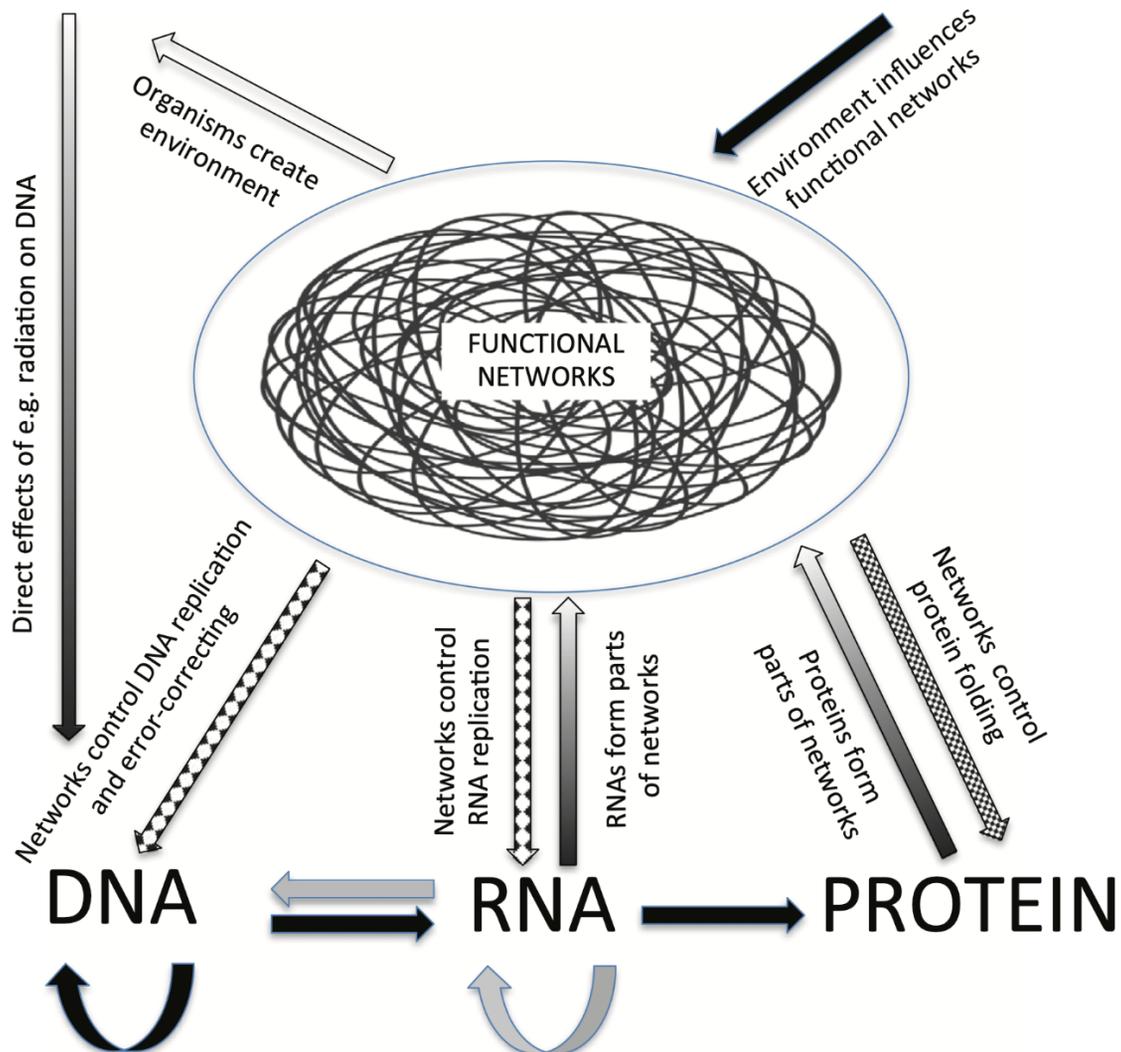


Fig. 3. How the processes that the Central Dogma seeks to describe (that is, the relations between DNA, RNA and proteins shown on the bottom row) fit into the context of physiological control by the functional physiological networks. Those networks are subject to environmental influences (black arrow) as well as contributing to the environment (white arrow). The networks control DNA replication, proofreading, mutagenesis and rearrangement. DNA expression and reorganisation is therefore under control by the functional networks (hatched arrow). RNAs and proteins form important components of the functional networks (upward shaded arrows), while the functional networks determine how protein amino acid chains are folded (downward arrow from networks to proteins). The physical environment also has direct effects on DNA, for example, through radiation breakage (Noble 2022a)

since they mean that new DNAs can be incorporated into the genome from new RNAs and that RNAs can also be replicated. Most representations of the Central Dogma show only those arrows that represent the processes Crick envisaged. Clearly, something must be missing since I have already shown that the Central Dogma has been bypassed.

So my diagram adds in all the interactions involving cellular physiological networks, (represented by the functional networks in the centre). Control of DNA replication and the error correcting processes is represented by the left hand downward arrow from networks to DNA. A similar downward arrow (middle) represents possible control of RNA replication. The networks may also control protein folding (right hand downward arrow) which is critical to their physiological function. There are also biochemical modifications, such as methylation, acetylation, ubiquitinylation and proteolytic cleavage. The physiological networks also interact in both directions with the environment. Finally, the environment can also directly cause DNA changes via radiation and chemicals, represented by the vertical downward arrow at the far left.

Note that I speak of “Functional Networks” rather than using terminology like “Gene Regulatory Networks.” There are two reasons for this. One is that, in the context of reductive gene-centric explanations of living systems, the more usual terminology slides too easily into thinking that genes are themselves causally regulating the networks, whereas the reverse is true. One of the purposes of the cellular networks is precisely to regulate gene expression, control the accuracy of replication, and to exploit stochasticity by generating new sequences. The second is that the functional networks are not just located at the cellular level in multicellular organisms. All levels of interaction are important.

The big challenge for physiology now is to discover ways of filling out this kind of diagram. We can already say that the diagram is broadly correct, but we are still woefully ignorant of many of the precise mechanisms.

### **Physiologists have already signposted the way forward**

Nevertheless, physiologists have already discovered important clues to how physiological control of the genome happens. In concluding this article I will therefore describe two examples, since I believe they point the way forward to physiology’s role in the future development of the mechanisms that have been used in the processes of the evolution of life here on earth.

The problem is to discover how living cells can directly control the DNA in their nuclei when stimulated by processes in their environment. Thus, the immune system exemplifies this with somatic hypermutation and IgH class switch recombination. Both modify immunoglobulin encoding DNA in response to events at the cell surface (membrane bound IgM binding to antigen to “activate” the encoding B cell). The events at the cell surface must therefore trigger messaging to the nucleus. The scale of the problem is best illustrated by imagining magnifying a cell to the scale at which a single nucleotide sitting in the nucleus would be the size of a golf ball. To be specific, let’s place that ‘golf ball’ somewhere in Saint Petersburg. Where would the surface of the cell be?

I encountered this problem of imagining the vast difference between molecular and cellular scales when I was a student at University College London in the 1950s. Hugh Huxley (Huxley, Hanson 1954) was using an electron microscope to visualise the actin and myosin filaments in muscle. Working at the very limit of the resolution of his microscope, he could see (if only just!) the tiny cross-bridges between the filaments, and, to give us students an idea of the magnification, he explained that, at that scale, the muscle fibre itself would be around the size of a large part of the city of London. Well, I am imagining a scale one or two orders of magnitude larger than he was working with.

If we imagine a single nucleotide to be the size of a golf ball, the cell surface would be somewhere around 700 Km away in Moscow! That is how large cells can be on such a scale.

How then do cell surfaces connect with their nuclei? They do so via the vast network of tubules and filaments forming the cytoskeleton. The filaments made of tubulin enable a very important means of communication. They are like roadways. Tiny molecular motors charge along them. Label those molecules with a fluorescent chemical and you will then see them dart around the cell. Yet, on the scale I am imagining, those roadways are not more than the width of a small footpath. In Paleolithic times, humans would have made the journey between Saint Petersburg and Moscow by laboriously walking, or riding horses, along footpaths, snaking their way through the forests and hills. Resizing our scale back to that of a real cell, the molecular motors can make that kind of journey in just a matter of seconds.

### **How do living cells communicate to their nuclei?**

Now, I come to the work of two physiologists who have shown how such ‘roadway molecular

motors' carry signals from the cell surface to the nucleus. I refer to the work of Dick Tsien (one of my former students at Oxford in the work on the heart's pacemaker mechanisms, now working at New York University) and Anant Parekh (now working in my department at Oxford University). In a recent article in *Experimental Physiology* (Noble 2022a) here is how I described their work:

"Yet accurate and targeted transport of messenger molecules over these tiny cell 'roadways' have been discovered in living cells. Examples of recent physiological studies that demonstrate this process can be found in the papers of Ma et al. (2014) and Kar et al. (2016), working on the transmission of signals from calcium concentration changes that control the relevant gene activity in the nucleus. The molecular motors can achieve this transport at a speed of up to 2  $\mu\text{m/s}$ . The nucleus can therefore be reached within just a few seconds. Visualising these processes using fluorescent markers reveals a vast trafficking system with messenger molecules

moving rapidly in all directions between the cell and its nucleus. The work of Kar et al. is groundbreaking in showing the dependence on two calcium compartments (Kar et al. 2016). Multiple causation must surely be the norm in physiological control systems.

Tsien's team (Ma et al. 2014) showed how the signalling molecule  $\gamma\text{CaMKII}$  is critical for rapid phosphorylation and gene transcription of CREB (a cellular transcription factor), so unravelling a mechanism for Electro-Transcription (ET) coupling. The diagram from their article showing the stages involved is reproduced here as Figure 4. Their work is a phenomenal achievement. Who can doubt that similar communication processes must exist to complement Electro-Transcription coupling with Electro-Genetic-engineering (EG) coupling? The immune system, and the other living systems I have highlighted in this article, must be able to do it. I surmise that EG coupling uses similar pathways that have yet to be identified.

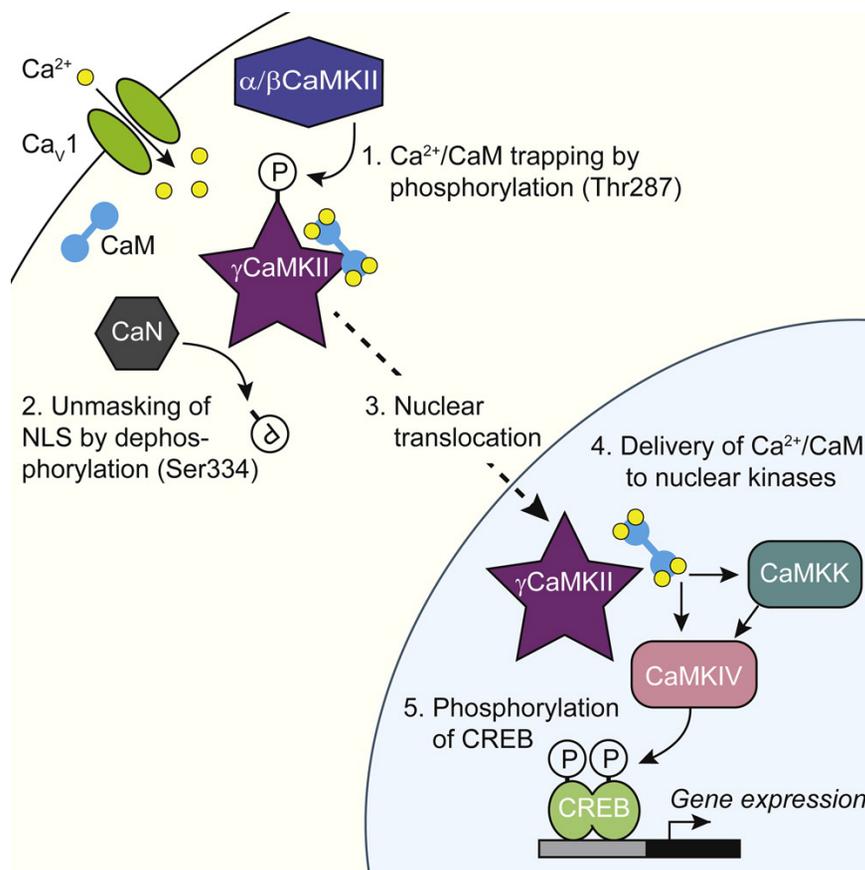


Fig. 4. The mechanism that mediates long-distance communication within cells: "a shuttle that transports  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin from the surface membrane to the nucleus. The shuttle protein is  $\gamma\text{CaMKII}$ , its phosphorylation at Thr287 by  $\beta\text{CaMKII}$  protects the  $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$  signal, and CaN triggers its nuclear translocation.

Both  $\beta\text{CaMKII}$  and CaN act in close proximity to CaV1 channels, supporting their dominance, whereas  $\gamma\text{CaMKII}$  operates as a carrier, not as a kinase. Upon arrival within the nucleus,  $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$  activates CaMKK and its substrate CaMKIV, the CREB kinase. This mechanism resolves long-standing puzzles about CaM/CaMK-dependent signaling to the nucleus." (from Ma et al. 2014)

Parekh's team (Kar et al. 2016) went one stage further in showing how *two* calcium-dependent signals can communicate simultaneously with the nucleus. That is important since multi-factorial causation must be very common in living control processes. The logic must be multi-conditional. Unravelling such multi-conditional logic in physiological control systems will be difficult, but the cutting edge experiments I have described here show that it is, in principle, possible.

### What remains to be done?

So what remains to be done? Both experiments I have described here concern Electro-Transcription (ET) coupling. Electro-Gene-engineering (EG) coupling must also exist, as emphasized also in the recent book *Transformer: The Deep Chemistry of Life and Death* by Nick Lane (2022, 277–284), and as I have proposed in Figure 3. What I call Hodgkin Cycles (Noble 2022b), coupling membrane potentials to the control of molecular networks, must exist everywhere in living systems.

This article celebrates being awarded the highly prestigious Lomonosov Grand Medal for my work on modelling the heart's pacemaker mechanisms. For this I am extremely grateful to the Russian Academy of Sciences. I am now 86 years old. In my remaining years I look forward to physiologists somewhere in the world—and why not here in Russia?—clarifying the processes I have imagined must exist to enable functional physiological networks to control the genome. Those EG coupling processes, when they are discovered, will become a cornerstone for our understanding of how physiology controls the evolution of genomes, which will forever change the fundamental nature of biology.

The word “physiology” means the “Logic of Life”. By showing how physiology drives evolution, we bring back the scientific interpretation, the logic, of purpose in life, without which it is impossible to understand it (Noble, Noble 2022). Hence my quotation from Tolstoy at the top of this article. We cannot understand ourselves as humans without understanding who we are. Being alive is definitively purposeful. That is true of all organisms.

### Commitment

As the former President of the International Union of Physiological Sciences, I am totally devoted to ensuring that this happens. I showed the way forward in a large Cultural Festival in the UK, the Festival of the Institute of Art and Ideas, held in Hay-on-Wye in June 2022, where I was invited to debate with the author of *The Selfish Gene* and populariser of the Modern Synthesis, Richard Dawkins (1976; 2016). Readers of this article may view that debate on the IAI website in the reference list (Institute of Art and Ideas 2022), or from my website (Denis Noble. The music of life 2022). In addition to explaining that DNA cannot accurately self-replicate “like a crystal”, I also referred to the fact that physiologists have now discovered Darwin's “gemmules” (Noble 2019, 2022b), so completing his explanation of Lamarckian inheritance.

The assumed molecular biological foundations of the Modern Synthesis, which led to its hardening in 1963, are now revealed as illusions (Noble 2021). They do not support the isolation of the genome, nor do they support the exclusion of organisms controlling their genomes. No longer is it possible to exclude physiology from the centre of biology.

### Conflict of Interest

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

### Acknowledgements

I thank my brother, Raymond Noble, for many discussions and collaborative articles on evolution. I thank Dick Tsien and Anant Parekh and their teams for their brilliant work on ET coupling. Dick Tsien was also a great collaborator as a research student in my laboratory in the 1960s, when some of the work was done for which the Lomonosov Grand Medal was awarded. I am deeply grateful to Perry Marshall, James Shapiro and Geoffrey Bamford for comments and corrections on a draft of the article. James Shapiro was also responsible for first drawing my attention to the genome sequencing evidence in Figure 2.

### References

- Allis, C. D., Caparros, M.-L., Jenuwein, T., Reinberg, D. (eds.). (2015) *Epigenetics*. 2<sup>nd</sup> ed. London: CSH Press, 984 p. (In English)
- Crick, F. H. C. (1958) On protein synthesis. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, vol. 12, pp. 138–163. PMID: [13580867](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13580867/) (In English)
- Crick, F. H. C. (1970) Central dogma of molecular biology. *Nature*, vol. 227, no. 5258, pp. 561–563. <https://doi.org/10.1038/227561a0> (In English)

- Dawkins, R. (1976) *The Selfish Gene*. New York: Oxford University Press, 224 p. (In English)
- Dawkins, R. (2016) *The Selfish Gene: 40<sup>th</sup> anniversary edition*. New York: Oxford University Press, 544 p. (In English)
- Denis Noble. *The music of life*. (2022) [Online]. Available at: [www.denisnoble.com](http://www.denisnoble.com) (accessed 07.12.2022). (In English)
- Gould, S. J. (2002) *The Structure of evolutionary theory*. Harvard: Harvard University Press, 1464 p. (In English)
- Hanson, M. A., Gluckman, P. (2014) Early developmental conditioning of later health and disease: Physiology or pathophysiology? *Physiological Reviews*, vol. 94, no. 4, pp. 1027–1076. <https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2013> (In English)
- Hanson, M. A., Skinner, M. (2016) Developmental origins of epigenetic transgenerational inheritance. *Environmental Epigenetics*, vol. 2, no. 1, article dvw002. <https://doi.org/10.1093/eep/dvw002> (In English)
- Huxley, H., Hanson, J. (1954) Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation. *Nature*, vol. 173, no. 4412, pp. 973–976. <https://doi.org/10.1038/173973a0> (In English)
- Huxley, J. (1942) *Evolution: The modern synthesis*. London: Allen & Unwin Publ., 645 p. (In English)
- Huxley, J. (1963) *Evolution: The modern synthesis*. 2<sup>nd</sup> ed. London: Allen & Unwin Publ., 684 p. (In English)
- Institute of Art and Ideas*. (2022) [Online]. Available at: <https://iai.tv/video/the-gene-machine> (accessed 07.12.2022). (In English)
- International Human Genome Sequencing Consortium (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, vol. 409, no. 6822, pp. 860–921. <https://doi.org/10.1038/35057062> (In English)
- Johannsen, W. (1909) *Elemente der exakten Erblichkeitslehre [Elements of the exact theory of heredity]*. Jena: Gustav Fischer Publ., 515 p. (in German)
- Kar, P., Mirams, G. R., Christian, H. C., Parekh, A. B. (2016) Control of NFAT isoform activation and NFAT-dependent gene expression through two coincident and spatially segregated intracellular Ca<sup>2+</sup> signals. *Molecular Cell*, vol. 64, no. 4, pp. 746–759. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.11.011> (In English)
- Lane, N. (2022) *Transformer: The deep chemistry of life and death*. London: Profile Books Publ., 400 p. (In English)
- Ma, H., Groth, R. D., Cohen, S. M. et al. (2014) gCaMKII shuttles Ca<sup>2+</sup>/CaM to the nucleus to trigger CREB phosphorylation and gene expression. *Cell*, vol. 159, no. 2, pp. 281–294. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.019> (In English)
- McClintock, B. (1953) Induction of instability at selected loci in maize. *Genetics*, vol. 38, no. 6, pp. 579–599. <https://doi.org/10.1093/genetics/38.6.579> (In English)
- McClintock, B. (1984) The significance of responses of the genome to challenge. *Science*, vol. 226, no. 4676, pp. 792–801. <https://doi.org/10.1126/science.15739260> (In English)
- Noble, D. (2016) *Dance to the tune of life: Biological relativity*. Cambridge: Cambridge University Press, 302 p. (In English)
- Noble, D. (2017) Evolution viewed from physics, physiology and medicine. *Interface Focus*, vol. 7, no. 5, article 20160159. <https://doi.org/10.1098/rsfs.2016.0159> (In English)
- Noble, D. (2018) Central Dogma or Central Debate. *Physiology*, vol. 33, no. 4, pp. 246–249. <https://doi.org/10.1152/physiol.00017.2018> (In English)
- Noble, D. (2019) Exosomes, gemmules, pangenes and Darwin. In: L. Edelstein, J. R. Smithies, P. J. Quesenberry, D. Noble (eds.). *Exosomes: A clinical compendium*. London: Academic Press, pp. 487–501. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816053-4.00021-3> (In English)
- Noble, D. (2021) The illusions of the modern synthesis. *Biosemiotics*, vol. 14, no. 1, pp. 5–24. <https://doi.org/10.1007/s12304-021-09405-3> (In English)
- Noble, D. (2022a) Modern physiology vindicates Darwin's dream. *Experimental Physiology*, vol. 107, no. 9, pp. 1015–1028. <https://doi.org/10.1113/EP090133> (In English)
- Noble, D. (2022b) How the Hodgkin cycle became the principle of biological relativity. *Journal of Physiology*, vol. 600, no. 24, pp. 5171–5177. <https://doi.org/10.1113/JP283193> (In English)
- Noble, D. (2022c) The fight for the future of biology: the broken paradigm of Neo-Darwinism. *IAI News*. [Online]. Available at: <https://iai.tv/articles/denis-noble-the-broken-paradigm-of-neo-darwinism-auid-2210> (accessed 04.08.2022). (In English)
- Noble, R., Noble, D. (2022) Physiology restores purpose to evolutionary biology. *Biological Journal of the Linnean Society*, article blac049. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blac049> (In English)
- Noble, R., Noble, D. (2023a) *Understanding living systems*. Cambridge: Cambridge University Press. [Online]. Available at: <https://www.denisnoble.com/livingsystems/> (accessed 01.02.2023). (In English)
- Noble, D., Noble, J. (2023b) How purposive agency became banned from evolutionary biology. In: P. A. Corning, S. A. Kauffman, D. Noble et al. (eds.). *Evolution "On Purpose": Teleonomy in living systems*. Cambridge: MIT Press, pp. 221–236. (In English)
- Odegard, V. H., Schatz, D. G. (2006) Targeting of somatic hypermutation. *Nature Reviews Immunology*, vol. 6, no. 8, pp. 573–583. <https://doi.org/10.1038/nri1896> (In English)
- Preston, B. D., Albertson, T. M., Herr, A. J. (2010) DNA replication fidelity and cancer. *Seminars in Cancer Biology*, vol. 20, no. 5, pp. 281–293. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2010.10.009> (In English)
- Rennie, J. (1991) Proofreading genes. *Scientific American*, vol. 264, no. 5, pp. 28–32. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0591-28> (In English)

- Shapiro, J. A. (2011) *Evolution: A view from the 21st Century*. Upper Saddle River: FT Press, 239 p. (In English)
- Shapiro, J. A. (2013) How life changes itself: the read-write (RW) genome. *Physics of Life Reviews*, vol. 10, no. 3, pp. 287–323. <https://doi.org/10.1016/j.plrev.2013.07.001> (In English)
- Shapiro, J. A. (2022) *Evolution: A View from the 21st Century. Fortified*. Minneapolis: Cognition Press, 702 p. (In English)
- Shapiro, J. A., Noble, D. (2021a) What prevents mainstream evolutionists teaching the whole truth about how genomes evolve? *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, vol. 165, pp. 140–152. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2021.04.004> (In English)
- Shapiro, J. A., Noble, D. (2021b) The value of treating cancer as an evolutionary disease. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, vol. 165, pp. 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2021.08.010> (In English)
- Weismann, A. (1892) *Das Keimplasma: eine Theorie der Vererbung [The germinal plasma: A theory of inheritance]*. Jena: Gustav Fischer Publ., 628 p. (In German)
- Weismann, A. (1893) *Die Allmacht der Naturzuchtung: eine Erwiderung an Herbert Spencer [The all-sufficiency of natural selection. A reply to Herbert Spencer]*. Jena: Gustav Fischer Publ., 96 p. (In German)



УДК 612.822.3

EDN YOLZJY

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-18-42>

## Возможные механизмы взаимозависимой обработки разномодальной сенсорной и пространственной информации в ЦНС

И. Г. Силькис<sup>✉1</sup>

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

### Сведения об авторе

Изабелла Гершовна Силькис, SPIN-код: 7279-2039, Scopus AuthorID: 7004815840, ResearcherID: AAB-9949-2021, ORCID: 0000-0002-7622-2684, e-mail: isa-silkis@mail.ru

**Для цитирования:** Силькис, И. Г. (2023) Возможные механизмы взаимозависимой обработки разномодальной сенсорной и пространственной информации в ЦНС. *Интегративная физиология*, т. 4, № 1, с. 18–42.  
<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-18-42> EDN YOLZJY

**Получена** 16 января 2023; прошла рецензирование 14 марта 2023; принята 23 марта 2023.

**Финансирование:** Исследование не имело финансовой поддержки.

**Права:** © И. Г. Силькис (2023). 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.** Проведен анализ возможных механизмов влияния разномодальной сенсорной информации на активность «клеток места» и формирование ассоциаций «запах — объект — место» в гиппокампе, а также роль гиппокампальной формации в появлении «клеток места» в разных областях коры. Используются известные данные о том, что кроме потоков информации «что» и «где», поступающих в гиппокамп соответственно через латеральную и медиальную части энторинальной коры, на активность гиппокампа влияют различные области коры через таламические ядра — передние, реуниенс и медиодорзальное. Анализируемая нейронная сеть, обеспечивающая взаимозависимую обработку разномодальной сенсорной и пространственной информации, включающая топографически связанные области коры, гиппокампальной формации, базальных ганглиев, мозжечка, таламических и других подкорковых ядер, представляет собой всеобъемлющий коннектом. Этот коннектом состоит из топографически организованных коннектомов, в каждом из которых происходит обработка свойств сенсорных стимулов определенной модальности. Предполагается, что длительные дофамин-зависимые пластические изменения эффективности синаптической передачи между нейронами в коннектоме могут лежать в основе динамических перестроек в активности «клеток места» в гиппокампальной формации и в коре, обеспечивая адекватную пространственную навигацию с учетом разнообразного сенсорного окружения. Следствия предлагаемого механизма согласуются с известными из литературы результатами экспериментальных исследований.

**Ключевые слова:** клетки места, гиппокампальная формация, мультимодальная сенсорная информация, коннектом, синаптическая пластичность

# Possible mechanisms of interdependent processing of multimodal sensory and spatial information in the CNS

I. G. Silkis✉<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, 5A Butlerova Str., Moscow 117495, Russia

## Author

Isabella G. Silkis, SPIN: 7279-2039, Scopus AuthorID: 7004815840, ResearcherID: AAB-9949-2021, ORCID: 0000-0002-7622-2684, e-mail: isa-silkis@mail.ru

**For citation:** Silkis, I. G. (2023) Possible mechanisms of interdependent processing of multimodal sensory and spatial information in the CNS. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 1, pp. 18–42. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-18-42> EDN YOLZJY

**Received** 16 January 2023; reviewed 14 March 2023; accepted 23 March 2023.

**Funding:** The study had no financial support.

**Copyright:** © I. G. Silkis (2023). 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 performed an analysis of possible mechanisms of influence of multimodal sensory information on the activity of “place cells” and the generation of “odor – object – place” associations in the hippocampus, as well as the role of the hippocampal formation in the appearance of “place cells” in different areas of the cortex. The research was based on the readily available data that, in addition to the “what” and “where” information entering the hippocampus through the lateral and medial parts of the entorhinal cortex, respectively, various areas of the cortex influence hippocampal activity through the anterior, reuniens, and mediodorsal thalamic nuclei. The analyzed neural network interdependently processes multimodal sensory and spatial information. This network includes topographically connected areas of the cortex, hippocampal formation, basal ganglia, cerebellum, thalamic and other subcortical nuclei, thus forming a global connectome. This connectome consists of topographically organized connectomes, each of which processes the properties of sensory stimuli of a certain modality. It has been suggested that long-term dopamine-dependent plastic changes in the efficacy of synaptic transmission between neurons in the connectome may underlie dynamic reorganizations in the activity of “place cells” in the hippocampal formation and in the cortex providing adequate spatial navigation based on a diverse sensory environment. The consequences of the proposed mechanism are consistent with the experimental results known from the literature.

**Keywords:** place cells, hippocampal formation, multimodal sensory information, connectome, synaptic plasticity

## Введение

При нахождении животного в определенной области пространства (поле места) в гиппокампе (ГИПП) возбуждаются «клетки места». На активность «клеток места» влияют зрительные, слуховые, тактильные и обонятельные сенсорные сигналы. Полагают, что «клетки места» в ГИПП представляют собой мультимодальный класс нейронов, получающих информацию из множества различных сенсорных источников, и это позволяет правильно отображать в их активности ограниченную область окружающей среды (Jeffery 2007). Разномодальная сенсорная информация поступает в ГИПП из первичных, вторичных и ассоциативных областей коры (Esteves et al. 2021). Считают, что наиболее существенно на активность «клеток места» влияют зрительные сигналы и те, которые

связаны с движением (Gener et al. 2013). Значительный вклад в генерацию разрядов «клетками места» вносит активация зрительной и теменной областей коры (Poucet et al. 2003), а для формирования пространственной памяти необходимо взаимодействие ГИПП с ассоциативной теменной корой (Save et al. 2005). Хотя зрительная информация, когда она доступна, имеет приоритетное влияние на срабатывание «клеток места» в ГИПП, локальные обонятельные и/или тактильные сигналы в сочетании с сигналами, связанными с движением, также могут обеспечивать стабильное срабатывание этих клеток (Poucet et al. 2000). Имеются различные свидетельства того, что у грызунов, у которых относительно плохая острота зрения, но очень развита обонятельная система, запахи способствуют формированию пространственных отображений окружающей среды в активности

нейронов ГИПП и играют важную роль в пространственной навигации (Aikath et al. 2014).

Результаты экспериментальных исследований указывают на то, что метрические и контекстуальные входные данные взаимодействуют в таких структурах, как энторинальная кора (ЭК) и другие области коры, которые обеспечивают более сложный характер обработки информации по сравнению с «клетками места» в ГИПП (Jeffery 2007). В выполнении поведенческих задач, связанных с навигацией, участвует и медиальная префронтальная кора (мПФК) (Sauer et al. 2022). Ранее исследования пространственной памяти в основном были сосредоточены всего на нескольких структурах мозга, включая гиппокампальную формацию и ЭК, однако современные анатомические, поведенческие и электрофизиологические исследования позволили дополнить эту сеть такими структурами, как передние ядра таламуса, срединные ядра таламуса и ограда (клауструм) (O'Mara, Aggleton 2019). В этих областях обнаружены пространственно настроенные клетки, в том числе клетки со свойствами, подобными «клеткам места» ГИПП (O'Mara, Aggleton 2019).

Мы полагаем, что предложенный нами ранее возможный механизм формирования отображений ассоциаций «запах-объект-место» на нейронах ГИПП (Силькис 2021с) может являться одной из составляющих более общего механизма участия сенсорной информации в пространственной навигации, в основе которого лежат пластические перестройки эффективности связей между нейронами различных корковых и подкорковых структур. Анализ некоторых особенностей участия этих перестроек в реорганизации активности нейронов в коннектоме, включающем такие структуры как новая кора, ГИПП, таламус, мозжечок, базальные ганглии и другие подкорковые ядра, был проведен нами ранее (Силькис 2022). Целью настоящей работы являлся анализ возможных механизмов взаимозависимого функционирования различных структур в ЦНС, обеспечивающих участие разномодальной сенсорной информации в пространственной навигации.

### **Отображения пространственной информации в разных структурах ЦНС (обзор данных литературы)**

#### *Отображения полей места в активности «клеток места» в гиппокампе*

Запись активности 100 «клеток места» в поле CA1 при выполнении крысами задачи навигации

с вознаграждением позволила показать, что «клетки места», которые кодируют сходные пространственные местоположения, имеют тенденцию к образованию небольших пространственных кластеров (Wirtshafter, Disterhoft 2022). Эти кластеры в основном формируются клетками, которые отображают поля места вокруг локусов, в которых ранее было дано вознаграждение. Однако очевидного топографического отображения местоположения окружающей среды в активности клеток ГИПП, как это наблюдается в зрительной коре, не обнаружено (Wirtshafter, Disterhoft 2022). После перестановки характерных ориентиров в окружающей среде нейроны поля CA3, отображающие поля места, сохраняют более высокую степень когерентности, чем нейроны поля CA1 (Knierim et al. 2006). Этот эффект согласуется с представлением о поле CA3 как об ауто-ассоциативной сети. В поле CA2, как и в поле CA1, имеются «клетки места» (Alexander et al. 2016). Они реагировали на новые положения в пространстве увеличением средней частоты разрядов, хотя в поле CA2 оценка положения в пространстве была хуже, чем в поле CA1 (Bhasin, Nair 2022). Пространственные паттерны возбуждения отдельных пирамидных нейронов в поле CA2, отображающих поля места, существенно отличались по характеристикам от паттернов в поле CA1 (Mankin et al. 2015).

#### *Взаимозависимая обработка зрительной и пространственной информации*

С одной стороны, в обработке пространственной информации в ГИПП участвуют зрительные стимулы. Так, в ГИПП обнаружены нейроны, реагирующие на сложные зрительные стимулы или их отдельные свойства. Например, некоторые нейроны ГИПП, как и нейроны зрительных областей новой коры, отвечали на стимулы определенной формы и размера, а также на стимулы, движущиеся в определенном направлении (Kazarian et al. 1995). С другой стороны, положение животного в окружающей среде влияет на вызванные зрительными стимулами реакции нейронов первичной зрительной коры (V1). В активности нейронов в поле V1 кодируются те же пространственные локусы, которые кодируются «клетками места» в поле CA1 (Saleem et al. 2018). Пространственная информация сильнее модулирует и активность нейронов ретроспленальной коры. При этом эффект был выражен сильнее, чем для нейронов поля V1, причем у этих нейронов наблюдали удивительно схожую пространственную настройку (Fischer et al. 2020). На активность

«клеток места» в поле СА1 влияет не только зрение. Например, предпочтение «клеток места» зависело от пройденного расстояния (Ravassard et al. 2013). При одновременной регистрации активности нейронов в зрительном поле V1 и в поле СА1 было обнаружено, что в знакомой среде сенсорная обработка в поле V1 и пространственное кодирование в поле СА1 модулируются не только зрительными сигналами (Fournier et al. 2020).

У крыс в свободном поведении в передней части ограда зарегистрированы «клетки места», в активности которых кодируется информация о месте и границах объекта (Jankowski, O'Mara 2015). Пространственная информация может поступать в ограду из медиальной части энторинальной коры (ЭКМ). Кроме того, активность «клеток места» в ограде крыс модулируется входами из зрительных областей коры. Так, обнаружено, что активность нейронов передней части ограды зависит от окружающего контекста и от скорости передвижения крысы (Jankowski et al. 2017). При удалении зрительных сигналов из окружающей среды активность «клеток места» в ограде крыс менялась, причем эффект зависел от активации НМДА-рецепторов (Rizzello et al. 2022). Из этих данных следует, что в основе этого эффекта лежат пластические перестройки эффективности синаптической передачи между нейронами. С другой стороны, нейроны ограды, которые иннервируют нейроны в различных областях коры, могут напрямую модулировать их активность, предоставляя информацию о положении тела, границах и ориентирах (Jankowski, O'Mara 2015).

#### *Взаимозависимая обработка обонятельной и пространственной информации*

Обычно в формировании «полей места» ключевыми элементами являются зрительно-пространственные ассоциации. Однако и в отсутствие визуальной информации как люди, так и другие позвоночные, способны генерировать очень эффективные пространственные отображения. Воздействие запахов усиливает активность нейронов ГИПП, связанных с обработкой пространственной информации. При выполнении задания, требующего участия обонятельной рабочей памяти, в поле СА1 гиппокампа мыши активировались «клетки запаха», причем их рецептивные поля оставались стабильными в течение суток (Taxidis et al. 2020). У голубей, подвергавшихся воздействию запахов, в дорсолатеральной части ГИПП активировалось значительно больше нейронов, чем у голубей,

подвергавшихся воздействию фильтрованного воздуха без запахов (Jorge et al. 2014).

В свою очередь, информация о пространственном расположении запаха может влиять на его восприятие, поскольку она поступает не только в ГИПП, но и в переднее обонятельное ядро, которое получает иннервацию из обонятельной луковицы и передает ее в пириформную кору (ПК) (Aqrabawi, Kim 2020). Рабочую память о запахе поддерживает вентральная часть ГИПП (Kesner et al. 2011). Полагают, что за счет проекций из вентрального ГИПП в переднее обонятельное ядро опосредуется ассоциация запаха с его контекстом (Levinson et al. 2020). Не исключено, что в переднем обонятельном ядре хранятся контекстуально значимые энграммы запахов, и что эта активность необходима и достаточна для поведенческого выражения памяти о запахе (Aqrabawi, Kim 2020). Пространственная память на запах нарушалась после ингибирования топографически организованных путей из ГИПП в переднее обонятельное ядро (Aqrabawi, Kim 2018). Обратимое повреждение либо переднего обонятельного ядра, либо ГИПП после обучения ассоциации запах — зрительно-пространственный контекст нарушало выполнение задачи. При этом дискриминация запахов, не связанных с контекстом, не нарушалась (Levinson et al. 2020).

Современные данные указывают на то, что внутренняя связь между обонянием и пространственной памятью поддерживается взаимозависимым функционированием ГИПП и медиальной орбитофронтальной коры (ОфК) (Dahmani et al. 2018). У пациентов с поражением медиальной ОфК наблюдали дефицит как идентификации запахов, так и пространственной памяти (Dahmani et al. 2018).

#### *Взаимозависимая обработка звуковой и пространственной информации*

В слуховой системе пространственная информация кодируется с учетом положения источника звука относительно наблюдателя и считается эгоцентрической на протяжении всего слухового пути (Amaro et al. 2021). В активности нейронов в первичном слуховом поле А1 генерируются отображения таких свойств звукового объекта, как пространственное положение, исходная идентичность и значимость (Nelken et al. 2003). Тонически активные клетки поля А1 реагировали на положение звука изменением частоты (Sakai et al. 2009). Активность нейронов в поле А1 отображает звуки с точки зрения звуковых объектов, а не с точки зрения инвариантных акустических характеристик

(Nelken 2004). Раньше такое восприятие относили к высшим слуховым областям.

При сочетании условного звукового раздражителя и безусловного раздражителя в виде электрического тока «клетки места» в ГИПП крыс начинали отвечать на звуковой условный стимул только тогда, когда крыса находилась в пределах поля места, и не отвечали на этот стимул, если его предъявляли изолированно (Moita et al. 2003). Эти данные указывают на то, что ГИПП способствует формированию контекстно-зависимой памяти во время ассоциативного обучения с участием звука. У большинства пространственно чувствительных нейронов в слуховых областях предпочтение положения источника звука существенно изменялось в зависимости от конкретной задачи (Amaro et al. 2021). При обучении песчанок задаче поиска пищи, которая требовала локализации и идентификации источников звука во время свободной навигации, в поле A1 были выявлены отображения объектов (Aronov et al. 2017). С другой стороны, при одновременной регистрации активности нейронов в ГИПП и в ЭК крыс во время задания, в котором менялась частота звукового тона, в обеих структурах были обнаружены дискретные локусы возбуждения для определенных звуковых частот (Aronov et al. 2017).

#### *Взаимозависимая обработка тактильной и пространственной информации*

Исследование активности нейронов в дорзальной части коры мышей, бегущих по беговой дорожке в окружении тактильных стимулов, показало, что 40–80% нейронов, располагавшихся в первичных, вторичных и ассоциативных областях коры, характеризуются выраженными паттернами активности, отражающими пространственную локализацию этих стимулов (Esteves et al. 2021). Такая связанная с локализацией специфичность нарушалась после повреждения ГИПП. Из этих данных следует, что существует значительная широко распределенная по коре популяция нейронов, которые в совокупности образуют непрерывное отображение исследуемой среды, причем для поддержания точного отображения пространства в коре необходимы входы из ГИПП (Esteves et al. 2021). В первичной соматосенсорной коре крыс S1 обнаружены пространственно-избирательные паттерны возбуждения, подобные тем, которые наблюдаются в гиппокампаально-энторинальной сети, в частности, «клетки места» и клетки направления головы (Long, Zhang 2021). Эти клетки формируют пространственную

карту за пределами ГИПП и подтверждают гипотезу о том, что информация о местоположении модулирует отображение тела в соматосенсорной коре.

Тактильная информация, собираемая усами, широко представлена в коре головного мозга крыс. Влияние на «клетки места» в ГИПП тактильных стимулов, обнаруженных с помощью усюв, изучали в обогащенной тактильной среде, тогда как остальные сенсорные сигналы были скрыты. Оказалось, что после поворота тактильных стимулов 90% полей места повернулись вместе с ними (Gener et al. 2013). После тактильной депривации (с помощью нанесения лидокаина на подушечку усюв) у большинства «клеток места» снижалась частота срабатывания, а их поля места расширились (Gener et al. 2013). Эти результаты свидетельствуют о том, что в тактильно-обогащенной среде, когда другие сенсорные стимулы недоступны, тактильная информация интегрируется «клетками места» ГИПП.

#### *Участие теменной и префронтальной областей коры во взаимозависимой обработке пространственной и разномодальной сенсорной информации*

У контрольных крыс большинство полей места оставались стабильными при вращении обонятельных и/или других сенсорных стимулов (Save et al. 2005). Поскольку у крыс с повреждением ассоциативной теменной коры большинство полей места сместилось обратно в исходное стандартное положение, было предположено, что в таком случае для поддержания стабильности поля места крысы полагались на неконтролируемые фоновые сигналы (Save et al. 2005). Эти данные свидетельствуют о том, что при формировании пространственной памяти ГИПП и ассоциативная теменная кора взаимодействуют. Данные, полученные при записи отдельных нейронов теменной коры, как у крыс, так и у обезьян, позволяют предположить, что система отсчета, используемая теменной корой, может быть абстрактной по своей природе. Так, показано, что активность нейронов теменной коры у грызунов в свободном поведении организована в соответствии с пространством, определяемым маршрутами, так что эта область коры вносит вклад в решение навигационных задач (Nitz 2009). Теменная кора во взаимодействии с ГИПП играет критически важную роль в выборе наиболее подходящего маршрута между двумя точками (Nitz 2009). При выполнении задачи в лабиринте Хебба — Уильямса двустороннее повреждение дорзального ГИПП

ухудшало усвоение аллоцентрической задачи, тогда как двустороннее повреждение теменной коры ухудшало усвоение эгоцентрической задачи (Rogers, Kesner 2006). Судя по результатам, полученным в указанной работе, во время сбора данных ГИПП и теменная кора обрабатывают пространственную информацию параллельно; однако когда это необходимо для поиска и/или доступа к этой информации, требуется совместное функционирование обеих структур.

Интеграция и привязка звуковых стимулов к расстояниям в процессе обучения также опосредуется нижней теменной корой и ГИПП (Chan et al. 2012). Правая часть клинообразной области коры (cuneus), возможно, образует усиленную сеть для перекрестного слухо-пространственного обучения. Эта функциональная сеть, вероятно, уникальна для людей с ранней слепотой, поскольку у людей с нормальным зрением аналогичная активность происходит только в теменной коре (Chan et al. 2012).

Показано, что в мПфК имеет место динамическое топографически организованное кодирование полей места (Sauer et al. 2022). Обратимая инактивация мПфК нарушала выполнение крысами задания, в котором требовалось ассоциировать два разных звуковых тона с входом в два разных рукава Y-образного лабиринта (Wang et al. 2015). При этом 14,5% нейронов мПфК активировалось преимущественно при формировании ассоциаций «звук — место». Судя по этим данным, для решения различных задач необходимо взаимодействие ГИПП с фронтальными областями коры. В ГИПП выявлено объектно-ориентированное отображение пространства, когда участники обнаруживали себя в среде с объектами, в то время как в мПфК это пространство отображалось при воспоминании местоположения целевого объекта. Во время воспоминаний функциональная связь между этими двумя структурами увеличивалась и зависела от характера задачи (Zhang, Naya 2020).

### **Функциональная организация связей между нейронами гиппокампальной формации, коры и таламуса**

#### *Связи гиппокампальной формации с различными ядрами таламуса*

Схема организации взаимосвязей гиппокампальной формации с разными областями коры и таламическими ядрами представлена на рисунке 1. Естественно предположить, что таламические ядра, которые реципрокно связаны и с ГИПП, и с корой, могут участвовать в отображении пространства с учетом разномодальной

сенсорной информации. В частности, в пространственной навигации и пространственной памяти участвует таламическое ядро реуниенс, которое расположено в срединной части вентрального таламуса и реципрокно связано с ГИПП и с мПфК (рис. 1) (Griffin 2021). Повреждение ядра реуниенс изменяло поведенческую способность распознавать изменения местоположения объекта (Jung et al. 2019), нарушало выполнение задачи на тактильно-зрительную дискриминацию, зависящую от рабочей памяти (Hallock et al. 2013), и изменяло активность «клеток места» в поле CA1 при нахождении в знакомой среде (Cholvin et al. 2018). Ядро реуниенс участвует в долговременной консолидации пространственной памяти на системном уровне (Loureiro et al. 2012). Оно может являться ключевой структурой, способствующей трансформации новой пространственной памяти, зависящей от ГИПП, в удаленную, зависящую и от корковых сетей. Поскольку обогащенная окружающая среда ослабляла негативное влияние удаления ядра реуниенс на пространственную память, было предположено, что этот эффект может являться следствием усиленной активации нейронов в мПфК (Ali et al. 2017).

Один из основных информационных потоков, жизненно важный для формирования эпизодической памяти, поступает в гиппокампальную формацию из передних ядер таламуса (Tsanov, O'Mara 2015). К этой группе таламических ядер относят антеромедиальное, антеродорсальное и антеровентральное, а иногда и латеральное дорсальное. Передние ядра таламуса реципрокно связаны с субикулюмом, поясной и ретроспленциальной областями коры (Kaitz, Robertson 1981; Robertson, Kaitz 1981). Передние ядра таламуса, как и ядро реуниенс, реципрокно связаны и с ГИПП, и с мПфК. Однако разные группы нейронов в ПфК и в поясной коре проецируются в реуниенс и в передние ядра таламуса. Есть некоторые различия и среди нейронов ГИПП, проецирующихся в эти таламические ядра (Mathiasen et al. 2021). Авторы указанной работы полагают, что анатомические различия могут лежать в основе взаимодополняющих когнитивных функций этих двух групп таламических ядер. Нейроны передних ядер таламуса сильно и избирательно иннервируют маленькие пирамидные клетки в ретроспленциальной коре, тогда как активность соседних клеток ретроспленциальной коры с регулярными спайками преимущественно контролируют входы из оградаы и передней поясной коры (Brennan et al. 2021). Передние ядра таламуса являются



жизненно важным узлом в цепях, связывающих их и с ГИПП, и с поясной извилиной. Они не только поддерживают пространственное обучение и память, но и участвуют в обработке различной контекстуальной информации, а также в непространственном обучении (Nelson 2021). Поражения передних ядер таламуса у самцов крыс снижало пространственную память, хотя на активность «клеток места» в поле CA1 в значительной степени не влияло (Frost et al. 2021). Подобно тому, как поражения ГИПП в основном ответственны за «височную» амнезию, поражения передних ядер таламуса в основном ответственны за аналогичную потерю памяти, названной «диэнцефальной» амнезией (Frost et al. 2021). Передние ядра таламуса и ядро реуниенс содержат нейроны, реагирующие на пространственные стимулы (Mathiasen et al. 2020). Однако, поскольку ядро реуниенс больше связано с ПФК, а передние ядра таламуса — с поясной корой, ядро реуниенс вносит свой вклад в когнитивный контроль, тогда как передние ядра таламуса имеют решающее значение для многих аспектов пространственного кодирования в ГИПП (Mathiasen et al. 2020). Полагают, что нейронная сеть, связывающая ПФК, срединные ядра таламуса и поле CA1/субикулум, участвует в пространственной навигации и принятии решений (Bueno-Junior, Leite 2018).

#### *Связи периринальной, постринальной и энторинальной областей коры*

В периринальную кору проецируются ядра реуниенс, супрагеникулярное и внутреннее колеччатое тело (проекционное ядро, через которое в ЦНС поступает звуковая информация), что соответствует роли этой области коры в восприятии и обработке мультимодальной информации и формировании ассоциаций (Tomás Pereira et al. 2016) (рис. 1). В постринальную кору проецируется дорсальный таламус, особенно заднее латеральное ядро (lateral posterior nucleus), которое участвует в зрительно-пространственном внимании (Tomás Pereira et al. 2016). Периринальная кора получает самые многочисленные проекции также из ЭК, ПК, в которой обрабатывается обонятельная информация, и из островковой (инсулярной) области коры (Burwell, Amaral 1998). В постринальную кору самые многочисленные проекции поступают из зрительной ассоциативной коры и зрительно-пространственных областей, таких как задняя теменная кора (Burwell, Amaral 1998). Показано, что нейроны постринальной коры участвуют в зрительно-пространственных функциях, отслеживая изменения окружающей среды (Burwell, Hafeman 2003).

В латеральную часть энторинальной коры (ЭКл) в основном поступают сигналы из периринальной, островковой, пириформной и постринальной областей коры. В медиальную часть энторинальной коры (ЭКм) в основном поступают сигналы из ПК и постринальной коры, а также меньшее количество проекций из ретроспленальной, задней теменной и зрительной ассоциативной областей коры (Burwell, Amaral 1998). Кортиковые проекции в ЭКл более многочисленны, чем в ЭКм (Burwell, Amaral 1998). Результаты современных исследований показывают, что нейроны периринальной коры и ЭКл нельзя рассматривать только как детекторы свойств объектов, а нейроны ЭКм — только как детекторы положения объекта. Эти результаты указывают на более сложную организацию отображений контекста в указанных структурах. Так, в активности нейронов периринальной коры и ЭКл отображаются и объекты, и места, где они расположены, а в активности нейронов ЭКм отображаются местоположение и находящиеся в нем объекты (Keene et al. 2016). Показано, что в ЭКл комбинируются отображения непространственной и пространственной информации (Deshmukh et al. 2012). С точки зрения предложенного нами механизма формирования ассоциаций (Силькис 2021с), указанные эффекты могут быть связаны, в частности, с тем, что и в ЭКл, и в ЭКм возвращаются сигналы из поля CA1, в котором уже сформированы отображения «запах-объект-место». Современные исследования подчеркивают важность взаимодействия ЭК и ГИПП для формирования отображения пространства «клетками места» в поле CA1. При повреждении ЭК заметно уменьшались частота разрядов этих клеток и размер отображаемого ими поля места. Кроме того, уменьшалась стабильность отображения этого поля, как в постоянных условиях, так и после вращения или удаления объекта (Van Cauter et al. 2008). Поскольку поражения ЭКм влияли на стабильность поля места и ряд свойств «клеток места» в поле CA1, полагают, что пространственная информация передается из ЭКм в ГИПП, чтобы способствовать закреплению и поддержанию стабильного пространственного отображения (Jacob et al. 2020).

#### *Связи гиппокампальной формации с оградой, поясной, орбитофронтальной, теменной, островковой, ретроспленальной и сенсорными областями коры*

В ЦНС всех млекопитающих имеется структура — ограда, которая расположена между островковой областью коры и стриатумом

(Kim et al. 2016). Нейроны ограда образуют многочисленные реципрокные связи с корковыми и подкорковыми областями мозга (Kitanishi, Matsuo 2017; Terem et al. 2020) (рис. 1). В частности, ограда связана с разными частями коры больших полушарий, ГИПП и хвостатым ядром стриатума (Smith, Alloway 2010). Самая дорсальная часть ограда более тесно связана с сенсорными областями коры (Witter et al. 1988). Вентральная часть ограда реципрокно связана преимущественно с ЭК, передним обонятельным ядром и ПК, т. е. структурами, в которых обрабатывается обонятельная информация (Witter et al. 1988). Более дорсально расположенная часть ограда преимущественно связана с ОфК, островковой, передней лимбической и поясной областями коры, а также с периринальной корой и субкулюмом. Также она связана с ЭКл (Wang et al. 2017) и с ПфК (Tanné-Gariépy et al. 2002). Одной из основных мишеней передней части ограда является ЭКм, причем нейроны, проецирующиеся в ЭКм, в значительной степени отделены от нейронов, проецирующихся в первичные области коры M1, S1 или V1 (Kitanishi, Matsuo 2017). Полагают, что путь из ограда в ЭКм активируется новым контекстом и влияет на участие ЭКм в контекстуальной памяти (Kitanishi, Matsuo 2017).

Нейроны ограда, проецирующиеся в переднюю поясную кору и в другие лобные области, получают моносинаптические входы от островковой коры. Сенсомоторные области коры преимущественно иннервируют те нейроны ограда, которые не проецируются в переднюю поясную кору. В свою очередь, нейроны ограда, проецирующиеся в первичную сенсомоторную кору, избирательно иннервируют и другие сенсомоторные области (Chia et al. 2020). Эти данные свидетельствуют о том, что связи между оградой и новой корой образуют функциональные модули, которые могут специализироваться для обработки различных типов информации. Следует отметить, что связи между нейронами ограда, проецирующимися в кору, довольно редки, тогда как моносинаптические входы из коры в ограду многочисленны (Kim et al. 2016). Судя по этим данным, рекуррентные возбуждающие цепи только в оградой вряд ли способствуют интеграции разных сенсорных модальностей, но они поддерживают модульный характер обработки. Даже реципрокные связи с оградой всех семи слуховых областей коры, включая первичную область A1, различаются по силе и/или топографии (Beneyto, Prieto 2001). При этом кортикальные проекции в ограду покрывают площади, в значительной степени

перекрывающиеся с теми, которые занимают нейроны ограда, проецирующиеся обратно в ту же область коры (Beneyto, Prieto 2001). Хотя в оградой имеются области, обрабатывающие информацию какой-либо одной определенной сенсорной модальности, она имеет единообразное строение и состоит из одинаковых типов клеток, что указывает на сходство обработки разномодальной информации в этой структуре (Smith, Alloway 2010). Поскольку ограда имеет сильные реципрокные связи с префронтальной и поясной областями коры, а также сильные реципрокные связи с височными и ретрогиппокампальными областями, она может играть решающую роль в различных когнитивных процессах (Wang et al. 2017).

Ретроспленальная кора, которая реципрокно связана с сенсорными областями коры, с передними ядрами таламуса и парагиппокампальной областью (гомолог постринальной коры) (рис. 1), играет важную роль в обработке пространственной информации, участвуя как в навигации, так и в памяти (Czajkowski et al. 2014). Существенный вклад в эти процессы вносит связь ретроспленальной коры с постринальной (парагиппокампальной) областью коры (Bucci, Robinson 2014). Примечательно, что у нейронов ретроспленальной коры наблюдали настройку положения и ориентации стимула, а также ретинотопическую организацию, удивительно сходную с нейронами первичной зрительной коры V1, чьи аксоны, проецируются в ретроспленальную кору (Powell et al. 2020). Эти данные свидетельствуют о стабильных пространственно избирательных отображениях зрительных сигналов в ретроспленальной коре. Инактивация ретроспленальной коры изменяла нормальное расположение полей места в ГИПП, хотя другие электрофизиологические свойства «клеток места» не менялись (Cooper, Mizumori 2001). По мнению авторов указанной работы, ретроспленальная кора и ГИПП являются частями интерактивной нейронной сети, обеспечивающей навигацию.

Ранее полагали, что гиппокампальная формация имеет решающее значение для кодирования информации о координатах, тогда как теменная кора важна для кодирования категорий пространственной информации (Baumann, Mattingley 2014). Однако современные данные указывают на взаимодействие этих структур. Теменная кора участвует в пространственной памяти и навигации, поскольку связана с поясной извилиной, ретроспленальной корой и ГИПП (Rolls et al. 2022b). С теменной корой и ГИПП связаны также вентромедиальная ПфК

и задне-вентральные части поясной извилины, которые эффективно взаимодействуют со зрительными и слуховыми областями коры и обеспечивают обработку и поступление в ГИПП информации «что» (Rolls et al. 2022b). Переднедорзальные отделы поясной извилины, а также ретроспленальная кора связаны со зрительными областями коры, верхней теменной корой и ГИПП. Эти связи обеспечивают обработку информации «где» для формирования эпизодической памяти в ГИПП и пространственной навигации (Rolls et al. 2022b).

Орбитофронтальная кора, которая взаимодействует с обонятельными, височными зрительными и слуховыми областями коры, связана с передней и задней областями поясной коры и гиппокампальной формацией, что позволяет ей участвовать в пространственной памяти и навигации (Rolls et al. 2022a). Примечательно, что в ОфК, как и в вентро-медиальной ПфК и ЭКм, обнаружены «нейроны решетки» (Raithel, Gottfried 2021). Судя по экспериментальным данным, в активности нейронов ОфК формируются пространственные отображения, указывающие на последующую цель движения на протяжении всей пространственной навигации (Basu et al. 2021).

### **Возможные механизмы взаимозависимого функционирования гиппокампальной формации и сенсорных систем**

#### *Возможные механизмы формирования отображений ассоциаций «запах-объект-место» на нейронах гиппокампа*

Возможные механизмы формирования отображений ассоциаций «объект-место» и «запах-объект-место» на нейронах разных частей ГИПП были предложены нами ранее (Силькис 2009; 2021с). Мы полагаем, что нейронные паттерны, отображающие такие ассоциации, вначале формируются в зубчатой извилине (ЗИ), где конвергируют поступающие в ГИПП потоки информации о свойствах объекта из ЭКл и о месте его расположения из ЭКм (рис. 1). Следует отметить, что оба этих потока поступают и в другие поля ГИПП, т. е. в СА3, СА2 и СА1 (Naber et al. 2001). Поэтому, при переносе сигналов от нейронного паттерна, сформированного в ЗИ, к нейронам поля СА3 после суммации с сигналами из ЭКл и ЭКм в активности нейронов поля СА3 формируется более сложный нейронный паттерн, отображающий ассоциацию «запах-объект-место» (Силькис 2021с). Аналогичные процессы последовательно происходят в полях СА2 и СА1. Нами также отмечены

преимущества такого иерархического обобщения и хранения отображений ассоциаций в активности нейронов из разных полей ГИПП (Силькис 2011).

Значительный вклад в формирование ассоциаций «запах-объект-место» вносит поле СА2, расположенное между полями СА3 и СА1. Пирамидные нейроны поля СА2 в дополнение к прямому входу от нейронов слоя II ЭК получают возбуждение из поля СА3 и из ЗИ (Kohara et al. 2014) (рис. 1). На пирамидных нейронах поля СА2 в три раза больше входов из ЭКл, чем на нейронах поля СА1, а ВПСП в 5–6 раз больше, чем в поле СА1. Такого возбуждения из ЭКл достаточно для генерации спайков нейронами поля СА2, но не поля СА1 (Srinivas et al. 2017). Возбуждение, поступающее на проксимальные дендриты нейронов поля СА2 из поля СА3, является слабым (Chevalyere, Siegelbaum 2010). Поскольку возбуждение из ЭК, поступающее на дистальные дендриты нейронов поля СА2, затем преобразуется в сильное возбуждение этих нейронов, поле СА2 способствует продвижению сигналов из ЗИ в поле СА1 (Chevalyere, Siegelbaum 2010). На функционирование нейронов в поле СА2 существенное влияние оказывают нейроны различных ядер гипоталамуса, непосредственно иннервирующие нейроны этого поля и активирующие расположенные на них рецепторы, чувствительные к поступающим из гипоталамуса нейромодуляторам (Benou et al. 2018). С учетом данных о том, что информация о запахе поступает из ЭКл в разные поля ГИПП, а также о том, что нейромодуляторы, поступающие в поле СА2 из гипоталамуса, способствуют индукции длительной потенциации эффективности синаптической передачи в пути СА2-СА1 и суммации возбуждения, поступающего из полей СА3 и СА2 в поле СА1, поле СА2 должно играть существенную роль в формировании ассоциаций «запах-объект-место» на нейронах ГИПП (Силькис 2021с). На то, что благодаря уникальности связей, отличающих поле СА2 от полей СА1 и СА3, а также от ЗИ, это поле может вносить важный вклад в кодирование и запоминание информации о контексте, было указано и ранее (Benou et al. 2018; Hitti, Siegelbaum 2014). Имеются различные свидетельства того, что нейроны поля СА2 участвуют в обработке различных видов информации и в формировании гиппокамп-зависимой памяти (Lehr et al. 2021). В частности, поле СА2 играет важную роль в запоминании и извлечении из памяти информации, связанной

с обонянием (Middleton, McHugh 2020; Stevenson, Caldwell 2014).

Так как информация об отображениях ассоциаций «запах-объект-место», сформированных на нейронах поля СА1, передается от них обратно в ЭК, а также в таламические ядра и через них в кору, то на активность клеток-мишеней ГИПП должна накладываться информация о результатах совместной обработки разномодальной сенсорной информации и пространственном расположении сенсорных стимулов. Следует отметить, что не только поле СА1, но и поле СА2 посылает обратные проекции в ЭК, причем большинство прямых входов из гиппокампа в ЭК начинается не в поле СА1, а в поле СА2 (Rowland et al. 2013). Существенную роль в указанных процессах кроме ЭК должны играть таламические ядра.

*Взаимозависимое функционирование сенсорных систем и гиппокампальной формации в коннектоме*

Возможный механизм функционирования нейронной сети, включающей топографически связанные области неокортекса, гиппокампальной формации, базальных ганглиев, мозжечка, таламуса и связанных с ними подкорковых ядер,

названной коннектомом, был предложен в нашей предшествующей работе (Силькис 2022). С учетом известных результатов морфологических и электрофизиологических исследований было указано на то, что мозжечок может влиять на функционирование ГИПП через таламическое ядро реуниенс, ретроспленальную и префронтальную области коры, а также через медиальную перегородку и супрамамиллярное ядро гипоталамуса, которые иннервируют разные части ГИПП (рис. 2). В свою очередь, ГИПП может влиять на функционирование мозжечка через неокортекс и ядра моста, а также через базальные ганглии, мишенями выходных ядер которых являются субталамическое и педункулопонтинное ядра (Силькис 2022).

В основе функционирования каждого из топографически организованных коннектов лежат дофамин-зависимые перестройки эффективности синаптической передачи и активности нейронов в цепях кора-базальные ганглии-таламус-кора, а также связанных с ними структурах (Силькис 2014; 2021а; 2021b; 2022). В каждом из таких коннектов происходит обработка свойств сенсорных стимулов разных модальностей. Дофамин также влияет на функционирование

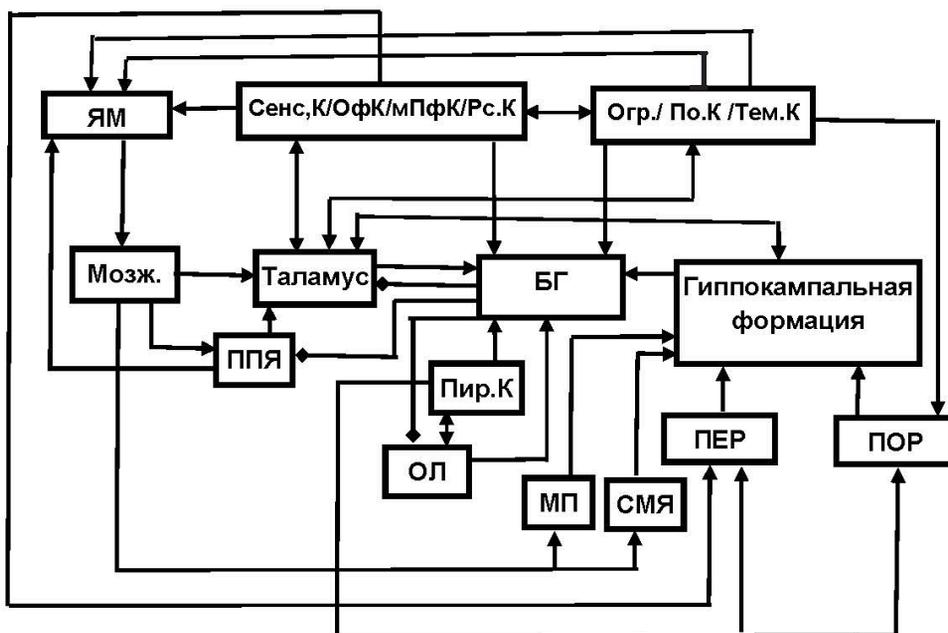


Рис. 2. Упрощенная схема коннектома, связывающего гиппокампальную формацию с корой, таламусом, базальными ганглиями, мозжечком и другими подкорковыми структурами. Области коры: Сенс. К, Огр., Тем. К, ПЕР, ПОР — сенсорные, ограда, теменная, периринальная, постринальная. БГ — базальные ганглии; Мозж. — мозжечок; ППЯ — педункулопонтинное ядро; СМЯ — супрамамиллярное ядро; МП — медиальная перегородка; ЯМ — ядра моста. Линии с ромбами — тормозные входы. Остальные обозначения как на рис. 1

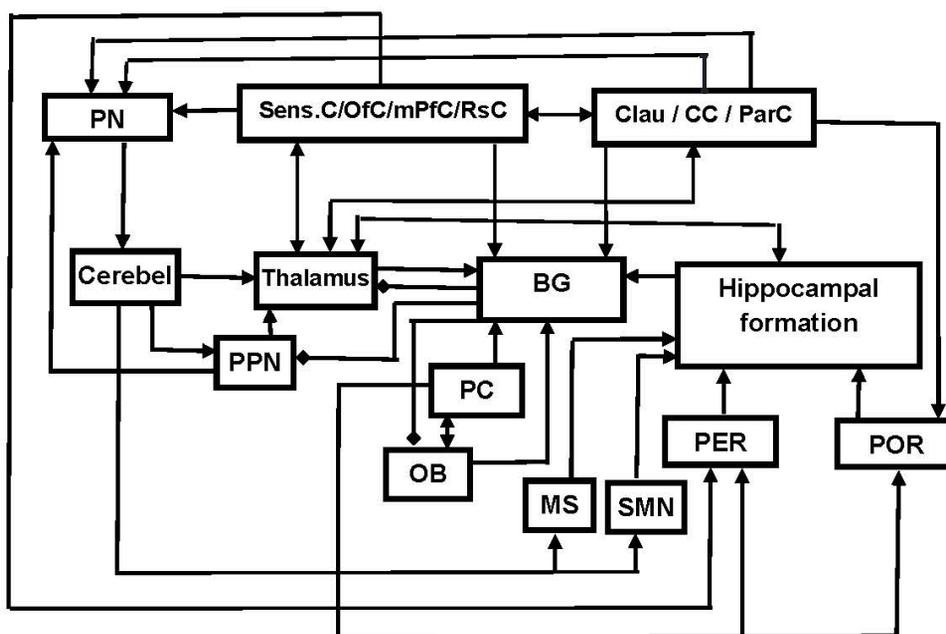


Fig. 2. A simplified scheme of the connectome connecting the hippocampal formation with the cortex, thalamus, basal ganglia, cerebellum and other subcortical structures. Cortical areas: Sens. C—sensory; Clau.—claustrum; Par.C—parietal; PER—perirhinal; POR—postrhinal. BG—basal ganglia. Crb.—cerebellum. PPN—pedunculopontine nucleus. SMN—supramammillary nucleus. MS—medial septum. PN—pontine nuclei. Lines with rhombs—inhibitory inputs. For the other abbreviations see Fig. 1

ГИПП и связанное с ним пространственное обучение (Силькис 2016). В частности, дофамин улучшает условия формирования отображений ассоциаций «объект-место» на пирамидных клетках поля CA1, и эти отображения меньше искажаются не относящейся к ним информацией, поступающей из ЭК и таламуса (Силькис 2016). Также дофамин влияет на функционирование таламуса и мозжечка (Силькис 2021a; 2021b; 2022). Пластические перестройки выявлены и в цепи, связывающей поле CA1 с мПФК и медиодорзальным ядром таламуса (Vueno-Junior et al. 2018). Дисфункции в этих взаимодействиях приводят к когнитивному дефициту.

В современной литературе также обсуждают данные, посвященные функциональным и анатомическим многоуровневым взаимодействиям мозжечка и ГИПП, а также роли этих взаимодействий в целенаправленной навигации (Rondi-Reig et al. 2022). Например, подчеркивается, что связи мозжечка позволяют ему комбинировать разнообразные сенсорные сигналы и влиять на пространственную карту в ГИПП (Rondi-Reig et al. 2014). При этом важную роль играют связи с теменной корой. В нее топографически организованным образом через таламус проецируются нейроны глубоких ядер мозжечка (Giannetti, Molinari 2002). Выявлено участие

в пространственной навигации топографически организованного динамического взаимодействия дорсального ГИПП с ограниченными участками областей мозжечка (Watson et al. 2019).

Нами учтено то обстоятельство, что для взаимодействия базальных ганглиев с дофаминергическими структурами характерна спиральная организация. Поэтому изменения активности в лимбических цепях кора-базальные ганглии-таламус-кора (они включают и гиппокампальную формацию) влияют на процессы в сенсорных цепях, а последние влияют на процессы в моторной цепи (Joel, Weiner 2000). Исследования показали, что при выполнении поведенческих задач в активность последовательно вовлекаются разные части всеобъемлющего коннектома (Fermin et al. 2016). Вначале активизируется цепь, включающая вентромедиальную ПФК, вентральный стриатум и заднюю часть мозжечка. По мере прогресса обучения активизируется ассоциативная когнитивная цепь, включающая дорзолатеральную ПФК, дорзомедиальный стриатум и латеральную заднюю часть мозжечка. Затем активность смещается в моторную цепь, которая включает дополнительную моторную область коры, скорлупу стриатума и переднюю часть мозжечка (Bostan, Strick 2018). Таким образом, обработка поступающей

информации, выбор команды для целенаправленного поведения и его осуществление являются результатом функционирования всех частей коннектома.

С учетом топографической организации связей между структурами выдвинуто предположение, что мозг можно рассматривать как всеобъемлющий коннектом, состоящий из отдельных, сходным образом функционирующих коннектомов, каждый из которых участвует в обработке определенного вида информации (Силькис 2022). С учетом механизма, предлагаемого в настоящей работе, в каждом из коннектомов одновременно обрабатываются сенсорная и пространственная информация, а в основе динамических перестроек активности «клеток места» в разных структурах лежат длительные пластические перестройки эффективности синаптической передачи между всеми нейронами в коннектоме.

Полагают, что пространственная навигация по своей сути является динамичным и мультимодальным процессом, который может служить модельной системой в когнитивной нейробиологии (Chersi, Burgess 2015; Ekstrom et al. 2017). В работе (Chersi, Burgess 2015) проведен анализ особенностей обучения с подкреплением и воздействием на стриатум (входную структуру базальных ганглиев), основанного на эгоцентрических отображениях сенсорных состояний и Хеббовской ассоциации сенсорной информации с аллоцентрическими отображениями состояний в ГИПП, а также оценку выходных данных обеих систем в мПФК. Авторы работы (Ekstrom et al. 2017) полагают, что пространственные отображения включают континуум сетевых взаимодействий, сосредоточенных в ретроспленальной и задней теменной коре. В предлагаемом нами механизме в пространственной навигации участвуют различные области коры, включая первичные сенсорные, ассоциативные и высшие, которые связаны друг с другом, таламусом, ГИПП и базальными ганглиями.

*Следствия предлагаемого механизма и их сопоставление с известными экспериментальными данными*

Из предлагаемого механизма формирования ассоциаций «запах-объект-место» следует, что наличие запаха может усилить активность «клеток места» в поле CA1 за счет дополнительной активации нейронов в этом поле со стороны «клеток места» в поле CA2. Действительно показано, что во время обучения задаче, в которой ориентирами являлись запахи, они улучшали

отображение пространства «клетками места» в поле CA1 и значительно облегчали навигацию (Fischler-Ruiz et al. 2021). Предъявление одного и того же запаха в разных локусах порождало разные отображения этих локусов «клетками места». Сигнальный запах увеличивал плотность «клеток места», а также приводил к образованию «клеток места» за пределами локализации сигнала (Fischler-Ruiz et al. 2021). Это способствовало распознаванию второго, более отдаленного сигнального запаха в качестве отдельного ориентира (Fischler-Ruiz et al. 2021). У «клеток места» поля CA1, вовлеченных в управляемую запахом устойчивую виртуальную навигацию, проявлялись свойства, аналогичные тем, которые характерны для навигации в условиях визуального наблюдения за средой (Radvansky, Dombek 2018). Из этого следует, что при навигации, основанной на сигналах различных сенсорных модальностей, используются сходные когнитивные карты. Хотя «поля места» следуют за вращением только зрительных сигналов, обонятельные сигналы все же влияют на отображение пространства в ГИПП. Так, удаление знакомых запахов серьезно нарушало как долговременную стабильность, так и поворот к зрительным стимулам в новой среде (Aikath et al. 2014). По мнению авторов указанной работы, запахи со временем становятся неотъемлемой частью контекста и оказывают сильное влияние на его стабильность. Современный анализ показал, что ЭКл, которая является центром интеграции мультисенсорной информации, играет важную роль в формировании эпизодической памяти до ГИПП и в долговременной ассоциативной памяти «запах-контекст» (Persson et al. 2022). Крысы с поражением ЭКл нормально распознавали объекты и места их расположения, но независимо друг от друга (Wilson et al. 2013).

Из предлагаемого механизма следует, что и другие сенсорные стимулы, такие как звуковые или тактильные, также участвуют в пространственном картировании, поскольку информация о них, как и о запахах, поступает во все поля ГИПП через ЭКл. Показано, что слепые люди могут демонстрировать исключительные способности к слуховой пространственной обработке, и что такие улучшенные характеристики могут быть неразрывно связаны с вовлечением затылочных областей, лишенных своих нормальных зрительных входов (Collignon et al. 2009). Такие данные подчеркивают способность мозга перепрограммировать свои структуры, чтобы компенсировать нарушение зрения. Вовлечение затылочных зрительных областей в обработку информации другой модальности

характерно не только для лиц, потерявших зрение в раннем младенчестве, но и при потере зрения в более позднем возрасте. Судя по этим данным, даже у зрячих людей затылочные области играют более важную роль в пространственной обработке звуков, чем предполагалось ранее. Имеются данные о том, что у мышей имеются модально-инвариантные нейроны, отображающие абстрактную поведенчески релевантную координату независимо от ее физической модальности (Radvansky et al. 2021). По-видимому, ГИПП отображает пространство не как одну физическую переменную, а как комбинацию сенсорных и абстрактных систем отсчета, определяемых поведенческой целью (Radvansky et al. 2021).

Существует мнение, что ГИПП и хвостатое ядро стриатума (входная структура базальных ганглиев) имеют решающее значение для навигации, основанной на пространственной реакции и реакции на сенсорный стимул соответственно (Dahmani, Bohbot 2015). Авторы указанной работы, базируясь на полученных ими экспериментальных данных, предположили, что вентромедиальная ПФК, включая ОфК, поддерживает пространственное обучение, кодируя ассоциации стимул-вознаграждение, в то время как дорсомедиальная ПФК поддерживает обучение, кодируя ассоциацию действие-вознаграждение. С точки зрения механизма, предлагаемого в настоящей работе, при решении многообразных задач ГИПП и базальные ганглии в целом, включая не только хвостатое ядро стриатума, но и вентральную часть стриатума, в которую проецируются ГИПП и ПФК, а также выходные ядра базальных ганглиев (проецирующиеся в таламические ядра), функционируют взаимозависимо.

### Заключение

В обзоре (Chao et al. 2022) на основе анализа современных экспериментальных данных отмечено, что память распознавания объектов и места их расположения базируется на процессах в нейронных цепях, связанных с мПфК и ГИПП. При определенных условиях в процессы памяти вовлекаются периринальная, энторинальная и ретроспленальная области коры таламические ядра реуниенс, медиодорзальное и передние, а также стриатум, мозжечок и нейромодуляторные структуры, включая медиальную перегородку. У человека, кроме поступающих в ГИПП через ЭКл и ЭКм потоков информации, имеются обширные корковые

входы, которые в обход ЭК соединяют ГИПП с периринальной и парагиппокампальной областями коры, с ретроспленальной корой и даже с ранними сенсорными областями коры (Huang et al. 2021; Ma et al. 2022). Поскольку корковые связи менее иерархичны и разделены, чем это принято в схеме для двух потоков через ЭКл и ЭКм, одним из следствий такой организации связей является то, что парагиппокампальная и периринальная области коры могут выполнять специализированную обработку информации, используя данные от потоков «что» и «где» (Huang et al. 2021).

С учетом проведенного анализа функциональных взаимодействий разных областей коры, гиппокампальной формации, связанных с ними таламических ядер и мозжечка, нами внесены дополнения в предложенный ранее возможный механизм формирования отображений ассоциаций «запах-объект-место» на нейронах ГИПП (Силькис 2021с). Предлагаемый механизм взаимозависимой обработки информации в коннектоме может лежать в основе экспериментально наблюдавшихся «клеток места» в разных областях коры и влияния разномодальной сенсорной информации на функционирование «клеток места» в ГИПП и на пространственную навигацию.

### Список сокращений

ГИПП — гиппокамп; ЗИ — зубчатая извилина; мПфК — медиальная префронтальная кора; ОфК — орбитофронтальная кора; ПК — пириформная кора; ПФК — префронтальная кора; ЭК — энторинальная кора; ЭКл и ЭКм — латеральная и медиальная части энторинальной коры, соответственно.

### Abbreviations

HIPP—hippocampus; DG—dentate gyrus; mPFC—medial prefrontal cortex; OfC—orbitofrontal cortex; PC—piriform cortex; PfC—prefrontal cortex; EC—entorhinal cortex; ECl and ECm—lateral and medial parts of the entorhinal cortex, respectively.

### 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.

## Литература

- Силькис, И. Г. (2009) Участие трисинаптического гиппокампального пути в формировании нейронных отображений ассоциаций «объект–место» (аналитический обзор). *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*, т. 59, № 6, с. 643–659.
- Силькис, И. Г. (2011) Преимущества иерархического обобщения и хранения отображений ассоциаций «объект–место» в полях гиппокампа (Гипотеза). *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*, т. 61, № 1, с. 5–23.
- Силькис, И. Г. (2014) Механизмы взаимозависимого влияния префронтальной коры, гиппокампа и миндалина на функционирование базальных ганглиев и выбор поведения. *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*, т. 64, № 1, с. 82–100. <https://doi.org/10.7868/S0044467714010110>
- Силькис, И. Г. (2016) Вклад дофамина в функционирование гиппокампа при пространственном обучении (гипотетический механизм). *Нейрохимия*, т. 33, № 1, с. 42–55. <https://doi.org/10.7868/S1027813316010131>
- Силькис, И. Г. (2021a) Влияние дофамина на взаимозависимое функционирование мозжечка, базальных ганглиев и новой коры (гипотетический механизм). *Успехи физиологических наук*, т. 52, № 1, с. 49–63. <https://doi.org/10.31857/S0301179821010094>
- Силькис, И. Г. (2021b) Возможные механизмы взаимозависимого участия базальных ганглиев и мозжечка в функционировании двигательных и сенсорных систем. *Интегративная физиология*, т. 2, № 2, с. 135–146. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-2-135-146>
- Силькис, И. Г. (2021c) Участие ядер гипоталамуса в формировании ассоциаций «объект–место» на нейронах поля СА2 гиппокампа (гипотетический механизм). *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*, т. 71, № 2, с. 147–163. <https://doi.org/10.31857/S0044467721020106>
- Силькис, И. Г. (2022) Механизмы функционирования коннектома, включающего неокортекс, гиппокамп, базальные ганглии, мозжечок и таламус. *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*, т. 72, № 1, с. 36–54. <https://doi.org/10.31857/S0044467722010105>
- Aikath, D., Weible, A. P., Rowland, D. C., Kentros, C. G. (2014) Role of self-generated odor cues in contextual representation. *Hippocampus*, vol. 24, no. 8, pp. 1039–1051. <https://doi.org/10.1002/hipo.22289>
- Alexander, G. M., Farris, S., Pirone, J. R. et al. (2016) Social and novel contexts modify hippocampal CA2 representations of space. *Nature Communications*, vol. 7, article 10300. <https://doi.org/10.1038/ncomms10300>
- Ali, M., Cholvin, T., Muller, M. A. et al. (2017) Environmental enrichment enhances systems-level consolidation of a spatial memory after lesions of the ventral midline thalamus. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 141, pp. 108–123. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.03.021>
- Amaro, D., Ferreira, D. N., Grothe, B., Pecka, M. (2021) Source identity shapes spatial preference in primary auditory cortex during active navigation. *Current Biology*, vol. 31, no. 17, pp. 3875–3883.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.06.025>
- Aronov, D., Nevers, R., Tank, D. W. (2017) Mapping of a non-spatial dimension by the hippocampal-entorhinal circuit. *Nature*, vol. 543, no. 7647, pp. 719–722. <https://doi.org/10.1038/nature21692>
- Aqrabawi, A. J., Kim, J. C. (2018) Hippocampal projections to the anterior olfactory nucleus differentially convey spatiotemporal information during episodic odour memory. *Nature Communications*, vol. 9, no. 1, article 2735. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05131-6>
- Aqrabawi, A. J., Kim, J. C. (2020) Olfactory memory representations are stored in the anterior olfactory nucleus. *Nature Communications*, vol. 11, no. 1, article 1246. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15032-2>
- Basu, R., Gebauer, R., Herfurth, T. et al. (2021) The orbitofrontal cortex maps future navigational goals. *Nature*, vol. 599, no. 7885, pp. 449–452. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04042-9>
- Baumann, O., Mattingley, J. B. (2014) Dissociable roles of the hippocampus and parietal cortex in processing of coordinate and categorical spatial information. *Frontiers in Human Neuroscience*, vol. 8, article 73. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00073>
- Beneyto, M., Prieto, J. J. (2001) Connections of the auditory cortex with the claustrum and the endopiriform nucleus in the cat. *Brain Research Bulletin*, vol. 54, no. 5, pp. 485–498. [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(00\)00454-8](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(00)00454-8)
- Benoy, A., Dasgupta, A., Sajikumar, S. (2018) Hippocampal area CA2: An emerging modulatory gateway in the hippocampal circuit. *Experimental Brain Research*, vol. 236, no. 4, pp. 919–931. <https://doi.org/10.1007/s00221-018-5187-5>
- Bhasin, G., Nair, I. R. (2022) Dynamic hippocampal CA2 responses to contextual spatial novelty. *Frontiers in System Neuroscience*, vol. 16, article 923911. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2022.923911>
- Bostan, A. C., Strick, P. L. (2018) The basal ganglia and the cerebellum: Nodes in an integrated network. *Nature Review Neuroscience*, vol. 19, no. 7, pp. 338–350. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0002-7>
- Brennan, E. K., Jedrasiak-Cape, I., Kailasa, S. K. et al. (2021) Thalamus and claustrum control parallel layer 1 circuits in retrosplenial cortex. *eLife*, vol. 10, article e62207. <https://doi.org/10.7554/eLife.62207>
- Bucci, D. J., Robinson, S. (2014) Toward a conceptualization of retrohippocampal contributions to learning and memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 116, pp. 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.05.007>

- Bueno-Junior, L. S., Leite, J. P. (2018) Input convergence, synaptic plasticity and functional coupling across hippocampal-prefrontal-thalamic circuits. *Frontiers in Neural Circuits*, vol. 12, article 40. <https://doi.org/10.3389/fncir.2018.00040>
- Bueno-Junior, L. S., Peixoto-Santos, J. E., Ruggiero, R. N. et al. (2018) Interaction between hippocampal-prefrontal plasticity and thalamic-prefrontal activity. *Scientific Reports*, vol. 8, no. 1, article 1382. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19540-6>
- Burwell, R. D., Amaral, D. G. (1998) Cortical afferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 398, no. 2, pp. 179–205. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(19980824\)398:2<179::aid-cne3>3.0.co;2-y](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(19980824)398:2<179::aid-cne3>3.0.co;2-y)
- Burwell, R. D., Hafeman, D. M. (2003) Positional firing properties of postrhinal cortex neurons. *Neuroscience*, vol. 119, no. 2, pp. 577–588. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(03\)00160-x](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(03)00160-x)
- Chan, C. C. H., Wong, A. W. K., Ting, K.-H. et al. (2012) Cross auditory-spatial learning in early-blind individuals. *Human Brain Mapping*, vol. 33, no. 11, pp. 2714–2727. <https://doi.org/10.1002/hbm.21395>
- Chao, O. Y., Nikolaus, S., Yang, Y.-M., Huston, J. P. (2022) Neuronal circuitry for recognition memory of object and place in rodent models. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 141, article 104855. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104855>
- Chersi, F., Burgess, N. (2015) The cognitive architecture of spatial navigation: Hippocampal and striatal contributions. *Neuron*, vol. 88, no. 1, pp. 64–77. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.021>
- Chevalyere, V., Siegelbaum, S. A. (2010) Strong CA2 pyramidal neuron synapses define a powerful disinaptic cortico-hippocampal loop. *Neuron*, vol. 66, no. 4, pp. 560–572. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.04.013>
- Chia, Z., Augustine, G. J., Silberberg, G. (2020) Synaptic connectivity between the cortex and claustrum is organized into functional modules. *Current Biology*, vol. 30, no. 14, pp. 2777–2790.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.05.031>
- Cholvin, T., Hok, V., Giorgi, L. et al. (2018) Ventral midline thalamus is necessary for hippocampal place field stability and cell firing modulation. *Journal of Neuroscience*, vol. 38, no. 1, pp. 158–172. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2039-17.2017>
- Collignon, O., Voss, P., Lassonde, M., Lepore, F. (2009) Cross-modal plasticity for the spatial processing of sounds in visually deprived subjects. *Experimental Brain Research*, vol. 192, no. 3, pp. 343–358. <https://doi.org/10.1007/s00221-008-1553-z>
- Cooper, B. G., Mizumori, S. J. (2001) Temporary inactivation of the retrosplenial cortex causes a transient reorganization of spatial coding in the hippocampus. *Journal of Neuroscience*, vol. 21, no. 11, pp. 3986–4001. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-11-03986.2001>
- Czajkowski, R., Jayaprakash, B., Wiltgen, B. et al. (2014) Encoding and storage of spatial information in the retrosplenial cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 111, no. 23, pp. 8661–8666. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313222111>
- Dahmani, L., Bohbot, V. D. (2015) Dissociable contributions of the prefrontal cortex to hippocampus- and caudate nucleus-dependent virtual navigation strategies. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 117, pp. 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.07.002>
- Dahmani, L., Patel, R. M., Yang, Y. et al. (2018) An intrinsic association between olfactory identification and spatial memory in humans. *Nature Communications*, vol. 9, no. 1, article 4162. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06569-4>
- Deshmukh, S. S., Johnson, J. L., Knierim, J. J. (2012) Perirhinal cortex represents nonspatial, but not spatial, information in rats foraging in the presence of objects: Comparison with lateral entorhinal cortex. *Hippocampus*, vol. 22, no. 10, pp. 2045–2058. <https://doi.org/10.1002/hipo.22046>
- Ekstrom, A. D., Huffman, D. J., Starrett, M. (2017) Interacting networks of brain regions underlie human spatial navigation: A review and novel synthesis of the literature. *Journal of Neurophysiology*, vol. 118, no. 6, pp. 3328–3344. <https://doi.org/10.1152/jn.00531.2017>
- Esteves, I. M., Chang, H., Neumann, A. R. et al. (2021) Spatial information encoding across multiple neocortical regions depends on an intact hippocampus. *Journal of Neuroscience*, vol. 41, no. 2, pp. 307–319. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1788-20.2020>
- Fermin, A. S., Yoshida, T., Yoshimoto, J. et al. (2016) Model-based action planning involves cortico-cerebellar and basal ganglia networks. *Scientific Reports*, vol. 6, article 31378. <https://doi.org/10.1038/srep31378>
- Fischer, L. F., Soto-Albors, R. M., Buck, F., Harnett, M. T. (2020) Representation of visual landmarks in retrosplenial cortex. *eLife*, vol. 9, article e51458. <https://doi.org/10.7554/eLife.51458>
- Fischler-Ruiz, W., Clark, D. G., Joshi, N. R. et al. (2021) Olfactory landmarks and path integration converge to form a cognitive spatial map. *Neuron*, vol. 109, no. 24, pp. 4036–4049.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.09.055>
- Fournier, J., Saleem, A. B., Diamanti, E. M. et al. (2020) Mouse visual cortex is modulated by distance traveled and by theta oscillations. *Current Biology*, vol. 30, no. 19, pp. 3811–3817.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.07.006>
- Frost, B. E., Martin, S. K., Cafalchio, M. et al. (2021) Anterior thalamic inputs are required for subiculum spatial coding, with associated consequences for hippocampal spatial memory. *Journal of Neuroscience*, vol. 41, no. 30, pp. 6511–6525. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2868-20.2021>

- Gener, T., Perez-Mendez, L., Sanchez-Vives, M. V. (2013) Tactile modulation of hippocampal place fields. *Hippocampus*, vol. 23, no. 12, pp. 1453–1462. <https://doi.org/10.1002/hipo.22198>
- Giannetti, S., Molinari, M. (2002) Cerebellar input to the posterior parietal cortex in the rat. *Brain Research Bulletin*, vol. 58, no. 5, pp. 481–489. [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(02\)00815-8](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(02)00815-8)
- Griffin, A. L. (2021) The nucleus reuniens orchestrates prefrontal-hippocampal synchrony during spatial working memory. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 128, pp. 415–420. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.05.033>
- Hallock, H. L., Wang, A., Shaw, C. L., Griffin, A. L. (2013) Transient inactivation of the thalamic nucleus reuniens and rhomboid nucleus produces deficits of a working-memory dependent tactile-visual conditional discrimination task. *Behavioral Neuroscience*, vol. 127, no. 6, pp. 860–866. <https://doi.org/10.1037/a0034653>
- Hitti, F. L., Siegelbaum, S. A. (2014) The hippocampal CA2 region is essential for social memory. *Nature*, vol. 508, no. 7494, pp. 88–92. <https://doi.org/10.1038/nature13028>
- Huang, C.-C., Rolls, E. T., Hsu, C.-C. H. et al. (2021) Extensive cortical connectivity of the human hippocampal memory system: Beyond the “what” and “where” dual stream model. *Cerebral Cortex*, vol. 31, no. 10, pp. 4652–4669. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhab113>
- Jacob, P.-Y., Van Cauter, T., Poucet, B. et al. (2020) Medial entorhinal cortex lesions induce degradation of CA1 place cell firing stability when self-motion information is used. *Brain and Neuroscience Advances*, vol. 4, article 2398212820953004. [Online]. Available at: <https://doi.org/10.1177/2398212820953004> (accessed 20.01.2023).
- Jankowski, M. M., Islam, N., O’Mara, S. M. (2017) Dynamics of spontaneous local field potentials in the anterior claustrum of freely moving rats. *Brain Research*, vol. 1677, pp. 101–117. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.09.021>
- Jankowski, M. M., O’Mara, S. M. (2015) Dynamics of place, boundary and object encoding in rat anterior claustrum. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, vol. 9, article 250. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00250>
- Jeffery, K. J. (2007) Integration of the sensory inputs to place cells: What, where, why, and how? *Hippocampus*, vol. 17, no. 9, pp. 775–785. <https://doi.org/10.1002/hipo.20322>
- Joel, D., Weiner, I. (2000) The connections of the dopaminergic system with the striatum in rats and primates: An analysis with respect to the functional and compartmental organization of the striatum. *Neuroscience*, vol. 96, no. 3, pp. 451–474. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(99\)00575-8](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(99)00575-8)
- Jorge, P. E., Phillips, J. B., Gonçalves, A. et al. (2014) Odours stimulate neuronal activity in the dorsolateral area of the hippocampal formation during path integration. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 281, no. 1783, article 20140025. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.0025>
- Jung, D., Huh, Y., Cho, J. (2019) The ventral midline thalamus mediates hippocampal spatial information processes upon spatial cue changes. *Journal of Neuroscience*, vol. 39, no. 12, pp. 2276–2290. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2127-18.2019>
- Kaitz, S. S., Robertson, R. T. (1981) Thalamic connections with limbic cortex. II. Corticothalamic projections. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 195, no. 3, pp. 527–545. <https://doi.org/10.1002/cne.901950309>
- Kazarian, A. L., Hekimian, A. A., Harutiunian-Kozak, B. A. et al. (1995) Responses of cat’s dorsal hippocampal neurones to moving visual stimuli. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, vol. 55, no. 2, pp. 99–107. PMID: 7660867
- Keene, C. S., Bladon, J., McKenzie, S. et al. (2016) Complementary functional organization of neuronal activity patterns in the perirhinal, lateral entorhinal, and medial entorhinal cortices. *Journal of Neuroscience*, vol. 36, no. 13, pp. 3660–3675. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4368-15.2016>
- Kesner, R. P., Hunsaker, M. R., Ziegler, W. (2011) The role of the dorsal and ventral hippocampus in olfactory working memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 96, no. 2, pp. 361–366. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2011.06.011>
- Kim, J., Matney, C. J., Roth, R. H., Brown, S. P. (2016) Synaptic organization of the neuronal circuits of the claustrum. *Journal of Neuroscience*, vol. 36, no. 3, pp. 773–784. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3643-15.2016>
- Kitanishi, T., Matsuo, N. (2017) Organization of the claustrum-to-entorhinal cortical connection in mice. *Journal of Neuroscience*, vol. 37, no. 2, pp. 269–280. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1360-16.2016>
- Knierim, J. J., Lee, I., Hargreaves, E. L. (2006) Hippocampal place cells: Parallel input streams, subregional processing, and implications for episodic memory. *Hippocampus*, vol. 16, no. 9, pp. 755–764. <https://doi.org/10.1002/hipo.20203>
- Kohara, K., Pignatelli, M., Rivest, A. J. et al. (2014) Cell type-specific genetic and optogenetic tools reveal hippocampal CA2 circuits. *Nature Neuroscience*, vol. 17, no. 2, pp. 269–279. <https://doi.org/10.1038/nn.3614>
- Lehr, A. B., Kumar, A., Tetzlaff, C. et al. (2021) CA2 beyond social memory: Evidence for a fundamental role in hippocampal information processing. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 126, pp. 398–412. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.03.020>
- Levinson, M., Kolenda, J. P., Alexandrou, G. J. et al. (2020) Context-dependent odor learning requires the anterior olfactory nucleus. *Behavioral Neuroscience*, vol. 134, no. 4, pp. 332–343. <https://doi.org/10.1037/bne0000371>
- Long, X., Zhang, S.-J. (2021) A novel somatosensory spatial navigation system outside the hippocampal formation. *Cell Research*, vol. 31, no. 6, pp. 649–663. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-00448-8>

- Loureiro, M., Cholvin, T., Lopez, J. et al. (2012) The ventral midline thalamus (reuniens and rhomboid nuclei) contributes to the persistence of spatial memory in rats. *Journal of Neuroscience*, vol. 32, no. 29, pp. 9947–9959. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0410-12.2012>
- Ma, Q., Rolls, E. T., Huang, C.-C. et al. (2022) Extensive cortical functional connectivity of the human hippocampal memory system. *Cortex*, vol. 147, pp. 83–101. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2021.11.014>
- Mankin, E. A., Diehl, G. W., Sparks, F. T. et al. (2015) Hippocampal CA2 activity patterns change over time to a larger extent than between spatial contexts. *Neuron*, vol. 85, no. 1, pp. 190–201. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.12.001>
- Mathiasen, M. L., Nelson, A. J. D., Amin, E. et al. (2021) A direct comparison of afferents to the rat anterior thalamic nuclei and nucleus reuniens: Overlapping but different. *eNeuro*, vol. 8, no. 5. [Online]. Available at: <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0103-20.2021> (accessed 20.01.2023).
- Mathiasen, M. L., O'Mara, S. M., Aggleton, J. P. (2020) The anterior thalamic nuclei and nucleus reuniens: So similar but so different. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 119, pp. 268–280. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.10.006>
- Middleton, S. J., McHugh, T. J. (2020) CA2: A highly connected intrahippocampal relay. *Annual Review of Neuroscience*, vol. 43, pp. 55–72. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-080719-100343>
- Moita, M. A. P., Rosis, S., Zhou, Y. et al. (2003) Hippocampal place cells acquire location-specific responses to the conditioned stimulus during auditory fear conditioning. *Neuron*, vol. 37, no. 3, pp. 485–497. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00033-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00033-3)
- Naber, P. A., Lopes da Silva, F. H., Witter, M. P. (2001) Reciprocal connections between the entorhinal cortex and hippocampal fields CA1 and the subiculum are in register with the projections from CA1 to the subiculum. *Hippocampus*, vol. 11, no. 2, pp. 99–104. <https://doi.org/10.1002/hipo.1028>
- Nelken, I. (2004) Processing of complex stimuli and natural scenes in the auditory cortex. *Current Opinion in Neurobiology*, vol. 14, no. 4, pp. 474–480. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2004.06.005>
- Nelken, I., Fishbach, A., Las, L. et al. (2003) Primary auditory cortex of cats: Feature detection or something else? *Biological Cybernetics*, vol. 89, no. 5, pp. 397–406. <https://doi.org/10.1007/s00422-003-0445-3>
- Nelson, A. J. D. (2021) The anterior thalamic nuclei and cognition: A role beyond space? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 126, pp. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.02.047>
- Nitz, D. (2009) Parietal cortex, navigation, and the construction of arbitrary reference frames for spatial information. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 91, no. 2, pp. 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2008.08.007>
- O'Mara, S. M., Aggleton, J. P. (2019) Space and memory (far) beyond the hippocampus: Many subcortical structures also support cognitive mapping and mnemonic processing. *Frontiers in Neural Circuits*, vol. 13, article 52. <https://doi.org/10.3389/fncir.2019.00052>
- Persson, B. M., Ambrozova, V., Duncan, S. et al. (2022) Lateral entorhinal cortex lesions impair odor-context associative memory in male rats. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 100, no. 4, pp. 1030–1046. <https://doi.org/10.1002/jnr.25027>
- Poucet, B., Lenck-Santini, P.-P., Paz-Villagrán, V., Save, E. (2003) Place cells, neocortex and spatial navigation: A short review. *Journal of Physiology Paris*, vol. 97, no. 4-6, pp. 537–546. <https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2004.01.011>
- Poucet, B., Save, E., Lenck-Santini, P.-P. (2000) Sensory and memory properties of hippocampal place cells. *Reviews in the Neurosciences*, vol. 11, no. 2-3, pp. 95–111. <https://doi.org/10.1515/revneuro.2000.11.2-3.95>
- Powell, A., Connelly, W. M., Vasalaukaite, A. et al. (2020) Stable encoding of visual cues in the mouse retrosplenial cortex. *Cerebral Cortex*, vol. 30, no. 8, pp. 4424–4437. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhaa030>
- Radvansky, B. A., Dombeck, D. A. (2018) An olfactory virtual reality system for mice. *Nature Communications*, vol. 9, no. 1, article 839. <http://doi.org/10.1038/s41467-018-03262-4>
- Radvansky, B. A., Oh, J. Y., Climer, J. R., Dombeck, D. A. (2021) Behavior determines the hippocampal spatial mapping of a multisensory environment. *Cell Reports*, vol. 36, no. 5, article 109444. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109444>
- Raithel, C. U., Gottfried, J. A. (2021) What are grid-like responses doing in the orbitofrontal cortex? *Behavioral Neuroscience*, vol. 135, no. 2, pp. 218–225. <https://doi.org/10.1037/bne0000453>
- Ravassard, P., Kees, A., Willers, B. et al. (2013) Multisensory control of hippocampal spatiotemporal selectivity. *Science*, vol. 340, no. 6138, pp. 1342–1346. <https://doi.org/10.1126/science.1232655>
- Rizzello, E., Martin, S. K., Rouine, J. et al. (2022) Place cells in the claustrum remap under NMDA receptor control. *European Journal of Neuroscience*, vol. 56, no. 2, pp. 3825–3838. <https://doi.org/10.1111/ejn.15726>
- Robertson, R. T., Kaitz, S. S. (1981) Thalamic connections with limbic cortex. I. Thalamocortical projections. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 195, no. 3, pp. 501–525. <https://doi.org/10.1002/cne.901950308>
- Rogers, J. L., Kesner, R. P. (2006) Lesions of the dorsal hippocampus or parietal cortex differentially affect spatial information processing. *Behavioral Neuroscience*, vol. 120, no. 4, pp. 852–860. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.120.4.852>
- Rolls, E. T., Deco, G., Huang, C.-C., Feng, J. (2022a) The human orbitofrontal cortex, vmPFC, and anterior cingulate cortex effective connectome: Emotion, memory, and action. *Cerebral Cortex*, vol. 33, no. 2, pp. 330–356. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhac070>

- Rolls, E. T., Wirth, S., Deco, G. et al. (2022b) The human posterior cingulate, retrosplenial, and medial parietal cortex effective connectome, and implications for memory and navigation. *Human Brain Mapping*, vol. 44, no. 2, pp. 629–655. <https://doi.org/10.1002/hbm.26089>
- Rondi-Reig, L., Paradis, A.-L., Fallahnezhad, M. (2022) A Liaison brought to light: Cerebellum-hippocampus, partners for spatial cognition. *Cerebellum*, vol. 21, no. 5, pp. 826–837. <https://doi.org/10.1007/s12311-022-01422-3>
- Rondi-Reig, L., Paradis, A.-L., Lefort, J. M. et al. (2014) How the cerebellum may monitor sensory information for spatial representation. *Frontiers in System Neuroscience*, vol. 8, article 205. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00205>
- Rowland, D. C., Weible, A. P., Wickersham, I. R. et al. (2013) Transgenically targeted rabies virus demonstrates a major monosynaptic projection from hippocampal area CA2 to medial entorhinal layer II neurons. *Journal of Neuroscience*, vol. 33, no. 37, pp. 14889–14898. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1046-13.2013>
- Sakai, M., Chimoto, S., Qin, L., Sato, Y. (2009) Differential representation of spectral and temporal information by primary auditory cortex neurons in awake cats: Relevance to auditory scene analysis. *Brain Research*, vol. 1265, pp. 80–92. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.01.064>
- Saleem, A. B., Diamanti, E. M., Fournier, J. et al. (2018) Coherent encoding of subjective spatial position in visual cortex and hippocampus. *Nature*, vol. 562, no. 7725, pp. 124–127. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0516-1>
- Sauer, J.-F., Folschweiller, S., Bartos, M. (2022) Topographically organized representation of space and context in the medial prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 119, no. 6, article e2117300119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2117300119>
- Save, E., Paz-Villagran, V., Alexinsky, T., Poucet, B. (2005) Functional interaction between the associative parietal cortex and hippocampal place cell firing in the rat. *European Journal of Neuroscience*, vol. 21, no. 2, pp. 522–530. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.03882.x>
- Smith, J. B., Alloway, K. D. (2010) Functional specificity of claustrum connections in the rat: Interhemispheric communication between specific parts of motor cortex. *Journal of Neuroscience*, vol. 30, no. 50, pp. 16832–16844. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4438-10.2010>
- Srinivas, K. V., Buss, E. W., Sun, Q. et al. (2017) The dendrites of CA2 and CA1 pyramidal neurons differentially regulate information flow in the cortico-hippocampal circuit. *Journal of Neurosciences*, vol. 37, no. 12, pp. 3276–3293. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2219-16.2017>
- Stevenson, E. L., Caldwell, H. K. (2014) Lesions to the CA2 region of the hippocampus impair social memory in mice. *European Journal of Neuroscience*, vol. 40, no. 9, pp. 3294–3301. <https://doi.org/10.1111/ejn.12689>
- Tanné-Gariépy, J., Boussaoud, D., Rouiller, E. M. (2002) Projections of the claustrum to the primary motor, premotor, and prefrontal cortices in the macaque monkey. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 454, no. 2, pp. 140–157. <https://doi.org/10.1002/cne.10425>
- Taxidis, J., Pnevmatikakis, E. A., Dorian, C. C. et al. (2020) Differential emergence and stability of sensory and temporal representations in context-specific hippocampal sequences. *Neuron*, vol. 108, no. 5, pp. 984–998.e9. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.08.028>
- Terem, A., Gonzales, B. J., Peretz-Rivlin, N. et al. (2020) Claustral neurons projecting to frontal cortex mediate contextual association of reward. *Current Biology*, vol. 30, no. 18, pp. 3522–3532.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.06.064>
- Tomás Pereira, I., Agster, K. L., Burwell, R. D. (2016) Subcortical connections of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. I. afferents. *Hippocampus*, vol. 26, no. 9, pp. 1189–1212. <https://doi.org/10.1002/hipo.22603>
- Tsanov, M., O'Mara, S. M. (2015) Decoding signal processing in thalamo-hippocampal circuitry: Implications for theories of memory and spatial processing. *Brain Research*, vol. 1621, pp. 368–379. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.12.003>
- Van Cauter, T., Poucet, B., Save, E. (2008) Unstable CA1 place cell representation in rats with entorhinal cortex lesions. *European Journal of Neuroscience*, vol. 27, no. 8, pp. 1933–1946. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06158.x>
- Wang, Q., Ng, L., Harris, J. A. et al. (2017) Organization of the connections between claustrum and cortex in the mouse. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 525, no. 6, pp. 1317–1346. <https://doi.org/10.1002/cne.24047>
- Wang, Q., Yang, S.-T., Li, B.-M. (2015) Neuronal representation of audio-place associations in the medial prefrontal cortex of rats. *Molecular Brain*, vol. 8, no. 1, article 56. <https://doi.org/10.1186/s13041-015-0147-5>
- Watson, T. C., Obiang, P., Torres-Herraez, A. et al. (2019) Anatomical and physiological foundations of cerebello-hippocampal interaction. *eLife*, vol. 8, article e41896. <https://doi.org/10.7554/eLife.41896>
- Wilson, D. I. G., Watanabe, S., Milner, H., Ainge, J. A. (2013) Lateral entorhinal cortex is necessary for associative but not nonassociative recognition memory. *Hippocampus*, vol. 23, no. 12, pp. 1280–1290. <https://doi.org/10.1002/hipo.22165>
- Wirtshafter, H. S., Disterhoft, J. F. (2022) Place cells are nonrandomly clustered by field location in CA1 hippocampus. *Hippocampus*, vol. 33, no. 2, pp. 65–84. <https://doi.org/10.1002/hipo.23489>

- Witter, M. P., Room, P., Groenewegen, H. J., Lohman, A. H. M. (1988) Reciprocal connections of the insular and piriform claustrum with limbic cortex: An anatomical study in the cat. *Neuroscience*, vol. 24, no. 2, pp. 519–539. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(88\)90347-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(88)90347-8)
- Zhang, B., Naya, Y. (2020) Medial prefrontal cortex represents the object-based cognitive map when remembering an egocentric target location. *Cerebral Cortex*, vol. 30, no. 10, pp. 5356–5371. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhaa117>

## References

- Aikath, D., Weible, A. P., Rowland, D. C., Kentros, C. G. (2014) Role of self-generated odor cues in contextual representation. *Hippocampus*, vol. 24, no. 8, pp. 1039–1051. <https://doi.org/10.1002/hipo.22289> (In English)
- Alexander, G. M., Farris, S., Pirone, J. R. et al. (2016) Social and novel contexts modify hippocampal CA2 representations of space. *Nature Communications*, vol. 7, article 10300. <https://doi.org/10.1038/ncomms10300> (In English)
- Ali, M., Cholvin, T., Muller, M. A. et al. (2017) Environmental enrichment enhances systems-level consolidation of a spatial memory after lesions of the ventral midline thalamus. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 141, pp. 108–123. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.03.021> (In English)
- Amaro, D., Ferreira, D. N., Grothe, B., Pecka, M. (2021) Source identity shapes spatial preference in primary auditory cortex during active navigation. *Current Biology*, vol. 31, no. 17, pp. 3875–3883.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.06.025> (In English)
- Aronov, D., Nevers, R., Tank, D. W. (2017) Mapping of a non-spatial dimension by the hippocampal-entorhinal circuit. *Nature*, vol. 543, no. 7647, pp. 719–722. <https://doi.org/10.1038/nature21692> (In English)
- Aqrabawi, A. J., Kim, J. C. (2018) Hippocampal projections to the anterior olfactory nucleus differentially convey spatiotemporal information during episodic odour memory. *Nature Communications*, vol. 9, no. 1, article 2735. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05131-6> (In English)
- Aqrabawi, A. J., Kim, J. C. (2020) Olfactory memory representations are stored in the anterior olfactory nucleus. *Nature Communications*, vol. 11, no. 1, article 1246. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15032-2> (In English)
- Basu, R., Gebauer, R., Herfurth, T. et al. (2021) The orbitofrontal cortex maps future navigational goals. *Nature*, vol. 599, no. 7885, pp. 449–452. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04042-9> (In English)
- Baumann, O., Mattingley, J. B. (2014) Dissociable roles of the hippocampus and parietal cortex in processing of coordinate and categorical spatial information. *Frontiers in Human Neuroscience*, vol. 8, article 73. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00073> (In English)
- Beneyto, M., Prieto, J. J. (2001) Connections of the auditory cortex with the claustrum and the endopiriform nucleus in the cat. *Brain Research Bulletin*, vol. 54, no. 5, pp. 485–498. [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(00\)00454-8](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(00)00454-8) (In English)
- Benoy, A., Dasgupta, A., Sajikumar, S. (2018) Hippocampal area CA2: An emerging modulatory gateway in the hippocampal circuit. *Experimental Brain Research*, vol. 236, no. 4, pp. 919–931. <https://doi.org/10.1007/s00221-018-5187-5> (In English)
- Bhasin, G., Nair, I. R. (2022) Dynamic hippocampal CA2 responses to contextual spatial novelty. *Frontiers in System Neuroscience*, vol. 16, article 923911. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2022.923911> (In English)
- Bostan, A. C., Strick, P. L. (2018) The basal ganglia and the cerebellum: Nodes in an integrated network. *Nature Review Neuroscience*, vol. 19, no. 7, pp. 338–350. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0002-7> (In English)
- Brennan, E. K., Jedrasiak-Cape, I., Kailasa, S. K. et al. (2021) Thalamus and claustrum control parallel layer 1 circuits in retrosplenial cortex. *Elife*, vol. 10, article e62207. <https://doi.org/10.7554/eLife.62207> (In English)
- Bucci, D. J., Robinson, S. (2014) Toward a conceptualization of retrohippocampal contributions to learning and memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 116, pp. 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.05.007> (In English)
- Bueno-Junior, L. S., Leite, J. P. (2018) Input convergence, synaptic plasticity and functional coupling across hippocampal-prefrontal-thalamic circuits. *Frontiers in Neural Circuits*, vol. 12, article 40. <https://doi.org/10.3389/fncir.2018.00040> (In English)
- Bueno-Junior, L. S., Peixoto-Santos, J. E., Ruggiero, R. N. et al. (2018) Interaction between hippocampal-prefrontal plasticity and thalamic-prefrontal activity. *Scientific Reports*, vol. 8, no. 1, article 1382. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19540-6> (In English)
- Burwell, R. D., Amaral, D. G. (1998) Cortical afferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 398, no. 2, pp. 179–205. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(19980824\)398:2<179::aid-cne3>3.0.co;2-y](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(19980824)398:2<179::aid-cne3>3.0.co;2-y) (In English)
- Burwell, R. D., Hafeman, D. M. (2003) Positional firing properties of postrhinal cortex neurons. *Neuroscience*, vol. 119, no. 2, pp. 577–588. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(03\)00160-x](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(03)00160-x) (In English)
- Chan, C. C. H., Wong, A. W. K., Ting, K.-H. et al. (2012) Cross auditory-spatial learning in early-blind individuals. *Human Brain Mapping*, vol. 33, no. 11, pp. 2714–2727. <https://doi.org/10.1002/hbm.21395> (In English)

- Chao, O. Y., Nikolaus, S., Yang, Y. M., Huston, J. P. (2022) Neuronal circuitry for recognition memory of object and place in rodent models. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 141, article 104855. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104855> (In English)
- Chersi, F., Burgess, N. (2015) The cognitive architecture of spatial navigation: Hippocampal and striatal contributions. *Neuron*, vol. 88, no. 1, pp. 64–77. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.021> (In English)
- Chevaleyre, V., Siegelbaum, S. A. (2010) Strong CA2 pyramidal neuron synapses define a powerful disinaptic cortico-hippocampal loop. *Neuron*, vol. 66, no. 4, pp. 560–572. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.04.013> (In English)
- Chia, Z., Augustine, G. J., Silberberg, G. (2020) Synaptic connectivity between the cortex and claustrum is organized into functional modules. *Current Biology*, vol. 30, no. 14, pp. 2777–2790.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.05.031> (In English)
- Cholvin, T., Hok, V., Giorgi, L. et al. (2018) Ventral midline thalamus is necessary for hippocampal place field stability and cell firing modulation. *Journal of Neuroscience*, vol. 38, no. 1, pp. 158–172. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2039-17.2017> (In English)
- Collignon, O., Voss, P., Lassonde, M., Lepore, F. (2009) Cross-modal plasticity for the spatial processing of sounds in visually deprived subjects. *Experimental Brain Research*, vol. 192, no. 3, pp. 343–358. <https://doi.org/10.1007/s00221-008-1553-z> (In English)
- Cooper, B. G., Mizumori, S. J. (2001) Temporary inactivation of the retrosplenial cortex causes a transient reorganization of spatial coding in the hippocampus. *Journal of Neuroscience*, vol. 21, no. 11, pp. 3986–4001. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-11-03986.2001> (In English)
- Czajkowski, R., Jayaprakash, B., Wiltgen, B. et al. (2014) Encoding and storage of spatial information in the retrosplenial cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 111, no. 23, pp. 8661–8666. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313222111> (In English)
- Dahmani, L., Bohbot, V. D. (2015) Dissociable contributions of the prefrontal cortex to hippocampus- and caudate nucleus-dependent virtual navigation strategies. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 117, pp. 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.07.002> (In English)
- Dahmani, L., Patel, R. M., Yang, Y. et al. (2018) An intrinsic association between olfactory identification and spatial memory in humans. *Nature Communications*, vol. 9, no. 1, article 4162. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06569-4> (In English)
- Deshmukh, S. S., Johnson, J. L., Knierim, J. J. (2012) Perirhinal cortex represents nonspatial, but not spatial, information in rats foraging in the presence of objects: Comparison with lateral entorhinal cortex. *Hippocampus*, vol. 22, no. 10, pp. 2045–2058. <https://doi.org/10.1002/hipo.22046> (In English)
- Ekstrom, A. D., Huffman, D. J., Starrett, M. (2017) Interacting networks of brain regions underlie human spatial navigation: A review and novel synthesis of the literature. *Journal of Neurophysiology*, vol. 118, no. 6, pp. 3328–3344. <https://doi.org/10.1152/jn.00531.2017> (In English)
- Esteves, I. M., Chang, H., Neumann, A. R. et al. (2021) Spatial information encoding across multiple neocortical regions depends on an intact hippocampus. *Journal of Neuroscience*, vol. 41, no. 2, pp. 307–319. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1788-20.2020> (In English)
- Fermin, A. S., Yoshida, T., Yoshimoto, J. et al. (2016) Model-based action planning involves cortico-cerebellar and basal ganglia networks. *Scientific Reports*, vol. 6, article 31378. <https://doi.org/10.1038/srep31378> (In English)
- Fischer, L. F., Mojica Soto-Albors, R., Buck, F., Harnett, M. T. (2020) Representation of visual landmarks in retrosplenial cortex. *eLife*, vol. 9, article e51458. <https://doi.org/10.7554/eLife.51458> (In English)
- Fischler-Ruiz, W., Clark, D. G., Joshi, N. R. et al. (2021) Olfactory landmarks and path integration converge to form a cognitive spatial map. *Neuron*, vol. 109, no. 24, pp. 4036–4049.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.09.055> (In English)
- Fournier, J., Saleem, A. B., Diamanti, E. M. et al. (2020) Mouse visual cortex is modulated by distance traveled and by theta oscillations. *Current Biology*, vol. 30, no. 19, pp. 3811–3817.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.07.006> (In English)
- Frost, B. E., Martin, S. K., Cafalchio, M. et al. (2021) Anterior thalamic inputs are required for subiculum spatial coding, with associated consequences for hippocampal spatial memory. *Journal of Neuroscience*, vol. 41, no. 30, pp. 6511–6525. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2868-20.2021> (In English)
- Gener, T., Perez-Mendez, L., Sanchez-Vives, M. V. (2013) Tactile modulation of hippocampal place fields. *Hippocampus*, vol. 23, no. 12, pp. 1453–1462. <https://doi.org/10.1002/hipo.22198> (In English)
- Giannetti, S., Molinari, M. (2002) Cerebellar input to the posterior parietal cortex in the rat. *Brain Research Bulletin*, vol. 58, no. 5, pp. 481–489. [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(02\)00815-8](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(02)00815-8) (In English)
- Griffin, A. L. (2021) The nucleus reuniens orchestrates prefrontal-hippocampal synchrony during spatial working memory. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 128, pp. 415–420. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.05.033> (In English)
- Hallock, H. L., Wang, A., Shaw, C. L., Griffin, A. L. (2013) Transient inactivation of the thalamic nucleus reuniens and rhomboid nucleus produces deficits of a working-memory dependent tactile-visual conditional discrimination task. *Behavioral Neuroscience*, vol. 127, no. 6, pp. 860–866. <https://doi.org/10.1037/a0034653> (In English)

- Hitti, F. L., Siegelbaum, S. A. (2014) The hippocampal CA2 region is essential for social memory. *Nature*, vol. 508, no. 7494, pp. 88–92. <https://doi.org/10.1038/nature13028> (In English)
- Huang, C.-C., Rolls, E. T., Hsu, C.-C. H. et al. (2021) Extensive cortical connectivity of the human hippocampal memory system: Beyond the “what” and “where” dual stream model. *Cerebral Cortex*, vol. 31, no. 10, pp. 4652–4669. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhab113> (In English)
- Jacob, P.-Y., Van Cauter, T., Poucet, B. et al. (2020) Medial entorhinal cortex lesions induce degradation of CA1 place cell firing stability when self-motion information is used. *Brain and Neuroscience Advances*, vol. 4, article 2398212820953004. [Online]. Available at: <https://doi.org/10.1177/2398212820953004> (accessed 20.01.2023). (In English)
- Jankowski, M. M., Islam, N., O’Mara, S. M. (2017) Dynamics of spontaneous local field potentials in the anterior claustrum of freely moving rats. *Brain Research*, vol. 1677, pp. 101–117. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.09.021> (In English)
- Jankowski, M. M., O’Mara, S. M. (2015) Dynamics of place, boundary and object encoding in rat anterior claustrum. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, vol. 9, article 250. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00250> (In English)
- Jeffery, K. J. (2007) Integration of the sensory inputs to place cells: What, where, why, and how? *Hippocampus*, vol. 17, no. 9, pp. 775–785. <https://doi.org/10.1002/hipo.20322> (In English)
- Joel, D., Weiner, I. (2000) The connections of the dopaminergic system with the striatum in rats and primates: An analysis with respect to the functional and compartmental organization of the striatum. *Neuroscience*, vol. 96, no. 3, pp. 451–474. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(99\)00575-8](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(99)00575-8) (In English)
- Jorge, P. E., Phillips, J. B., Gonçalves, A. et al. (2014) Odours stimulate neuronal activity in the dorsolateral area of the hippocampal formation during path integration. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 281, no. 1783, article 20140025. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.0025> (In English)
- Jung, D., Huh, Y., Cho, J. (2019) The ventral midline thalamus mediates hippocampal spatial information processes upon spatial cue changes. *Journal of Neuroscience*, vol. 39, no. 12, pp. 2276–2290. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2127-18.2019> (In English)
- Kaiz, S. S., Robertson, R. T. (1981) Thalamic connections with limbic cortex. II. Corticothalamic projections. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 195, no. 3, pp. 527–545. <https://doi.org/10.1002/cne.901950309> (In English)
- Kazarian, A. L., Hekimian, A. A., Harutiunian-Kozak, B. A. et al. (1995) Responses of cat’s dorsal hippocampal neurones to moving visual stimuli. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, vol. 55, no. 2, pp. 99–107. PMID: 7660867 (In English)
- Kesner, R. P., Hunsaker, M. R., Ziegler, W. (2011) The role of the dorsal and ventral hippocampus in olfactory working memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 96, no. 2, pp. 361–366. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2011.06.011> (In English)
- Kim, J., Matney, C. J., Roth, R. H., Brown, S. P. (2016) Synaptic organization of the neuronal circuits of the claustrum. *Journal of Neuroscience*, vol. 36, no. 3, pp. 773–784. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3643-15.2016> (In English)
- Kitanishi, T., Matsuo, N. (2017) Organization of the claustrum-to-entorhinal cortical connection in mice. *Journal of Neuroscience*, vol. 37, no. 2, pp. 269–280. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1360-16.2016> (In English)
- Keene, C. S., Bladon, J., McKenzie, S. et al. (2016) Complementary functional organization of neuronal activity patterns in the perirhinal, lateral entorhinal, and medial entorhinal cortices. *Journal of Neuroscience*, vol. 36, no. 13, pp. 3660–3675. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4368-15.2016> (In English)
- Knierim, J. J., Lee, I., Hargreaves, E. L. (2006) Hippocampal place cells: Parallel input streams, subregional processing, and implications for episodic memory. *Hippocampus*, vol. 16, no. 9, pp. 755–764. <https://doi.org/10.1002/hipo.20203> (In English)
- Kohara, K., Pignatelli, M., Rivest, A. J. et al. (2014) Cell type-specific genetic and optogenetic tools reveal hippocampal CA2 circuits. *Nature Neuroscience*, vol. 17, no. 2, pp. 269–279. <https://doi.org/10.1038/nn.3614> (In English)
- Lehr, A. B., Kumar, A., Tetzlaff, C. et al. (2021) CA2 beyond social memory: Evidence for a fundamental role in hippocampal information processing. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 126, pp. 398–412. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.03.020> (In English)
- Levinson, M., Kolenda, J. P., Alexandrou, G. J. et al. (2020) Context-dependent odor learning requires the anterior olfactory nucleus. *Behavioral Neuroscience*, vol. 134, no. 4, pp. 332–343. <https://doi.org/10.1037/bne0000371> (In English)
- Long, X., Zhang, S.-J. (2021) A novel somatosensory spatial navigation system outside the hippocampal formation. *Cell Research*, vol. 31, no. 6, pp. 649–663. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-00448-8> (In English)
- Loureiro, M., Cholvin, T., Lopez, J. et al. (2012) The ventral midline thalamus (reuniens and rhomboid nuclei) contributes to the persistence of spatial memory in rats. *Journal of Neuroscience*, vol. 32, no. 29, pp. 9947–9959. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0410-12.2012> (In English)
- Ma, Q., Rolls, E. T., Huang, C. C. et al. (2022) Extensive cortical functional connectivity of the human hippocampal memory system. *Cortex*, vol. 147, pp. 83–101. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2021.11.014> (In English)

- Mankin, E. A., Diehl, G. W., Sparks, F. T. et al. (2015) Hippocampal CA2 activity patterns change over time to a larger extent than between spatial contexts. *Neuron*, vol. 85, no. 1, pp. 190–201. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.12.001> (In English)
- Mathiasen, M. L., Nelson, A. J. D., Amin, E. et al. (2021) A direct comparison of afferents to the rat anterior thalamic nuclei and nucleus reuniens: Overlapping but different. *eNeuro*, vol. 8, no. 5. [Online]. Available at: <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0103-20.2021> (accessed 20.01.2023). (In English)
- Mathiasen, M. L., O'Mara, S. M., Aggleton, J. P. (2020) The anterior thalamic nuclei and nucleus reuniens: So similar but so different. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 119, pp. 268–280. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.10.006> (In English)
- Middleton, S. J., McHugh, T. J. (2020) CA2: A highly connected intrahippocampal relay. *Annual Review of Neuroscience*, vol. 43, pp. 55–72. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-080719-100343> (In English)
- Moita, M. A. P., Rosis, S., Zhou, Y. et al. (2003) Hippocampal place cells acquire location-specific responses to the conditioned stimulus during auditory fear conditioning. *Neuron*, vol. 37, no. 3, pp. 485–497. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00033-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00033-3) (In English)
- Naber, P. A., Lopes da Silva, F. H., Witter, M. P. (2001) Reciprocal connections between the entorhinal cortex and hippocampal fields CA1 and the subiculum are in register with the projections from CA1 to the subiculum. *Hippocampus*, vol. 11, no. 2, pp. 99–104. <https://doi.org/10.1002/hipo.1028> (In English)
- Nelken, I. (2004) Processing of complex stimuli and natural scenes in the auditory cortex. *Current Opinion in Neurobiology*, vol. 14, no. 4, pp. 474–480. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2004.06.005> (In English)
- Nelken, I., Fishbach, A., Las, L. et al. (2003) Primary auditory cortex of cats: Feature detection or something else? *Biological Cybernetics*, vol. 89, no. 5, pp. 397–406. <https://doi.org/10.1007/s00422-003-0445-3> (In English)
- Nelson, A. J. D. (2021) The anterior thalamic nuclei and cognition: A role beyond space? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 126, pp. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.02.047> (In English)
- Nitz, D. (2009) Parietal cortex, navigation, and the construction of arbitrary reference frames for spatial information. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 91, no. 2, pp. 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2008.08.007> (In English)
- O'Mara, S. M., Aggleton, J. P. (2019) Space and memory (far) beyond the hippocampus: Many subcortical structures also support cognitive mapping and mnemonic processing. *Frontiers in Neural Circuits*, vol. 13, article 52. <https://doi.org/10.3389/fncir.2019.00052> (In English)
- Persson, B. M., Ambrozova, V., Duncan, S. et al. (2022) Lateral entorhinal cortex lesions impair odor-context associative memory in male rats. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 100, no. 4, pp. 1030–1046. <https://doi.org/10.1002/jnr.25027> (In English)
- Poucet, B., Lenck-Santini, P.-P., Paz-Villagrán, V., Save, E. (2003) Place cells, neocortex and spatial navigation: A short review. *Journal of Physiology Paris*, vol. 97, no. 4-6, pp. 537–546. <https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2004.01.011> (In English)
- Poucet, B., Save, E., Lenck-Santini, P.-P. (2000) Sensory and memory properties of hippocampal place cells. *Reviews in the Neurosciences*, vol. 11, no. 2-3, pp. 95–111. <https://doi.org/10.1515/revneuro.2000.11.2-3.95> (In English)
- Powell, A., Connelly, W. M., Vasalaukaite, A. et al. (2020) Stable encoding of visual cues in the mouse retrosplenial cortex. *Cerebral Cortex*, vol. 30, no. 8, pp. 4424–4437. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhaa030> (In English)
- Radvansky, B. A., Dombeck, D. A. (2018) An olfactory virtual reality system for mice. *Nature Communications*, vol. 9, no. 1, article 839. <http://doi.org/10.1038/s41467-018-03262-4> (In English)
- Radvansky, B. A., Oh, J. Y., Climer, J. R., Dombeck, D. A. (2021) Behavior determines the hippocampal spatial mapping of a multisensory environment. *Cell Reports*, vol. 36, no. 5, article 109444. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109444> (In English)
- Raithel, C. U., Gottfried, J. A. (2021) What are grid-like responses doing in the orbitofrontal cortex? *Behavioral Neuroscience*, vol. 135, no. 2, pp. 218–225. <https://doi.org/10.1037/bne0000453> (In English)
- Ravassard, P., Kees, A., Willers, B. et al. (2013) Multisensory control of hippocampal spatiotemporal selectivity. *Science*, vol. 340, no. 6138, pp. 1342–1346. <https://doi.org/10.1126/science.1232655> (In English)
- Rizzello, E., Martin, S. K., Rouine, J. et al. (2022) Place cells in the claustrum remap under NMDA receptor control. *European Journal of Neuroscience*, vol. 56, no. 2, pp. 3825–3838. <https://doi.org/10.1111/ejn.15726> (In English)
- Robertson, R. T., Kaitz, S. S. (1981) Thalamic connections with limbic cortex. I. Thalamocortical projections. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 195, no. 3, pp. 501–525. <https://doi.org/10.1002/cne.901950308> (In English)
- Rogers, J. L., Kesner, R. P. (2006) Lesions of the dorsal hippocampus or parietal cortex differentially affect spatial information processing. *Behavioral Neuroscience*, vol. 120, no. 4, pp. 852–860. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.120.4.852> (In English)
- Rolls, E. T., Deco, G., Huang, C.-C., Feng, J. (2022a) The human orbitofrontal cortex, vmPFC, and anterior cingulate cortex effective connectome: Emotion, memory, and action. *Cerebral Cortex*, vol. 33, no. 2, pp. 330–356. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhac070> (In English)
- Rolls, E. T., Wirth, S., Deco, G. et al. (2022b) The human posterior cingulate, retrosplenial, and medial parietal cortex effective connectome, and implications for memory and navigation. *Human Brain Mapping*, vol. 44, no. 2, pp. 629–655. <https://doi.org/10.1002/hbm.26089> (In English)

- Rondi-Reig, L., Paradis, A.-L., Fallahnezhad, M. (2022) A Liaison brought to light: Cerebellum-hippocampus, partners for spatial cognition. *The Cerebellum*, vol. 21, no. 5, pp. 826–837. <https://doi.org/10.1007/s12311-022-01422-3> (In English)
- Rondi-Reig, L., Paradis, A.-L., Lefort, J. M. et al. (2014) How the cerebellum may monitor sensory information for spatial representation. *Frontiers in System Neuroscience*, vol. 8, article 205. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00205> (In English)
- Rowland, D. C., Weible, A. P., Wickersham, I. R. et al. (2013) Transgenically targeted rabies virus demonstrates a major monosynaptic projection from hippocampal area CA2 to medial entorhinal layer II neurons. *Journal of Neuroscience*, vol. 33, no. 37, pp. 14889–14898. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1046-13.2013> (In English)
- Sakai, M., Chimoto, S., Qin, L., Sato, Y. (2009) Differential representation of spectral and temporal information by primary auditory cortex neurons in awake cats: Relevance to auditory scene analysis. *Brain Research*, vol. 1265, pp. 80–92. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.01.064> (In English)
- Saleem, A. B., Diamanti, E. M., Fournier, J. et al. (2018) Coherent encoding of subjective spatial position in visual cortex and hippocampus. *Nature*, vol. 562, no. 7725, pp. 124–127. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0516-1> (In English)
- Sauer, J.-F., Folschweiller, S., Bartos, M. (2022) Topographically organized representation of space and context in the medial prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 119, no. 6, article e2117300119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2117300119> (In English)
- Save, E., Paz-Villagran, V., Alexinsky, T., Poucet, B. (2005) Functional interaction between the associative parietal cortex and hippocampal place cell firing in the rat. *European Journal of Neuroscience*, vol. 21, no. 2, pp. 522–530. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.03882.x> (In English)
- Silkis, I. G. (2009) Uchastie trisinapticheskogo gippokampal'nogo puti v formirovanii nejronnykh otobrazhenij assotsiatsij "ob'ekt–mesto" (analiticheskij obzor) [Involvement of trisynaptic hippocampal pathway in generation of neural representations of object–place associations (analytical review)]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 59, no. 6, pp. 643–659. (In Russian)
- Silkis, I. G. (2011) Preimuschestva ierarchicheskogo obobscheniya i khraneniya otobrazhenij assotsiatsii "ob'ekt–mesto" v poljah gippokampa (Gipoteza) [Advantage of hierarchical generalization of and storage of the reorientations of "object–place" associations in the hippocampal fields (A hypothesis)]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 61, no. 1, pp. 5–23. (In Russian)
- Silkis, I. G. (2014) Mekhanizmy vzaimozavisimogo vliyaniya prefrontal'noj kory, gippokampa i mindaliny na funkcionirovanie bazal'nykh ganglijev i vybor povedeniya [The mechanisms of interdependent influence of prefrontal cortex, hippocampus and amygdala on the basal ganglia functioning and selection of behavior]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 64, no. 1, pp. 82–100. <https://doi.org/10.7868/S0044467714010110> (In Russian)
- Silkis, I. G. (2016) Vklad dofamina v funkcionirovanie gippokampa pri prostranstvennom obuchenii (gipoteticheskij mekhanizm) [The contribution of dopamine to the functioning of the hippocampus during spatial learning (a hypothetical mechanism)]. *Nejrokhimiya*, vol. 33, no. 1, pp. 42–55. <https://doi.org/10.7868/S1027813316010131> (In Russian)
- Silkis, I. G. (2021a) Vliyanie dofamina na vzaimozavisimoe funkcionirovanie mozzhechka, bazal'nykh ganglijev i novej kory (gipoteticheskij mekhanizm) [Effect of dopamine on the interdependent functioning of the cerebellum, basal ganglia and neocortex (a hypothetical mechanism)]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*, vol. 52, no. 1, pp. 49–63. <https://doi.org/10.31857/S0301179821010094> (In Russian)
- Silkis, I. G. (2021b) Vozmozhnye mekhanizmy vzaimozavisimogo uchastiya bazal'nykh ganglijev i mozzhechka v funkcionirovanii dvigatel'nykh i sensornykh sistem [Possible mechanisms of interdependent roles of the basal ganglia and cerebellum in the functioning of motor and sensory systems]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 2, no. 2, pp. 135–146. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-2-135-146> (In Russian)
- Silkis, I. G. (2021c) Uchastie yader gipotalamusa v formirovanii assotsiatsij "ob'ekt–mesto" na nejronakh polya CA2 gippokampa (gipoteticheskij mekhanizm) [Involvement of hypothalamic nuclei in the generation of object–place associations on neurons of the hippocampal CA2 field (a hypothetical mechanism)]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 71, no. 2, pp. 147–163. <https://doi.org/10.31857/S0044467721020106> (In Russian)
- Silkis, I. G. (2022) Mekhanizmy funkcionirovaniya konnektoma, vklyuchayushchego neokorteks, gippokamp, bazal'nye ganglii, mozzhechok i talamus [Mechanisms of functioning of a connectome that includes the neocortex, hippocampus, basal ganglia, cerebellum and thalamus]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I. P. Pavlova*, vol. 72, no. 1, pp. 36–54. <https://doi.org/10.31857/S0044467722010105> (In Russian)
- Smith, J. B., Alloway, K. D. (2010) Functional specificity of claustrum connections in the rat: Interhemispheric communication between specific parts of motor cortex. *Journal of Neuroscience*, vol. 30, no. 50, pp. 16832–16844. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4438-10.2010> (In English)
- Srinivas, K. V., Buss, E. W., Sun, Q. et al. (2017) The dendrites of CA2 and CA1 pyramidal neurons differentially regulate information flow in the cortico-hippocampal circuit. *Journal of Neurosciences*, vol. 37, no. 12, pp. 3276–3293. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2219-16.2017> (In English)

- Stevenson, E. L., Caldwell, H. K. (2014) Lesions to the CA2 region of the hippocampus impair social memory in mice. *European Journal of Neuroscience*, vol. 40, no. 9, pp. 3294–3301. <https://doi.org/10.1111/ejn.12689> (In English)
- Tanné-Gariépy, J., Boussaoud, D., Rouiller, E. M. (2002) Projections of the claustrum to the primary motor, premotor, and prefrontal cortices in the macaque monkey. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 454, no. 2, pp. 140–157. <https://doi.org/10.1002/cne.10425> (In English)
- Taxidis, J., Pnevmatikakis, E. A., Dorian, C. C. et al. (2020) Differential emergence and stability of sensory and temporal representations in context-specific hippocampal sequences. *Neuron*, vol. 108, no. 5, pp. 984–998.e9. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.08.028> (In English)
- Terem, A., Gonzales, B. J., Peretz-Rivlin, N. et al. (2020) Claustral neurons projecting to frontal cortex mediate contextual association of reward. *Current Biology*, vol. 30, no. 18, pp. 3522–3532.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.06.064> (In English)
- Tomás Pereira, I., Agster, K. L., Burwell, R. D. (2016) Subcortical connections of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. I. afferents. *Hippocampus*, vol. 26, no. 9, pp. 1189–1212. <https://doi.org/10.1002/hipo.22603> (In English)
- Tsanov, M., O'Mara, S. M. (2015) Decoding signal processing in thalamo-hippocampal circuitry: Implications for theories of memory and spatial processing. *Brain Research*, vol. 1621, pp. 368–379. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.12.003> (In English)
- Van Cauter, T., Poucet, B., Save, E. (2008) Unstable CA1 place cell representation in rats with entorhinal cortex lesions. *European Journal of Neuroscience*, vol. 27, no. 8, pp. 1933–1946. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06158.x> (In English)
- Wang, Q., Ng, L., Harris, J. A. et al. (2017) Organization of the connections between claustrum and cortex in the mouse. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 525, no. 6, pp. 1317–1346. <https://doi.org/10.1002/cne.24047> (In English)
- Wang, Q., Yang, S. T., Li, B. M. (2015) Neuronal representation of audio-place associations in the medial prefrontal cortex of rats. *Molecular Brain*, vol. 8, no. 1, article 56. <https://doi.org/10.1186/s13041-015-0147-5> (In English)
- Watson, T. C., Obiang, P., Torres-Herraez, A. et al. (2019) Anatomical and physiological foundations of cerebello-hippocampal interaction. *eLife*, vol. 8, article e41896. <https://doi.org/10.7554/eLife.41896> (In English)
- Wilson, D. I. G., Watanabe, S., Milner, H., Ainge, J. A. (2013) Lateral entorhinal cortex is necessary for associative but not nonassociative recognition memory. *Hippocampus*, vol. 23, no. 12, pp. 1280–1290. <https://doi.org/10.1002/hipo.22165> (In English)
- Wirtshafter, H. S., Disterhoft, J. F. (2022) Place cells are nonrandomly clustered by field location in CA1 hippocampus. *Hippocampus*, vol. 33, no. 2, pp. 65–84. <https://doi.org/10.1002/hipo.23489> (In English)
- Witter, M. P., Room, P., Groenewegen, H. J., Lohman, A. H. M. (1988) Reciprocal connections of the insular and piriform claustrum with limbic cortex: An anatomical study in the cat. *Neuroscience*, vol. 24, no. 2, pp. 519–539. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(88\)90347-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(88)90347-8) (In English)
- Zhang, B., Naya, Y. (2020) Medial prefrontal cortex represents the object-based cognitive map when remembering an egocentric target location. *Cerebral Cortex*, vol. 30, no. 10, pp. 5356–5371. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhaa117> (In English)



УДК 616.1-092.11 + 511.1 + 571.1

EDN XGOLOT

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-43-57>

## Адаптация обской финно-угорской группы коренных народов Севера к урбанизации нефтегазодобывающих районов Западной Сибири

М. А. Попова<sup>✉1</sup>, А. С. Палюшкевич<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Сургутский государственный педагогический университет,  
628417, Россия, г. Сургут, ул. 50 лет ВЛКСМ, д. 10/2

<sup>2</sup> Департамент здравоохранения Ханты-Мансийского автономного округа,  
628011, Россия, г. Ханты-Мансийск, ул. Карла Маркса, д. 32

### Сведения об авторах

Марина Алексеевна Попова, SPIN-код: [5513-9752](https://orcid.org/0000-0003-0193-7973), ORCID: [0000-0003-0193-7973](https://orcid.org/0000-0003-0193-7973), e-mail: [m\\_a\\_popova@mail.ru](mailto:m_a_popova@mail.ru)

Алевтина Сергеевна Палюшкевич, SPIN-код: [1802-3098](https://orcid.org/1802-3098), e-mail: [memorium@mail.ru](mailto:memorium@mail.ru)

**Для цитирования:** Попова, М. А., Палюшкевич, А. С. (2023) Адаптация обской финно-угорской группы коренных народов Севера к урбанизации нефтегазодобывающих районов Западной Сибири. *Интегративная физиология*, т. 4, № 1, с. 43–57. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-43-57> EDN XGOLOT

**Получена** 20 января 2023; прошла рецензирование 2 февраля 2023; принята 3 февраля 2023.

**Финансирование:** Исследование не имело финансовой поддержки в 2000–2017 гг., с 2018 г. финансируется в рамках государственного задания «Эффективность управления процессами сохранения здоровья коренного и некоренного населения стратегически значимых северных территорий».

**Права:** © М. А. Попова, А. С. Палюшкевич (2023). 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.** В статье приведены результаты 20-летнего наблюдения адаптации обской финно-угорской группы коренных народов Севера к урбанизации нефтедобывающего региона Западной Сибири Ханты-Мансийского автономного округа Югра, изменения вегетативной регуляции, кардиометаболические нарушения (ожирение, гиперхолестеринемия, нарушения углеводного обмена, артериальная гипертония, атеросклероз) среди традиционных и урбанизированных хантов, прогнозирование кардиометаболического риска у коренных народов Севера. В генетически однородной субпопуляции обских финно-угорских коренных народов Севера хантов изменение традиционных условий проживания на урбанизированную среду приводит к увеличению частоты избыточной массы тела и ожирения в 2,8 раза, нарушений углеводного обмена в 2,7 раза, гиперхолестеринемии в 1,7 раза. В когортах традиционных и урбанизированных хантов избыточная масса тела и ожирение чаще встречаются у женщин, чем у мужчин; нарушения углеводного обмена и диабет 2 типа чаще встречаются у мужчин, чем у женщин; половых различий по частоте развития гиперхолестеринемии не выявлено. Повышение симпатической активности вегетативной нервной системы коррелирует с гиперхолестеринемией при нормальной и избыточной массе тела как в когорте урбанизированных хантов, так и ведущих традиционный образ жизни в родовых угодьях. Высокий риск кардиометаболических заболеваний с учетом показателей симпатической активности вегетативной нервной системы регистрируется в когорте урбанизированных хантов молодого возраста в 18,0%, среднего возраста — в 26,0%, в когорте молодых хантов с традиционным образом жизни в родовых угодьях — в 5,0%, среди традиционных хантов среднего возраста — в 8,0% случаев.

**Ключевые слова:** адаптация, урбанизация, обская финно-угорская группа коренных народов Севера, ханты, вегетативная регуляция, ожирение, углеводный обмен, липидный обмен, кардиометаболический риск, Западная Сибирь

# Adaptation of the Ob Finno-Ugric group of the indigenous peoples of the North to the urbanization of oil and gas producing territories of Western Siberia

M. A. Popova<sup>✉1</sup>, A. S. Palyushkevich<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Surgut State Pedagogical University, 10/2 50 Let VLKSM Str., Surgut 628400, Russia

<sup>2</sup> Department of Health of the Khanty-Mansi Autonomous Okrug—Yugra, 32 Karla Marksa Str., Khanty-Mansi 628011, Russia

## Authors

Marina A. Popova, SPIN: 5513-9752, ORCID: 0000-0003-0193-7973, e-mail: [m\\_a\\_popova@mail.ru](mailto:m_a_popova@mail.ru)

Alevtina S. Palyushkevich, SPIN: 1802-3098, e-mail: [memorium@mail.ru](mailto:memorium@mail.ru)

**For citation:** Popova, M. A., Palyushkevich, A. S. (2023) Adaptation of the Ob Finno-Ugric group of the indigenous peoples of the North to the urbanization of oil and gas producing territories of Western Siberia. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 1, pp. 43–57. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-43-57> EDN XGOLOT

**Received** 20 January 2023; reviewed 2 February 2023; accepted 3 February 2023.

**Funding:** The study did not receive any funding from 2000 to 2017. Since 2018, it has been funded as part of the state-commissioned assignment “Efficiency of health-preserving management of indigenous and non-indigenous populations of strategically significant northern territories”.

**Copyright:** © M. A. Popova, A. S. Palyushkevich (2023). 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 presents the results of a 20-year observation of the adaptation of the Ob Finno-Ugric group of indigenous peoples of the North (Khanty) to the urbanization of the oil-producing region of Western Siberia—Khanty-Mansi Autonomous Okrug Yugra. It reports changes in autonomic regulation, cardiometabolic disorders (obesity, hypercholesterolemia, carbohydrate metabolism disorders, arterial hypertension, atherosclerosis) among traditional and urban Khanty. It also provides prediction of cardiometabolic risk in the indigenous peoples of the North. Khanty are a genetically homogeneous subpopulation of the Ob Finno-Ugric indigenous peoples of the North. The transition from traditional living conditions to an urbanized environment has increased the frequency of overweight and obesity by 2.8 times, carbohydrate metabolism disorders by 2.7 times, and hypercholesterolemia by 1.7 times. In traditional and urbanized Khanty cohorts, overweight and obesity are more common in women than in men; carbohydrate metabolism disorders and type 2 diabetes are more common in men than in women; no gender differences were found in the incidence of hypercholesterolemia. An increase in the sympathetic activity of the autonomic nervous system correlates with hypercholesterolemia in normal and overweight Khanty in both urban and traditional environments (ancestral lands). Considering the indicators of the sympathetic activity of the autonomic nervous system, a high risk of cardiometabolic diseases is recorded in the cohort of urbanized Khanty in young and middle age in 18.0% and 26.0%, respectively, while it stands at 5.0% and 8.0% among Khanty with a traditional way of life in ancestral lands.

**Keywords:** adaptation, urbanization, Ob Finno-Ugric group of the indigenous peoples of the North, Khanty, autonomic regulation, obesity, carbohydrate metabolism, lipid metabolism, cardiometabolic risk, Western Siberia

## Введение

Стратегия сохранения популяций коренных народов Севера России предусматривает активные меры по разработке профилактических программ на основе региональных научных исследований. Такая необходимость возникла при освоении стратегически значимых северных районов Западной Сибири, где с 60-х гг. прошлого столетия началась активная добыча нефти и газа со стремительным ростом промышленных городов. В наибольшей степени этот процесс затронул Тюменский Север, где

сосредоточена основная популяция обской финно-угорской группы коренных народов Севера — ханты и манси, давших название Ханты-Мансийскому автономному округу — Югре. На Тюменском Севере проживает 30 тыс. хантов, из них более 20 тыс. — в Ханты-Мансийском автономном округе и около 10 тыс. — в Ямало-Ненецком автономном округе. Практически все 11 тыс. манси локализованы в ХМАО-Югре.

По данным Единого официального сайта государственных органов Ханты-Мансийский автономный округ — Югра (ХМАО-Югра) (Единый официальный сайт ... 2023) — основной

нефтегазоносный регион России и один из крупнейших нефтедобывающих регионов мира. Площадь округа составляет 534 801 км<sup>2</sup> (9-е место в России).

В рейтинге социально-экономического положения регионов России (Рейтинг социально-экономического положения регионов 2021) ХМАО занимает 3-е место, при этом ХМАО находится на 2-м месте по размеру экономики, уступая лишь Москве.

Население ХМАО на 1 января 2022 г. с учетом Всероссийской переписи населения 2020 г. составило 1 млн. 713 тыс. 763 жителя (крупнейший показатель среди автономных округов России). ХМАО на сегодняшний день самый урбанизированный автономный округ, в котором городское население насчитывает 1 млн. 577 тыс. 963 жителя (92,1%), сельское — всего 135 тыс. 800 (7,8%) (Численность населения... 2022).

По показателю численности городского населения регион с 2015 г. занимает 6-е место в России и 1-е место в Уральском федеральном округе.

Соотношение мужчин и женщин в округе составляет 0,93 (826582/887181), среди городского населения — 0,92 (757670/820293), среди сельского населения — 1,03 (68912/66888).

Коренное население округа сконцентрировано главным образом по берегам Оби в сельской местности.

Политическая и экономическая поддержка коренных народов Севера правительством ХМАО-Югры оказала положительное влияние на сохранение их численности на данной территории. Были образованы национальные поселения с необходимой инфраструктурой — медицинскими учреждениями и школами, политикой сохранения традиций и языковой культуры. Эти национальные поселения принято рассматривать как частично урбанизованную среду обитания коренных народов Севера в отличие от традиционного ведения хозяйства в лесных угодьях.

Переселение в урбанизированную и частично урбанизированную среду (национальные поселения) затронуло за последние 20 лет около 20% коренного населения, что вызвало появление среди хантов и манси несвойственных им заболеваний, главным образом связанных с дезадаптивными метаболическими изменениями.

В Ханты-Мансийском автономном округе находится территория, на которой в условиях уникального естественного эксперимента возможно объективно оценивать адаптацию аборигенов Севера к факторам урбанизации

в генетически однородной группе представителей обских финно-угров — хантов. Такой территорией является Сургутский район округа и крупный промышленный центр нефтедобывающей отрасли город Сургут, расположенный на территории данного района. Здесь в непосредственной близости, в радиусе 200 км, проживают в традиционных условиях в родовых угодьях и техногенной урбанизированной среде представители обской финно-угорской группы коренных народов Севера ханты.

В последние два десятилетия на территории Сургутского района проживает около трех тысяч представителей коренных народов Севера (по состоянию на 1 января 2022 г. — 2 тыс. 669), из них 98% — ханты. Из всех городов и поселков городского типа ХМАО, в которые переместилось коренное население, условиям жесткой техногенной урбанизированной среды отвечает город Сургут, где стабильно проживают около 1000 аборигенов, из них 2/3 составляют ханты (по состоянию на 1 января 2022 — 636) и 1/3 — манси.

#### Динамика численности традиционных и урбанизированных хантов и манси 2000–2021 гг. в ХМАО

По данным Всероссийской переписи населения в 2002 г. в ХМАО зарегистрировано 17 тыс. 128 хантов (1,20% от всего населения округа) и 9 тыс. 894 манси (0,69%), в 2010 г. отмечено увеличение числа хантов до 19 тыс. 068 (1,24%) и манси — до 10 тыс. 977 (0,72%), в 2020 г. зарегистрировано хантов 19 тыс. 568 (1,14%) и 11 тыс. 635 манси (0,65%).

По результатам мониторинга медико-аналитического центра Департамента здравоохранения ХМАО-Югры за период пандемии с 2019 г. число хантов уменьшилось с 19 тыс. 148 до 16 тыс. 955 человек на 1 января 2022 г., число манси изменилось несущественно — с 11 тыс. 635 до 11 тыс. 435 человек (Показатели по медицинскому обслуживанию ... 2022).

Это можно объяснить тем, что манси локализованы в отдаленных северных районах округа (Березовский и Кондинский) и имели меньше контактов с инфицированным коронавирусом населением, чем ханты, национальные поселения и родовые угодья которых расположены вблизи городов округа.

Заболеваемость COVID-19 взрослого коренного населения в 2021 г. составила 40,4 на 1000 населения, среди некоренного населения — 81,0 на 1000 населения. Следует отметить, что заболеваемость COVID-19 у детей ханты и манси

в возрасте от 0 до 14 лет, находившихся в организованных коллективах в интернатах национальных поселений, составила 39,0 на 1000 соответствующей группы, как и у детей этого возраста некоренного населения — 39,5 на 1000. Это может служить косвенным подтверждением того, что иммунный ответ в когортах коренного и некоренного населения сопоставим, а более чем в 2 раза высокая частота развития COVID-19 у взрослых представителей некоренного населения может быть объяснена тем, что большая часть коренного населения во время пандемии находилась в родовых угодьях.

### Динамика распространенности ассоциированных с нарушениями адаптации заболеваний среди коренных народов Севера ХМАО в 2000–2021 гг.

Анализ ежегодных данных медицинской статистики Департамента здравоохранения ХМАО с 2000 до 2021 гг. выявил рост болезней обмена веществ среди коренных народов Севера округа (рис. 1).

Частота эндокринной патологии увеличилась с 2000 к 2021 г. в 5,8 раз с 11,8 до 68,3 на 1000 взрослого населения. Распространенность диабета 2 типа с 2000 к 2021 г. возросла в 6,7 раз с 2,7 до 18,0 на 1000 коренного населения.

Одной из причин диабета 2 типа у коренных народов Севера является пагубное употребление алкоголя с развитием алкогольного панкреатита, эндо- и экзокринной недостаточности поджелудочной железы. Но это не единственная

причина диабета среди аборигенов, поскольку с 2017 г. зарегистрировано снижение распространенности алкоголизма в 2 раза по сравнению с 2000–2010 гг. (около 20%), тем не менее данный показатель остается высоким и в 2021 г. составил 325 человек из 28 тыс. 380 представителей коренных народов (11,5%).

Динамика распространенности алкоголизма на 100000 населения у коренных народов Севера ХМАО приведена на рисунке 2.

К алкогольному поражению печени и обусловленной тотальным инфекционным поражением описторхозом обской коренного населения патологии при изменении образа жизни добавилась неалкогольная жировая болезнь печени, ассоциированная с висцеральным ожирением и нарушениями липидного обмена, но в целом зафиксировано снижение болезней печени и желчевыводящих путей благодаря профилактическим противоэпидемическим мероприятиям (рис. 3).

Среди коренных народов Севера отмечен неуклонный рост болезней кровообращения с 59,7 в 2000 г. до 177,1 в 2021 г. на 1000 взрослого населения (рис. 4).

Наблюдается увеличение распространенности артериальной гипертензии с 19,9 в 2000 до 68,6 на 1000 взрослых в 2021 г. Последние 10 лет тенденции к снижению в популяции болезней с повышенным артериальным давлением не отмечено. Также не снижается распространенность атеросклеротических заболеваний, которая отмечалась в пределах 11,7–14,2 на 1000 взрослого коренного населения в 2010–2021 гг.

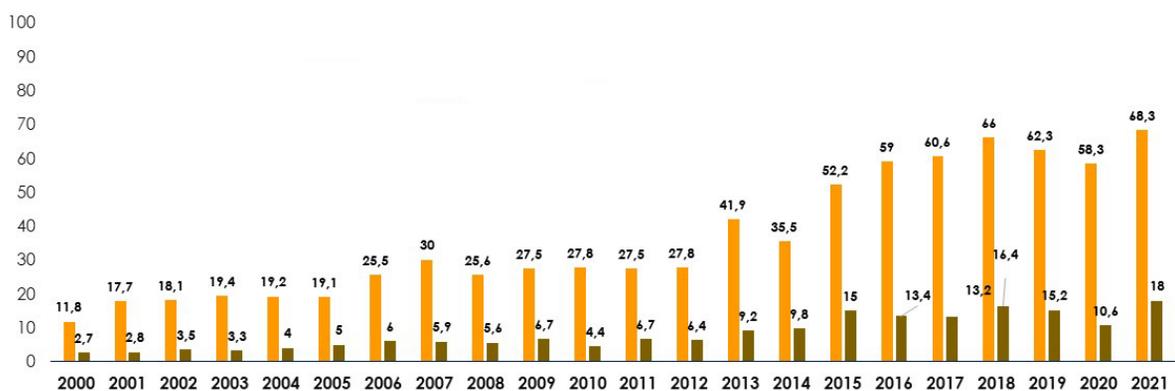


Рис. 1. Динамика распространенности болезней обмена веществ и диабета 2 типа у коренных народов Севера ХМАО в период 2000–2021 гг. на 1000 населения. Желтые столбики — болезни обмена веществ, коричневые столбики — диабет 2 типа

Fig. 1. Dynamics of the prevalence of metabolic diseases and type 2 diabetes among the indigenous peoples of the North of Khanty-Mansi Autonomous Okrug in 2000–2021 per 1.000 population. Yellow bars—metabolic diseases, brown bars—type 2 diabetes

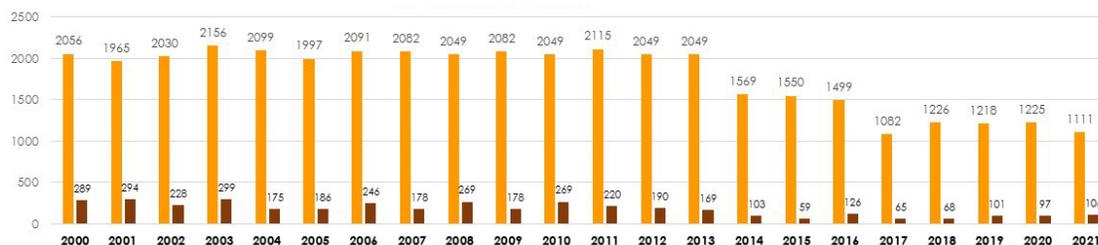


Рис. 2. Динамика распространенности алкоголизма у коренных народов Севера ХМАО в период 2000–2021 гг. на 100000 населения. Желтые столбики — алкоголизм и алкогольные психозы, коричневые столбики — впервые взятые на учет

Fig. 2. Dynamics of the prevalence of alcoholism among the indigenous peoples of the North of Khanty-Mansi Autonomous Okrug in 2000–2021 per 100.000 population. Yellow bars—alcoholism and alcoholic psychoses, brown bars—registered for the first time

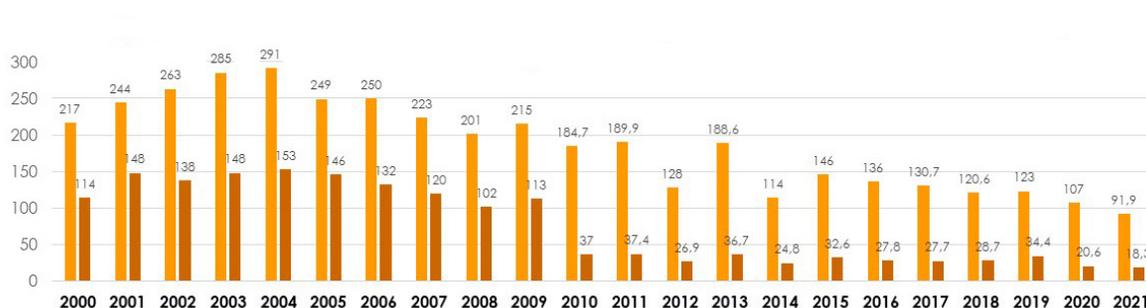


Рис. 3. Динамика распространенности инфекционных болезней, болезней печени и желчевыводящих путей у коренных народов Севера ХМАО в период 2000–2021 гг. на 1000 населения. Желтые столбики — инфекционные и паразитарные заболевания, коричневые столбики — болезни печени, желчевыводящих путей

Fig. 3. Dynamics of the prevalence of infectious diseases, diseases of the liver and biliary tract among the indigenous peoples of the North of Khanty-Mansi Autonomous Okrug in 2000–2021 per 1.000 population. Yellow bars—infectious and parasitic diseases, brown bars—diseases of the hepatobiliary system

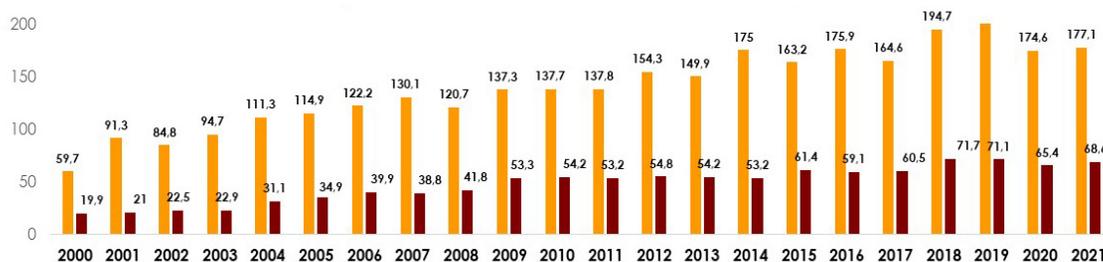


Рис. 4. Динамика распространенности артериальной гипертензии и атеросклероза у коренных народов Севера ХМАО в период 2000–2021 гг. на 1000 населения. Желтые столбики — болезни органов кровообращения, коричневые столбики — артериальная гипертензия

Fig. 4. Dynamics of the prevalence of arterial hypertension and atherosclerosis among the indigenous peoples of the North of Khanty-Mansi Autonomous Okrug in 2000–2021 per 1.000 population. Yellow bars—cardiovascular diseases, brown bars—arterial hypertension

Распространенность цереброваскулярных осложнений в этот период регистрировалась в диапазоне 5,8–10,6 на 1000 взрослого коренного населения. Эти заболевания связаны с увеличением кардиометаболического риска среди аборигенов, обусловленного психосоциальным стрессом и изменением образа жизни.

Когортное обследование хантов, ведущих традиционный образ жизни в родовых угодьях Сургутского района, и частично урбанизированных хантов, проживающих в организованном национальном поселении Русскинская данного района, проведенное в период 2005–2012 гг., выявило ведущие факторы кардиометаболического риска при изменении образа жизни. Среди факторов кардиометаболического профиля выявлено чрезмерное потребление алкоголя и никотиновая зависимость (традиционное курение и жевание табака) (Попова, Кудряшова 2011). Среди мужчин и женщин организованного поселения было чаще распространено курение, чем у хантов, ведущих традиционный образ жизни. Алкоголь чрезмерно потребляли чаще мужчины родовых угодий и женщины национального поселения (Кудряшова 2014; Кудряшова, Попова 2012).

До 2012 г. для традиционных хантов была характерна нормотензия, нормальная масса тела, нормальный уровень холестерина (Кудряшова, Попова 2012).

Частично урбанизированные ханты, проживающие в национальном поселении, отличались от ведущих традиционный образ жизни увеличением массы тела в сочетании с артериальной гипертензией, повышением уровня холестерина, при этом метаболические нарушения были в большей мере характерны для ведущих оседлый образ жизни женщин-хантов (Василькова, Матаев 2009; Кудряшова 2014; Кудряшова и др. 2015).

#### **«Кардиометаболический портрет» современных традиционных хантов**

Мониторинг состояния здоровья хантов, проведенный нами в период 2015–2018 гг., выявил качественное изменение кардиометаболического профиля у традиционных хантов по сравнению с первым десятилетием XXI века. Метаболические нарушения, кардиометаболические заболевания и их сочетание выявлены у 23,4% хантов из родовых угодий (Попова и др. 2018a).

По протоколу диспансерного наблюдения оценивали данные скрининга метаболических факторов, ассоциированных с кардиометабо-

лическими заболеваниями, и проводили инструментальное обследование, по вариабельности ритма сердца оценивали напряженность адаптации (Палюшкевич 2019; Попова и др. 2017с; 2018b).

Высокий риск кардиометаболических заболеваний определяется кластером нескольких метаболических факторов риска, включая абдоминальное ожирение. В связи с тем, что морфометрические критерии абдоминального ожирения для аборигенов Севера не разработаны, сравнительный анализ изменений массы тела (МТ) проведен только по индексу массы тела (ИМТ).

Ханты, ведущие традиционный образ жизни, имели нормальную массу тела в 75,4% случаев (мужчины — 83,6%, женщины — 66,1%), избыточную МТ в 16,7% (мужчины — 14,9%, женщины — 18,6%), ожирение 1-й степени — в 2,4% случаев (мужчины — 1,5% женщины — 3,4%), ожирение 2-й степени — в 1,5% случаев (женщины — 3,4%).

При нормальной массе тела в данной когорте гиперхолестеринемия выявлена в 12,5%, нарушения гликемии натощак — в 3,5%, артериальная гипертензия — в 7,5% случаев.

При избыточной массе тела у традиционных хантов гиперхолестеринемия зарегистрирована в 37,6%, нарушения гликемии натощак — в 14,8%, артериальная гипертензия — в 17,0% случаев.

При клинически значимом ожирении гиперхолестеринемия отмечена в 40,0%, нарушения гликемии натощак — в 40,0%, артериальная гипертензия — в 60,0% случаев.

По результатам исследования вариабельности ритма сердца выявлены признаки симпатической активации, снижение влияния гуморально-метаболических факторов вегетативной регуляции у традиционных хантов с патологическим повышением массы тела и гиперхолестеринемией (Попова и др. 2017с; 2018b).

#### **«Кардиометаболический портрет» современных урбанизированных хантов**

Метаболические нарушения и кардиометаболические заболевания зарегистрированы в субпопуляции урбанизированных хантов в 40,2 % случаев (Палюшкевич 2019; Попова и др. 2017b).

При изменении традиционного образа жизни на урбанизированную среду в 2,8 раза возростала частота развития избыточной массы тела и ожирения (рис. 5).

Среди урбанизированных хантов ожирение выявлено в 4,2 раза чаще у женщин, чем у мужчин,

Индекс МТ (ИМТ): 18-25 кг/м<sup>2</sup>– нормальная МТ; 25-29,9 кг/м<sup>2</sup> избыточная МТ; 30-34,9 кг/м<sup>2</sup> – ожирение 1; 35-39,9 кг/м<sup>2</sup> - ожирение 2; ≥ 40,0 кг/м<sup>2</sup> - ожирение 2

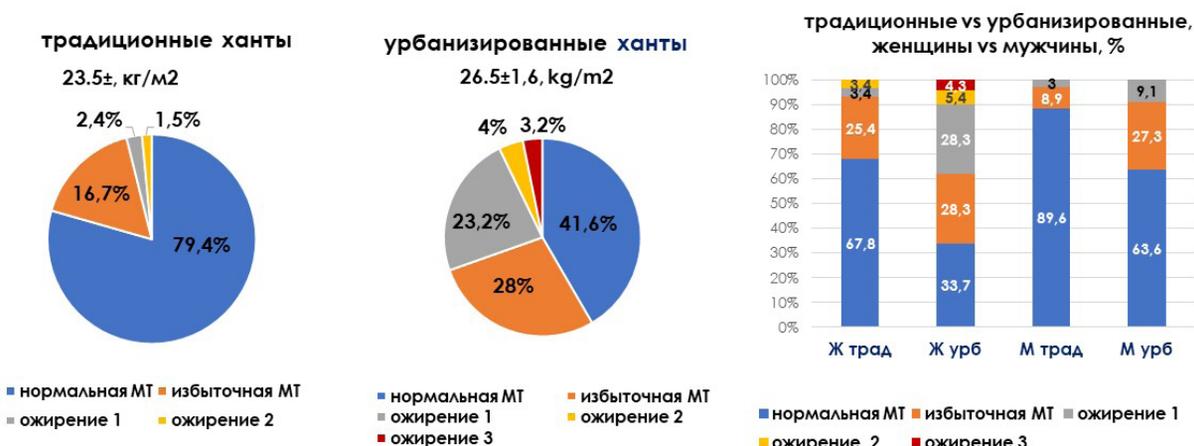


Рис. 5. Частота нормальной массы тела, избыточной массы тела и ожирения в генетически однородных когортах традиционных и урбанизированных обских финно-угров хантов, проживающих в одинаковых климатоэкологических условиях (Сургутский район, город Сургут)

The body mass index (BMI): 18-25 kg/m<sup>2</sup>– normal BM; 25-29,9 kg/m<sup>2</sup> excess BM; 30-34,9 kg/m<sup>2</sup> – obesity 1; 35-39,9 kg/m<sup>2</sup> - obesity 2

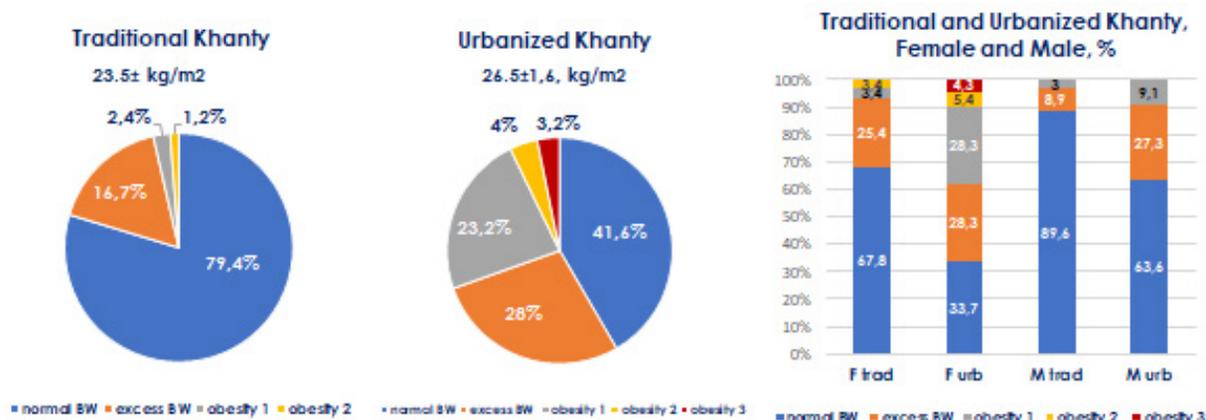


Fig. 5. The frequency of normal body weight, overweight and obesity in genetically homogeneous cohorts of traditional and urbanized Ob Finno-Ugrian Khanty living in the same climatic and ecological conditions (the city of Surgut, Surgut Okrug)

при этом следует отметить, что у женщин встречалось ожирение 1-й, 2-й и 3-й степени, у мужчин — только 1-й. Среди урбанизированных женщин ожирение зарегистрировано в 10 раз чаще, чем у ведущих традиционный образ жизни (Попова и др. 2017a; 2017b).

При изменении традиционного образа жизни на урбанизированную среду частота нарушений углеводного обмена в популяции хантов увеличилась в 2,7 раза (рис. 6).

Нарушения углеводного обмена были в большей степени выражены среди урбанизированных хантов-мужчин, у которых после дообследования при выявлении нарушений гликемии

натошак выявили в 11% случаев преддиабет и в 6% — диабет 2 типа (Палюшкевич 2019; Ророва 2021).

При изменении традиционного образа жизни на урбанизированную среду у хантов в 1,7 раз возростала частота гиперхолестеринемии. Тем не менее необходимо отметить, что гиперхолестеринемия зарегистрирована с высокой частотой (28,6%) в группе традиционных хантов, в группе урбанизированных хантов — в 48,8% случаев (рис. 7). Не было выявлено существенных различий в частоте гиперхолестеринемии между мужчинами и женщинами в соответствующих группах (Палюшкевич 2019; Ророва 2021).

Глюкоза плазмы натощак (НПГ): норма <5.6 ммоль/л; нарушение гликемии натощак (НГН) 5.6-7.8 ммоль/л; глюкозотолерантный тест; нарушение толерантности к глюкозе НТГ 7.8-11.0 ммоль/л; диабет 2 типа (D) - НГН >7.0 ммоль/л; НТГ >11.0 ммоль/л; А1С ≥6.5%\*

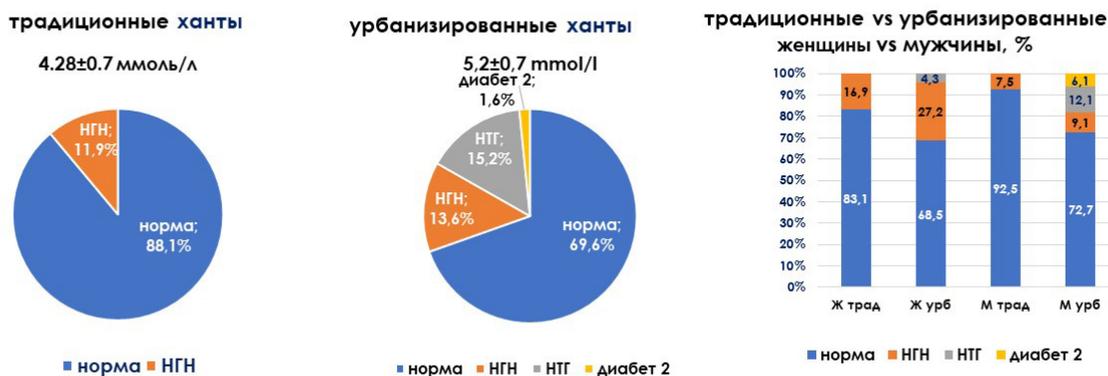


Рис. 6. Частота нарушений углеводного обмена (нарушение гликемии натощак, нарушение толерантности к глюкозе, диабет 2 типа) в генетически однородных когортах традиционных и урбанизированных обских финно-угров хантов, проживающих в одинаковых климатоэкологических условиях (Сургутский район, город Сургут)

fasting plasma glucose (fPG): norm <5.6 mmol/l; impaired fasting glucose (IFG) – fPG 5.6-7.8 mmol/l; oral glucose tolerance test; impaired glucose tolerance (IGT) OGTT 7.8-11.0 mmol/l; type 2 diabetes (D) - fPG >7.0 mmol/l; OGTT >11.0 mmol/l; A1C ≥6.5%\*

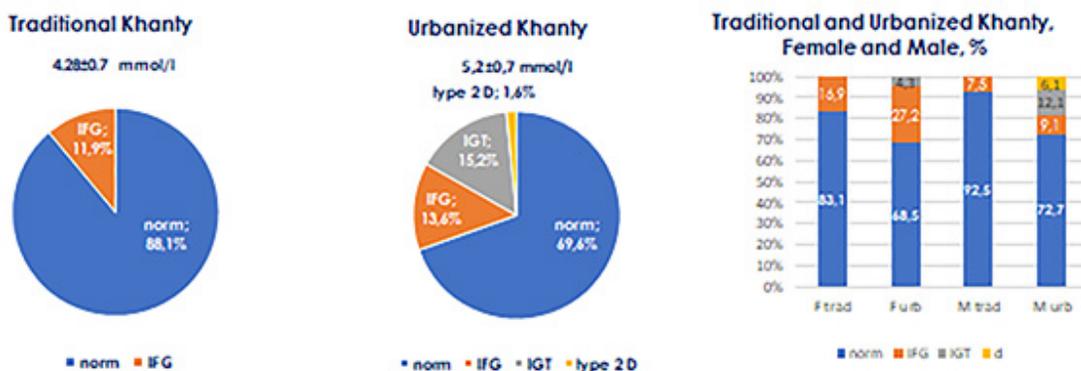


Fig. 6. The frequency of carbohydrate metabolism disorders (impaired fasting glycemia, impaired glucose tolerance, type 2 diabetes) in genetically homogeneous cohorts of traditional and urbanized Ob Finno-Ugric Khanty living in the same climatic and ecological conditions (the city of Surgut, Surgut Okrug)

Общий холестерин: норма ≤5 ммоль/л; Гиперхолестеринемия >5 ммоль/л

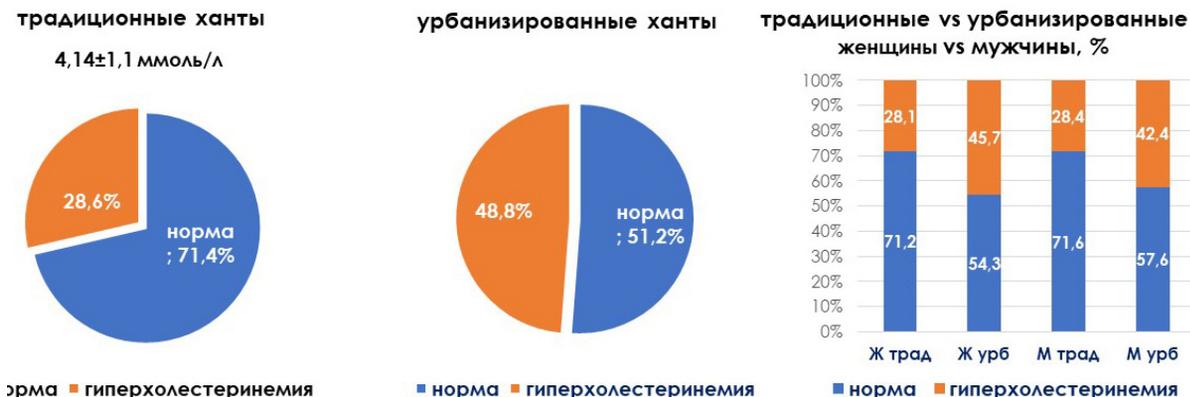


Рис. 7. Частота гиперхолестеринемии в генетически однородных когортах традиционных и урбанизированных обских финно-угров хантов, проживающих в одинаковых климатоэкологических условиях (Сургутский район, город Сургут)

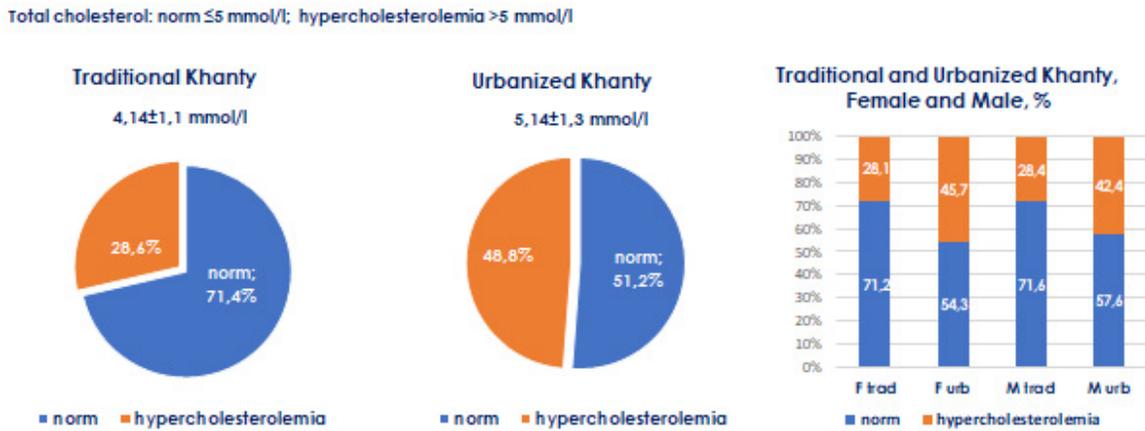


Fig. 7. The frequency of hypercholesterolemia in genetically homogeneous cohorts of traditional and urbanized Ob Finno-Ugric Khanty living in the same climatic and ecological conditions (the city of Surgut, Surgut Okrug)

Артериальная гипертензия среди урбанизированных хантов зарегистрирована в 23,0%, атеросклероз — в 6,4% случаев.

Урбанизированные ханты молодого возраста являются целевым контингентом для профилактики кардиометаболических заболеваний. Метаболические нарушения, изолированные или в сочетании с кардиометаболическими заболеваниями, среди молодых женщин-хантов выявлены в 40,4% случаев, среди молодых мужчин-хантов — в 55,6%.

Следует отметить, что в 23,1% случаев у женщин и 40,7% — у мужчин нарушения кардиометаболического профиля выявлены при нормальной массе тела.

При избыточной МТ частота метаболических нарушений у молодых урбанизированных хантов возрастает до 54,4% у женщин и 69% у мужчин.

Избыточная МТ среди молодых урбанизированных женщин-ханты выявлена в 1,5 раза чаще, чем среди мужчин молодого возраста (Попова и др. 2017b).

#### Влияние функционального состояния вегетативной нервной системы на формирование метаболических нарушений в когорте обских финно-угров хантов

Гиперхолестеринемия, артериальная гипертензия, атеросклероз зарегистрированы в когортах традиционных и урбанизированных хантов, как при избыточной, так и нормальной массе тела во всех возрастных группах. В связи с этим традиционный протокол обследования коренных народов Севера в периоды диспансеризации мы дополнили анализом функционального состояния вегетативной нервной системы по протоколу исследования вариабельности

ритма сердца, рекомендованного Европейским обществом кардиологов и Североамериканским обществом электрофизиологов (Heart rate variability... 1996).

Анализ вариабельности ритма сердца показал, что высокая симпатическая активность вегетативной нервной системы коррелирует с патологическим увеличением массы тела и гиперхолестеринемией и является дополнительным фактором кардиометаболического риска у коренных народов Севера (Попова и др. 2017b; 2017c; 2018b). Метаболическим нарушениям при нормальной массе тела также способствует симпатикотония (рис. 8).

#### Практическое использование оценки функционального состояния вегетативной нервной системы и кардиометаболических нарушений у коренных народов Севера

Профилактические мероприятия, направленные на сохранение генофонда коренных народов Севера, учитывают региональные климатические и социально-экономические факторы с выделением ведущих факторов риска и механизмов развития социально-значимой патологии (Кудряшова и др. 2012; 2015; Попова и др. 2018a). Полученные нами факты об изменении метаболического профиля при напряжении регуляторных механизмов в процессе адаптации к новым условиям среды послужили основой для алгоритма действий при определении объема профилактических мероприятий снижения риска кардиометаболических заболеваний.

Нами запатентован способ прогнозирования кардиометаболических заболеваний у коренных народов Севера с помощью определения индек-

Вариабельность ритма сердца: С – симпатикотония; ВР – вегетативное равновесие; П – парасимпатикотония\*



Рис. 8. Метаболические показатели при симпатикотонии, вегетативном равновесии и парасимпатикотонии у традиционных и урбанизированных обских финно-угров хантов

Heart rate variability: S – sympathicotonia; VB – vegetative balance; P – parasympathicotonia

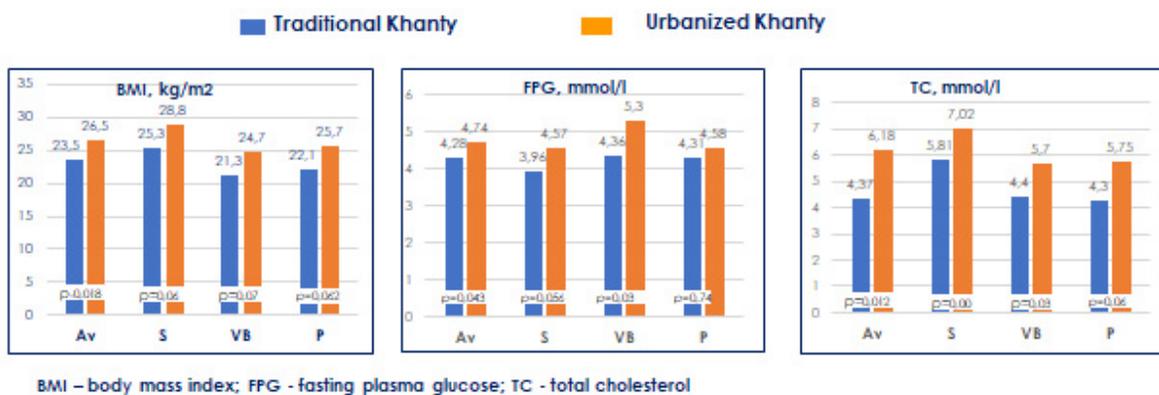


Fig. 8. Metabolic parameters in sympathicotonia, vegetative balance and parasympathicotonia in traditional and urbanized Ob Finno-Ugric Khanty

са высокого риска кардиометаболических заболеваний (ИВР<sub>КМЗ</sub>) с учетом показателей variability ритма сердца (Попова и др. 2020).

Дополнительными критериями высокого риска развития ассоциированных с метаболическими нарушениями (МН) заболеваний по результатам нашего исследования являются соотношение низкочастотной составляющей спектра variability ритма сердца к высокочастотной  $LF/HF \geq 1,4$  у. е. при фоновой записи кардиоритмограммы и индекс высокого кардиометаболического риска (ИВР<sub>КМЗ</sub>)  $\geq 19,5$ , который может быть определен по формуле:

$$ИВР_{КМЗ} = 0,0000127 [\text{возраст (лет)} \times (ОХС (\text{ммоль/л}) \times ИМТ(\text{кг/м}^2) \times LF/HF (\text{у. е.}) \times VLF(\text{мс}^2) \times ВР (\text{с}))],$$

где ИВР<sub>КМЗ</sub> — дискриминанта (D), полученная при дискриминантном анализе, ОХС — общий холестерин, ИМТ — индекс массы тела,

LF/HF (у. е.) — отношение низкочастотной составляющей к высокочастотной составляющей спектра кардиоритмограммы, VLF(мс<sup>2</sup>) — мощность спектра в диапазоне очень низких частот, ВР — вариационный размах, разница между максимальным и минимальным значениями RR-интервалов кардиоритмограммы (Попова и др. 2019).

В зависимости от значения индекса можно планировать профилактические мероприятия по изменению образа жизни, либо рассматривать необходимость фармакологической коррекции выявленных метаболических нарушений. Фармакологическая коррекция традиционных метаболических факторов риска и дополнительных (симпатикотонии) показана при ИВР<sub>КМЗ</sub>  $\geq 19,5$ .

При выявлении высокой симпатической активности вегетативной нервной системы необходимо учитывать наличие синдромов анемии, воспаления, проводить исследование уровня гормонов щитовидной железы и проводить соответствующую фармакологическую коррекцию

причин данных состояний. В практику диспансеризации коренных народов Севера в ХМАО-Югре нами внедрен алгоритм действий, позволяющий определить объем профилактических мероприятий при выявлении дезадаптивных нарушений (рис. 9).

Повышение симпатической активности вегетативной нервной системы коррелирует с гиперхолестеринемией при нормальной и избыточной массе тела, как в когорте урбанизированных хантов, так и ведущих традиционный образ жизни в родовых угодьях.

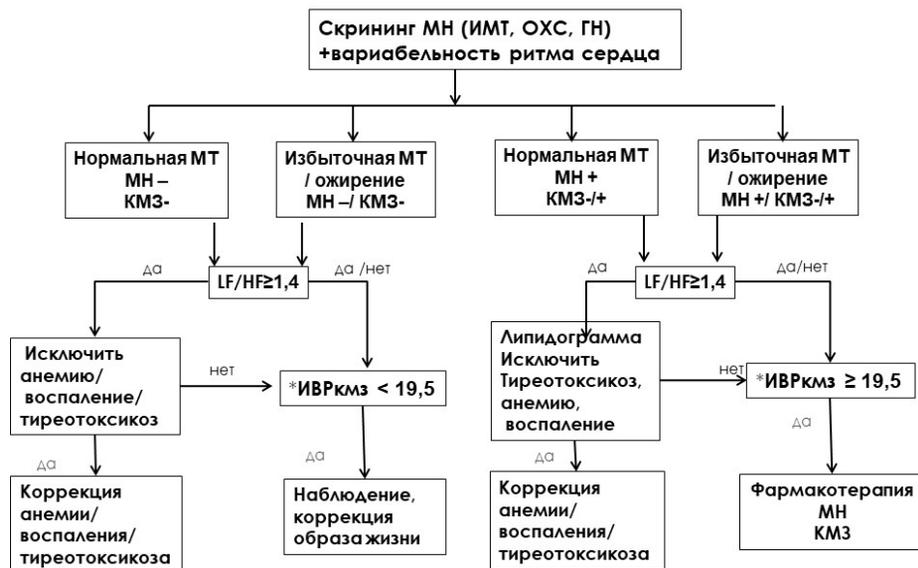


Рис. 9. Алгоритм определения кардиометаболического риска и тактики профилактики метаболических нарушений при плановой диспансеризации коренных народов Севера с учетом функционального состояния вегетативной нервной системы по данным кардиоритмографии (вариабельности ритма сердца). МН — метаболические нарушения, КМЗ — кардиометаболические заболевания, ИМТ — индекс массы тела, ОХС — общий холестерин, ГН — гипергликемия натощак, ИВРкмз — индекс высокого риска КМЗ

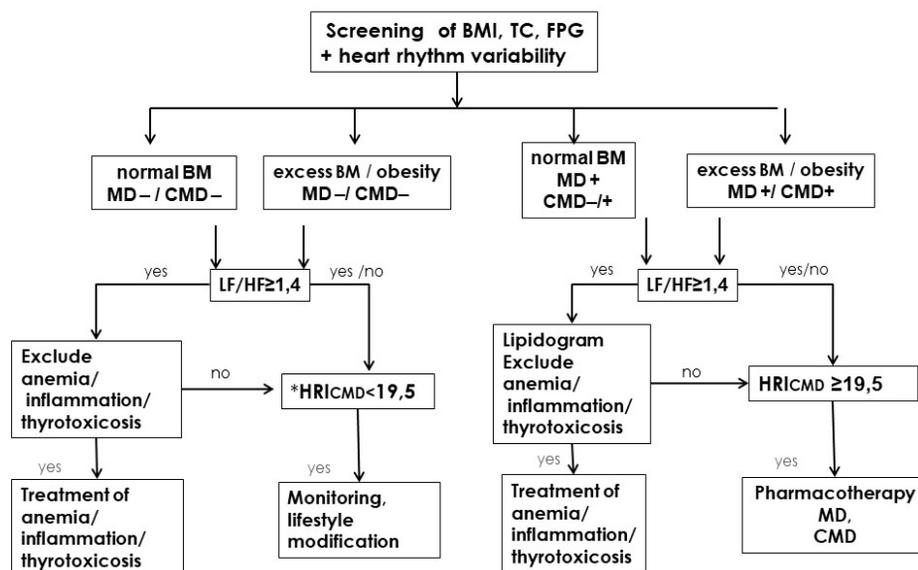


Fig. 9. Algorithm for determining cardiometabolic risk and tactics for the prevention of metabolic disorders during the planned medical examination of the indigenous peoples of the North, considering the functional state of the autonomic nervous system according to cardiorythmography (heart rate variability). MD—metabolic disorders, CMD—cardiometabolic diseases, BMI—body mass index, TC—total cholesterol, FPG—fasting plasma glucose, HRI<sub>CMD</sub>—High Risk Index of CMD

Высокий риск кардиометаболических заболеваний с учетом показателей симпатической активности вегетативной нервной системы регистрируется в когорте урбанизированных хантов молодого возраста в 18,0% случаев, среднего возраста — в 26,0%, в когорте молодых хантов с традиционным образом жизни в родовых угодьях — в 5,0%, среди традиционных хантов среднего возраста — в 8,0%.

Прогнозирование кардиометаболической патологии с учетом функционального состояния организма имеет практическое значение в выборе тактики профилактических мероприятий, направленных на снижение кардиометаболического риска в популяции коренных народов Севера в условиях изменения образа жизни, связанных с урбанизацией стратегически значимых для государства нефтегазодобывающих северных районов Западной Сибири.

### **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**

При выполнении исследования соблюдены требования биомедицинской этики, национального стандарта Российской Федерации о надлежащей клинической практике и Хельсинкской декларации. На включение пациентов в исследование получено добровольное информированное согласие.

### **Ethics Approval**

The study complied with the requirements of biomedical ethics, the national standard of the Russian Federation on good clinical practice, and the Declaration of Helsinki. Voluntary informed consent was obtained for the inclusion of patients in the study.

### **Литература**

- Василькова, Т. Н., Матаев, С. И. (2009) Метаболический синдром в популяции коренных народов Крайнего Севера. *Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура*, т. 160, № 27, с. 71–73.
- Единый официальный сайт государственных органов Ханты-Мансийского автономного округа — Югра. (2023) [Электронный ресурс]. URL: <http://www.admhmao.ru/ob-okruge/obshchie-svedeniya> (дата обращения 18.01.2023).

### **Вклад авторов**

- a. Попова Марина Алексеевна — участие в исследовании, подготовка публикации;
- b. Палюшкевич Алевтина Сергеевна — участие в исследовании, предоставление официальной статистики.

### **Author Contributions**

- a. Marina A. Popova conducted the research and drafted the manuscript;
- b. Alevtina S. Palyushkevich conducted the research and provided official statistics.

### **Благодарности**

Непосредственное участие в реализации данного исследования принимали В. Е. Граудина (Кудряшова), А. С. Палюшкевич, успешно защитившие диссертационные исследования по данному направлению.

Особая признательность представителям администрации Сургутских городских поликлиник № 2 и № 3, Сургутской окружной клинической больницы, главным врачам амбулаторий национальных поселений, обеспечившим возможность проведения научных исследований в периоды диспансеризации коренных народов Севера ХМАО и являющимся соавторами наших публикаций.

### **Acknowledgements**

V. E. Graudina (Kudryashova) and A. S. Palyushkevich, who have greatly contributed to the reported study, have successfully defended doctoral dissertations in the topic of the study reported in this paper.

We would like to thank the administration of Surgut-based outpatient clinics No. 2 and No. 3, the Surgut Regional Clinical Hospital, and chief physicians of outpatient clinics of national settlements. They have co-authored our publications and made it possible to conduct scientific research during the medical examination of the indigenous peoples of the North of the Khanty-Mansi Autonomous Okrug.

- Кудряшова, В. Е. (2014) Кардиометаболический профиль женщин-ханты — представителей коренных малочисленных народов Севера Ханты-Мансийского автономного округа — Югры, проживающих в организованном поселении. *Вестник Сургутского государственного педагогического университета*, № 3 (30), с. 40–46.
- Кудряшова, В. Е., Палюшкевич, А. С., Абубекерова, Э. М. (2015) Факторы риска и прогнозирование кардиоваскулярной патологии представителей народности ханты: итоги шестилетнего проспективного наблюдения. *Вестник Сургутского государственного педагогического университета*, № 1 (34), с. 244–250.
- Кудряшова, В. Е., Попова, М. А. (2012) Традиционные факторы риска и сердечно-сосудистые заболевания у представителей коренных малочисленных народов Севера Ханты-Мансийского автономного округа — Югры. *В мире научных открытий. Проблемы науки и образования*, № 2.2 (26), с. 74–84.
- Палюшкевич, А. С. (2019) *Метаболические нарушения у представителей коренных малочисленных народов Севера в условиях урбанизации и их профилактика. Диссертация на соискание степени кандидата медицинских наук.* Тюмень, Тюменский государственный медицинский университет, 154 с.
- Показатели по медицинскому обслуживанию коренных малочисленных народов Севера по Ханты-Мансийскому автономному округу — Югре. (2022) *Депздрав ХМАО — Югры*. Ханты-Мансийск: Медицинский информационно-аналитический центр, с. 68.
- Попова, М. А., Граудина, В. Е., Палюшкевич, А. С. (2018а) Приоритетные направления профилактики кардиоваскулярной патологии у представителей коренных малочисленных народов Севера, проживающих в условиях урбанизированной среды. *Вестник СурГУ. Медицина*, № 1 (35), с. 56–63.
- Попова, М. А., Кудряшова, В. Е. (2011) Метаболический профиль представителей коренных малочисленных народов севера Сургутского района. *Вестник угроветедения*, № 3 (6), с. 180–185.
- Попова, М. А., Палюшкевич, А. С., Алатырева, И. В. (2017а) Избыточная масса тела и ожирение в разных возрастных группах коренных малочисленных народов Севера мужчин-ханты, проживающих в урбанизированных условиях. В кн.: *Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. Сердечно-сосудистые заболевания. Т. 18. № 3. Приложение. XXI ежегодная сессия Национального научно-практического центра ССХ им. А. Н. Бакулева Минздрава России с Всероссийской конференции Молодых ученых.* М.: НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева, с. 124.
- Попова, М. А., Палюшкевич, А. С., Граудина, В. Е. (2017b) Формирование метаболических нарушений коренных малочисленных народов Севера финно-угорской группы в условиях урбанизации. *Современные проблемы науки и образования*, № 5. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26946> (дата обращения 17.01.2023).
- Попова, М. А., Палюшкевич, А. С., Граудина, В. Е., Абубекерова, Э. М. (2017c) Формирование дезадаптивных нарушений вегетативной (автономной) регуляции сердечно-сосудистой системы коренных малочисленных народов Севера финно-угорской группы в условиях урбанизации. *Ульяновский медико-биологический журнал*, № 4, с. 140–145. <https://doi.org/10.23648/UMBJ.2017.28.8752>
- Попова, М. А., Палюшкевич, А. С., Граудина, В. Е. (2018b) Патологические изменения вегетативной регуляции и их связь с метаболическими нарушениями в субпопуляции коренных малочисленных народов Севера Ханты-Мансийского автономного округа — Югры в условиях урбанизации. *Современные проблемы науки и образования*, № 2. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27478> (дата обращения 17.01.2023).
- Попова, М. А., Палюшкевич, А. С., Граудина, В. Е. (2019) *Способ прогнозирования кардиометаболического риска у коренных народов Севера. Патент на изобретение RU2723734C1.* Дата регистрации 17.06.2020.
- Рейтинг социально-экономического положения регионов — 2021. (2021) *РИА Рейтинг*, 31 мая. [Электронный ресурс]. URL: <https://riarating.ru/infografika/20210531/630201353.html> (дата обращения 17.01.2023).
- Численность населения по полу и возрасту по субъектам Российской Федерации на 1 января 2022 года (Статистический бюллетень). (2022) *Федеральная служба государственной статистики*. [Электронный ресурс]. URL: [https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Bul\\_chislen\\_nasel-pv\\_01-01-2022.pdf](https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Bul_chislen_nasel-pv_01-01-2022.pdf) (дата обращения 17.01.2023).
- Cosentino, F., Grant, P. J., Aboyans, V. (2020) 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: The task force for diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *European Heart Journal*, vol. 41, no. 2, pp. 225–323. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz486>
- Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task force of the European Society of Cardiology and The North American Society of Pacing and Electrophysiology. (1996) *European Heart Journal*, vol. 17, pp. 354–381.
- Popova, M. (2021) Metabolism evolution of indigenous small-numbered peoples of the North in the condition of urbanization in Western Siberia. In: *Arctic Frontiers Building Bridges. Tromso, Norway, 1–4 February*. Tromso: [s. n.], pp. 116–117.

## References

- Chislennost' naseleniya Rossijskoj Federatsii po polu i vozrastu na 1 yanvarya 2022 goda. Statisticheskij byulleten' [Population of the Russian Federation by sex and age as of January 1, 2022. Statistical bulletin]. (2022) *Federal'naya sluzhba gosudarstvennoj statistiki [Federal State Statistics Service]*. [Online]. Available at: [https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/chisl\\_RF\\_01-01-2022019](https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/chisl_RF_01-01-2022019) (accessed 17.01.2023). (In Russian)
- Cosentino, F., Grant, P. J., Aboyans, V. (2020) 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: The Task Force for diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *European Heart Journal*, vol. 41, no. 2, pp. 225–323. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz486> (In English)
- Edinyj ofitsial'nyj sajt gosudarstvennykh organov Khanty-Mansijskogo avtonomnogo okruga — Yugra [Unified official website of the public authorities of the Khanty-Mansi Autonomous Okrug — Ugra]*. (2023) [Online]. Available at: <http://www.admhmao.ru/ob-okruga/obshchie-svedeniya> (accessed 18.01.2023). (In Russian)
- Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task force of the European Society of Cardiology and The North American Society of Pacing and Electrophysiology. (1996) *European Heart Journal*, vol. 17, pp. 354–381. (In English)
- Kudryashova, V. E. (2014) Kardiometabolicheskij profil' zhenshchin-khanty — predstavitelej korennykh malochislennykh narodov Severa Khanty-Mansijskogo avtonomnogo okruga — Yugry, prozhivayushchikh v organizovannom poselenii [Cardiometabolic profile of khanty-females, representatives of the native minorities of the Khanty-Mansi Autonomous Okrug — Ugra]. *Vestnik Surgutskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta — Bulletin Surgut State Pedagogical University*, no. 3 (30), pp. 40–46. (In Russian)
- Kudryashova, V. E., Palyushkevich, A. S., Abubekerova, E. M. (2015) Faktory riska i prognozirovanie kardiovaskulyarnoj patologii predstavitelej narodnosti khanty: itogi shestiletnego prospektivnogo nablyudeniya [Risk factors and Khanty nationality representatives' cardiovascular pathology forecasting: Six-years prospective supervision results]. *Vestnik Surgutskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta — Bulletin Surgut State Pedagogical University*, no. 1 (34), pp. 244–250. (In Russian)
- Kudryashova, V. E., Popova, M. A. (2012) Traditsionnye faktory riska i serdechno-sosudistye zabolevaniya u predstavitelej korennykh malochislennykh narodov Severa Khanty-Mansijskogo avtonomnogo okruga — Yugry [Traditional risk factors and cardiovascular disease among representatives of Northern indigenous peoples in the Khanty-Mansi Autonomous Okrug — Ugra]. *V mire nauchnykh otkrytij. Problemy nauki i obrazovaniya — In the World of Scientific Discoverie. Problems of Science and Education*, no. 2.2 (26), pp. 74–84. (In Russian)
- Palyushkevich, A. S. (2019) *Metabolicheskie narusheniya u predstavitelej korennykh malochislennykh narodov Severa v usloviyakh urbanizatsii i ikh profilaktika [Metabolic disorders in representatives of the indigenous peoples of the North in the conditions of urbanization and their prevention]. PhD dissertation (Medicine)*. Tyumen, Tyumen State Medical University, 154 p. (In Russian)
- Pokazateli po meditsinskomu obsluzhivaniyu korennykh malochislennykh narodov Severa po Khanty-Mansijskomu avtonomnomu okrugu — Yugre [Indicators for medical care of the indigenous peoples of the North in the Khanty-Mansi Autonomous Okrug — Ugra]. (2022) *Depzdrav KhMAO — Yugry [Department of Health of the Khanty-Mansi Autonomous Okrug — Ugra]*. Khanty-Mansijsk: Meditsinskij informatsionno-analiticheskij tsentr Publ., 68 p. (In Russian)
- Popova, M. (2021) Metabolism evolution of indigenous small-numbered peoples of the North in the condition of urbanization in Western Siberia. In: *Arctic Frontiers Building Bridges. Tromso, Norway, 1–4 February*. Tromso: [s. n.], pp. 116–117. (In English)
- Popova, M. A., Graudina, V. E., Palyushkevich, A. S. (2018a) Prioritetnye napravleniya profilaktiki kardiovaskulyarnoj patologii u predstavitelej korennykh malochislennykh narodov Severa, prozhivayushchikh v usloviyakh urbanizirovannoj sredy [Priority directions of cardiovascular pathology prevention in indigenous peoples of the north living in conditions of urbanized environment]. *Vestnik SurGU. Meditsina*, no. 1 (35), pp. 56–63. (In Russian)
- Popova, M. A., Kudryashova, V. E. (2011) Metabolicheskij profil' predstavitelej korennykh malochislennykh narodov severa Surgutskogo rajona [The metabolic profile of the representatives of indigenous peoples of the north in Surgut area]. *Vestnik ugrovedeniya — Bulletin of Ugric Studies*, no. 3 (6), pp. 180–185. (In Russian)
- Popova, M. A., Palyushkevich, A. S., Alatyreva, I. V. (2017a) Izbytochnaya massa tela i ozhirenie v raznykh vozrastnykh gruppakh korennykh malochislennykh narodov Severa muzhchin-khanty, prozhivayushchikh v urbanizirovannykh usloviyakh [Overweight and obesity in different age groups of indigenous peoples of the North of Khanty men living in urbanized conditions]. In: *Byulleten' NTsSSKh im. A. N. Bakuleva RAMN. Serdechno-sosudistye zabolevaniya. T. 18. № 3. Prilozhenie. XXI ezhegodnaya sessiya Natsional'nogo nauchno-prakticheskogo tsentra SSKh im. A. N. Bakuleva Minzdrava Rossii s Vserossijskoj konferentsii Molodykh ucherykh [Bulletin of the NCSSH them. A. N. Bakuleva RAMS. Cardiovascular diseases. Vol. 18. No. 3. Appendix. XXI annual session of the A. N. Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery of the Russian Ministry of Health from the All-Russian Conference of Young Scientists]*. Moscow: A. N. Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery of the Russian Ministry of Health Publ., p. 124. (In Russian)

- Popova, M. A., Palyushkevich, A. S., Graudina, V. E., Abubekeroва, E. M. (2017b) Formirovanie dezadaptivnykh narushenij vegetativnoj (avtonomnoj) reguljatsii serdechno-sosudistoj sistemy korennykh malochislennykh narodov Severa finno-ugorskoj grupy v usloviyakh urbanizatsii [Maladaptive disturbances of vegetative (autonomic) regulation of cardiovascular system in indigenous peoples of the North (Finno-Ugric group) under urbanization]. *Ul'yanovskij mediko-biologičeskij zhurnal — Ulyanovsk Medico-Biological Journal*, no. 4, pp. 140–145. <https://doi.org/10.23648/UMBJ.2017.28.8752> (In Russian)
- Popova, M. A., Palyushkevich, A. S., Graudina, V. E. (2017c) Formirovanie metabolicheskikh narushenij korennykh malochislennykh narodov Severa finno-ugorskoj grupy v usloviyakh urbanizatsii [Frequency hypercholesterinemia, obesity and overweight among the indigenous peoples of the North of the Khanty-Mansi Autonomous Okrug — Ugra living in urbanized areas]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya — Modern Problems of Science and Education*, no. 5. [Online]. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26946> (accessed 17.01.2023). (In Russian)
- Popova, M. A., Palyushkevich, A. S., Graudina, V. E. (2018b) Patologičeskije izmeneniya vegetativnoj reguljatsii i ikh svyaz' s metabolicheskimi narusheniyami v subpopulyatsii korennykh malochislennykh narodov Severa Khanty-Mansijskogo avtonomnogo okruga — Yugry v usloviyakh urbanizatsii [Pathological changes in autonomic regulation and their relationship with metabolic disorders in a subpopulation of the indigenous peoples of the North in the Khanty-Mansi autonomous Okrug — Yugra in the context of urbanization]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya — Modern Problems of Science and Education*, no. 2. [Online]. Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27478> (accessed 17.01.2023) (In Russian)
- Popova, M. A., Palyushkevich, A. S., Graudina, V. E. (2019) *Sposob prognozirovaniya kardiometabolicheskogo riska u korennykh narodov Severa. Patent na izobretenie RU2723734C1 [Method for prediction of cardiometabolic risk in indigenous peoples of North. Patent RU2723734C1]*. Register date 17.06.2020. (In Russian)
- Rejting sotsial'no-ekonomičeskogo položeniya regionov — 2021 [Rating of socio-economic situation of regions 2021]. (2021) *RIA Rejting [RIA Rating]*, 31 May. (2021) [Online]. Available at: <https://riarating.ru/infografika/20210531/630201353.html> (accessed 18.01.2023). (In Russian)
- Vasil'kova, T. N., Mataev, S. I. (2009) Metabolicheskiy sindrom v populyatsii korennykh narodov Krajnego Severa [Metabolic a syndrome in population of the radical people of the extreme North]. *Vestnik Yuzhno-Ural'skogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya "Obrazovanie, zdravokhranenie, fizicheskaya kul'tura" — Bulletin of South Ural State University. Series "Education, Healthcare, Physical Education"*, vol. 160, no. 27, pp. 71–73. (In Russian)



UDC 612.39

EDN XHYNIW

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-58-68>

## Beneficial effects of low carbohydrate diet and sports in patients with type 1 diabetes

Z. Zelena<sup>1</sup>, D. Zelena<sup>✉2</sup>, A. Körner<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pediatrics Clinic no. I. of Semmelweis University, 53–54 Bóky János Str., Budapest 1083, Hungary

<sup>2</sup> University of Pécs, 12 Szigeti Str., Pécs 7624, Hungary

### Authors

Zalán Zelena, e-mail: [zelena.zalan@gmail.com](mailto:zelena.zalan@gmail.com)

Dóra Zelena, ORCID: 0000-0001-5616-1100, Scopus AuthorID: 6602752896, e-mail: [dora.zelena@aok.pte.hu](mailto:dora.zelena@aok.pte.hu)

Anna Körner, e-mail: [korner.anna@med.semmelweis-univ.hu](mailto:korner.anna@med.semmelweis-univ.hu)

**For citation:** Zelena, Z., Zelena, D., Körner, A. (2023) Beneficial effects of low carbohydrate diet and sports in patients with type 1 diabetes. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 1, pp. 58–68. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-58-68>  
EDN XHYNIW

**Received** 24 January 2023; reviewed 14 March 2023; accepted 16 March 2023.

**Funding:** The study did not receive any external funding.

**Copyright:** © Z. Zelena, D. Zelena, A. Körner (2023). 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.** To reduce obesity and cardiovascular risk, a combination of low carbohydrate diet and sport is a good choice in otherwise healthy individuals. However, among patients with type 1 diabetes mellitus (T1DM), consuming a minimum of 130 g carbohydrates per day is recommended, and the desire to exercise decreased as well. We wanted to demonstrate that a low carbohydrate diet during physical activity in T1DM patients is safe with the right choice of insulin dosing and reduces the development of both short- and long-term complications. To this end, we collected data from T1DM patients on a normal and low carbohydrate diet using a questionnaire as well as measured blood glucose levels while exercising in healthy and T1DM patients. The main benefit of the diet was that it provided a safe exercise option with more stable blood glucose levels and lower bolus insulin requirements. Our data support that the emergence of new types of insulins, tissue glucose sensors, and pumps has provided the conditions for a freer, less complicated life for patients with T1DM, for which the combined use of a normal and low carbohydrate diet can be an important tool.

**Keywords:** diabetes, T1DM, low carb diet, physical activity, blood glucose level

### Introduction

Being overweight and the concomitant type 2 diabetes mellitus (T2DM) is one of the most significant health problems today, which is almost epidemic (Kjaer et al. 2015). However, the incidence of type 1 diabetes mellitus (T1DM), which has a completely different mechanism, is also rising rapidly, especially among children (Haszon-Nagy 2019). This has tripled in the last 30 years, making T1DM the most common childhood chronic disease by now. However, these two basic types of diabetes mellitus (DM) are not mutually exclusive as overweight and the accompanying cardiovascular risk

factors are much more common among T1DM diabetes patients than among healthy people, so they may also develop T2DM. This condition with the simultaneous diagnosis of T1DM and T2DM is called double diabetes mellitus (Minges et al. 2013).

A combination of diet and exercise is recommended to treat overweight and increased cardiovascular risk in healthy individuals. The question arose if a low carbohydrate diet (low carb diet, LCD) works well for non-DM individuals (Shai et al. 2008), why it should not work for DM patients as well, and why it should not be combined with exercise. One might think that what is healthy is good for everyone,

which is partly true. However, there are obviously different needs for a developing youth body that is more prone to T1DM and an older, potentially obese adult who is more prone to T2DM. For the treatment of overweight and increased cardiovascular risk in healthy individuals many types of diets have spread, including fashionable, not necessarily evidence-based (e.g. paleolithic diet, ketogenic diet), as well as official recommendations (Skerrett, Willett 2010). Diets typically focus on weight loss, for which LCD is a possible choice. However, the American Diabetes Association (ADA) has been recommending LCD for DM patients only since 2019 (Kussin 2019). Until then, there was a general belief that with less than 130 g of carbohydrates a day, our brains are not functioning properly, and basic nutrient requirement is not fulfilled. However, the proven reduced insulin requirement and cardiovascular risk associated with lower carbohydrate intake ultimately convinced decision makers.

We must emphasize that it is always necessary to take individual needs into account, there is no “one-size-fits-all” rule. Low carb (and not low fat) can be considered as a uniform principle as an approach, but exact amounts and timing should be personalized. Based on literature data, a diet in which less than 26% of the total energy intake (in contrast to the normal 45–65%) comes from carbohydrates alone (<130 g carbohydrate/day for an average adult) can be considered low carb (Oh et al. 2022). It is important to emphasize that LCD is not the same as starvation ketogenic therapy (Westman et al. 2018), which was used in DM patients before the discovery of insulin. Nowadays, not only human insulin has appeared, but we also

have long-term insulin analogues and insulin pumps that can meet the body’s basic insulin needs. Thanks to them, we avoid the complete lack of insulin and the consequent ketoacidosis, which sooner or later became inevitable with the old ketogenic treatment. Less carbohydrate intake requires less insulin, which means less interference in the body’s own metabolism, which we believe can lead to a greater degree of balance (Fig. 1). This could mean fewer acute complications in the short term and a reduction in the likelihood of chronic complications in the long term. Indeed, oscillating glucose levels seem to be more deleterious to our health than even a higher but steady glucose level (Ceriello et al. 2008; Sparks et al. 2021). Based upon latest observations, flattening our glucose curves seems to be a good choice (Inchauspé 2023).

Diet is just one tool for maintaining health, and the other is known to be beneficial exercise. Unfortunately, DM patients also lag behind their healthy counterparts in this area (Mottalib et al. 2017), in which fear of the most common acute complication (Burr et al. 2012), of low blood glucose (hypoglycaemia) is believed to play a role (Colberg et al. 2015). Sport should play a particularly important role in young people’s lives and T1DM mainly affects them. The regulations of handling T1DM require attention to several things that deprive the patient of his/her freedom of movement and joy, and meanwhile the risk of hypoglycemia is continuously present.

We aimed to demonstrate that in T1DM patients, LCD is safe even during exercise with the right choice of insulin dosing and may reduce both short- and long-term complications.

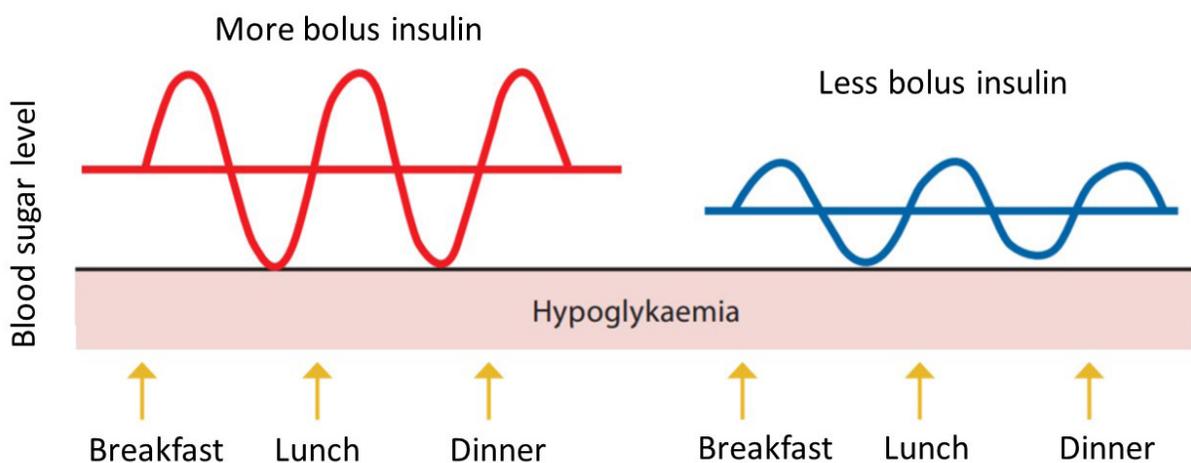


Fig. 1. The effect of the amount of bolus insulin on the fluctuation of blood glucose levels. Hypothetic drawing representing the flattening of the blood glucose curve after lower insulin doses

## Materials and methods

### *Experiment 1. Questionnaire survey*

Online data collection was performed based on the voluntary completion of pre-designed questionnaires, which were sent specifically to patients with T1DM. Aggregate data were stored anonymously, based on code, in an Excel file, from which individuals could not be identified. Two populations were included in the studies: those on a normal carbohydrate diet (daily carbohydrate intake:  $186.0 \pm 8.5$  g; Semmelweis University, 1st Dept Pediatrics) and a group on a low carb diet (LCD, average daily carbohydrate intake:  $45.8 \pm 6.4$  g; closed international LCD T1DM Facebook group). Our main question was how their blood glucose levels and their body mass index (BMI; calculated as weight (in kg)/height<sup>2</sup> (in m)) and laboratory parameters change during their physical activity, whether there is a correlation between the examined parameters (e. g. we hypothesized that the longer someone has been on LCD, the lower are their levels of harmful blood lipids and glycosylated hemoglobin (HbA1c)).

We surveyed what kind of sport the person was doing. Aerobic activities included basketball, football, physical education, running, biking, and walking, while anaerobic activities included weightlifting, wrestling, home gymnastics, and gym training. We also asked about the length and duration of a typical workout (finally, the data of the first 40 minutes were taken into account uniformly for everyone), blood glucose values measured before and during the workout, as well as carbohydrate consumption and insulin dosage related to the workout.

Finally, laboratory plasma values were asked: lipids (total cholesterol; low density lipoprotein (LDL), considered harmful; high density lipoprotein (HDL), protective), liver enzymes (alkaline phosphatase (ALP); gamma-glutamyl transferase (GGT); glutamate oxaloacetate aminotransferase (GOT); pyruvate aminotransferase (GPT)), total protein and albumin levels, which also reflect the synthetic activity of the liver, as well as creatinine values reflecting muscle activity and renal function.

### *Experiment 2. Blood glucose during training*

To confirm previous, self-reported results, three healthy adults (two men and one woman) and three adults with T1DM (three men) were examined during a standard (40 minutes of running) aerobic exercise. To imitate LCD, the test was done at least four hours after the last meal in all individuals, without bolus insulin, but with basal insulin

(Degludec) in T1DM patients. The average age was  $29.6 \pm 5.4$  years and BMI was  $21.4 \pm 0.9$  kg/m<sup>2</sup>. The evolution of their blood glucose level was followed in every five minutes, in a blood sample taken from the fingertip (by DCont HUNOR measuring device; the sampling involved a stop for less than half a minute). There was no difference between the two examined groups in the average distance traveled (control:  $6.59 \pm 0.51$  km; T1DM:  $6.90 \pm 0.30$  km) and speed (control:  $9.90 \pm 0.33$  km/h, T1DM:  $9.86 \pm 0.57$  km/h), as well as in the average heart rate measured by a wrist heart rate monitor (control:  $137.5 \pm 0.75$ /min; T1DM:  $138.5 \pm 0.75$ /min). That is, the load can be considered the same in both groups.

### *Statistical analysis*

The data were given as mean $\pm$ SEM (standard error of mean). The analysis was performed by StatSoft 15.0 software (TIBCO, USA). A t-test was used to compare two samples, two-way ANOVA analysis was used to compare the four groups (factors: normal or low carbohydrate diet, type of training) and repeated-measures ANOVA was performed for blood glucose parameters during training. Fisher's LSD test was used for posthoc comparisons. The correlation between the parameters was examined using the Pearson test. A value of  $p < 0.05$  was considered significant.

## Results

### *Experiment 1. Questionnaire survey*

In this study T1DM patients with a normal diet and LCD were included.

### *General parameters*

The age of the LCD T1DM group was significantly higher compared to the group on the normal carbohydrate diet (normal:  $15.1 \pm 0.5$  years; LCD:  $37.9 \pm 3.2$  years;  $p < 0.01$ ), but no difference was found between those performing aerobic or anaerobic work ( $p = 0.50$ ) (Table 1). Nevertheless, the height, weight, and BMI of the examined individuals did not show significant differences according to either diet or type of training ( $p > 0.05$ ).

Although larger body sizes would normally be expected in men, strangely, we found no difference in height and weight between the sexes (Table 1). BMI, on the other hand, was higher among women (males:  $20.8 \pm 0.7$  kg/m<sup>2</sup>; females:  $24.8 \pm 1.3$  kg/m<sup>2</sup>,  $p = 0.01$ ), which was more pronounced in the younger age group consuming normal carbohydrates (normal carbohydrate group male-female difference:  $p = 0.019$ , low carbohydrate group male-female difference:  $p = 0.26$ ).

Table 1. General parameters of T1DM patients who consumed normal or low carbohydrate diets (Experiment 1)

Training type	Normal diet		Low carb diet	
	aerob	anaerob	aerob	anaerob
Number of participants	19	7	11	10
Ratio of man/woman	61.11	60.00	45.45	44.44
Age	15.08 ± 0.57	15.14 ± 1.37	39.91 ± 4.99	35.56 ± 4.09
Height (cm)	165.21 ± 2.93	162.86 ± 8.18	165.05 ± 6.13	170.00 ± 2.20
Body weight (kg)	60.38 ± 4.46	56.61 ± 6.87	65.65 ± 5.20	69.72 ± 2.69
BMI	21.86 ± 1.43	20.82 ± 1.34	23.66 ± 1.44	24.13 ± 0.84

*Note:* In the normal diet group more men than women were involved, while in the low carb diet group it was the other way round. The average age of the low carb diet group was higher than in the normal diet group. Analyzed by two way ANOVA. Abbreviation: BMI—body mass index, calculated as weight (in kg) / height<sup>2</sup> (in m).

### *Carbohydrate metabolism*

We found higher basal insulin requirements in women than in men (approximately 1.4-fold, men: 15.078 ± 1.400unit/day, women: 21.205 ± 3.051unit/day; p = 0.036) and—in women only—a positive correlation was found between the amount of daily

basal insulin requirement and body weight (correlation: p < 0.05) and BMI index (correlation: p < 0.05) (Table 2). Body weight and BMI parameters showed no correlation with either duration of diabetes mellitus or LCD, or interestingly, with daily carbohydrate intake and HbA1c levels.

Table 2. Correlation between general body parameters (height, weight, BMI) and typical carbohydrate parameters of the T1DM patients (Experiment 1)

	correlation	r	p
duration of DM	Height	0.18	0.23
	Weight	0.21	0.16
	BMI	0.19	0.22
basis insulin / day	Height	0.08	0.61
	Weight	0.34	0.02
	BMI	0.45	0.002
carbohydrate / day	Height	0.08	0.59
	Weight	-0.18	0.23
	BMI	-0.28	0.06
duration of LCD	Height	0.18	0.45
	Weight	0.15	0.52
	BMI	0.05	0.83
HbA1c	Height	-0.01	0.93
	Weight	0.004	0.98
	BMI	0.04	0.78

*Note:* Significant correlations are marked as bold. Analyzed by Pearson test. Abbreviations: BMI: body mass index, DM: diabetes mellitus, LCD: low carb diet.

However, insulin sensitivity is believed to be best inferred from basal insulin requirement per kilogram body weight and the bolus insulin values necessary for 10 g of carbohydrate (Table 3). Examining these, the gender difference disappeared in basal insulin values ( $p = 0.103$ ), but those on LCD had approximately 15% less basal insulin requirements than those on a normal carbohydrate diet ( $p = 0.028$ ). Accordingly, the amount of bolus insulin required for 10 g of carbohydrate was also significantly lower among those on LCD (by about 37%,  $p = 0.042$ ). The longer the diabetes mellitus existed, the more basal insulin was needed ( $r = 0.576$ ,  $p = 0.008$ ) and the amount of bolus required for 10 g of carbohydrates also increased ( $r = 0.646$ ,  $p = 0.002$ ).

A more stable glucose metabolism was expected in the LCD group (Fig. 1). This was confirmed by the fewer hypoglycaemic episodes detected in LCD compared to normal diet group over 30 days (normal:  $10.5 \pm 1.9$ , LCD group:  $3.9 \pm 1.1$ ;  $p = 0.018$ ) and lower HbA1c levels reflecting long-term blood glucose levels (approximately 28% lower values in the LCD group;  $p < 0.001$ ) (Table 3). Indeed, the higher the daily carbohydrate intake was, the higher HbA1c level was detected ( $r = 0.445$ ,  $p = 0.002$ ). The gender had no effect on these parameters.

*Acute effect: changes in blood glucose levels during exercise*

Based on the questionnaires, a typical 40-min physical activity led to lower blood glucose values in the LCD group than in the normal diet group

(based on 0, 15, and 30-min values in the analysis;  $p < 0.05$ ), which was mainly observable in the initial values (Fisher posthoc test:  $p = 0.021$ ) (Fig. 2).

Because the nature of the physical work performed (aerobic or anaerobic) did not affect the measured blood glucose levels ( $p = 0.59$ ), we merged these two groups and compared those on a normal diet and LCD only. Diet significantly affected the time course of blood glucose levels (diet x time interaction:  $p < 0.05$ ). Blood glucose levels gradually decreased during sports in those on a normal diet, whereas no such change was observed in the LCD group. If we looked at the change in blood glucose level during the 40 min physical activity (comparing 0 and 40 min values) those on LCD had a much smaller decrease in blood glucose levels ( $-0.16 \pm 0.28$  mmol/l) than those on a normal diet ( $-2.36 \pm 0.47$  mmol/l) ( $p < 0.01$ ). Comparing the standard deviations of the two groups, we found that the values of those on the normal diet showed greater variability than those on the LCD ( $p < 0.01$ ) (Fig. 2).

The change in blood glucose during exercise (between 0 and 40 min) negatively correlated with the amount of carbohydrate consumed per day ( $r = -0.689$ ,  $p = 0.002$ ), but did not depend on the amount of basal insulin ( $r = -0.077$ ,  $p = 0.769$ ).

*Long-term effect: laboratory results*

Since acute physical activity is not expected to affect laboratory values in the long run, but a long-term LCD does, we focused on the latter effect here and compared two groups (Fig. 3).

Table 3. Questionnaire-based evaluation of carbohydrate metabolism parameters in T1DM patients (Experiment 1)

	Man		Woman	
	normal diet	LCD	normal diet	LCD
basis insulin (n)	17.700 ± 1.615 (14)	11.000 ± 1.944 (9)	21.938 ± 3.804 (8)	20.673 ± 4.638 (11)
basis insulin/bwkg	0.329 ± 0.034	0.167 ± 0.026	0.348 ± 0.039	0.301 ± 0.065
bolus insulin necessary to 10 g carbohydrate	1.971 ± 0.350	1.333 ± 0.166	2.300 ± 0.744	1.236 ± 0.257
number of hypoglycaemic episodes / month	11.357 ± 2.808	4.444 ± 2.180	9.812 ± 3.789	3.545 ± 1.163
HbA1c	7.892 ± 0.373	5.611 ± 0.256	8.600 ± 0.613	5.900 ± 0.292

*Note:* The basis insulin per body weight as well as bolus insulin per 10 g carbohydrate requirements were significantly lower in the LCD than in normal diet group. Moreover, the number of hypoglycaemic episodes as well as the HbA1c levels were lower in this group, too. Note that if men and women are combined, then in the LCD group a number of participants was lower than in the group with a normal diet. Analyzed by two way ANOVA. Abbreviation: LCD: low carb diet.

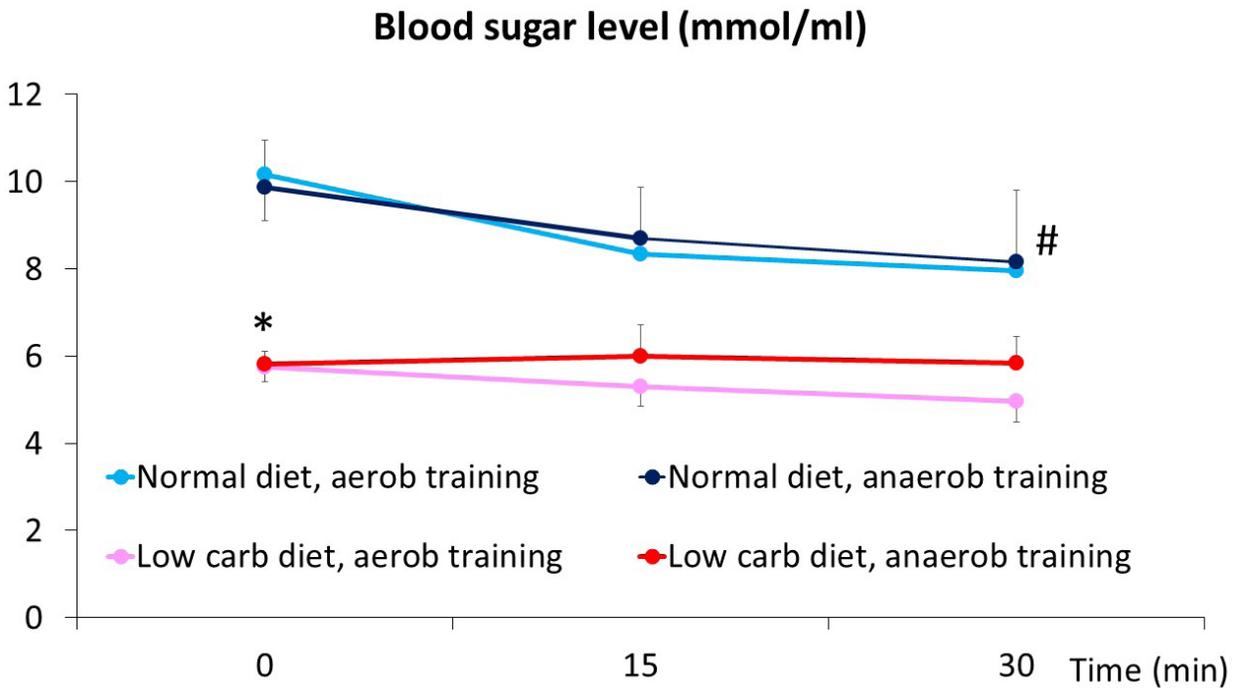


Fig. 2. Effect of physical activity on blood glucose levels. Data were collected by a self-reporting questionnaire. The low carb diet group reported lower blood glucose level before and during the exercise. N = 7–19. Analyzed by repeated measure ANOVA. \*— p < 0.05 significant difference between the group consuming normal and low carbohydrates (Fisher LSD posthoc test on main diet x time interaction), #— p < 0.05 significant difference the 0 and 30-minute values of the group consuming normal carbohydrates (Fisher LSD posthoc test on main diet x time interaction)

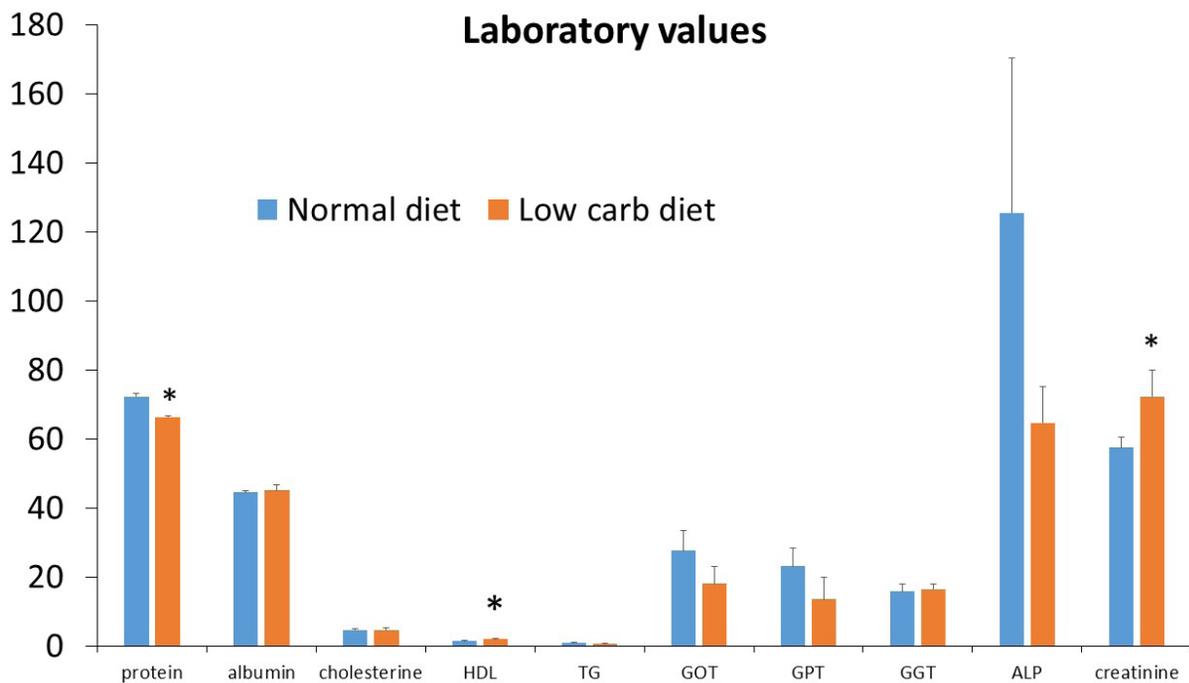


Fig. 3. Laboratory values in T1DM patients consumed normal or low carbohydrate diets. Analyzed by t-test. Abbreviation and units: albumin: g/L; ALP: alkaline phosphatase, U/L; cholesterine: mmol/L; creatinine: μmol/L; GGT: gamma-glutamyl transferase, U/L; GOT: glutamate oxaloacetate aminotransferase, U/L; GPT: pyruvate aminotransferase, U/L; HDL: high density lipoprotein, mmol/L; LDL: low density lipoprotein, mmol/L; protein: g/L. N = 8–20. \*—p < 0.05 significant difference with t-test

We found significant differences in three parameters (although the measured values still fell in the physiological range). Those on LCD had (1) lower total protein (but not albumin) levels and (2) higher creatinine and (3) HDL cholesterol (so-called “good” cholesterol) levels without significant difference in total cholesterol levels. There was a negative correlation between the duration of DM and albumin concentration ( $p < 0.05$ ) (Table 4). Height, body weight, and BMI data, as well as duration of diabetes mellitus (excluding albumin), were not significantly correlated with any of the

laboratory parameters. However, HbA1c levels showed a positive correlation with GPT and GGT.

*Experiment 2*

Pre-running blood glucose values measured after a minimum of 4 h of fasting did not show a difference between the two groups (control and T1DM; Fig. 4). Running did not lead to temporal fluctuations and the fact of diabetes mellitus did not affect the time course. However, we found a significant difference between the two groups during sports: the T1DM group had higher blood glucose values ( $p < 0.01$ ).

Table 4. Correlation of laboratory parameters with characteristic parameters of diabetes (Experiment 1)

		<b>Duration of DM</b>	<b>Basis insulin / day</b>	<b>Carbohydrate / day</b>	<b>HbA1c</b>
total protein	r	-0.08	0.88	0.94	0.19
	p	0.95	0.31	0.22	0.88
albumin	r	-1.00	-0.42	0.39	-0.97
	p	0.02	0.72	0.75	0.15
total cholesterine	r	0.52	-0.57	-0.99	0.28
	p	0.65	0.61	0.08	0.82
HDL	r	-0.56	-0.98	-0.53	-0.76
	p	0.62	0.11	0.65	0.45
TG	r	0.99	0.54	-0.26	0.99
	p	0.10	0.64	0.83	0.07
GOT	r	0.87	0.80	0.09	0.97
	p	0.32	0.41	0.95	0.15
GPT	r	0.95	0.66	-0.12	1.00
	p	0.19	0.54	0.93	0.02
GGT	r	0.94	0.69	-0.08	1.00
	p	0.22	0.52	0.95	0.05
ALP	r	-0.62	0.47	0.97	-0.39
	p	0.58	0.69	0.15	0.75
creatinine	r	0.30	-0.75	-0.99	0.04
	p	0.81	0.46	0.08	0.98

*Note:* Significant correlations are marked as bold. Analyzed by Pearson test. Abbreviation: ALP: alkaline phosphatase; GGT: gamma-glutamyl transferase; GOT: glutamate oxaloacetate aminotransferase; GPT: pyruvate aminotransferase; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein.

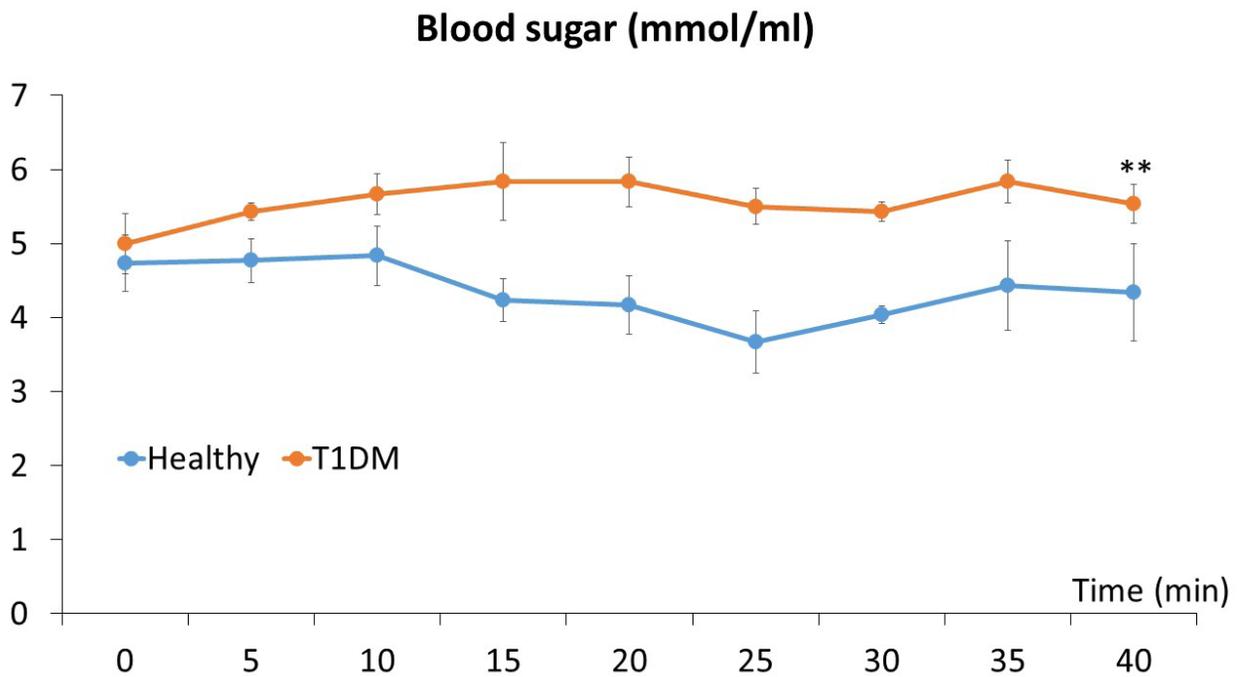


Fig. 4. Evolution of blood glucose levels during 40 minutes of running in healthy and T1DM people 4 hours after the last meal. N = 3. Analyzed by repeated measure ANOVA. \*\*— $p < 0.01$  higher blood glucose values were observed in patients with diabetes mellitus

## Discussion

Our studies demonstrated that LCD in T1DM patients reduced the risk of developing acute complications (hypoglycemia). In addition, we observed favorable changes in several parameters that can lead to chronic complications (HbA1c, blood lipids). The main benefit of the diet was that it provided a safe sport opportunity, which was also supported by a 2019 summary report (Scott et al. 2019). This might be because hypoglycemia is not caused by exercise but by bolus insulin. LCD is accompanied by fewer bolus insulin requirements, leading to more stable blood glucose values (Fig. 1). Therefore, lower HbA1c values can be achieved.

Despite younger age, the T1DM normal diet group had similar height and weight to the older LCD group (Table 1). It is likely that in the 15-year-old age group, the anabolic effect of insulin resulted in an early increase in body size. Indeed, some studies have reported that T1DM populations, especially those with early onset, are higher than healthy pediatric populations, yet their adult height is normal (Santi et al. 2019). A possible background mechanism might be that insulin directly acts on insulin-like growth factor-1 receptors promoting body growth.

Our data on higher BMI values in women than men confirmed previous results in 197 T1DM

patients (Szadkowska et al. 2015). The authors of the study found that all body fat mass parameters studied were higher in DM women than in controls, whereas in men only the relative fat mass of the lower extremities increased with T1DM. One possible explanation is that – according to a study of more than 1,400 people – insulin sensitivity of fat and muscle tissue in women is more affected by T1DM than in men (Millstein et al. 2018). It cannot be ruled out that the aromatase-stimulating effect of insulin promotes the conversion of androgens to estrogens. This mechanism may also play a role in the development of more frequent insulin resistance and polycystic ovary syndrome in women (Millstein et al. 2018). In support, we confirmed that women had higher basal insulin requirement than men and their insulin requirements correlated positively with their body weight and BMI.

The insulin sensitivity was better in LCD than in normal diet group based upon both the basal insulin requirement per kilogram body weight and the bolus insulin values necessary for 10 g of carbohydrate consumption (Table 2). Similar to our results, a 12-week LCD (< 50g/day) improved insulin sensitivity and body composition in healthy individuals (LaFountain et al. 2019). This may be explained by a hepatic-peripheral distribution ratio of exogenous insulin. Physiologically, insulin first

reaches the periphery through the portal circulation, touching the liver. However, individuals treated with subcutaneous insulin will have a much higher ratio of peripheral to hepatic insulin than healthy individuals. A similar condition has been observed in T2DM, which explains the metabolic disturbances in patients with T1DM and the phenomenon of dual diabetes mellitus mentioned in the introduction, which may lead to the relatively rapid development of insulin resistance in T1DM patients. This is also supported by the fact that the longer diabetes mellitus existed, the more basal insulin was required, and the amount of bolus required for 10 g of carbohydrate also increased. However, we cannot close out the confounding effect of age, as there is insulin resistance in puberty and the group on a normal carbohydrate diet belonged to that age group in contrast to the LCD group.

Our data — in accordance with the literature — support more stable blood glucose values during sports in those on LCD than normal diet (Scott et al. 2019). It may be due to the fact that the body is in a starvation-like state and bolus insulin is also missing. Under aerobic conditions, red muscle fibers burn fatty acids, white muscle fibers form lactate, while under anaerobic conditions, both types of muscle fibers produce lactate, which is converted to glucose in gluconeogenesis using energy from fatty acids in the liver, ensuring constant blood glucose level. Ultimately, in both aerobic and anaerobic cases, energy comes from lipids. This phenomenon is supported by the fact that there was no difference in the course of blood glucose levels measured during aerobic or anaerobic movements. In contrast, higher baseline blood glucose levels were detected in the group consuming normal amounts of carbohydrates, so muscle instead of fatty acid oxidized excess glucose circulating in the blood. Additionally, the bolus insulin was also applied in the normal diet group, which may have acted even when the muscle has already removed the excess glucose and switched to burning fatty acids. This is probably why blood glucose levels dropped further in this group until hypoglycaemia. This can, of course, be avoided by reducing insulin doses appropriately or by taking in extra carbohydrates, but this balance is always difficult to strike accurately. This is also shown by the greater variance in blood glucose values in the normal carbohydrate group and the higher incidence of hypoglycemic episodes. Unfortunately, even in this case, we cannot rule out the confounding effect of the younger age in normal diet group (see larger hormone fluctuations during puberty).

The data from the acute measurement (Experiment 2) were consistent with the findings of the

questionnaire (Experiment 1). In this case, exercise was carried out in both healthy and T1DM-treated subjects in fasted (LCD-like) conditions. The absence of extra carbohydrate intake did not require extra bolus insulin administration before exercise. The lack of bolus insulin and the appropriately adjusted amount of long-acting insulin analog adequately stabilized glucose levels even in T1DM patients. Therefore, there was no significant change in blood glucose during exercise in either group. This also supports the first experiment that physical activity in the absence of a bolus insulin does not lead to a significant reduction in blood glucose levels. This is due to the activation of the counter-regulatory processes that may have contributed to the maintenance of blood glucose levels e. g. by enhancing gluconeogenesis (glucagon, adrenaline, growth hormone, glucocorticoids, thyroid hormones, etc.) (Wilcox 2005). Moreover, during exercise, we observed higher blood glucose values in DM patients. This is also due to the aforementioned activation of the gluconeogenesis, and presumably the retained insulin-producing ability of healthy subjects, which allowed for more precise regulation. This is consistent with the fact that in the first experiment there was no association between the amount of injected basal insulin and the decrease in blood glucose. Thus, we might conclude that basal insulin at the appropriate dose has no hypoglycemic effect during exercise and the presence of insulin protects against ketoacidosis. In fact, a tenth of the insulin dose required for blood glucose control is sufficient to limit ketone body synthesis.

From the reported changes in laboratory values, the decrease in total protein levels in LCD group compared to the normal diet T1DM group could be explained by the fact that in this case the body basically uses protein breakdown to maintain blood glucose levels. Most of the proteins come from the muscles, and their degradation can lead to higher creatinine levels as well in the LCD. However, we cannot rule out, that — because of fear of hypoglycemia — members of the normal carbohydrate-consuming group exercised less, resulting in less microinjury in their muscles, manifested in their lower creatinine levels. Because albumin synthesis is stimulated by insulin (Chen et al. 2016), its rise over time, during disease progress, could be expected due to increasing insulin demand. However, instead of the expected positive correlation, a negative correlation was observed between disease duration and measurable albumin concentration. A possible explanation is that insulin resistance increased to a greater extent than insulin levels, thus, ultimately reducing the effect of insulin.

As for the lipid levels, HDL transports lipids back from the periphery to the liver, the so-called reverse cholesterol transport, thereby protecting — among other things — our blood vessels. During LCD, decreased insulin intake also results in lower cholesterol synthesis, which may necessitate the mobilization of peripheral “reserves,” leading to an increase in HDL-associated reverse cholesterol transport. It is expected that the levels of other lipoproteins (e. g. LDL) that transport lipids from the liver to the periphery will decrease and therefore the level of total cholesterol in the blood will remain unchanged.

Interestingly, the value of HbA1c showed a positive correlation with GPT and GGT parameters. Elevated HbA1c indicates persistently poor carbohydrate metabolism, which may be characterized by elevated levels of GPT (Abe et al. 2009) and GGT. This typically occurs with increased hepatic lipid accumulation and insulin resistance (Thamer et al. 2005). However, age may also play a role here, as HbA1c is known to be the highest in puberty.

Our study has several limitations. First of all, the first dataset was based upon an online questionnaire and there was a high age difference between the two dietary groups. The reported sports were rather heterogenous, and the small number of items per group all limit the correctness of our conclusions to be drawn. Therefore, further research is needed on this topic.

Nevertheless, in T1DM patients during current sport recommendations tend to recommend extra carbohydrate intake and a combinational hormone

therapy (insulin + glucagon) to prevent hypoglycemia (Basu et al. 2014). In contrast, our results support the safety of LCD with less short and long term negative consequences. Moreover, a diet may be beneficial for common comorbidities as well. For example, it can help to maintain a gluten-free diet, as the main carbohydrate sources mostly contain gluten. However, the combined use of a normal diet and LCD can better tailor the treatment of diabetes mellitus. Among others, concomitant use of the two diets may help to slow the progression of T1DM, prolonging the “honeymoon” (Tóth-Hejn 2018). Nevertheless, LCD definitely has a place among the therapeutic options for T1DM. This flexible therapy is possible due to new types of insulins, tissue glucose sensors, and pumps, providing the conditions for a freer, more uncomplicated life for those with T1DM as well. A proper diet combined with physical activity can have many other beneficial effects, e.g, reducing the cardiovascular risk and the development of tumors (Boér 2021).

### Conflict of Interest

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

### Author Contributions

- a. Zelena Zalán—planning and conducting the experiments, data collection, writing the first draft;
- b. Zelena Dóra—data analysis, visualization of the data, writing;
- c. Körner Anna—supervising the work, data collection, interpreting the data.

## References

- Abe, Y., Kikuchi, T., Nagasaki, K. et al. (2009) Usefulness of GPT for diagnosis of metabolic syndrome in obese Japanese children. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, vol. 16, no. 6, pp. 902–909. <https://doi.org/10.5551/jat.1933> (In English)
- Basu, R., Johnson, M. L., Kudva, Y. C. et al. (2014) Exercise, hypoglycemia, and type 1 diabetes. *Diabetes Technology & Therapeutics*, vol. 16, no. 6, pp. 331–337. <https://doi.org/10.1089/dia.2014.0097> (In English)
- Boér, K. (2021) Az étrend és a fizikai aktivitás hatása a daganatos betegségek kockázatára [The effect of diet and physical activity on the risk of cancer]. *Orvostovábbképző szemle*. [Online]. Available at: [http://otszonline.hu/onkologia/osszefoglalo/kozlemeny/cikk/az\\_etrend\\_es\\_a\\_fizikai\\_aktivitas\\_hatasa\\_a\\_daganatos\\_betegsegek\\_kockazatarara](http://otszonline.hu/onkologia/osszefoglalo/kozlemeny/cikk/az_etrend_es_a_fizikai_aktivitas_hatasa_a_daganatos_betegsegek_kockazatarara) (accessed 28.04.2021). (In Hungarian)
- Burr, J. F., Shephard, R. J., Riddell, M. C. (2012) Physical activity in type 1 diabetes mellitus: Assessing risks for physical activity clearance and prescription. *Canadian Family Physician*, vol. 58, no. 5, pp. 533–535. PMID: 22586195 (In English)
- Ceriello, A., Esposito, K., Piconi, L. et al. (2008) Oscillating glucose is more deleterious to endothelial function and oxidative stress than mean glucose in normal and type 2 diabetic patients. *Diabetes*, vol. 57, no. 5, pp. 1349–1354. <https://doi.org/10.2337/db08-0063> (In English)
- Chen, Q., Lu, M., Monks, B. R., Birnbaum, M. J. (2016) Insulin is required to maintain albumin expression by Inhibiting Forkhead Box O1 protein. *Journal of Biological Chemistry*, vol. 291, no. 5, pp. 2371–2378. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.677351> (In English)
- Colberg, S. R., Laan, R., Dassau, E., Kerr, D. (2015) Physical activity and type 1 diabetes: Time for a rewire? *Journal of Diabetes Science and Technology*, vol. 9, no. 3, pp. 609–618. <https://doi.org/10.1177/1932296814566231> (In English)

- Inchauspé, J. (2023) *Glucose goddess method: The 4-week guide to cutting cravings, getting your energy back, and feeling amazing*. New York: Simon & Schuster Publ., 272 p. (In English)
- Kjaer, I. G., Kolle, E., Hansen, B. H. et al. (2015) Obesity prevalence in Norwegian adults assessed by body mass index, waist circumference and fat mass percentage. *Clinical Obesity*, vol. 5, no. 4, pp. 211–218. <https://doi.org/10.1111/cob.12100> (In English)
- Kussin, C. (2019) The American Diabetes Association finally recommends low carb; still recommends foods that promote diabetes. *Carolina Total Wellness*. [Online]. Available at: <https://carolinatotalwellness.com/blog/index.php/2019/09/04/the-american-diabetes-association-finally-recommends-low-carb-still-recommends-foods-that-promote-diabetes/> (accessed 10.12.2022). (In English)
- LaFountain, R. A., Miller, V. J., Barnhart, E. C. et al. (2019) Extended ketogenic diet and physical training intervention in military personnel. *Military Medicine*, vol. 184, no. 9-10, pp. e538–e547. <https://doi.org/10.1093/milmed/usz046> (In English)
- Millstein, R. J., Pyle, L. L., Bergman, B. C. et al. (2018) Sex-specific differences in insulin resistance in type 1 diabetes: The CACTI cohort. *Journal of Diabetes and its Complications*, vol. 32, no. 4, pp. 418–423. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2018.01.002> (In English)
- Minges, K. E., Whittemore, R., Grey, M. (2013) Overweight and obesity in youth with type 1 diabetes. *Annual Review of Nursing Research*, vol. 31, no. 1, pp. 47–69. <https://doi.org/10.1891/0739-6686.31.47> (In English)
- Mottalib, A., Kassetty, M., Mar, J. Y. et al. (2017) Weight management in patients with type 1 diabetes and obesity. *Current Diabetes Reports*, vol. 17, no. 10, article 92. <https://doi.org/10.1007/s11892-017-0918-8> (In English)
- Oh, R., Gilani, B., Uppaluri, K. R. (2022) Low carbohydrate diet. In: *StatPearls*. Treasure Island: StatPearls Publ. [Online]. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30725769/> (accessed 17.12.2022). (In English)
- Santi, E., Tascini, G., Toni, G. et al. (2019) Linear growth in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 16, no. 19, article 3677. <https://doi.org/10.3390/ijerph16193677> (In English)
- Scott, S. N., Anderson, L., Morton, J. P. et al. (2019) Carbohydrate restriction in type 1 diabetes: A realistic therapy for improved glycaemic control and athletic performance? *Nutrients*, vol. 11, no. 5, article 1022. <https://doi.org/10.3390/nu11051022> (In English)
- Shai, I., Schwarzfuchs, D., Henkin, Y. et al. (2008) Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet. *The New England Journal of Medicine*, vol. 359, pp. 229–241. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0708681> (In English)
- Skerrett, P. J., Willett, W. C. (2010) Essentials of healthy eating: A guide. *Journal of Midwifery & Women's Health*, vol. 55, no. 6, pp. 492–501. <https://doi.org/10.1016/j.jmwh.2010.06.019> (In English)
- Sparks, J. R., Kishman, E. E., Sarzynski, M. A. et al. (2021) Glycemic variability: Importance, relationship with physical activity, and the influence of exercise. *Sports Medicine and Health Science*, vol. 3, no. 4, pp. 183–193. <https://doi.org/10.1016/j.smhs.2021.09.004> (In English)
- Szadkowska, A., Madej, A., Ziolkowska, K. et al. (2015) Gender and age- dependent effect of type 1 diabetes on obesity and altered body composition in young adults. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, vol. 22, no. 1, pp. 124–128. <https://doi.org/10.5604/12321966.1141381> (In English)
- Thamer, C., Tschritter, O., Haap, M. et al. (2005) Elevated serum GGT concentrations predict reduced insulin sensitivity and increased intrahepatic lipids. *Hormone and Metabolic Research*, vol. 37, no. 4, pp. 246–251. <https://doi.org/10.1055/s-2005-861411> (In English)
- Tóth-Heyn, P. (2018) Szükséges és választható: lehet-e haszná a gluténmentes diétának 1-es típusú diabéteszben? [Necessary and optional: Can a gluten-free diet be beneficial in type 1 diabetes?]. *Szurikata Alapítvány*. [Online]. Available at: <https://szurikataalapitvany.hu/videoek/educacios-eloadasok/lehet-e-haszná-a-glutenmentes-dietanak-1-es-tipusu-diabeteszben/> (accessed 16.10.2018). (In Hungarian)
- Westman, E. C., Tondt, J., Maguire, E., Yancy, W. S. Jr. (2018) Implementing a low-carbohydrate, ketogenic diet to manage type 2 diabetes mellitus. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*, vol. 13, no. 5, pp. 263–272. <https://doi.org/10.1080/17446651.2018.1523713> (In English)
- Wilcox, G. (2005) Insulin and insulin resistance. *The Clinical Biochemist Reviews*, vol. 26, no. 2, pp. 19–39. PMID: [16278749](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16278749/) (In English)



УДК 612.8+616.4

EDN XMLOOG

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-69-78>

## Оценка побочных эффектов применения ингибитора Na-Ca обменника KB-R7943 как противоболевого препарата при диабетической нейропатии у крыс

И. Б. Сухов<sup>✉1</sup>, О. В. Чистякова<sup>1</sup>, Л. В. Баюнова<sup>1</sup>, Н. Н. Шестакова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук, 194223, Россия, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44

### Сведения об авторах

Иван Борисович Сухов, SPIN-код: 8571-0190, Scopus AuthorID: 54396217500, ResearcherID: Q-1347-2016, ORCID: 0000-0003-2015-9601, e-mail: [sukhov.ivan@gmail.com](mailto:sukhov.ivan@gmail.com)

Оксана Викторовна Чистякова, SPIN-код: 7399-4496, Scopus AuthorID: 15755360800, ResearcherID: AAA-9028-2020, ORCID: 0000-0002-2866-1017, e-mail: [chiosana@yandex.ru](mailto:chiosana@yandex.ru)

Любовь Владимировна Баюнова, SPIN-код: 2833-2978, Scopus AuthorID: 17344849200, ResearcherID: AAN-1066-2020, ORCID: 0000-0001-5543-8657, e-mail: [bayunoval@mail.ru](mailto:bayunoval@mail.ru)

Наталья Николаевна Шестакова, SPIN-код: 4744-7604, Scopus AuthorID: 7003457596, ResearcherID: AAQ-4366-2021, ORCID: 0000-0002-4555-1223, e-mail: [n\\_shestakova@list.ru](mailto:n_shestakova@list.ru)

**Для цитирования:** Сухов, И. Б., Чистякова, О. В., Баюнова, Л. В., Шестакова, Н. Н. (2023) Оценка побочных эффектов применения ингибитора Na-Ca обменника KB-R7943 как противоболевого препарата при диабетической нейропатии у крыс. *Интегративная физиология*, т. 4, № 1, с. 69–78. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-69-78> EDN XMLOOG

**Получена** 19 января 2023; прошла рецензирование 6 февраля 2023; принята 7 февраля 2023.

**Финансирование:** Работа выполнена в рамках государственного задания № 075-00967-23-00 с использованием оборудования Центра коллективного пользования ИЭФБ РАН.

**Права:** © И. Б. Сухов, О. В. Чистякова, Л. В. Баюнова, Н. Н. Шестакова (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](#).

**Аннотация.** Работа посвящена исследованию побочных эффектов применения селективного блокатора натрий-кальциевого обменника KB-R7943 как противоболевого препарата у крыс со стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом 1-го типа. Повреждение нейронов при диабетической нейропатии приводит к гиперактивации ионотропных рецепторов N-метил-D-аспартата. Активация NMDA-рецепторов вызывает развитие центральной сенситизации, которая в свою очередь приводит к появлению нейропатической боли. Прямое воздействие на указанные рецепторы связано с проявлением множества побочных эффектов, поэтому для безопасного лечения предпочтительно опосредованное воздействие, например, через блокирование натрий-кальциевого обменника (NCX). В этой связи применение селективного блокатора NCX KB-R7943 может быть перспективным при противоболевой терапии. Анализ ЭКГ не выявил негативного влияния KB-R7943 на состояние сердечно-сосудистой системы у контрольных и диабетических крыс. Тестирование в открытом поле показало, что после введения KB-R7943 поведение крыс (двигательная активность и признаки тревожности) не меняется. Проведен анализ уровня экспрессии гена потенциал-зависимого натриевого канала Nav1.7 (*SCN9A*),  $\alpha 2\delta$ -1 субъединицы потенциал-зависимых кальциевых каналов T-типа (*CACNA2D1*), *Vax* и *Vcl-2*, задействованных в патогенезе диабетической нейропатии, в тканях гиппокампа и гипоталамуса. Показано, что при введении KB-R7943 в гиппокампе у диабетических крыс экспрессия *CACNA2D1* возрастала, а *SCN9A* — снижалась; у животных контрольной группы под влиянием препарата повышался уровень мРНК Nav1.7. Экспрессия *Vax* и *Vcl-2* усиливалась в гиппокампе у контрольных животных после введения KB-R7943. У диабетических крыс терапия KB-R7943 приводила к снижению уровня мРНК *Vcl-2* в гипоталамусе и не влияла на уровень экспрессии *Vax*.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, диабетическая нейропатия, ЭКГ, KB-R7943, открытое поле, крыса

# Evaluation of side effects of Na-Ca exchange inhibitor KB-R7943 used as an analgesic drug in diabetic neuropathy in rats

I. B. Sukhov<sup>✉1</sup>, O. V. Chistyakova<sup>1</sup>, L. V. Bayunova<sup>1</sup>, N. N. Shestakova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, 44 Thorez Ave., Saint Petersburg 194223, Russia

## Authors

Ivan B. Sukhov, SPIN: 8571-0190, Scopus AuthorID: 54396217500, ResearcherID: Q-1347-2016, ORCID: 0000-0003-2015-9601, e-mail: [sukhov.ivan@gmail.com](mailto:sukhov.ivan@gmail.com)

Oxana V. Chistyakova, SPIN: 7399-4496, Scopus AuthorID: 15755360800, ResearcherID: AAA-9028-2020, ORCID: 0000-0002-2866-1017, e-mail: [chiosana@yandex.ru](mailto:chiosana@yandex.ru)

Liubov V. Bayunova, SPIN: 2833-2978, Scopus AuthorID: 17344849200, ResearcherID: AAN-1066-2020, ORCID: 0000-0001-5543-8657, e-mail: [bayunoval@mail.ru](mailto:bayunoval@mail.ru)

Natalia N. Shestakova, SPIN: 4744-7604, Scopus AuthorID: 7003457596, ResearcherID: AAQ-4366-2021, ORCID: 0000-0002-4555-1223, e-mail: [n\\_shestakova@list.ru](mailto:n_shestakova@list.ru)

**For citation:** Sukhov, I. B., Chistyakova, O. V., Bayunova, L. V., Shestakova, N. N. (2023) Evaluation of side effects of Na-Ca exchange inhibitor KB-R7943 used as an analgesic drug in diabetic neuropathy in rats. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 1, pp. 69–70. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-69-70> EDN XMLOOG

**Received** 19 January 2023; reviewed 6 February 2023; accepted 7 February 2023.

**Funding:** The work was supported by the IEPH Research Program 075-00967-23-00, IEPH Research Resource Center.

**Copyright:** © I. B. Sukhov, O. V. Chistyakova, L. V. Bayunova, N. N. Shestakova (2023). 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 reports the results of the study of side effects of selective sodium-calcium exchange blocker KB-R7943 used as an analgesic drug in rats with streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus. ECG analysis showed no negative effect of KB-R7943 on the cardiovascular system of control rats and rats with type 1 diabetes mellitus. In open field testing, the behavior (motor activity and signs of anxiety) of rats did not change after the administration of KB-R7943. The tissues of the hippocampus and hypothalamus were analyzed for the level of the gene expression of the voltage-gated sodium channel Nav1.7 (*SCN9A*), the  $\alpha 2\delta$ -1 subunit of voltage-gated T-type calcium channels (*CACNA2D1*), *Bax* and *Bcl-2* involved in the pathogenesis of diabetic neuropathy. It was shown that in the hippocampus of rats with DM1, the administration of KB-R7943 led to an increase in *CACNA2D1* expression and a decrease in *SCN9A* expression, while in the control group the level of Nav1.7 mRNA increased under the influence of the drug. The expression of both *Bax* and *Bcl-2* in the hippocampus of control animals after the administration of KB-R7943 increased. In the hypothalamus of the diabetic group, KB-R7943 therapy reduced the level of *Bcl-2* mRNA, leaving the level of *Bax* expression unchanged.

**Keywords:** diabetes mellitus, diabetic neuropathy, ECG, KB-R7943, open field, rat

## Введение

Одним из распространенных и наиболее тяжелых осложнений сахарного диабета (СД) является диабетическая нейропатия (ДН), вызванная поражением соматических автономных или периферических нервных волокон. На основании данных эпидемиологических исследований распространенность диабетической нейропатии варьирует от 14% до 65% среди больных СД (Bouhassira 2019, Boulton et al. 2005). ДН нередко является причиной нарушения трудоспособности, ранней инвалидизации и смерти пациентов. Повреждение нейронов при ДН приводит к гиперактивации ионотропных рецепторов N-метил-D-аспартата (NMDA-

рецепторы). Активация NMDA-рецепторов вызывает развитие центральной сенситизации, которая, в свою очередь, приводит к появлению нейропатической боли. Прямое воздействие на указанные рецепторы связано с проявлением множества побочных эффектов, поэтому для безопасного лечения предпочтительно опосредованное воздействие.

Одним из непрямых методов воздействия является кальций-зависимая десенситизация NMDA-рецепторов (Stepanenko et al. 2019). Ключевую роль в этом процессе играет натрий-кальциевый обменник (NCX). На мембране нейронов белка NMDA-рецептора и NCX расположены на одном липидном плотике (рафте) и функционально взаимосвязаны таким образом,

что ингибирование обменника усиливает кальций-зависимую десенситизацию NMDA-рецепторов (Sibarov, Antonov 2018; Sibarov et al. 2018). Одним из селективных блокаторов натрий-кальциевого обменника является KB-R7943. Было высказано предположение, что KB-R7943 может обладать анальгетической активностью для облегчения нейропатической боли, поскольку NCX косвенно влияет на ионную проводимость ионотропных NMDA-рецепторов, участвующих в патогенезе нейропатического болевого синдрома (Shestakova et al. 2019; Sibarov et al. 2015). Накоплены данные о том, что ингибиторы NCX могут использоваться в клинике как регуляторы кальция в клетке, в том числе для снятия синдромов нейропатической боли и для нейропротекции (Huang et al. 2019; Jaggi, Singh 2011; Sibarov, Antonov 2018; Sibarov et al. 2018). Для разработки противоболевой терапии на основе KB-R7943 необходимо изучить возможные побочные эффекты данного препарата на животной модели.

Диабетические больные представляют группу риска по формированию нарушений сердечного ритма и проводимости (Inanir et al. 2020, Kittnar et al. 2015), в связи с чем важно минимизировать негативный эффект применяемой терапии на сердечную мышцу. Высокая вероятность побочного действия KB-R7943 на сердечно-сосудистую систему рассматривается в связи с высокой экспрессией NCX в миокарде. Другим возможным эффектом KB-R7943 является влияние на экспрессию генов белков, функционально важных в развитии ДН, включая белки ионных каналов, задействованных в патогенезе ДН, апоптоза, в отделах головного мозга, отвечающих за формирование болевого ощущения. Кроме того, оценка возможных побочных эффектов KB-R7943 должна включать тестирование «Открытое поле», являющееся обязательным при исследовании фармакологических препаратов.

Целью данной работы является изучение эффективности применения селективного блокатора натрий-кальциевого обменника KB-R7943 как противоболевого препарата у крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа (СД1) и выявление его возможных побочных эффектов на сердечно-сосудистую систему.

## Материалы и методы

### Животные

Исследования проводили на самцах крыс породы *Wistar* в возрасте 4–4,5 месяцев.

Животных содержали в виварии по 5 особей в клетке при 12/12 ч режиме дня, со свободным доступом к пище (сухому корму ЛБК-120, ЗАО «Тосненский комбикормовый завод», Ленинградская область) и воде.

В возрасте 4 – 4,5 месяцев у части животных производили индукцию СД1. Через четыре недели после индукции выполняли введение KB-R7943 и плацебо ежедневно в течение недели в дозе 10 мг на кг веса перорально с помощью ветеринарных питательных зондов длиной 80 мм, диаметром 1,6 мм (Suzhou Fengshi Laboratory Animal Equipment Co., Ltd, China).

Во время исследования животных разделяли на четыре группы: С — контрольная группа, получавшая раствор карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) (2,5%) в качестве плацебо (n = 9); С+KBR — контрольная группа, получавшая KB-R7943 в растворе КМЦ (2,5%) (n = 10); D — диабетическая группа, получавшая раствор КМЦ (2,5%) в качестве плацебо (n = 10); D+KBR — диабетическая группа, получавшая KB-R7943 в растворе КМЦ (2,5%) (n = 10).

После 7-дневной терапии препаратами крыс выводили из эксперимента путем декапитации после предварительной анестезии ингаляционным изофлураном (в течение двух мин, две у. е. объема подачи на аппарате Zoom med, Medical supplies & services Int. Ltd, UK). Далее проводили отбор образцов тканей мозга.

### Препараты

KB-R7943 — CAS 182004-65-5, метилсульфонат 2-[2-[4-(4-нитробензилокси)фенил]этил]изотиоимочевина (Taizhou Crene Biotechnology Co., Ltd, China).

### Модель сахарного диабета 1-го типа

Сахарный диабет 1-го типа индуцировали внутрибрюшинным введением стрептозотоцина (СТЗ), растворенного в 0,1 М цитратном буфере (pH 4,5), в дозе 32 мг на кг веса. Животным контрольных групп вводили цитратный буфер в эквивалентном объеме. В процессе развития СД1 осуществляли контроль массы тела животных, уровня глюкозы в крови животных на 3-й и 14-й дни после введения СТЗ и при выведении из эксперимента. Уровень глюкозы определяли с помощью глюкометра и тест-полосок Select plus (One Touch, Johnson & Johnson, Дания). В конце исследований определяли уровень инсулина в крови с помощью набора для иммуноферментного анализа Rat Insulin ELISA («Mercodia AB», Швеция).

### Тестирование поведения

Установка для проведения теста «Открытое поле» представляла собой круглую арену из поливинилхлорида с черными стенками и дном (ООО «НПК Открытая Наука», г. Красногорск, МО, Россия). Высота стенок 40 см, диаметр арены 100 см. Освещение в центре арены составляло 300 люкс. Арену устанавливали на тележке на высоте один метр от пола. В начале тестирования животное помещали в центр арены. Перед каждым тестированием арену обрабатывали 3%-м раствором перекиси водорода с помощью вискозной салфетки. Нахождение животного в арене фиксировали видеокамерой в течение пяти мин, и результаты тестирования обрабатывали в программе EthoVision XT (Noldus, Wageningen, the Netherlands). Арену при видеотрекинге делили на центральную и периферическую зоны. Центральная зона была представлена двумя вариантами — большим и узким.

В соответствии с литературными данными (Sestakova et al. 2013) параметры тестирования были разделены на два основных типа активности экспериментальных животных: локомоторная активность и активность, отражающая тревожность животного.

#### Параметры локомоторной активности:

- 1) общее расстояние, пройденное за период тестирования;
- 2) скорость передвижения;
- 3) средняя активность движения в %;
- 4) частота вращения головой.

#### Параметры тревожности:

- 1) частота пересечения центральной зоны;
- 2) общая продолжительность пребывания в центральной зоне;
- 3) время первого выхода в центральную зону.

### Регистрация электрокардиограммы

В долгосрочных экспериментах снятие ЭКГ выполняли до индукции СД1 и после введения KB-R7943 соответствующим группам. Запись ЭКГ проводили с помощью четырех электродов по методу стандартных отведений по Эйнтховену с помощью оборудования и программного обеспечения Поли-Спектр Ветеринария (ООО «Нейрософт», Россия). Результаты усредняли с помощью специально разработанного пакета программ на MatLab (Ю. А. Филиппов, Е. В. Новикова, М. Г. Добрецов, ИЭФБ РАН).

По 5-минутным фрагментам ЭКГ рассчитывали частоту сердечных сокращений (ЧСС),

параметры variability ритма сердца (BPC) во временном домене, характеризующие: 1) общую BPC по SDRR; 2) влияние парасимпатического отдела вегетативной нервной системы (пВНС) по RMSSD (квадратный корень из среднего квадрата разностей величин длительности смежных RR-интервалов синусового происхождения) и pNN3 (процент RR-интервалов синусового происхождения, отличающихся от предыдущего более чем на три мс); 3) вклад симпатического отдела ВНС (сВНС) по SDAvgRR (стандартное отклонение среднего значения RR-интервалов, вычисленного по 1-минутным сегментам записи), SDAvgHR (стандартное отклонение среднего значения RR-интервалов, вычисленного по 1-минутным сегментам записи); и параметры ЭКГ: амплитуды зубцов P, T, Q, R, S, длительность комплекса QRS, интервалов RR, PQ, RT, QT и их скорректированные значения по следующим формулам (Morozova et al. 2019):

$$RTc = \frac{RT}{\sqrt[3]{RR}}$$

$$QTc = \frac{QT}{\sqrt[3]{RR}}$$

Для более детального изучения изменений зубца T были рассчитаны дополнительные параметры: SdoT — площадь под зубцом T до пика, SpoleT — площадь под зубцом T после пика, SdoT/SpoleT — отношение площадей под зубцом T до и после пика, SsumT — полная площадь под зубцом T, T50 — длительность зубца T, измеренная при 50% пиковой амплитуды, выражающая ширину этого зубца.

### Определение уровня экспрессии генов

Для исследования влияния перорального введения KB-R7943 были выбраны гены, кодирующие белки ионных каналов, участвующих в патогенезе диабетической нейропатии (SCN9A (натриевый ионный канал VGSC Nav1.7), CACNA1H ( $\alpha 1$  субъединица кальциевого ионного канала VGCCs T-типа), CACNA2D1 ( $\alpha 2\delta$ -1 субъединица кальциевого ионного канала VGCCs T-типа)), и белки, регулирующие апоптоз (Bcl-2 и Bax). Оценку уровня экспрессии генов проводили в образцах тканей гипоталамуса и гиппокампа с помощью ПЦР в реальном времени (амплификатор 7500 Real-Time PCR System (Life Technologies, Thermo Fisher Scientific Inc., USA)) по методике, описанной ранее (Romanova et al. 2018).

## Результаты и обсуждение

### Метаболические характеристики

После введения СТЗ развитие СД1 было подтверждено у всех животных диабетических групп. В долгосрочном эксперименте через пять недель после индукции наблюдали формирование СД1: уменьшение массы тела на 9,2% ( $p < 0,0001$ ), возрастание среднего уровня случайной глюкозы до  $25,1 \pm 1,7$  ммоль/л против контрольной группы  $6,7 \pm 0,1$  ( $p < 0,0001$ ) и снижение среднего уровня инсулина в крови до  $0,4 \pm 0,1$  нг/мл против контрольной группы  $1,2 \pm 0,1$  нг/мл ( $p = 0,012$ ).

### Тестирование поведения

Анализ результатов тестирования в тесте «Открытое поле» контрольных и диабетических животных, получавших KB-R7943 в течение недели, не обнаружил статистически значимых отличий в сравнении с контрольной и диабетической группами (рис. 1).

Тестирование экспериментальных животных в «Открытом поле» не выявило статистически значимых изменений локомоторной активности. Однако по литературным данным этот метод позволяет определять изменения уровня тревоги при СД1 (Seibenhener, Wooten 2015), что часто сопровождается развитием ДН (Guan et al. 2019).

Вероятно, для выявления нейропатической боли на уровне локомоторной активности и тревожности требуется более выраженное развитие СД1 у крыс (более восьми недель).

### Анализ ЭКГ

Сравнительный анализ ЭКГ у животных до и после (в конце исследования) индукции СД1 выявил ряд изменений оцениваемых параметров. Выявленные статистически значимое снижение средней ЧСС на 14%, увеличение RR-интервала и амплитуды R-зубца на 17% и 14% могут свидетельствовать о развитии брадикардии. При этом не отмечено ожидаемого снижения показателей ВРС, таких как SDRR, характеризующего общую ВРС, а также SDavgRR и SDavgHR, отражающих вклад сВНС в вегетативную регуляцию сердца и медленные изменения сердечного ритма (Mogozova et al. 2019). Напротив, параметры SDRR и SDavgRR статистически значимо возрастали на 29% и 79%, и имелась тенденция к увеличению SDavgHR. Это позволяет заключить, что в иннервацию сердца у диабетических крыс возрастает вклад симпатической регуляции.

Также у диабетических животных выявлены статистически значимые изменения характеристик как самого T-зубца — увеличение амплитуды, ширины (T50) и площади ( $S_{\text{sum}} T$ ) на 38%, 42% и 81% соответственно, так и параметров,

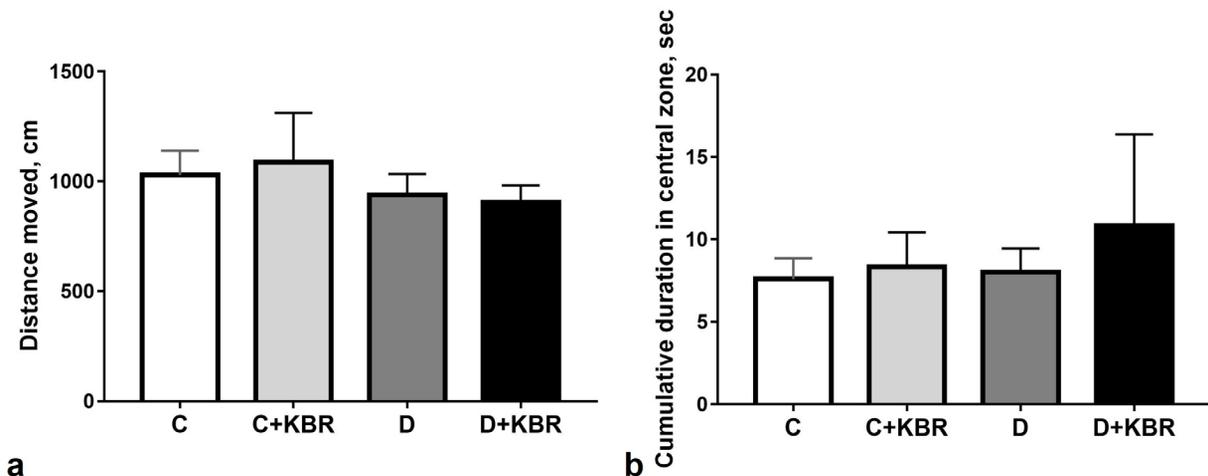


Рис. 1. Параметры теста «Открытое поле» в эксперименте с недельным введением KB-R7943 контрольным и диабетическим животным: а — общее расстояние, пройденное за время тестирования, б — общая продолжительность пребывания в узкой центральной зоне

Fig. 1. Parameters of the open field test in the experiment with a week-long administration of KB-R7943 to control and diabetic animals: a—total distance traveled during the test, b—total duration of stay in the narrow central zone

связанных с T-зубцом — увеличение длительности RT-интервала и значения RTc на 23% и 17%. Увеличение параметров T-зубца является признаком нарушения синхронизации и замедления реполяризации желудочков сердца при СД1 (di Bernardo et al. 2000). Обнаруженное у диабетических крыс статистически значимое возрастание QT-интервала и значения QTc на 23% и 11% согласуется с данными литературы (Amione et al. 2017; Esina et al. 2016; Inanir et al. 2020) и свидетельствует об увеличении общей продолжительности реполяризации миокарда желудочков у диабетических животных (Kittnar 2015).

В целом, выявленные у диабетических животных особенности ЭКГ — увеличение зубцов T и R, увеличение интервалов QT и RT и их скорректированных значений (QTc и RTc), брадикардия — подтверждают развитие нарушений сердечной деятельности.

У контрольных животных после недельного введения KB-R7943 (группа C+KBR) амплитуда зубца R статистически значимо возросла на 8%. Однако значимых различий параметров ЭКГ между животными из групп C и C+KBR не было обнаружено. Вредным побочным

действием фармакологических препаратов можно рассматривать не увеличение, выявленное в настоящей работе, а снижение параметров ВРС, поскольку именно это усиливает электрическую нестабильность миокарда и тем самым создает условия для возникновения злокачественных желудочковых аритмий (Mogozova et al. 2019).

У диабетических животных, получавших KB-R7943 в течение недели (группа D+KBR), не выявлено статистически значимых отличий параметров ЭКГ от таковых у диабетических животных без терапии (группа D).

Проведенный анализ ЭКГ позволяет заключить, что недельная терапия препаратом KB-R7943 не влияет на сердечную активность как у контрольных, так и у диабетических животных.

#### Анализ уровня экспрессии исследуемых генов

Анализ уровня экспрессии исследуемых генов в гипоталамусе выявил статистически значимые изменения только для гена *Bax*: уровень экспрессии гена статистически значимо снижался в группе D+KBR по сравнению с группой D ( $p = 0,038$ ) (рис. 2). Кроме того, обнаружено ожидаемое снижение уровня экспрессии гена

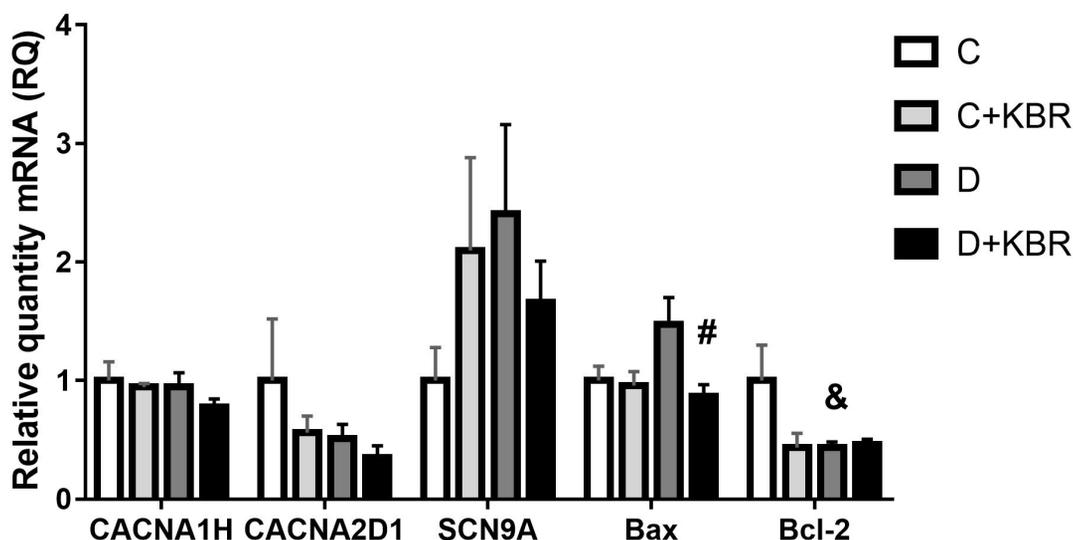


Рис. 2. Уровень экспрессии мРНК генов, кодирующих белки, участвующие в сигнальной трансдукции при диабетической нейропатии и апоптозе в гипоталамусе крыс в сравнении с этим показателем у контрольных животных. Значения RQ рассчитаны по отношению к контрольной группе. Уровень экспрессии мРНК генов нормирован по Rn18S (рРНК 18S-субъединицы) в гипоталамусе крыс по данным ПЦР в реальном времени. Данные представлены как  $M \pm SEM$ . Различия между группами C и C+KBR (\*), между группами D и D+KBR (#), а также между группами C и D (&) статистически значимы при  $p < 0,05$

Fig. 2. The level of mRNA expression of genes encoding proteins involved in signal transduction in diabetic neuropathy and apoptosis in the hypothalamus of rats in comparison with this indicator in control animals. RQ values are calculated relative to the control group. The level of gene mRNA expression was normalized by Rn18S (18S subunit rRNA) in the hypothalamus of rats according to real-time PCR data. Data are presented as  $M \pm SEM$ . Differences between groups C and C+KBR (\*), between groups D and D+KBR (#), and between groups C and D (&) are significant at  $p < 0.05$

*Bcl-2* в диабетической группе D по сравнению с контрольной группой C ( $p = 0,026$ ).

Оценка экспрессии исследуемых генов в гиппокампе крыс показала значительное, в два раза, увеличение уровня экспрессии гена *CACNA2D1*, кодирующего  $\alpha 2\delta$ -1-субъединицу потенциал-зависимых кальциевых каналов, у диабетических животных группы D+KB-R7943 по сравнению с группой D, получавших плацебо в течение такого же срока ( $p = 0,021$ ) (рис. 3). Анализ результатов ПЦР для гена *SCN9A*, кодирующего потенциал-зависимый натриевый канал  $Na_v1.7$ , обнаружил увеличение экспрессии у группы C+KBR ( $p = 0,041$ ), а также у диабетической группы D ( $p = 0,021$ ) в сравнении с контрольной группой C. У группы D+KBR зафиксировано статистически значимое снижение экспрессии гена *SCN9A* по сравнению с группой D ( $p = 0,008$ ) (рис. 3).

Полученные результаты можно объяснить тем, что при диабетическом повреждении повышается экспрессия генов и, как следствие, усиливается активность потенциал-зависимых натриевых каналов *Nav1.7* (Alles, Smith 2021).

Однако в случае потенциал-зависимых кальциевых каналов не наблюдался ожидаемый результат. Так, ранее показано, что при ДН экспрессия генов не меняется (Alles, Smith 2021), а KB-R7943 вызывает двухкратное увеличение экспрессии *CACNA2D1*. Выявленные в работе изменения экспрессии генов ионных каналов могут свидетельствовать о неоднозначном влиянии KB-R7943 на распространение болевого сигнала и гипервозбудимости нейронов в отделах головного мозга, участвующих в обработке болевой информации, поскольку повышенная экспрессия  $\alpha 2\delta$ -1 субъединицы VGCCs T-типа и увеличение активности *Nav1.7* ассоциированы с развитием болевой гиперчувствительности при ДН.

Уровень экспрессии генов *Vax* и *Bcl-2* увеличился в группе C+KBR в сравнении с контрольной группой C ( $p = 0,0007$  и  $p = 0,004$ , соответственно). В группе D+KBR отмечено снижение экспрессии *Bcl-2* относительно группы D ( $p = 0,0004$ ). Кроме того, уровень экспрессии *Bcl-2* увеличился в диабетической группе D по сравнению с контрольной C ( $p = 0,0007$ ) (рис. 3).

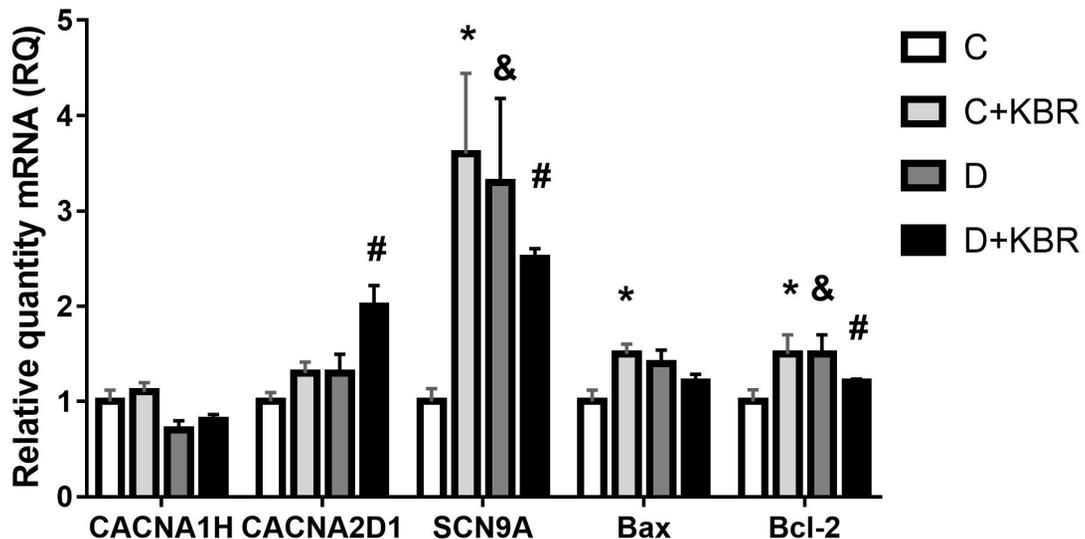


Рис. 3. Уровень экспрессии мРНК генов, кодирующих белки, участвующие в сигнальной трансдукции при диабетической нейропатии и апоптозе в гиппокампе крыс в сравнении с этим показателем у контрольных животных. Значения RQ рассчитаны по отношению к контрольной группе. Уровень экспрессии мРНК генов нормирован по *Rn18S* (рРНК 18S-субъединицы) в гиппокампе крыс по данным ПЦР в реальном времени. Данные представлены как  $M \pm SEM$ . Различия между группами C и C+KBR (\*), между группами D и D+KBR (#), а также между группами C и D (&) статистически значимы при  $p < 0,05$

Fig. 3. The level of mRNA expression of genes encoding proteins involved in signal transduction in diabetic neuropathy and apoptosis in the hippocampus of rats in comparison with this indicator in control animals. RQ values are calculated relative to the control group. The level of gene mRNA expression was normalized by *Rn18S* (18S subunit rRNA) in the hippocampus of rats according to real-time PCR data. Data are presented as  $M \pm SEM$ . Differences between groups C and C+KBR (\*), between groups D and D+KBR (#), and between groups C and D (&) are significant at  $p < 0.05$

Обнаруженные в работе повышение уровня экспрессии гена *Vax* и снижение экспрессии гена *Vcl-2* в отделах мозга у диабетических крыс согласуются с литературными данными (Soleymaninejad et al. 2017).

### Выводы

Введение KB-R7943 в течение недели как контрольным, так и диабетическим крысам не оказывает воздействия на работу сердца по данным ЭКГ.

Введение KB-R7943 в течение недели как контрольным, так и диабетическим крысам не оказывает негативного влияния на поведение, что выражается в одинаковом прохождении теста «Открытое поле» животными, как получавшими, так и не получавшими препарат.

Введение KB-R7943 в течение недели контрольным крысам приводит к повышению уровня мРНК *Nav1.7*, возрастанию экспрессии генов *Vax*, *Vcl-2* в гиппокампе. В диабетической группе в гипоталамусе терапия KB-R7943 снижает уровень мРНК *Vax*. Введение KB-R7943 в течение недели диабетическим крысам приводит к увеличению экспрессии гена *CACNA2D1*, снижению экспрессии гена *SCN9A*, *Vcl-2* и не влияет на уровень экспрессии *Vax* в гиппокампе.

KB-R7943 можно рассматривать как потенциального кандидата для дальнейшего исследования в качестве противоболевого препарата.

### 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

Работа на животных была проведена с соблюдением принципов гуманности (Директивы Совета Европейских сообществ 1986 г. 86/609/ЕЕС).

### Ethics Approval

Animal experiments were carried out in accordance with the ethical standards of the European Union Directive 86/609/EEC.

### Вклад авторов

а. Сухов Иван Борисович — концепция и постановка экспериментов, редактирование рукописи;

б. Чистякова Оксана Викторовна — постановка экспериментов, редактирование рукописи;

в. Баюнова Любовь Владимировна — постановка экспериментов, редактирование рукописи;

г. Шестакова Наталья Николаевна — концепция экспериментов, редактирование рукописи.

### Author Contributions

a. Ivan B. Sukhov developed the concept, conducted experiments, and edited the manuscript;

b. Oxana V. Chistyakova conducted experiments and edited the manuscript;

c. Lyubov V. Bayunova conducted experiments and edited the manuscript;

d. Natalia N. Shestakova developed the concept and edited the manuscript.

### Благодарности

Эксперименты выполнены на базе ЦКП научного оборудования для физиологических, биохимических и молекулярно-биологических исследований ИЭФБ РАН.

### Acknowledgements

The authors are thankful to the staff of the Research Resource Center for Physiological, Biochemical and Molecular-Biological Research (Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences).

### Список сокращений

ДН — диабетическая нейропатия; КМЦ — карбоксиметилцеллюлоза; СД — сахарный диабет; СД1 — сахарный диабет 1-го типа; СТЗ — стрептозотоцин; С — контрольная группа, получавшая раствор КМЦ (2,5%) в качестве плацебо; С+KBR — контрольная группа, получавшая KB-R7943 в растворе КМЦ (2,5%); D — диабетическая группа, получавшая раствор КМЦ (2,5%) в качестве плацебо; D+KBR — диабетическая группа, получавшая KB-R7943 в растворе КМЦ (2,5%).

### List of Abbreviations

C — control group treated with CMC solution (2.5%) as placebo; C+KBR — control group treated with KB-R7943 in CMC solution (2.5%); CMC — carboxymethylcellulose; D — diabetic group treated with CMC solution (2.5%) as placebo; D+KBR — diabetic group treated with KB-R7943 in CMC solution (2.5%); DM—diabetes mellitus; DM1 — type 1 diabetes mellitus; DN — diabetic neuropathy; STZ — streptozotocin.

## References

- Alles, S. R. A., Smith, P. A. (2021) Peripheral voltage-gated cation channels in neuropathic pain and their potential as therapeutic targets. *Frontiers in Pain Research*, vol. 2, article 750583. <https://doi.org/10.3389/fpain.2021.750583> (In English)
- Amione, C., Giunti, S., Fornengo, P. et al. (2017) Incidence of prolonged QTc and severe hypoglycemia in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Acta Diabetologica*, vol. 54, no. 9, pp. 871–876. <https://doi.org/10.1007/s00592-017-1018-6> (In English)
- Bouhassira, D. (2019) Neuropathic pain: Definition, assessment and epidemiology. *Revue Neurologique*, vol. 175, no. 1-2, pp. 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2018.09.016> (In English)
- Boulton, A. J. M., Vinik, A. I., Arezzo, J. C. et al. (2005) Diabetic neuropathies: A statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*, vol. 28, no. 4, pp. 956–962. <https://doi.org/10.2337/diacare.28.4.956> (In English)
- Di Bernardo, D., Murray, A. (2000) Explaining the T-wave shape in the ECG. *Nature*, vol. 403, no. 6765, article 40. <https://doi.org/10.1038/47409> (In English)
- Esina, M. V., Efremova, O. N., Yamashkina, E. I. et al. (2016) Izuchenie prodolzhitel'nosti intervala QT pri sakharnom diabete 1 tipa [Study prolonged QT interval of patients with diabetes mellitus type 1]. *Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke — Health and Education Millennium*, vol. 18, no. 9, pp. 27–30. (In Russian)
- Guan, S., Shen, Y., Ge, H. et al. (2019) Dihydropyridine alleviates diabetic neuropathic pain and depression comorbidity symptoms by inhibiting P2X7 receptor. *Frontiers in Psychiatry*, vol. 10, article 770. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2019.00770> (In English)
- Huang, Y., Wen, L.-L., Xie, J.-D. et al. (2019) Antinociceptive effectiveness of the inhibition of NCX reverse-mode action in rodent neuropathic pain model. *Molecular Pain*, vol. 15. [Online]. Available at: <https://doi.org/10.1177/1744806919864511> (accessed 12.02.2023). (In English)
- Inanır, M., Gunes, Y., Sincer, I., Erdal, E. (2020) Evaluation of electrocardiographic ventricular depolarization and repolarization variables in type 1 diabetes mellitus. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, vol. 114, no. 2, pp. 275–280. <https://doi.org/10.36660/abc.20180343> (In English)
- Jaggi, A. S., Singh, N. (2011) Therapeutic targets for the management of peripheral nerve injury-induced neuropathic pain. *CNS & Neurological Disorders—Drug Targets*, vol. 10, no. 5, pp. 589–609. <https://doi.org/10.2174/187152711796235041> (In English)
- Kittnar, O. (2015) Electrocardiographic changes in diabetes mellitus. *Physiological Research*, vol. 64, no. 5, pp. S559–S566. <https://doi.org/10.33549/physiolres.933230> (In English)
- Morozova, M. P., Gavrilova, S. A., Ivanov, E. V. et al. (2019) Dinamika variabel'nosti ritma serdtsa u krys so streptozototsinovym sakharnym diabetom [Dynamics of heart rate variability in rats with streptozotocin-induced diabetes]. *Sakharnyj diabet — Diabetes Mellitus*, vol. 22, no. 1, pp. 44–52. (In Russian)
- Romanova, I. V., Derkach, K. V., Mikhrina, A. L. et al. (2018) The leptin, dopamine and serotonin receptors in hypothalamic POMC-neurons of normal and obese rodents. *Neurochemical Research*, vol. 43, no. 4, pp. 821–837. <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2485-z> (In English)
- Seibenhener, M. L., Wooten, M. C. (2015) Use of the open field maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *Journal of Visualized Experiments*, vol. 96, article e52434. <https://doi.org/10.3791/52434> (In English)
- Sestakova, N., Puzserova, A., Kluknavsky, M., Bernatova, I. (2013) Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: Methodological aspects and role of nitric oxide. *Interdisciplinary Toxicology*, vol. 6, no. 3, pp. 126–135. (In English)
- Shestakova, N. N., Belinskaya, D. A., Bojkov, S. I. et al. (2019) NMDA retseptor i natrij-kal'tsievij obmennik (NCX) — molekulyarnye misheni protivobolevogo i protivozudnogo dejstviya antidepressantov [NMDA receptor and sodium-calcium exchanger (NCX) — molecular targets of antidepressant antinociceptive and antibacterial effects]. *Rossijskij zhurnal boli — Russian Journal of Pain*, vol. 17, no. S1, pp. 27–28. (In Russian)
- Sibarov, D. A., Abushik, P. A., Poguzhelskaya, E. E. et al. (2015) Inhibition of plasma membrane Na/Ca-exchanger by KB-R7943 or lithium reveals its role in Ca-dependent N-methyl-D-aspartate receptor inactivation. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 355, no. 3, pp. 484–495. <https://doi.org/10.1124/jpet.115.227173> (In English)
- Sibarov, D. A., Antonov, S. M. (2018) Mekhanizmy kal'tsij-zavisimoj desensitizatsii NMDA retseptorov [Calcium-dependent desensitization of NMDA receptors]. *Biokhimiya — Biochemistry*, vol. 83, no. 10, pp. 1464–1475. <http://dx.doi.org/10.1134/S0320972518100032> (In Russian)
- Sibarov, D. A., Poguzhelskaya, E. E., Antonov, S. M. (2018) Downregulation of calcium-dependent NMDA receptor desensitization by sodium-calcium exchangers: A role of membrane cholesterol. *BMC Neuroscience*, vol. 19, article 73. <https://doi.org/10.1186/s12868-018-0475-3> (In English)

- Soleymaninejad, M., Joursaraei, S. G., Feizi, F., Anarkooli, I. J. (2017) The effects of lycopene and insulin on histological changes and the expression level of Bcl-2 family genes in the hippocampus of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes Research*, vol. 2017, article 4650939. <https://doi.org/10.1155/2017/4650939> (In English)
- Stepanenko, Y. D., Boikov, S. I., Sibarov, D. A. et al. (2019) Dual action of amitriptyline on NMDA receptors: Enhancement of Ca-dependent desensitization and trapping channel block. *Scientific Reports*, vol. 9, article 19454. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56072-z> (In English)



УДК 612.648 + 612.65 + 615.214

EDN BSRXJG

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-79-90>

## Гипоксия и флуоксетин у новорожденных самок крыс повышают производительность пространственной долговременной памяти и реактивность гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы во взрослом возрасте

И. П. Буткевич<sup>✉1</sup>, В. А. Михайленко<sup>1</sup>, Е. А. Вершинина<sup>1</sup>

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

### Сведения об авторах

Ирина Павловна Буткевич, SPIN-код: 9248-2288, Scopus AuthorID: 7004037979, ORCID: 0000-0002-1201-9185, e-mail: [irinabutkevich@yandex.ru](mailto:irinabutkevich@yandex.ru)

Виктор Анатольевич Михайленко, SPIN-код: 9111-0369, Scopus AuthorID: 57215986246, ORCID: 0000-0003-4221-7702, e-mail: [viktormikhailenko@yandex.ru](mailto:viktormikhailenko@yandex.ru)

Елена Андреевна Вершинина, SPIN-код: 1082-8759, Scopus AuthorID: 6701609543, ORCID: 0000-0002-8873-4409, e-mail: [ver\\_elen@mail.ru](mailto:ver_elen@mail.ru)

**Для цитирования:** Буткевич, И. П., Михайленко, В. А., Вершинина, Е. А. (2023) Гипоксия и флуоксетин у новорожденных самок крыс повышают производительность пространственной долговременной памяти и реактивность гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы во взрослом возрасте. *Интегративная физиология*, т. 4, № 1, с. 79–90. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-79-90> EDN BSRXJG

**Получена** 2 февраля 2023; прошла рецензирование 14 марта 2023; принята 23 марта 2023.

**Финансирование:** Работа выполнена при поддержке Государственной программы РФ 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030) (тема 0134-2019-0002).

**Права:** © И. П. Буткевич, В. А. Михайленко, Е. А. Вершинина (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

**Аннотация.** Исследовано влияние острой нормобарической гипоксии с пониженной концентрацией кислорода во вдыхаемом воздухе и хронического введения селективного ингибитора обратного захвата серотонина флуоксетина у новорожденных самок крысят на способность к пространственному обучению, производительность пространственной кратковременной и долговременной памяти и на реактивность гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГТАКС) во взрослом возрасте. Обнаруженные новые данные свидетельствуют об ухудшении способности к пространственному обучению только в первый из пяти тренировочных дней. Гипоксия не изменила производительность памяти в тесте «распознавание нового объекта» и вызвала улучшение долговременной памяти в водном лабиринте Морриса, что сочеталось с более высоким содержанием кортикостерона в плазме крови после тестирования долговременной памяти. Флуоксетин не изменил показатели производительности памяти и гормонального показателя как у контрольных, так и гипоксических взрослых крыс. Флуоксетин нормализовал латентный период достижения платформы у гипоксических крыс при тестировании обучения и не снизил показатель долговременной памяти, улучшенный гипоксией. Полученные результаты позволяют предполагать, что неонатальная нормобарическая гипоксия при определенных условиях помогает улучшить память, флуоксетин оказывает протективное влияние на когнитивные способности и ГТАКС у взрослых самок крыс.

**Ключевые слова:** неонатальная гипоксия и флуоксетин, пространственное обучение, память, кортикостерон, взрослая крыса

# Hypoxia and fluoxetine in newborn female rats increase the performance of spatial long-term memory and reactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system in adulthood

I. P. Butkevich<sup>✉1</sup>, V. A. Mikhailenko<sup>1</sup>, E. A. Vershinina<sup>1</sup>

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

## Authors

Irina P. Butkevich, SPIN: 9248-2288, Scopus AuthorID: 7004037979, ORCID: 0000-0002-1201-9185, e-mail: [irinabutkevich@yandex.ru](mailto:irinabutkevich@yandex.ru)

Viktor A. Mikhailenko, SPIN: 9111-0369, Scopus AuthorID: 57215986246, ORCID: 0000-0003-4221-7702, e-mail: [viktormikhailenko@yandex.ru](mailto:viktormikhailenko@yandex.ru)

Elena A. Vershinina, SPIN: 1082-8759, Scopus AuthorID: 6701609543, ORCID: 0000-0002-8873-4409, e-mail: [ver\\_elen@mail.ru](mailto:ver_elen@mail.ru)

**For citation:** Butkevich, I. P., Mikhailenko, V. A., Vershinina, E. A. (2023) Hypoxia and fluoxetine in newborn female rats increase the performance of spatial long-term memory and reactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system in adulthood. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 1, pp. 79–90. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-79-90> EDN BSRXJG

**Received** 2 February 2023; reviewed 14 March 2023; accepted 23 March 2023.

**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) (0134-2019-0002).

**Copyright:** © I. P. Butkevich, V. A. Mikhailenko, E. A. Vershinina (2023). 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 investigated the effects of 1) acute normobaric hypoxia with a reduced oxygen concentration in inhaled air and 2) the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine in newborn female rat pups on spatial learning, the performance of spatial short-term and long-term memory and reactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (the HPA axis) in adult rats. The newly obtained data indicate a deterioration in the ability for spatial learning only in the first out of five training days. Hypoxia did not change the performance of memory in the test “recognition of a new object” and caused an improvement in long-term memory in the Morris water maze. This was combined with a higher content of corticosterone in blood plasma after testing long-term memory. Fluoxetine did not change the performance indicators of memory or hormonal indicators in either control or hypoxic adult rats. Fluoxetine normalized the latent period of reaching the platform in hypoxic rats when testing learning, and did not reduce the indicator of long-term memory improved by hypoxia. The obtained results suggest that neonatal normobaric hypoxia under certain conditions helps improving memory, while fluoxetine has a protective effect on cognitive abilities and the HPA axis in adult female rats.

**Keywords:** neonatal hypoxia and fluoxetine, spatial learning, memory, corticosterone, adult rat

## Введение

Гипоксия у новорожденных, связанная с недостатком кислорода, является распространенным стрессом у доношенных и недоношенных младенцев и может влиять на развитие многих физиологических систем и поведения, включая стрессорную гипоталамо-гипофизарно-адренортикальную систему (ГТАКС) и когнитивные функции (Gehrand et al. 2020; Giannopoulou et al. 2018; Lipner et al. 2023). По данным литературы, при рождении степень неврологической зрелости новорожденной крысы примерно соответствует таковой у недоношенного новорожденного ребенка на 24 неделе беременности

(Dobbing 1981). Ранее при использовании разработанной в нашей лаборатории на крысах модели недоношенной беременности, позволяющей исследовать последствия перинатальной гипоксии-энцефалопатии новорожденных, были выявлены отклонения от нормы структурно-функциональных характеристик неокортекса и гиппокампа у крыс раннего возраста (Khozhai, Otellin 2022). В настоящей работе мы используем подобную модель для исследования влияния гипоксии в новорожденном периоде у самки крысы на когнитивную сферу у взрослой особи, подобные исследования в литературе нами не были обнаружены. Свойственная головному мозгу в раннем возрасте интенсивная нейро-

пластичность определяет высокую чувствительность нейронов к стрессорным раздражителям, наряду с этим может способствовать адаптации к воздействию стресса. Существующее разнообразие форм гипоксического стресса и их экспериментальных моделей обуславливает наличие противоречивых данных по влиянию гипоксии на мозг и поведение (Millar et al. 2017; Semenov et al. 2022). В литературе внимание преимущественно уделяется перинатальной гипоксии-ишемии, которая приводит к тяжелым неврологическим и сердечно-сосудистым патологиям, к гипоксической энцефалопатии, вплоть до гибели не только в новорожденный период развития, но и в дальнейшем постнатальном онтогенезе (Duran-Sarabali et al. 2022). Важным регулятором любого стресса, включая гипоксический стресс, является ГГКС с ее глюкокортикоидными рецепторами и глюкокортикоидами, продуцируемыми в коре надпочечников в ответ на стресс. Глюкокортикоиды воздействуют на глюкокортикоидные рецепторы, которых особенно много в гиппокампе, ключевом регуляторе памяти, а также в префронтальной коре, амигдале — структурах мозга, вовлеченных в реализацию процессов обучения и памяти (Yavas et al. 2019), и изменяют таким образом их активность (Rybnikova, Nalivaeva 2021). Чрезмерная секреция глюкокортикоидов и повышенная активность глюкокортикоидных рецепторов в ответ на гипоксически-ишемический стресс нарушает нормальное развитие мозговых структур, что приводит в дальнейшем к отклонениям в нейропластичности, поведении и когнитивной сфере. Вместе с тем имеются данные, указывающие на противоположные эффекты и на другие, еще не исследованные, механизмы во влиянии другого типа гипоксии, умеренной гипоксии, не отягощенной ишемией. Продемонстрированы защитные эффекты глюкокортикоидов против гипоксического повреждения в головном мозге. Например, на грызунах показано, что введение глюкокортикоидов повышает устойчивость мозга к гипоксии (Knox-Copercion et al. 2019). Однако влияние глюкокортикоидов на адаптацию мозга к гипоксии/ишемии все еще недостаточно изучено.

Другая физиологическая система, серотонинергическая, которая так же, как и ГГКС, чувствительна к неонатальной гипоксии и может повреждаться ею, участвует в адаптации к гипоксическому стрессу. Обе системы вовлечены в регуляцию функции гиппокампа благодаря наличию в нем глюкокортикоидных и серотонинергических рецепторов (Bombardi et al. 2021; Carneiro et al. 2022). Гиппокамп является

ключевой структурой в формировании памяти (Vorhees, Williams 2014), поэтому серотонинергической иннервации гиппокампа уделяется большое внимание. Важно, что серотонин (5-НТ) в раннем развитии, как трофический фактор, играет определяющую роль в формировании серотонинергической и других систем, регулируя процессы нейрогенеза, синаптогенеза (Azmitia 2001). 5-НТ выполняет важную роль в развитии и регуляции ГГКС, поэтому изменение в уровне 5-НТ в критический период развития может привести в дальнейшем к отклонению когнитивной и ГГКС функций, как и многих других нейробиологических систем (Brummelte et al. 2017). Увеличение уровня 5-НТ способствует нормализации, поэтому серотонинергическую систему можно использовать в качестве мишени для фармакологических препаратов. Селективный ингибитор обратного захвата серотонина антидепрессант флуоксетин применяется в клинике для лечения депрессии у беременных, хотя имеются разногласия в вопросе о влиянии флуоксетина на развивающийся мозг (Edinoff et al. 2021; Ramsteijn et al. 2020; Rotem-Kohavi, Oberlander 2017). Действие флуоксетина заключается в блокаде транспортера 5-НТ, что приводит к накоплению биологического агента в синаптической щели и межклеточном пространстве. Экспериментальные и клинические данные о долговременном влиянии гипоксии, как и перинатального влияния флуоксетина, противоречивы, получены в основном на особях мужского пола, точный механизм их действия на когнитивные функции и ГГКС остается неясным, что требует дальнейших исследований с включением особей женского пола. Современный терапевтический подход к лечению последствий перинатальной гипоксии все еще ограничен.

Цель исследования состояла в изучении влияния острой умеренной нормобарической гипоксии и хронического введения флуоксетина в неонатальный период развития на способность к пространственному обучению, производительность памяти и реактивность ГГКС у взрослых самок крыс.

## Материалы и методы

Взрослые самцы и самки крыс линии Вистар были получены из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем». Экспериментальный протокол утвержден Комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И. П. Павлова РАН

(№02/09 от «09» февраля 2022 г.); работу проводили в соответствии с международными принципами биомедицинских исследований с использованием животных (CIOMS, Женева, 1985). Животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище и световом режиме 12:12 ч. После адаптации к условиям лабораторного вивария у крыс было получено потомство. На второй день жизни самки крысят были подвергнуты воздействию одноразовой умеренной нормобарической гипоксии (содержание кислорода в газовой смеси — 7,6–7,8%, углекислого газа — 0,15–0,21%, азота — 91,8% при температуре 35–36°C) в течение 60 минут, контрольные самки находились в подобных условиях без воздействия гипоксии.

Сразу после гипоксического воздействия экспериментальных и контрольных крысят подвергали ежедневно введению флуоксетина (10 мг/кг, 5 мкл в холку) или физиологического раствора в течение двух недель. Все животные были подразделены на группы: первая экспериментальная (гипоксическая) группа, крысы, подвергнутые гипоксии и сразу после гипоксии получавшие введение в холку физиологического раствора; вторая контрольная группа, крысы, не подвергнутые гипоксии и получавшие введение в холку физиологического раствора; третья экспериментальная (гипоксическая) группа, крысы, подвергнутые гипоксии и сразу после гипоксии получавшие введение в холку ингибитора обратного захвата серотонина флуоксетина; четвертая контрольная группа, крысы, не подвергнутые гипоксии и получавшие введение в холку флуоксетина. Каждая группа состояла из 8–10 крысят. Животные оставались в гнезде со своими матерями до 30-дневного возраста, затем разнополых особей рассаживали в разные клетки. В работе использовали только самок.

У 90-дневных крыс, предварительно адаптированных к обстановке эксперимента, начинали исследование производительности памяти в тесте «распознавание нового объекта», основанном на естественном для грызунов предпочтении новизны (Cohen, Stackman 2015). Крысу помещали в камеру (50 x 50 см), ограниченную стенками из оргстекла, в центре которой были размещены два объекта (светлые пластмассовые кубики), для ознакомления в течение пяти минут. Регистрировали время исследования каждого объекта (с). Затем крыс перемещали в домашнюю клетку на 10 мин. За это время левый объект заменяли новым незнакомым ранее предметом, выполненным из темного пластика, округлой формы, правый объект

оставляли неизменным. Животных помещали обратно в установку для исследования нового и знакомого объектов и регистрировали время, в течение которого крыса уделяла внимание каждому из них. Для оценки продуктивности памяти использовали коэффициент распознавания (Кр) — разницу между временем исследования нового и знакомого объектов по отношению к суммарному времени их исследования. Чем меньше Кр, тем хуже память распознавания.

Кр = Время (Объект Новый) – Время (Объект Знакомый) / Время (Объект Новый) + Время (Объект Знакомый).

Через трое суток отдыха в домашней клетке у животных начинали тестирование способности к пространственному обучению в водном лабиринте Морриса (Morris 1981), которое продолжалось пять дней. Бассейн с водой (диаметр 120 см, высота 72 см, температура воды 22–24°C) визуально был разделен на четыре равных квадранта (север С, юг Ю, восток В, запад З). На дне бассейна находилась металлическая платформа, поверхность которой была на два см ниже уровня воды, окрашенной мелом. В первую попытку крысу помещали всегда в СЗ квадрант, следующую попытку — в ЗЮ квадрант и так далее. Крыса должна была найти платформу для спасения. Если она не находила ее за 60 с, то латентный период (ЛП) достижения платформы принимали за 60 с, а крысу помещали на платформу на 20 с, во время которых она могла сориентироваться в пространстве. Затем следовал 15-секундный период покоя в сухой клетке, что вместе представляло первую попытку. Каждый день крыса имела две пробы по четыре попытки в каждой пробе, с перерывом между пробами в четыре мин для отдыха. В каждой попытке регистрировали ЛП достижения крысой платформы.

Кратковременную память регистрировали без платформы на пятый день после первой пробы, а через 96 ч после кратковременной памяти — долговременную память, для чего крысу на 60 с помещали в бассейн и регистрировали ЛП достижения целевого квадранта, места, где находилась платформа в период обучения, а также время пребывания в целевом квадранте. С помощью вебкамеры и специальной компьютерной программы регистрировали траекторию движения крысы (с).

После тестирования долговременной памяти у крыс декапитацией собирали образцы крови для дальнейшего определения содержания кортикостерона в плазме крови, которую хранили при температуре –20°C. Кортикостерон

определяли в двух экземплярах методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов («Хема-Medica Со» Cat №: K210R; Россия) с помощью спектрофотометрической пластины (Spectrostar NANO, BMG Labtech, Германия).

Данные представлены как  $M \pm SE$ . После проверки гипотезы об отклонении распределения данных от нормального с использованием критерия Колмогорова-Смирнова применяли разные модели дисперсионного анализа как смешанного, Mixed ANOVA, так и дисперсионного анализа для независимых переменных ANOVA, с последующими апостериорными поправками по Бонферрони. Статистические решения принимались на 5%-м уровне значимости. Анализ данных проводили на основе программного комплекса SPSS 20.

### Результаты исследования

Смешанный дисперсионный анализ ANOVA был использован для данных, полученных в тесте «распознавание нового объекта»; зависимые переменные — новый и старый объекты, факторы: условие (контроль, гипоксия),

воздействие (физиологический раствор, флуоксетин). Главные эффекты дали значимое влияние для нового/старого объекта  $F(1,31) = 144,8$ ,  $p < 0,001$ ,  $\eta^2 = 0,824$ , а также для взаимодействия факторов новый объект, условие и воздействие  $F(1,31) = 5,56$ ,  $p = 0,025$ ,  $\eta^2 = 0,152$  и для взаимодействия условие и воздействие  $F(1,31) = 8,49$ ,  $p = 0,007$ ,  $\eta^2 = 0,215$ . Последующий апостериорный анализ с поправкой по Бонферрони показал, что в тесте «Распознавание нового объекта» у самок во всех исследованных группах время исследования «нового» объекта было значимо выше, чем «знакомого» объекта ( $p < 0,001$ ) (рис. 1А).

Время исследования знакомого объекта у контрольных самок было значимо выше, чем у самок, подвергнутых гипоксии ( $p = 0,016$ ), аналогичная закономерность выявлена во времени исследования нового объекта ( $p < 0,001$ ). Различия между временем исследования между контрольными крысами и крысами всех остальных групп были также значимы ( $p < 0,05 - p < 0,01$ ), как знакомого, так и незнакомого объектов (рис. 1А). Коэффициент распознавания статистически значимо не различался между группами (рис. 1В).

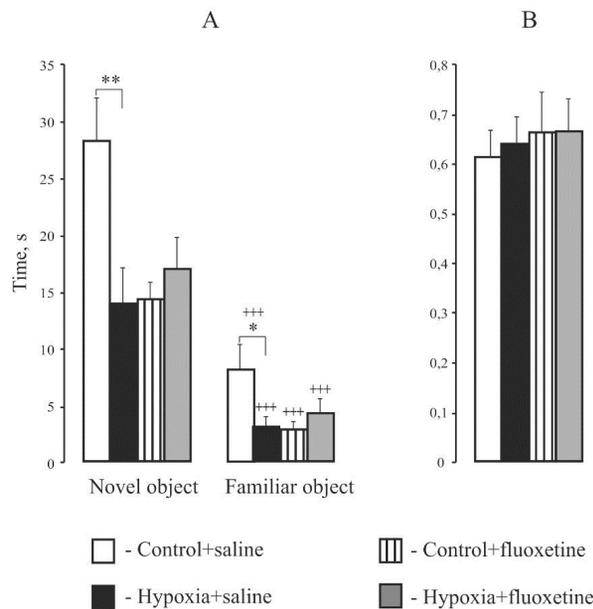


Рис. 1. Исследование производительности памяти в тесте «распознавание нового объекта» у взрослых самок крыс, подвергнутых воздействию гипоксии, флуоксетина и физиологического раствора в неонатальный период развития. Ордината: время для нового или знакомого объекта (с). (А): новый и знакомый объекты, (В): коэффициент распознавания. Уровень значимости: +++ —  $p < 0,001$ , время исследования «нового» объекта vs «знакомого» объекта; \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ , контроль + физиологический раствор vs гипоксия + физиологический раствор. Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка

Fig. 1. The study of memory performance in the test “recognition of a novel object” in adult female rats exposed to hypoxia, fluoxetine and saline in the neonatal period of development. Ordinate: exploration time of a novel or a familiar object. (A): novel and familiar objects, (B): recognition coefficient.

The level of significance: +++— $p < 0.001$ , exploration time of novel vs. familiar object; \*— $p < 0.05$ , \*\*— $p < 0.01$ , control + saline vs. hypoxia + saline. The data are presented as Mean  $\pm$  SEM

При исследовании способности к пространственному обучению смешанный дисперсионный анализ ANOVA, факторы: условие (контроль, гипоксия), воздействие (физиологический раствор, флуоксетин), динамика (1, 2, 3, 4, 5 день) для первой пробы и (1, 2, 3, 4 день) для второй пробы показал, что главные эффекты дали значимое влияние динамики  $F(4,28) = 73,83, p < 0,001, \eta^2 = 0,913$  и взаимодействия динамики и условия  $F(4,28) = 3,4, p = 0,022, \eta^2 = 0,327$ , а также динамики и воздействия  $F(4,28) = 3,2, p = 0,028, \eta^2 = 0,313$  для первой пробы. Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что главные эффекты дали значимое влияние условия  $F(1,31) = 4,72, p = 0,038, \eta^2 = 0,132$  и воздействия  $F(1,31) = 8,79, p = 0,006, \eta^2 = 0,221$ , а также взаимодействия условия и воздействия  $F(1,31) = 6,65, p = 0,015, \eta^2 = 0,177$  для первой пробы и первой попытки. Первый день тренировки в процессе пространственного обучения в тесте Морриса принято рассматривать как самый объективный

показатель для пространственного обучения (Vorhees, Williams 2014). Апостериорный анализ с поправкой по Бонферрони показал, что в первый день обучения гипоксия увеличила время достижения платформы (латентный период, ЛП) в первой пробе у взрослых крыс ( $p = 0,007$ ) (рис. 2А, В) по сравнению с контрольными животными.

Неонатальное хроническое введение флуоксетина животным, подвергнутым в период новорожденности воздействию гипоксии, уменьшило данный показатель ( $p = 0,005$ ), то есть флуоксетин восстановил ЛП до контрольного уровня (рис. 1А, В).

При тестировании памяти смешанный дисперсионный анализ ANOVA (факторы: память (кратковременная и долговременная), условие (контроль, гипоксия), воздействие (физиологический раствор, флуоксетин)) обнаружил, что главные эффекты дали значимое влияние для памяти  $F(1,31) = 14,98, p = 0,001, \eta^2 = 0,326$

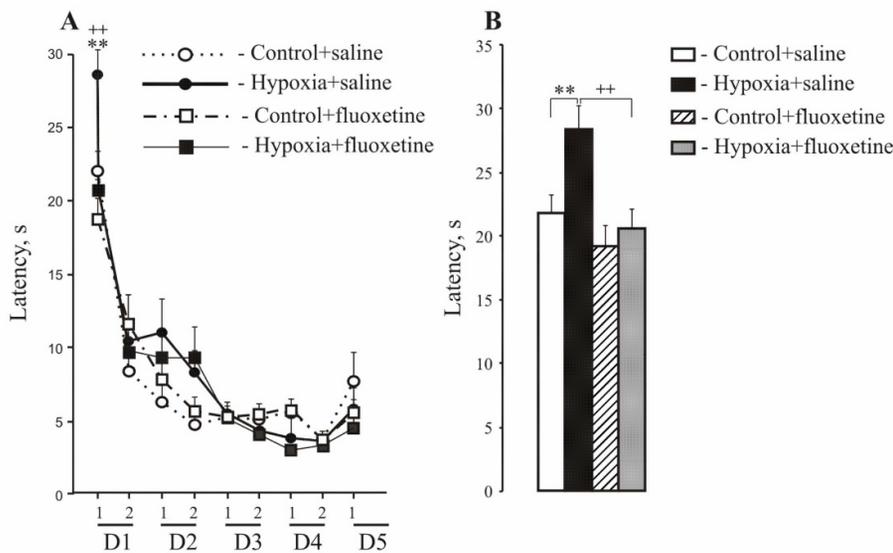


Рис. 2. Латентный период достижения платформы в водном лабиринте Морриса в первую пробу в течение пяти тренировочных дней и вторую пробу в течение четырех тренировочных дней пространственного обучения у взрослых крыс, подвергнутых воздействию гипоксии, флуоксетина и физиологического раствора в неонатальный период развития (А). Абсцисса: пробы (1, 2), пять тренировочных дней (D1-D5). Ордината: время достижения платформы (латентный период, ЛП) (с). (В): график иллюстрирует результаты статистического анализа в первый тренировочный день в пробе 1. \*\* —  $p < 0,01$ , контроль + физиологический раствор vs гипоксия + физиологический раствор; ++ —  $p < 0,01$ , гипоксия + физиологический раствор vs гипоксия + флуоксетин. Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка

Fig. 2. The latency of reaching the platform in the Morris water maze in the first trial during five training days and the second trial during four training days of spatial learning in adult rats exposed to hypoxia, fluoxetine and saline in the neonatal period of development (A). Abscissa: trials (1, 2), five training days (D1-D5). Ordinate: the time of reaching the platform (s). (B): the results of statistical analysis on the first training day in trial 1. \*\*— $p < 0.01$ , control + saline vs hypoxia + saline; ++— $p < 0.01$ , hypoxia + saline vs hypoxia + fluoxetine. The data are presented as Mean  $\pm$  SEM

и условия  $F(1,31) = 11,02$ ,  $p = 0,002$ ,  $\eta^2 = 0,262$ . При тестировании кратковременной памяти апостериорный анализ с поправкой по Бонферрони показал отсутствие значимого различия между временем пребывания в целевом квадранте у гипоксических и контрольных крыс. Флуоксетин увеличил производительность памяти у гипоксических крыс ( $p = 0,017$ ), но не изменил у контрольных животных (рис. 3А). При тестировании долговременной памяти гипоксия увеличила время пребывания в целевом квадранте по сравнению с контролем ( $p = 0,044$ ), то есть улучшила производительность долговременной памяти (рис. 3В). Неонатальное хроническое введение флуоксетина не изменило этот показатель памяти как у контрольных крыс, так и у крыс с воздействием гипоксии (рис. 3В). Различия между производительностью кратковременной и долговременной память обнаружены у гипоксических крыс с введением

флуоксетина ( $p = 0,007$ ) (рис. 3А, В), а у контрольных крыс — на уровне тенденции ( $p = 0,054$ ).

Таким образом, у взрослых крыс, подвергнутых умеренной нормобарической гипоксии и введению физиологического раствора в новорожденном периоде в течение 14 дней, увеличилась производительность долговременной памяти по сравнению с контрольным значением. Введение флуоксетина не оказало вредного влияния на когнитивные способности как у контрольных, так и у животных, подвергнутых гипоксии в новорожденном возрасте.

Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA (факторы: условие (контроль, гипоксия), воздействие (физиологический раствор, флуоксетин)) показал, что главные эффекты дали значимое влияние условия:  $F(1,31) = 10,97$ ,  $p = 0,002$ ,  $\eta^2 = 0,261$ . Апостериорный анализ с поправкой по Бонферрони показал, что гипоксия увеличила содержание кортикостерона

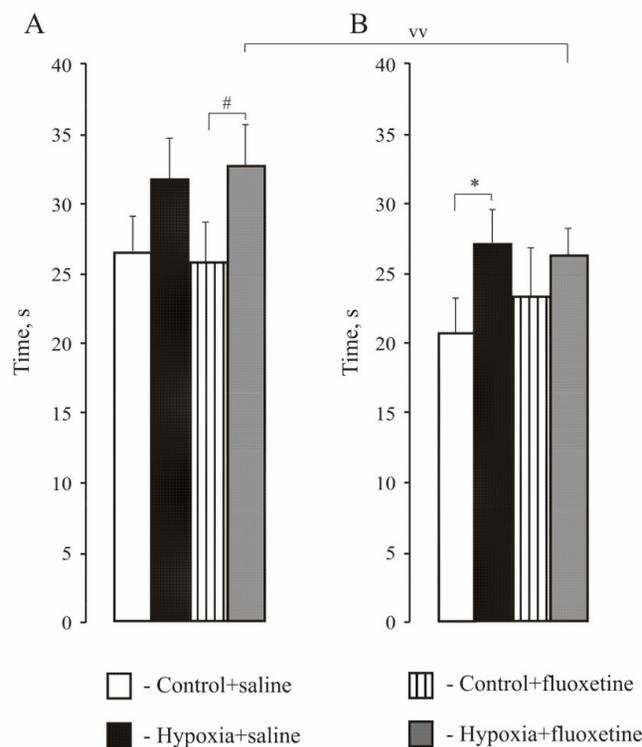


Рис. 3. Кратковременная (А) и долговременная (В) память в водном лабиринте Морриса у взрослых крыс, подвергнутых воздействию гипоксии, флуоксетина и физиологического раствора в неонатальный период развития. Ордината: время, проведенное в целевом квадранте (с). \* —  $p < 0,05$ , контроль + физиологический раствор vs гипоксия + физиологический раствор; # —  $p < 0,05$ , контроль + флуоксетин vs гипоксия + флуоксетин; vv —  $p < 0,01$ , кратковременная vs долговременная память. Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка

Fig. 3. Short-term (A) and long-term (B) memory in the Morris water maze in adult rats exposed to hypoxia, fluoxetine and saline in the neonatal period of development. Ordinate: the time spent in the target quadrant (s). \*— $p < 0.05$ , control + saline vs hypoxia + saline; #— $p < 0.05$  control + fluoxetine vs hypoxia + fluoxetine, vv— $p < 0.01$  short-term vs. long-term memory. The data are presented as Mean  $\pm$  SEM

по сравнению с контрольным значением ( $p = 0,028$ ). Неонатальное хроническое введение флуоксетина не изменило уровень гормона как у контрольных крыс, так и повышенный уровень гормона у крыс с гипоксией, значение кортикостерона у крыс с гипоксией и флуоксетином было выше, чем у контрольных крыс с введением данного препарата ( $p = 0,024$ ) (табл. 1).

### Обсуждение

При исследовании влияния неонатальной нормобарической гипоксии с пониженной концентрацией кислорода во вдыхаемом воздухе, вызывающей дефицит кислорода у крысят, на способность к пространственному обучению, производительность пространственной кратковременной и долговременной памяти и содержание кортикостерона в плазме крови в ответ на тестирование долговременной памяти у взрослых самок крыс обнаружены следующие изменения по сравнению с контрольными значениями. Ухудшение способности к пространственному обучению наблюдалось только в первый день тренировки, самый объективный показатель при оценке пространственного обучения (Vorhees, Williams 2014). Гипоксия не вызывала дефицит кратковременной памяти и даже улучшила производительность долговременной памяти. Результаты, полученные в тесте «распознавание нового объекта» и водном лабиринте Морриса, подтверждают вывод

об отсутствии неблагоприятного влияния гипоксии на производительность памяти. Повышенная производительность долговременной памяти сочеталась с более высокой реактивностью ГАКС в ответ на тестирование долговременной памяти. Хроническое введение флуоксетина неонатальным крысятам не изменило показатели производительности обоих типов памяти и гормонального показателя как у контрольных, так и гипоксических взрослых крыс. При ухудшении способности к обучению, вызванном гипоксией, флуоксетин нормализовал латентный период достижения платформы, а при улучшении производительности долговременной памяти у гипоксических крыс флуоксетин не снизил улучшенный показатель.

Имеющиеся немногочисленные исследования по влиянию нормобарической гипоксии обнаруживают противоречивые данные, в отличие от избытка работ по влиянию гипоксии-ишемии, которые свидетельствуют об ухудшении когнитивных, физиологических и морфогенетических показателей (Duran-Carabali et al. 2022; Sanches et al. 2013). Отсутствие единства в дизайне экспериментов у разных авторов (возраст и пол, состав газовой смеси, время воздействия гипоксии, используемый тест) затрудняет сравнение результатов с данными по влиянию нормобарической гипоксии. Например, аноксия (100% азотная смесь, седьмой день жизни) не вызывала изменений в пространственном обучении в водном лабиринте Морриса у взрослых самцов

Табл. 1. Содержание кортикостерона в плазме крови у взрослых самок крыс в ответ на тестирование долговременной памяти в водном лабиринте Морриса

Группы	Кортикостерон (нмоль/л)
Контроль + физиологический раствор	669,5 ± 111,9
Гипоксия + физиологический раствор	1102,1 ± 125,2*
Контроль + флуоксетин	735,4 ± 128,0
Гипоксия + флуоксетин	1191,1 ± 125,2+

Примечание: \* —  $p < 0,05$  по сравнению с контроль + физиологический раствор, + —  $p < 0,05$  по сравнению с контроль + флуоксетин.

Table 1. Corticosterone content in blood plasma in adult female rats in response to testing long-term memory in the Morris water maze

Groups	Corticosterone (nmol/l)
Control + saline	669.5 ± 111.9
Hypoxia + saline	1102.1 ± 125.2*
Control + fluoxetine	735.4 ± 128.0
Hypoxia + fluoxetine	1191.1 ± 125.2+

Note: \*— $p < 0.05$  compared with control + saline, +— $p < 0.05$  compared with control + fluoxetine.

крыс (Casolini et al. 2005); пренатальная гипоксия (7% кислорода, 14-й день беременности) вызвала у 20-30-дневного мужского потомства нарушение памяти в тесте «Распознавание нового объекта» (Zhuravin et al. 2019). Гипоксия (8% кислорода, второй день жизни) не вызвала изменений в пространственной памяти в лабиринте Барнса у 41–47-дневных самцов крыс; однако добавление нового стресса (звуковой сигнал) выявило у гипоксических крыс дефицит памяти (Sukhanova et al. 2019). В перечисленных работах самки не были использованы.

Выявленное нами отсутствие повреждающего влияния гипоксии на когнитивные показатели у самок крыс могло быть вызвано нейрогенезом в гиппокампе взрослых крыс, усиливающим нейрональную пластичность, основу памяти (Kempermann 2022; Toda, Gage 2018). Нейрогенез во взрослом гиппокампе является установленным фактом (Kuhn et al. 2018), тогда как исследование формирования нейрогенеза в ходе постнатального развития только начинается (Bond et al. 2022). Так, полученные в этой области данные позволили сделать предположение о том, что функция нейронов, которые генерируются в зубчатой извилине гиппокампа в раннем подростковом возрасте и которые определяют появление пространственной навигации, является временной. При достижении половозрелого состояния в данной структуре гиппокампа появляются новые нейроны, выполняющие адаптивную функцию нейрогенеза (Bond et al. 2022; Masachs et al. 2021). Если принять к сведению эти данные, то можно предположить, что интенсивность и продолжительность примененного нами гипоксического стресса не препятствовали образованию новых нейронов в гиппокампе у взрослых крыс, что способствовало улучшению пространственной памяти. Кроме того, есть данные о протективном влиянии хэндлинга при изучении последствий гипоксии-ишемии (Muntsant et al. 2019). В нашем эксперименте крысята после гипоксии подвергались хэндлингу (уколы флуоксетина или физиологического раствора) в течение двух недель. Сочетание разных типов стресса (неонатальная гипоксия и тестирование памяти у крыс в двух разных методиках) могло также улучшить исследованные показатели (Butkevich, Mikhailenko 2018).

Увеличение времени пребывания в целевом квадранте в водном лабиринте Морриса у гипоксических самок сочеталось с увеличением содержания кортикостерона в плазме крови в ответ на тестирование долговременной памяти. Флуоксетин не изменил содержание корти-

костерона у контрольных крыс и сохранил повышенный уровень стрессорного гормона у гипоксических крыс. Тесное взаимодействие ГТАКС с серотонинергической системой в ответ на стресс подтверждают данные о том, что привыкание к стрессу сопровождается увеличением чувствительности постсинаптических рецепторов 5-НТ 1А (Goel et al. 2022; Philippe et al. 2022). Серотонин, как уже упоминалось, участвует в формировании и регуляции функции гиппокампа, играющего ведущую роль в формировании пространственной памяти (Vombardi et al. 2021).

Принимая во внимание имеющуюся информацию об участии серотонинергической системы наряду с ГТАКС в адаптации к гипоксическому стрессу, а также о противоречивости данных по влиянию флуоксетина в перинатальный период на дальнейшее развитие когнитивной сферы, мы оценили долговременное неонатальное действие флуоксетина на когнитивные способности и ГТАКС у взрослых гипоксических и контрольных животных. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что хроническое введение флуоксетина неонатальным крысам не вызывает неблагоприятного воздействия на исследованные показатели памяти у контрольных и гипоксических крыс. Отсутствие различий в коэффициенте распознавания в другом поведенческом тесте «распознавание нового объекта» также указывает на благоприятное влияние как нормобарической гипоксии, так и флуоксетина на производительность памяти взрослых крыс. У контрольных крыс флуоксетин не вызывал изменений в пространственном обучении и производительности памяти, а у гипоксических крыс сохранил усиление производительности долговременной памяти, вызванное гипоксией. Результаты о более низкой производительности долговременной по сравнению с кратковременной памятью могут свидетельствовать в пользу представлений об участии разных типов синаптической пластичности в разных типах памяти. Действительно, есть данные, что в основе кратковременной и долговременной памяти лежат различные типы синаптической пластичности, многие из которых зависят от активации разных подтипов рецептора глутамата, который занимает центральное место в формировании памяти (France et al. 2022).

Действие флуоксетина заключается в блокаде транспортера 5-НТ, что приводит к накоплению медиатора в синаптической щели и межклеточном пространстве. Происходящее при этом усиление активности серотониновых

рецепторов взаимосвязано с изменениями нейропластичности, что способствует повышению регуляции синаптических белков и последующей плотности дендритных шипиков, которые играют важную роль в функционировании механизмов синаптической пластичности и формировании памяти. Сообщается, что количество и тип дендритных шипиков могут быть использованы для определения взаимосвязи между функциональным состоянием нервных клеток и поведением, особенно в когнитивной функции (Alizadeh-Ezdini, Vatanparast 2022). Обнаружено хорошо документированное взаимодействие между женскими половыми гормонами эстрогенами, памятью и плотностью дендритных шипиков как в СА1 гиппокампа, так и в медиальной префронтальной коре (Frankfurt, Luine 2015). Новые морфогенетические данные на мышцах позволяют предположить связь дендритных шипиков в гиппокампе, повреждаемых гипоксией, и когнитивного поведения с транспортом 5-НТ, особенно в ранний критический период развития мозга (De Gregorio et al. 2022). По данным литературы, флуоксетин стимулирует эндогенный нейрогенез, способствует выживанию нейронов (Khodanovich et al. 2018), а также индуцирует аутофагию и усиливает фагоцитоз в микроглии, что, как полагают, может быть новым молекулярным механизмом нейровоспалительного и нейропротекторного эффекта флуоксетина (Park et al. 2021).

В заключение, полученные новые данные свидетельствуют о том, что острая нормобарическая гипоксия у новорожденных самок крыс не изменяет производительность кратковременной памяти и усиливает долговременную память во взрослом возрасте, что сочетается с увеличением реактивности ГТАКС. Действие флуоксетина можно рассматривать как протективное, хроническое введение флуоксетина неонатальным крыскам нормализует сниженную гипоксией способность к обучению, но не нарушает производительность памяти у контрольных животных и не снижает вызванное гипоксией усиление производительности памяти.

### 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 процедуры работы с животными проводили в соответствии с принципами Базельской декларации; протоколы опытов утверждены Комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И. П. Павлова РАН.

### Ethics Approval

All animal procedures were carried out in accordance with the principles of the Basel Declaration; protocols of experiments were approved by the Humane Treatment of Animals Commission of the Pavlov Institute of Physiology RAS.

### Вклад авторов

- а. Буткевич Ирина Павловна — идея и планирование экспериментов, сбор данных, обработка данных, написание и редактирование рукописи;
- б. Михайленко Виктор Анатольевич — идея и планирование экспериментов, сбор данных, обработка данных, написание и редактирование рукописи;
- в. Вершинина Елена Андреевна — обработка данных, обсуждение и редактирование рукописи.

### Author Contributions

- a. Irina P. Butkevich conceived and designed the experiment, collected and processed the data, drafted and edited the manuscript;
- b. Viktor A. Mikhailenko conceived and designed the experiment, collected and processed the data, drafted and edited the manuscript;
- c. Elena A. Vershinina processed the data, discussed and edited the manuscript.

### Благодарности

Выражаем благодарность старшим лаборантам-ассистентам лаборатории онтогенеза нервной системы Е. Н. Лавровой и Н. А. Улановой за помощь в проведении экспериментов, а также д.б.н. Е. И. Тюльковой (лаб. регуляции функций нейронов мозга, зав. профессор РАН, д.б.н. Е. А. Рыбникова) за проведение количественного анализа кортикостерона.

### Acknowledgements

We would like to thank E. N. Lavrova and N. A. Ulanova, senior laboratory assistants at the Laboratory of Nervous System Ontogeny, for their help in conducting the experiments. We are also thankful to E. I. Tyulkova, Doctor of Sciences (Biology), of the Laboratory of Brain Neurons Regulation headed by Professor of RAS E. A. Rybnikova, Dr. Sci., for the quantitative analysis of corticosterone.

## References

- Alizadeh-Ezdini, Z., Vatanparast, J. (2022) Differential impact of two paradigms of early-life adversity on behavioural responses to social defeat in young adult rats and morphology of CA3 pyramidal neurons. *Behavior Brain Research*, vol. 435, article 114048. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2022.114048> (In English)
- Azmitia, E. C. (2001) Modern views on an ancient chemical: Serotonin effects on cell proliferation, maturation, and apoptosis. *Brain Research Bulletin*, vol. 56, no. 5, pp. 413–424. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00614-1](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00614-1) (In English)
- Bombardi, C., Grandis, A., Pivac, N. et al. (2021) Serotonin modulation of hippocampal functions: From anatomy to neurotherapeutics. *Progress in Brain Research*, vol. 261, pp. 83–158. <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2021.01.031> (In English)
- Bond, A. M., Ming, G-L., Song, H. (2022) What is the relationship between hippocampal neurogenesis across different stages of the lifespan? *Frontiers in Neuroscience*, vol. 16, article 891713. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.891713> (In English)
- Brummelte, S., Glanaghy, E., Bonnin, A., Oberlander, T. F. (2017) Developmental changes in serotonin signaling: Implications for early brain function, behavior and adaptation. *Neuroscience*, vol. 342, no. 7, pp. 212–231. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.02.037> (In English)
- Butkevich, I. P., Mikhailenko, V. A. (2018) Effect of fluoxetine in prenatal period on nociceptive system reactivity and psychoemotional behavior in young female rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 165, no. 2, pp. 209–212. <https://doi.org/10.1007/s10517-018-4131-9> (In English)
- Carneiro, I. B. C., Toscano, A. E., da Cunha, M. de S. B. et al. (2022) Serotonergic mechanisms associated with experimental models of hypoxia: A systematic review. *International Journal of Developmental Neuroscience*, vol. 82, no. 8, pp. 667–679. <https://doi.org/10.1002/jdn.10226> (In English)
- Casolini, P., Zuena, A. R., Cinque, C. et al. (2005) Sub-neurotoxic neonatal anoxia induces subtle behavioural changes and specific abnormalities in brain group-I metabotropic glutamate receptors in rats. *Journal of Neurochemistry*, vol. 95, no. 1, pp. 137–145. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03349.x> (In English)
- Cohen, S. J., Stackman, R. W. Jr. (2015) Assessing rodent hippocampal involvement in the novel object recognition task. A review. *Behavioral Brain Research*, vol. 285, pp. 105–117. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.08.002> (In English)
- De Gregorio, R., Subah, G., Chan, J. C. et al. (2022) Sex-biased effects on hippocampal circuit development by perinatal SERT expression in CA3 pyramidal neurons. *Development*, vol. 149, no. 21, article dev200549. <https://doi.org/10.1242/dev.200549> (In English)
- Dobbing, J. (1981) Nutritional growth restriction and the nervous system. In: A. N. Davidson, R. H. S. Thompson (eds.). *The molecular basis of neuropathology*. London: Edward Arnold & Co. Publ., pp. 221–233. (In English)
- Duran-Carabali, L. E., Odorcyk, F. K., Sanches, E. F. et al. (2022) Effect of environmental enrichment on behavioral and morphological outcomes following neonatal hypoxia-ischemia in rodent models: A systematic review and meta-analysis affiliations expand. *Molecular Neurobiology*, vol. 59, no. 3, pp. 1970–1991. <https://doi.org/10.1007/s12035-022-02730-9> (In English)
- Edinoff, A. N., Akuly, H. A., Hanna, T. A. et al. (2021) Selective serotonin reuptake inhibitors and adverse effects: A narrative review. *Neurology International*, vol. 13, no. 3, pp. 387–401. <https://doi.org/10.3390/neurolint13030038> (In English)
- France, G., Volianskis, R., Ingram, R. et al. (2022) Differential regulation of STP, LTP and LTD by structurally diverse NMDA receptor subunit-specific positive allosteric modulators. *Neuropharmacology*, vol. 202, article 108840. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108840> (In English)
- Frankfurt, M., Luine, V. (2015) The evolving role of dendritic spines and memory: Interaction(s) with estradiol. *Hormones and Behavior*, vol. 74, pp. 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2015.05.004> (In English)
- Gehrand, A. L., Phillips, J., Malott, K., Raff, H. (2020) Corticosterone, adrenal, and the pituitary-gonadal axis in neonatal rats: Effect of maternal separation and hypoxia. *Endocrinology*, vol. 161, no. 7, article bqaa085. <https://doi.org/10.1210/endocr/bqaa085> (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)
- Goel, N., Philippe, T. J., Chang, J. et al. (2022) Cellular and serotonergic correlates of habituated neuroendocrine responses in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology*, vol. 136, article 105599. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2021.105599> (In English)
- Kempermann, G. (2022) What is adult hippocampal neurogenesis good for? *Frontiers in Neuroscience*, vol. 16, article 852680. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.852680> (In English)
- Khodanovich, M., Kisel, A., Kudabaeva, M. et al. (2018) Effects of fluoxetine on hippocampal neurogenesis and neuroprotection in the model of global cerebral ischemia in rats. *International Journal of Molecular Science*, vol. 19, no. 1, article 162. <https://doi.org/10.3390/ijms19010162> (In English)

- Khozhai, L. I., Otellin, V. A. (2022) Distribution of GABAergic neurons and expression levels of GABA transporter 1 in the rat neocortex during the neonatal period after perinatal hypoxic exposure. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 58, no. 6, pp. 1687–1696. <https://doi.org/10.1134/S0022093022060023> (In English)
- Knox-Concepcion, K. R., Figueroa, J. D., Hartman, R. E. et al. (2019) Repression of the glucocorticoid receptor increases hypoxic-ischemic brain injury in the male neonatal rat. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 14, article 3493. <https://doi.org/10.3390/ijms20143493> (In English)
- Kuhn, H. G., Toda, T., Gage, F. H. (2018) Adult hippocampal neurogenesis: A coming-of-age story. *Journal of Neuroscience*, vol. 38, no. 49, pp. 10401–10410. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2144-18.2018> (In English)
- Lipner, E., O'Brien, K. J., Pike, M. R. et al. (2023) Environmental risk factors and cognitive outcomes in psychosis: Pre-, perinatal, and early life adversity. In: D. M. Barch, J. W. Young (eds.). *Cognitive functioning in schizophrenia: Leveraging the RDoC Framework. Current topics in behavioral neurosciences*. Vol. 63. Cham: Springer Publ., pp. 205–240. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2022\\_378](https://doi.org/10.1007/7854_2022_378) (In English)
- Masachs, N., Charrier, V., Farrugia, F. et al. (2021) The temporal origin of dentate granule neurons dictates their role in spatial memory. *Molecular Psychiatry*, vol. 26, no. 12, pp. 7130–7140. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01276-x> (In English)
- Millar, L. J., Shi, L., Hoerder-Suabedissen, A., Molnár, Z. (2017) Neonatal hypoxia ischemia: Mechanisms, models, and therapeutic challenges. *Frontiers in Cell Neuroscience*, vol. 11, article 78. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00078> (In English)
- Morris, R. G. M. (1981) Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*, vol. 12, no. 2, pp. 239–260. [https://doi.org/10.1016/0023-9690\(81\)90020-5](https://doi.org/10.1016/0023-9690(81)90020-5) (In English)
- Muntsant, A., Shrivastava, K., Recasens, M., Giménez-Llort, L. (2019) Severe perinatal hypoxic-ischemic brain injury induces long-term sensorimotor deficits, anxiety-like behaviors and cognitive impairment in a sex-, age- and task-selective manner in C57BL/6 mice but can be modulated by neonatal handling. *Frontiers in Behavior Neuroscience*, vol. 13, article 7. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00007> (In English)
- Park, S. H., Lee, Y.-S., Yang, H.-J., Song, G. J. (2021) Fluoxetine potentiates phagocytosis and autophagy in microglia. *Frontiers in Pharmacology*, vol. 12, article 770610. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.770610> (In English)
- Philippe, T. J., Bao, L., Koblanski, M. E., Viau, V. (2022) Sex differences in serotonin 5-HT 1A receptor responses to repeated restraint stress in adult male and female rats. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, vol. 25, no. 10, pp. 863–876. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyac046> (In English)
- Ramsteijn, A. S., Van de Wijer, L., Rando, J. et al. (2020) Perinatal selective serotonin reuptake inhibitor exposure and behavioral outcomes: A systematic review and meta-analyses of animal studies. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 114, pp. 53–69. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.04.010> (In English)
- Rotem-Kohavi, N., Oberlander, T. F. (2017) Variations in neurodevelopmental outcomes in children with prenatal SSRI antidepressant exposure. *Birth Defects Research*, vol. 109, no. 12, pp. 909–923. <https://doi.org/10.1002/bdr2.1076> (In English)
- Rybnikova, E., Nalivaeva, N. (2021) Glucocorticoid-dependent mechanisms of brain tolerance to hypoxia. *International Journal of Molecular Neuroscience*, vol. 22, no. 15, article 7982. <https://doi.org/10.3390/ijms22157982> (In English)
- Sanches, E. F., Arteni, N. S., Nicola, F. et al. (2013) Early hypoxia-ischemia causes hemisphere and sex-dependent cognitive impairment and histological damage. *Neuroscience*, vol. 237, no. 15, pp. 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.01.066> (In English)
- Semenov, D. G., Belyakov, A. V., Rybnikova, E. A. (2022) Experimental modeling of damaging and protective hypoxia of the mammalian brain. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 58, no. 6, pp. 2021–2034. <https://doi.org/10.1134/S0022093022060291> (In English)
- Sukhanova, Iu. A., Sebentsova, E. A., Khukhareva, D. D. et al. (2019) Early-life N-arachidonoyl-dopamine exposure increases antioxidant capacity of the brain tissues and reduces functional deficits after neonatal hypoxia in rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*, vol. 78, no. 1, pp. 7–18. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2019.06.007> (In English)
- Toda, T., Gage, F. H. (2018) Review: Adult neurogenesis contributes to hippocampal plasticity. *Cell and Tissue Research*, vol. 373, no. 3, pp. 693–709. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2735-4> (In English)
- Vorhees, C. V., Williams, M. T. (2014) Assessing spatial learning and memory in rodents. *ILAR Journal*, vol. 55, no. 2, pp. 310–332. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilu013> (In English)
- Yavas, E., Gonzalez, S., Fanselow, M. S. (2019) Interactions between the hippocampus, prefrontal cortex, and amygdala support complex learning and memory. *F1000Research*, vol. 8, article 1292. <https://doi.org/10.12688/f1000research.19317.1> (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)



УДК 575.224

EDN JJTVUU

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-91-102>

## Обучение и память у дрозофилы: роль мутации *white*

Е. А. Никитина<sup>✉1,2</sup>

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

<sup>2</sup> Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, 191186, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, д. 48

### Сведения об авторе

Екатерина Александровна Никитина, SPIN-код: 7844-8621, Scopus AuthorID: 56603106300, ResearcherID: L-5761-2014, ORCID: 0000-0003-1897-8392, e-mail: 21074@mail.ru

**Для цитирования:** Никитина, Е. А. (2023) Обучение и память у дрозофилы: роль мутации *white*. *Интегративная физиология*, т. 4, № 1, с. 91–102. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-91-102> EDN JJTVUU

**Получена** 12 декабря 2022; прошла рецензирование 7 февраля 2023; принята 9 февраля 2023.

**Финансирование:** Работа выполнена при поддержке Государственной программы РФ 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030) (тема 63.1).

**Права:** © Е. А. Никитина (2023). 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.** С момента открытия Т. Х. Морганом в 1910 г. ген *white* дрозофилы стал одним из наиболее интенсивно изучаемых и широко использовался в качестве генетического маркера. Многочисленные ключевые научные открытия были сделаны с привлечением трансгенных линий *Drosophila melanogaster*, многие из которых сконструированы на генетическом фоне мутантных линий *white*. Кодированный геном *white* ABC-переносчик критически важен не только для биосинтеза глазных пигментов, но и для транспортировки многих молекулярных субстратов, в том числе биогенных аминов и нейротрансмиттеров. Этим обусловлен тот факт, что данная мутация приводит к образованию сложного фенотипа, затрагивающего не только нарушения зрения, но и двигательную и половую активность, устойчивость к действию стресса, способность к обучению и формированию памяти. Ген *white* играет роль в нескольких парадигмах обучения, ухудшая оперантное обучение и не затрагивая ольфакторное. Цель данной работы состояла в оценке роли мутации *w<sup>1118</sup>* дрозофилы в обучении и формировании памяти в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания, основанного на ольфакторных стимулах. Впервые показано, что мутантная линия *w<sup>1118</sup>* является способной к обучению и характеризуется нормальным протеканием процессов среднесрочной и долгосрочной памяти, как в нормальных условиях, так при воздействии теплового шока.

**Ключевые слова:** дрозофила, мутация *white*, обучение, память, условно-рефлекторное подавление ухаживания

# Learning and memory in *Drosophila*: Role of *white* mutation

E. A. Nikitina<sup>✉1,2</sup>

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

<sup>2</sup> Herzen State Pedagogical University of Russia, 48 Moika Emb., Saint Petersburg 191186, Russia

## Author

Ekaterina A. Nikitina, SPIN: 7844-8621, Scopus AuthorID: 56603106300, ResearcherID: L-5761-2014, ORCID: 0000-0003-1897-8392, e-mail: 21074@mail.ru

**For citation:** Nikitina, E. A. (2023) Learning and memory in *Drosophila*: Role of *white* mutation. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 1, pp. 91–102. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-91-192> EDN JJTVUU

**Received** 12 December 2022; reviewed 7 February 2023; accepted 9 February 2023.

**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) (63.1).

**Copyright:** © E. A. Nikitina (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

**Abstract.** Since the discovery by T. H. Morgan in 1910, *Drosophila white* gene has become one of the most intensively studied and has been widely used as a genetic marker. Numerous key scientific discoveries have been made involving *Drosophila melanogaster* transgenic stocks, many of which are engineered against the genetic background of *white* mutant stocks. The *white* gene encoded ABC-transporter is critical not only for the biosynthesis of eye pigments, but also for the transport of many molecular substrates, including biogenic amines and neurotransmitters. This is due to the fact that this mutation leads to the formation of a complex phenotype that affects not only vision, but also locomotor and sexual activity, resistance to stress, learning and memory formation. The *white* gene plays a role in several learning paradigms, degrading operant learning and not affecting olfactory. The aim of this study was to assess the role of *Drosophila w<sup>1118</sup>* mutation in learning and memory formation in the conditioned courtship suppression based on olfactory stimuli. For the first time, it has been shown that the *w<sup>1118</sup>* mutant is capable of learning and has normal medium-term and long-term memory, both under normal conditions and under the influence of heat shock.

**Keywords:** *Drosophila*, *white* mutation, learning, memory, conditioned courtship suppression

Белый — это вовсе не нейтральный цвет.  
Это цвет спокойствия — яркий, но не кричащий.

Уолтер Айзексон «Стив Джобс: биография»  
2011

## Введение

История изучения гена *white* (*w*) дрозофилы насчитывает уже свыше 100 лет. Впервые он описан в 1910 г. Томасом Хантом Морганом, отметившим, что этот ген наследуется сцепленно с полом (Morgan 1910). Мэлвин Грин полагает это открытие началом современной генетики (Green 2010). Экспериментальные доказательства связи гена *white* с X-хромосомой были получены в 1916 г. Кэлвином Бриджесом (Bridges 1916). Роль данного гена в становлении и развитии генетики невозможно переоценить. К его изучению обращались ученые при исследовании гетерохроматина и эффекта положения, дозовой компенсации, мобильных генетических элементов, механизмов инсерционного мутагенеза, кроссинговера (Green 2010).

Однако по вопросу природы этого гена ученые долго не могли прийти к единому мнению. Эдвард Льюис отмечает, что Альфред Генри Стёртевант считал это специфичной мутацией, а Джордж Уэлс Бидл — набором аллелей, включающим дикий тип (Lewis 1995). На сегодняшний день известно, что локус *white* характеризуется достаточно сложной аллельной структурой. Согласно FlyBase насчитывается 1024 классических или инсерционных аллельных варианта, 313 хромосомных aberrаций и 436 трансгенных конструкторов. Изменения, лежащие в основе этой вариабельности, разнообразны по своей природе: от единичных замен нуклеотидов до делеций, инсерций и дупликаций. Вследствие этого образуются различные фенотипические варианты (от полной депигментации глаз до коричневых оттенков) (рис. 1).

Ген *white*<sup>+</sup> кодирует трансмембранный ABC-переносчик (рис. 2), который осуществляет транспорт 3-гидроксикинурина — предшественника глазного пигмента оммохрома. Одна



Рис. 1. Аллели локуса *white* *Drosophila melanogaster*. А — дикий тип, В — *white*<sup>1118</sup>, С — *white*<sup>m4h</sup> (Gibert, Peronnet 2021)

Fig. 1. *Drosophila melanogaster white* locus alleles. А—wild type, В—*white*<sup>1118</sup>, С—*white*<sup>m4h</sup> (Gibert, Peronnet 2021)

из функций пигментных гранул глаза мухи — улучшить остроту зрения за счет оптической изоляции рабдомеров внутри каждого омматидия. Соответственно, мухи *w* имеют повышенную светочувствительность (Wu, Wong 1977), но недостаточную остроту зрения (Kalmus 1943). Другая функция белка *white* заключается в защите фоторецепторов сетчатки от чрезмерного воздействия света (Richard et al. 2022). Данный ген экспрессируется в основном в пигментных клетках глаз, мальпигиевых канальцах и семен-

никах (Evans et al. 2008; Sullivan, Sullivan 1975). Очень низкие уровни экспрессии отмечены в глии и нейронах мозга (Bogucz et al. 2008). Кроме того, белок *white* транспортирует биоамины, нейромедиаторы, промежуточные продукты метаболизма, вторичные посредники (Bogucz et al. 2008; Evans et al. 2008). Ген *white* является геном домашнего хозяйства в центральной нервной системе в дополнение к своей классической роли в пигментации глаз (Xiao, Robertson 2017).

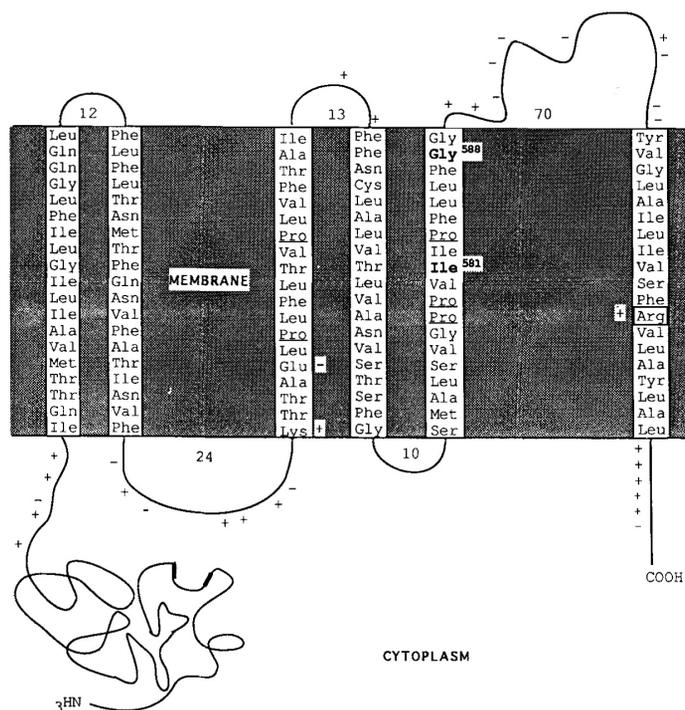


Рис. 2. Модель субъединицы, кодируемой *white*. Числа внутри петель указывают количество аминокислот в петле. Распределение заряженных аминокислот обозначено + или - (Ewart et al. 1994)

Fig. 2. A model of the *white*-encoded subunit. The numbers inside the intra-helical loops indicate the number of amino acids in the loop. The relative distribution of charged amino acids is indicated by + or - (Ewart et al. 1994)

Продукт гена *white* участвует в метаболизме гуанина и триптофана, необходимых для синтеза красного (дрозоптерина) и коричневого (оммохрома) пигментов насекомых (Ewart et al. 1994). У дрозофилы метаболизм данных аминокислот связан с биосинтезом допамина и серотонина (рис. 3). Мутанты по гену *white* характеризуются измененным количеством и распределением в тканях этих нейротрансмиттеров (Vorycz et al. 2008). Таким образом, ген *white* вовлечен в нейрональный контроль различных форм поведения.

Различные мутантные линии по локусу *white* характеризуются отличиями в уровне локомоторной активности, лежащей в основе большинства поведенческих актов — с увеличением интенсивности пигментации возростали значения локомоторной активности самок и самцов, наименьшими показателями характеризовались белоглазые мухи  $w^1$  (Kostenko, Vorobyova 2012). При этом мутация  $w^{1118}$  приводит к избирательному увеличению высокочастотных (> 0,1 Гц) двигательных компонентов (Xiao, Qiu 2021).

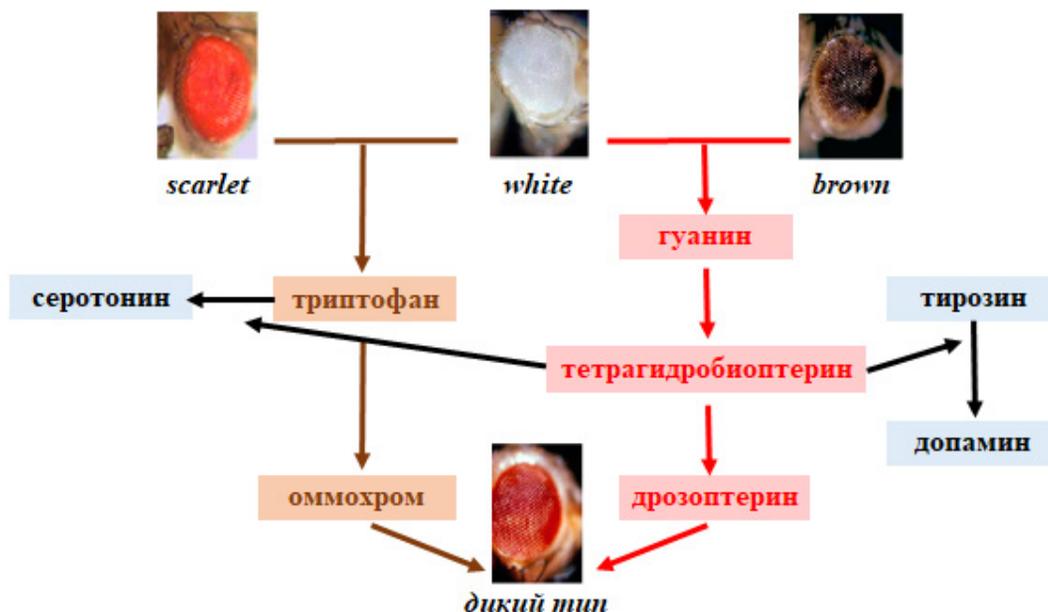


Рис. 3. Вовлеченность белка *white* в биосинтез глазных пигментов дрозофилы и нейротрансмиттеров серотонина и допамина

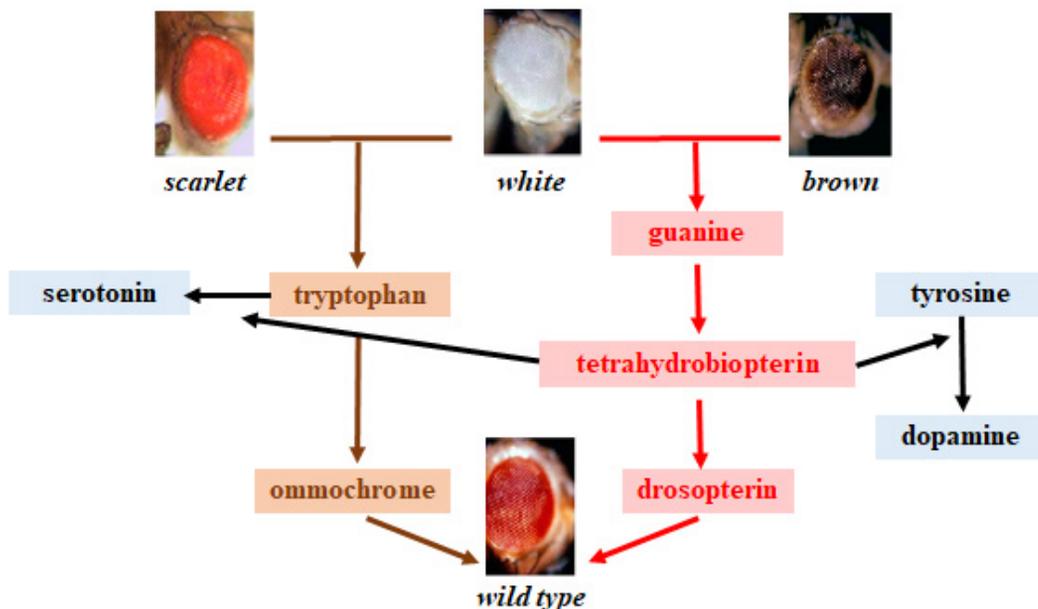


Fig. 3. Involvement of *white* protein in the biosynthesis of *Drosophila* eye pigments and neurotransmitters serotonin and dopamine

Также выявлена вовлеченность гена *white* в восстановление двигательной активности — по сравнению с диким типом мутанты  $w^{1118}$  значительно медленнее восстанавливали локомоторную активность после аноксии (Xiao, Robertson 2016). Это подтверждает плейотропное действие мутации *white* (Hersh 2016).

Дофамин у дрозофилы модулирует широкий спектр поведения, от сна и движения до ухода и обучения. Его повышенный уровень приводит к увеличению общего возбуждения, что влечет за собой повышенную поведенческую реактивность, а именно более энергичные акты ухода (Van Swinderen, Andretic 2011). Это согласуется с результатами исследования агрессивности мутантов *white*. Мутантные самцы, несущие нулевую аллель  $w^{1118}$ , демонстрировали резко сниженный уровень агрессии (лишь 3% от уровня дикого типа). Это может быть объяснено необходимостью для реализации агрессивного поведения полноценного зрительного восприятия, нарушенного у белоглазых мух. Однако у трансгенных мух с нормальным цветом глаз на генетическом фоне  $w^{1118}$  склонность к агрессии восстанавливалась лишь частично (Noyer et al. 2008). Нетривиальные данные получены при изучении сна у дрозофилы, отличающегося выраженными межлинейными различиями. Для мутантов  $w^{1118}$  характерна большая продолжительность ночного сна самцов по сравнению с самками и оплодотворенных самок по сравнению с девственными (Zimmerman et al. 2012).

Мутация *white* также приводит к изменению поведения ухода и способности к обучению. Еще в 1915 г. Стёртевант писал, что самцы *white* менее успешны в уходе за самками, нежели самцы дикого типа (Sturtevant 1915). Однако до сих пор нет прямых доказательств вовлеченности этого гена в успешность спаривания самца и самки. Исследование Костенко, посвященное анализу полового поведения, показало, что мутанты по локусу *white* с более интенсивной пигментацией характеризуются активным поведением на стадиях ухода. Выявлена связь между временными признаками полового поведения и степенью пигментации глаз имаго, которая показывает, что для интенсивно пигментированных особей характерным является меньшая задержка копуляции и, следовательно, более длительный ее процесс (Kostenko 2017). Сходные данные получены и канадскими учеными: 82,5% мух дикого типа копулировали в течение 60 мин, в то время лишь единичные мутанты  $w^{1118}$  вступали в копуляцию, причем эта способность была нарушена именно

у самцов (Xiao et al. 2017). По-видимому, наблюдаемые изменения полового (Kostenko 2017) и двигательного поведения (Kostenko, Vorobyova 2012) на модели локуса *white* имеют общую природу и связаны с плейотропным эффектом мутаций, нарушающих обмен триптофана и приводящих к накоплению промежуточных метаболитов в организме мухи (Zhuravlev et al. 2020).

Упомянутое выше увеличение общего возбуждения самцов *w*, приводящее к возрастанию интенсивности ухода, может иметь косвенным эффектом усиленное ухаживание самца за самцом. В ряде исследований показано, что эктопическая экспрессия гена *white* индуцирует ухаживание самца за самцом. При этом в группе насекомых могут образовываться цепочки и круги из ухаживающих друг за другом самцов (Anaka et al. 2008; Zhang, Odenwald 1995).

Мутация *white* влияет на поведение ухода. У самцов  $w^{1118}$  активность ухода была резко снижена по сравнению с диким типом при дневном свете, но не в темноте. Авторы полагают, что наблюдаемые ими изменения поведения ухода могут быть обусловлены низким уровнем серотонина (Krstic et al. 2013). К рассмотрению роли серотонина обратились и Ситараман с соавторами, показавшие нарушение оперантного пространственного обучения и памяти у мутанта  $w^{1118}$ . Анализ данных по фармакологической коррекции уровня серотонина и дофамина позволяет предположить, что именно серотонин может быть вовлечен в формирование пространственной памяти у дрозофилы (Sitaraman et al. 2008). Однако уровни серотонина в головах дикого типа в этом исследовании были выше по сравнению с другими работами. Более того, Ярали с соавторами не обнаружили различий в уровнях серотонина в мозге мутанта  $w^{1118}$  и мух дикого типа (Yarali et al. 2009). В этой связи внимание исследователей было направлено на другие биохимические пути. Майерс с коллегами связывают обнаруженные ими дефекты ольфакторного ассоциативного обучения у мутанта  $w^{1118}$  с нарушениями гомеостаза холестерина (Myers et al. 2021). Авторы показали, что в парадигме ольфакторного ассоциативного обучения с негативным подкреплением электрошоком мутантные самцы  $w^{1118}$  обучаются хуже по сравнению с диким типом. Крайне интересным является тот факт, что при дополнительных тренировках мутантные самцы  $w^{1118}$  достигали уровня обучения дикого типа. Подобный эффект был показан и ранее другими исследователями — предварительные тренировки повышали частоту

копуляции у мутанта  $w^{118}$  (Xiao et al. 2017). Опыт спаривания способствует и улучшению эпизодической двигательной активности, сниженной у мутанта  $w^{118}$  (Qiu et al. 2021).

В этой связи возникает обоснованный вопрос — влияет ли мутация *white* на обучение и память дрозофилы в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания? Преимущество данной методики — ее естественность и физиологичность, в отличие от метода обучения с негативным подкреплением электрошоком (Zhuravlev et al. 2015). Кроме того, показано, что у мутантов  $w^{118}$  нарушена устойчивость к различным видам стресса (голод, обогащенная сахаром диета, воздействие перекисью водорода) (Ferreiro et al. 2018). Каков же будет эффект других видов стресса, в частности, теплового шока (ТШ)? В предыдущих работах нами было выявлено влияние ТШ на обучение и формирование памяти у дрозофилы, приводившее как к их ухудшению (Nikitina et al. 2003; 2012; Zhuravlev et al. 2022), так и к восстановлению до уровня дикого типа (Nikitina et al. 2014), а также отсутствие такового влияния (Savvateeva-Rorova et al. 2007; 2008).

Таким образом, цель данной работы состояла в оценке роли мутации  $w^{118}$  дрозофилы в обучении и формировании памяти в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания.

## Материал и методы

### Линии дрозофилы

Работа проведена на животных из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем». Использовали следующие линии *Drosophila melanogaster*:

- 1) *Canton S (CS)* — линия дикого типа; темно-красный цвет глаз.
- 2) *white<sup>118</sup> ( $w^{118}$ )* — мутантная линия, несущая частичную делецию локуса *white* (X: 3B6-3B6); отсутствие глазных пигментов, белый цвет глаз.

Мух выращивали в стаканчиках объемом 160 мл на стандартной изюмно-дрожжевой среде при  $+25^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 60% влажности и светотемновом цикле 12 : 12 ч.

### Предъявление теплового шока

Тепловое воздействие проводили в водяном термостате GFL 1086 (GFL, Германия) при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин на стадии самцов-имаго, которых помещали в термостат в предварительно прогретых пробирках,

погруженных в воду. ТШ осуществляли за один час до проведения поведенческого эксперимента (Nikitina et al. 2003).

### Оценка способности к обучению и формированию памяти

Для поведенческих опытов использовали самцов дрозофилы в возрасте пяти суток, которых собирали без эфирного наркоза и содержали индивидуально на изюмно-дрожжевой среде. В качестве объектов ухаживания использовали оплодотворенных за сутки до опыта самок линии *CS* в возрасте пяти суток. Тренировку и тестирование проводили в экспериментальных камерах из оргстекла (диаметр — 15 мм, высота — 5 мм).

Для оценки способности к обучению и формированию среднесрочной (ССП) и долгосрочной (ДСП) памяти самцов дрозофилы была использована методика условно-рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ) (Kamyshev et al. 1999). Для выработки условно-рефлекторного подавления ухаживания (тренировки) пятисуточного самца исследуемой линии, не имеющего опыта полового поведения, помещали вместе с оплодотворенной пятисуточной самкой *CS*: для оценки способности к обучению и формированию SSP — в экспериментальную камеру на 30 мин; для оценки способности к обучению и формированию ДСП — в стакан с питательной средой (объем свободного пространства — около 3 см<sup>3</sup>) на пять часов. Память тестировали через разные интервалы времени после тренировки: для оценки способности к обучению и формированию SSP — 0 и 3 ч; для оценки способности к обучению и формированию ДСП — 0, 2 и 8 суток. В качестве контроля использовали самцов, не имеющих опыта полового поведения. Этограмму поведения самца регистрировали в течение 300 с, фиксируя время начала отдельных элементов ухаживания (ориентация и преследование, вибрация, лизание, попытка копуляции), а также время исполнения элементов, не связанных с ухаживанием (побежка, прининг, покой). Регистрацию начинали через 45 с после помещения мухи в камеру. В каждой группе (контрольной, сразу после тренировки и через определенные интервалы времени после тренировки) тестировали не менее 20 пар мух.

Для каждого самца вычисляли индекс ухаживания (ИУ), т. е. время ухаживания самца за самкой, выраженное в процентах от общего времени наблюдения. Для количественной оценки результатов обучения вычисляли индекс обучения (ИО) по следующей формуле:

$$\text{ИО} = \left[ \frac{(\text{ИУ}_H - \text{ИУ}_T) / \text{ИУ}_H}{(1 - \text{ИУ}_T / \text{ИУ}_H)} \right] \times 100\% =$$

где ИУ<sub>H</sub> и ИУ<sub>T</sub> — средние индексы ухаживания для независимых выборок самцов, не имеющих опыта полового поведения, и самцов, прошедших тренировку (Kamyshov et al. 1999; Sokal, Rohlf 1995).

Статистическую обработку результатов проводили при помощи рандомизационного анализа ( $\alpha_r < 0,05$ ).

### Результаты

#### Оценка способности к обучению и формированию среднесрочной памяти

У линии дикого типа *CS* в интактном контроле происходила выработка УРПУ, что говорит о способности к обучению. Через три часа ИО не снижался по сравнению с уровнем, достигнутым сразу после окончания тренировки, что свидетельствует о нормальном формиро-

вании процессов ССП (рис. 4А). Это вполне согласуется с нашими предыдущими работами (Nikitina et al. 2021).

У мутанта *w<sup>1118</sup>* в интактном контроле также тренировка приводила к выработке УРПУ, и ИО длительное время сохранялся на исходном уровне, не отличаясь от показателей линии дикого типа (рис. 4А). Это еще раз убеждает в отсутствии нарушений обучения и ССП, недавно продемонстрированном нами (Zatserina et al. 2021; 2022).

Сопоставляя полученные результаты, мы задались закономерным вопросом — будет ли мутация *white* влиять на процессы обучения и памяти при стрессе? Однако воздействие ТШ не оказывало влияния на процессы обучения и ССП у обеих исследуемых линий. ИО сразу после тренировки и через три часа после нее были сопоставимы с таковыми в интактном контроле как у линии *CS*, так и у мутанта *w<sup>1118</sup>* (рис. 4В). Межлинейных различий также не наблюдали.

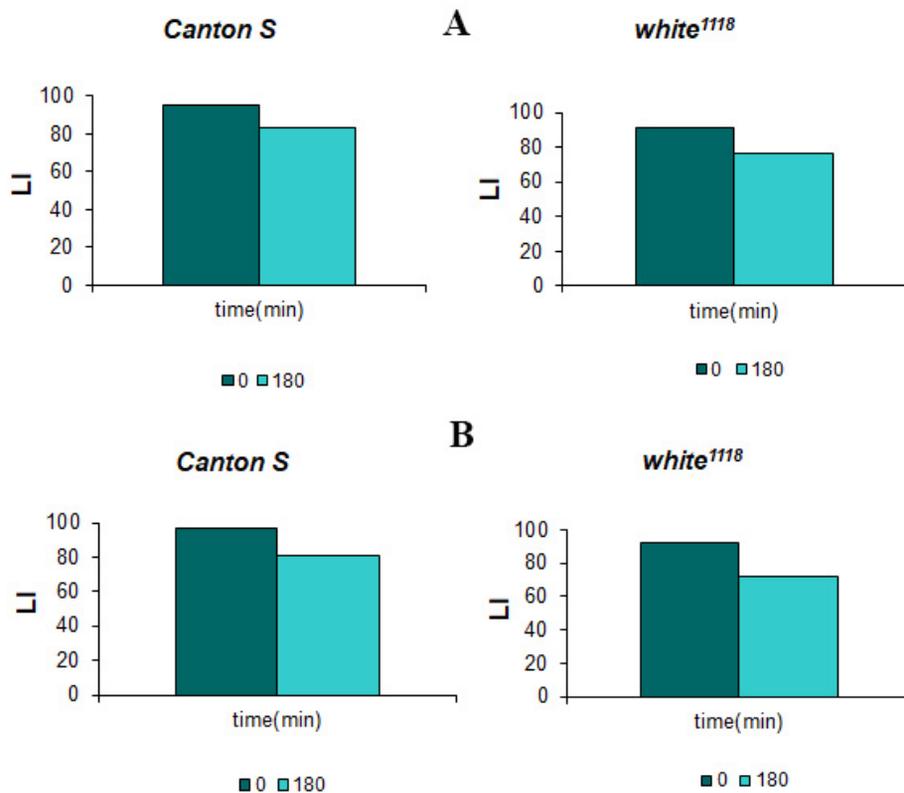


Рис. 4. Динамика сохранения условно-рефлекторного подавления ухаживания при тестировании среднесрочной памяти у самцов линии дикого типа *Canton S* и мутанта *white<sup>1118</sup>* *Drosophila melanogaster*. А — интактный контроль, В — воздействие тепловым шоком. По оси абсцисс: время после завершения тренировки (мин); по оси ординат: LI — индекс обучения (learning index), у. е.

Fig. 4. Dynamics of learning acquisition and medium-term memory retention of conditioned courtship suppression in *D. melanogaster* males of wild type strain *Canton S* and *white<sup>1118</sup>* mutant. А—intact control, В—exposure to heat shock. Abscissa: time after training (min); ordinate: LI—learning index, standard units

Таким образом, ни у линии дикого типа *CS*, ни у мутанта *w<sup>1118</sup>* не выявлено дефектов обучения и ССП ни в норме, ни в условиях стресса.

#### Оценка способности к обучению и формированию долгосрочной памяти

Учитывая сложную нейрофизиологическую основу процессов ДСП (Zhuravlev et al. 2015), мы отдельно проанализировали ее формирование и сохранение у исследуемых линий.

У линии дикого типа *CS* в интактном контроле наблюдали выработку УРПУ после пятичасовой тренировки. ИО сохранялся на высоком уровне на протяжении восьми суток после тренировки, что является свидетельством нормального протекания процессов обучения и формирования ДСП (рис. 5А) и находится в русле наших предыдущих исследований.

У мутанта *w<sup>1118</sup>* в интактном контроле при пятичасовой тренировке не отмечено нарушений способности к обучению так же, как и при

30-минутной. ИО сохранялся на высоком уровне и через двое суток после тренировки. Через восемь суток отмечено снижение ИО, однако не выявлено достоверных отличий ни от ИО сразу после тренировки, ни от линии дикого типа (рис. 5А). Это подтверждает отсутствие нарушений ДСП у мутанта *w<sup>1118</sup>* (Zatserina et al. 2021; 2022).

Обратимся к рассмотрению влияния ТШ на процессы ДСП у исследуемых линий.

У линии дикого типа *CS* ИО сразу после тренировки сопоставим с интактным контролем, что указывает на сохранность способности к обучению. ИО через двое и восемь суток после тренировки снижены по сравнению с интактным контролем, однако достоверных отличий не выявлено (рис. 5В).

У мутанта *w<sup>1118</sup>* ТШ не оказывает влияния на процессы формирования и сохранения ДСП, подтверждением чему служат сходные величины ИО на всех временных интервалах в интактном контроле и при действии ТШ (рис. 5В).

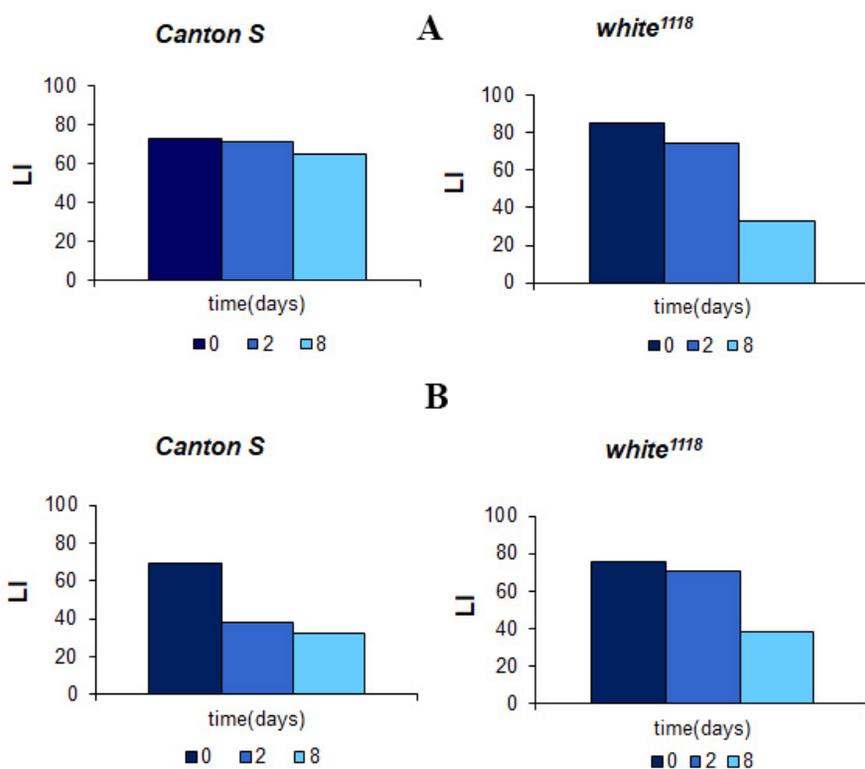


Рис. 5. Динамика сохранения условно-рефлекторного подавления ухаживания при тестировании долгосрочной памяти у самцов линии дикого типа *Canton S* и мутанта *white<sup>1118</sup>* *Drosophila melanogaster*. А — интактный контроль, В — воздействие тепловым шоком. По оси абсцисс: время после завершения тренировки (дни); по оси ординат: LI — индекс обучения (learning index), у. е.

Fig. 5. Dynamics of learning acquisition and long-term memory retention of conditioned courtship suppression in *D. melanogaster* males of wild type strain *Canton S* and *white<sup>1118</sup>* mutant. A—intact control, B—exposure to heat shock. Abscissa: time after training (days); ordinate: LI—learning index, standard units

Итак, у обеих линий не обнаружено нарушений обучения и ДСП ни в интактном контроле, ни при действии ТШ.

Резюмируя результаты экспериментов, можно сказать, что обе линии (*CS* и *w<sup>1118</sup>*) являются способными к обучению при различном режиме тренировок (30 минут и пять часов) и характеризуются нормальным протеканием процессов как среднесрочной, так и долгосрочной памяти. При этом ТШ не влияет на обучение и формирование различных типов памяти у этих линий. Если для линии дикого типа *CS* это было ожидаемо, то для мутанта *w<sup>1118</sup>* показано впервые.

### Обсуждение

У человека существует по меньшей мере восемь гомологов гена *white* дрозофилы. Полиморфизмы одного из них, *ABCG1*, связаны с паническими расстройствами у мужчин (Nakamura et al. 1999). Известно о вовлеченности этих генов в фосфолипидный метаболизм и в этиопатогенез болезни Танжера (Schmitz et al. 2001), а также в развитие атеросклероза (Matsuo 2022). Таким образом, в то время как различия между мозгом и поведением человека и дрозофилы неоспоримы, ген *white* дрозофилы крайне важен для проведения модельных исследований, являясь высококонсервативным и кодируя ABC-переносчик метаболитов с широкой специфичностью, что может обуславливать множественные биологические роли, включая нейрональный контроль различных форм поведения.

Половое поведение дрозофилы представляет собой сложный репертуар действий, включающих обмен зрительными, звуковыми и хемосенсорными сигналами между партнерами (Sturtevant 1915). Этот обмен происходит в определенном порядке и зависит от динамической обратной связи, причем каждый партнер изменяет свое поведение в ответ на принимаемые сигналы. Большинство аспектов поведения ухаживания дрозофилы имеет полигенную природу, причем вовлеченные гены часто имеют плейотропные эффекты (Hall 1994).

Разработка методов трансформации зародышевой линии привела к получению тысяч трансгенных линий дрозофилы, используемых для изучения широкого спектра биологических вопросов, в том числе и поведения. Это технология основана главным образом на использовании *white*-мутантных эмбрионов для конструирования трансгенных линий мух (St. Johnston 2013). В этой связи необходимо скрупулезно интерпретировать результаты экспериментов

с использованием трансгенных линий, полученных с использованием мутантов *white*, особенно в области исследований поведения. Это обусловлено тем, что данная мутация приводит к образованию сложного фенотипа, затрагивающего не только нарушения зрения, но и продолжительность жизни, двигательную и половую активность, устойчивость к действию стресса, способность к обучению и формированию памяти.

Критический вопрос, возникающий в данном контексте, — влияет ли нарушение зрения у мутанта *w<sup>1118</sup>* на поведение ухаживания, требующее обмена зрительными сигналами? Здесь крайне важно учитывать специфику методик исследования полового поведения. При использовании методик, основанных на ольфакторном обучении, ведущими являются обонятельные стимулы. Хотя, безусловно, нельзя отвергать роль зрительных сигналов. Так, в наших экспериментах мутанты *w<sup>1118</sup>* демонстрировали сниженную по сравнению с диким типом интенсивность ухаживания, сопоставимую с наблюдаемой нами в ранних работах для белоглазого мутанта *l(1)ts403*, несущего также мутации *brown* и *scarlet*, взаимодействие которых дает белый цвет глаз (Nikitina et al. 2003). Низкий уровень ухаживания может быть обусловлен нарушением зрения, а не специфичным действием мутации *white*, т. к. мухи *l(1)ts403; bw; st* несут аллель *w<sup>+</sup>*. Следует отдельно отметить, что ИО, используемый для количественной оценки результатов обучения, непосредственно не зависит от интенсивности ухаживания.

В то же время оценка остроты обоняния не выявила значимых различий между мутантами *w* и линией дикого типа *CS* (Diegelmann et al. 2006), что крайне важно для интерпретации результатов исследований с использованием методик ольфакторного обучения. Авторы сопоставили разные парадигмы обучения — ольфакторное и оперантное. Было выявлено нарушение оперантного пространственного обучения и памяти у мутанта *w<sup>1118</sup>*, подтвержденное впоследствии другими исследователями (Sitaraman et al. 2008). Однако в парадигме ольфакторного ассоциативного обучения с негативным подкреплением электрошоком данный мутант не демонстрировал нарушений обучения и краткосрочной памяти. Напротив, при низких значениях напряжения (10–30 В) уровень обучения *w<sup>1118</sup>* выше по сравнению с диким типом *CS* (Diegelmann et al. 2006). Эти результаты не согласуются с недавней работой Майерс с коллегами, показавшими ухудшение обучения и краткосрочной памяти *w<sup>1118</sup>* по сравнению

с диким типом в данной парадигме (Myers et al. 2021). Необходимо указать на методические детали постановки экспериментов — разные временные интервалы между ударами током, так называемая короткая программа по сравнению с классической длинной. А ведь в работе Ярали с коллегами как раз подмечено, что величина временных интервалов является критической (Yarali et al. 2009). Важно отметить, что Майерс с соавторами применяли напряжение 90 В, хотя известно, что мутант  $w^{1118}$  характеризуется повышенной чувствительностью к электрическому шоку (Diegelmann et al. 2006). Кроме того, авторы отмечают, что проведение дополнительных тренировок приводит к сопоставимым уровням обучения  $w^{1118}$  и *CS*. В контексте обсуждаемой проблемы хочется согласиться с мнением Сёрена Дигельманна о неидеальности метода ольфакторного ассоциативного обучения с негативным подкреплением электрошоком.

Возвращаясь к ключевому вопросу об интерпретации результатов поведенческих экспериментов с привлечением трансгенных линий на генетическом фоне *white*, необходимо акцентировать внимание на необходимости тщательного продумывания методических подходов, основываясь в том числе на их физиологичности. Также важно учитывать особенности мутантов *white*, в частности, известно, что дефекты, вызванные мутацией  $w^{1118}$ , слабо выражены в молодом возрасте (Ferreiro et al. 2018).

## Заключение

Использование мутантной линии *white* при конструировании трансгенных линий дрозофилы оправданно в свете наличия легко и однозначно определяемых генетических маркеров. Однако это привносит сложности в интерпретацию экспериментальных результатов, так как данный ген характеризуется плеiotропным действием, затрагивающим не только зрение, но и другие аспекты жизнедеятельности, включая поведение, обучение и память. Отсутствие светоэкранирующих пигментов ухудшает способность самца визуально отслеживать партнера, уменьшая успех при спаривании. Ген *white* играет роль в нескольких парадигмах обучения, ухудшая оперантное обучение и не затрагивая ольфакторное, что подтверждает различия механизмов их реализации. Особенности как обучения, так и поведения ухаживания мутанта *white* могут быть обусловлены нейромедиаторами, уровни которых зависят от кодируемого этим геном ABC-переносчика. Хотя многочисленные исследования связывают проявления *white* с изменением уровня серотонина, их биохимические механизмы пока детально неясны.

## 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.

## References

- Anaka, M., MacDonald, C. D., Barkova, E. et al. (2008) The *white* gene of *Drosophila melanogaster* encodes a protein with a role in courtship behavior. *Journal of Neurogenetics*, vol. 22, no. 4, pp. 243–276. <https://doi.org/10.1080/01677060802309629> (In English)
- Borycz, J., Borycz, J. A., Kubów, A. et al. (2008) *Drosophila* ABC transporter mutants *white*, *brown* and *scarlet* have altered contents and distribution of biogenic amines in the brain. *Journal of Experimental Biology*, vol. 211, no. 21, pp. 3454–3466. <https://doi.org/10.1242/jeb.021162> (In English)
- Bridges, C. B. (1916) Non-disjunction as proof of the chromosome theory of heredity (Concluded). *Genetics*, vol. 1, no. 2, pp. 107–163. <https://doi.org/10.1093/genetics/1.2.107> (In English)
- Diegelmann, S., Zars, M., Zars, T. (2006) Genetic dissociation of acquisition and memory strength in the heat-box spatial learning paradigm in *Drosophila*. *Learning & Memory*, vol. 13, no. 1, pp. 72–83. <https://doi.org/10.1101/lm.45506> (In English)
- Evans, J. M., Day, J. P., Cabrero, P. et al. (2008) A new role for a classical gene: *White* transports cyclic GMP. *Journal of Experimental Biology*, vol. 211, no. 6, pp. 890–899. <https://doi.org/10.1242/jeb.014837> (In English)
- Ewart, G. D., Cannell, D., Cox, G. B., Howells, A. J. (1994) Mutational analysis of the traffic ATPase (ABC) transporters involved in uptake of eye pigment precursors in *Drosophila melanogaster*. Implications for structure-function relationships. *Journal of Biological Chemistry*, vol. 269, no. 14, pp. 10370–10377. PMID: 8144619 (In English)
- Ferreiro, M. J., Pérez, C., Marchesano, M. et al. (2018) *Drosophila melanogaster white* mutant  $w^{1118}$  undergo retinal degeneration. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 11, article 732. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00732> (In English)
- Gibert, J.-M., Peronnet, F. (2021) The paramount role of *Drosophila melanogaster* in the study of epigenetics: From simple phenotypes to molecular dissection and higher-order genome organization. *Insects*, vol. 12, no. 10, article 884. <https://doi.org/10.3390/insects12100884> (In English)

- Green, M. M. (2010) 2010: A century of *Drosophila* genetics through the prism of the white gene. *Genetics*, vol. 184, no. 1, pp. 3–7. <https://doi.org/10.1534/genetics.109.110015> (In English)
- Hall, J. C. (1994) The mating of a fly. *Science*, vol. 264, no. 5166, pp. 1702–1714. <https://doi.org/10.1126/science.8209251> (In English)
- Hersh, B. M. (2016) More than meets the eye: A primer for “Timing of locomotor recovery from anoxia modulated by the *white* gene in *Drosophila melanogaster*”. *Genetics*, vol. 204, no. 4, pp. 1369–1375. <https://doi.org/10.1534/genetics.116.196519> (In English)
- Hoyer, S. C., Eckart, A., Herrel, A. et al. (2008) Octopamine in male aggression of *Drosophila*. *Current Biology*, vol. 18, no. 3, pp. 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.12.052> (In English)
- Kalmus, H. (1943) The optomotor responses of some eye mutants of *Drosophila*. *Journal of Genetics*, vol. 45, pp. 206–213. <https://doi.org/10.1007/BF02982936> (In English)
- Kamyshev, N. G., Iliadi, K. G., Bragina, J. V. (1999) *Drosophila* conditioned courtship: Two ways of testing memory. *Learning & Memory*, vol. 6, no. 1, pp. 1–20. PMID: [10355520](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10355520/) (In English)
- Kostenko, V. V. (2017) Sravnitel'nyj analiz priznakov polovogo povedeniya u mutantov lokusa *white* imago *Drosophila melanogaster* [Comparative analysis of mating behavior characteristics of mutants at the *white* locus of *Drosophila melanogaster*]. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta. Seriya: Estestvennyye nauki — Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series*, vol. 159, no. 2, pp. 293–305. (In Russian)
- Kostenko, V. V., Vorobyova, L. I. (2012) Vliyanie alelej lokusa *white* i geneticheskogo fona na lokomotornyuyu aktivnost' imago *Drosophila melanogaster* [The influence of *white* alleles and genetic background on locomotor activity of adult *Drosophila melanogaster*]. *Vestnik Khar'kovskogo natsional'nogo universiteta im. V. N. Karazina. Seriya: Biologiya — The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series: Biology*, vol. 16, no. 1035, pp. 90–96. (In Russian)
- Krstic, D., Boll, W., Noll, M. (2013) Influence of the *white* locus on the courtship behaviour of *Drosophila* males. *PLoS One*, vol. 8, no. 10, article e77904. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077904> (In English)
- Lewis, E. B. (1995) Remembering Sturtevant. *Genetics*, vol. 141, no. 4, pp. 1227–1230. <https://doi.org/10.1093/genetics/141.4.1227> (In English)
- Matsuo, M. (2022) ABCA1 and ABCG1 as potential therapeutic targets for the prevention of atherosclerosis. *Journal of Pharmacological Sciences*, vol. 148, no. 2, pp. 197–203. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2021.11.005> (In English)
- Morgan, T. H. (1910) Sex limited inheritance in *Drosophila*. *Science*, vol. 32, no. 812, pp. 120–122. <https://doi.org/10.1126/science.32.812.120> (In English)
- Myers, J. L., Porter, M., Narwold, N. et al. (2021) Mutants of the *white* ABCG transporter in *Drosophila melanogaster* have deficient olfactory learning and cholesterol homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 23, article 12967. <https://doi.org/10.3390/ijms222312967> (In English)
- Nakamura, M., Ueno, S., Sano, A., Tanabe, H. (1999) Polymorphisms of the human homologue of the *Drosophila white* gene are associated with mood and panic disorders. *Molecular Psychiatry*, vol. 4, no. 2, pp. 155–162. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000515> (In English)
- Nikitina, E. A., Kaminskaya, A. N., Molotkov, D. A. et al. (2014) Effect of heat shock on courtship behavior, sound production, and learning in comparison with the brain content of LIMK1 in *Drosophila melanogaster* males with altered structure of the *limk1* gene. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 50, no. 2, pp. 154–166. <https://doi.org/10.1134/S0022093014020082> (In English)
- Nikitina, E. A., Medvedeva, A. V., Dolgaya, Yu. F. et al. (2012) Involvement of GDNF and LIMK1 and heat shock proteins in *Drosophila* learning and memory formation. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 48, no. 5-6, pp. 529–539. <https://doi.org/10.1134/S0022093012050076> (In English)
- Nikitina, E. A., Tokmatcheva, E. V., Savateeva-Popova, E. V. (2003) Heat shock during the development of central structures of the *Drosophila* brain: Memory formation in the *l(1)ts403* mutant of *Drosophila melanogaster*. *Russian Journal of Genetics*, vol. 39, no. 1, pp. 25–31. <https://doi.org/10.1023/A:1022062609102> (In English)
- Nikitina, E. A., Zhuravlev, A. V., Savateeva-Popova, E. V. (2021) Vliyanie narusheniya sinteza kinureninov na pamyat' u drozofily [Effect of impaired kynurenine synthesis on memory in *Drosophila*]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 2, no. 1, pp. 49–60. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-1-49-60> (In Russian)
- Qiu, S., Li, C., Cao, G., Xiao, C. (2021) Mating experience modifies locomotor performance and promotes episodic motor activity in *Drosophila melanogaster*. *Zoology*, vol. 144, article 125854. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2020.125854> (In English)
- Richard, M., Doubková, K., Nitta, Yo. et al. (2022) A quantitative model of sporadic axonal degeneration in the *Drosophila* visual system. *Journal of Neuroscience*, vol. 42, no. 24, pp. 4937–4952. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2115-21.2022> (In English)
- Savateeva-Popova, E. V., Popov, A. V., Grossman, A. et al. (2007) Pathogenic chaperone-like RNA induces congophilic aggregates and facilitates neurodegeneration in *Drosophila*. *Cell Stress & Chaperones*, vol. 12, no. 1, pp. 9–19. (In English)

- Savvateeva-Popova, E. V., Popov, A. V., Grossman, A. et al. (2008) Non-coding RNA as a trigger of neuropathologic disorder phenotypes in transgenic *Drosophila*. *Journal of Neuronal Transmission*, vol. 115, no. 12, pp. 1629–1642. <https://doi.org/10.1007/s00702-008-0078-8> (In English)
- Schmitz, G., Langmann, T., Heimerl, S. (2001) Role of *ABCG1* and other *ABCG* family members in lipid metabolism. *Journal of Lipid Research*, vol. 42, no. 10, pp. 1513–11520. PMID: [11590207](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11590207/) (In English)
- Sitaraman, D., Zars, M., LaFerriere, H. et al. (2008) Serotonin is necessary for place memory in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, vol. 105, no. 14, pp. 5579–5584. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710168105> (In English)
- Sokal, R. R., Rohlf, F. J. (1995) *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research*. 3<sup>rd</sup> ed. New York: W. H. Freeman Publ., 887 đ. (In English)
- St. Johnston, D. (2013) Using mutants, knockdowns, and transgenesis to investigate gene function in *Drosophila*. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, vol. 2, no. 5, pp. 587–613. <https://doi.org/10.1002/wdev.101> (In English)
- Sturtevant, A. H. (1915) Experiments on sex recognition and the problem of sexual selection in *Drosophila*. *Journal of Animal Behavior*, vol. 5, no. 5, pp. 351–366. <https://doi.org/10.1037/h0074109> (In English)
- Sullivan, D. T., Sullivan, M. C. (1975) Transport defects as the physiological basis for eye color mutants of *Drosophila melanogaster*. *Biochemical Genetics*, vol. 13, no. 9-10, pp. 603–613. <https://doi.org/10.1007/BF00484918> (In English)
- Van Swinderen, B., Andretic, R. (2011) Dopamine in *Drosophila*: Setting arousal thresholds in a miniature brain. *Proceedings of the Royal Society. Series B: Biological Sciences*, vol. 278, no. 1707, pp. 906–913. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.2564> (In English)
- Wu, C. F., Wong, F. (1977) Frequency characteristics in the fly visual system of *Drosophila*: Genetic dissection of electroretinogram components. *Journal of General Physiology*, vol. 69, no. 6, pp. 705–724. <https://doi.org/10.1085/jgp.69.6.705> (In English)
- Xiao, C., Robertson, R. M. (2016) Timing of locomotor recovery from anoxia modulated by the *white* gene in *Drosophila*. *Genetics*, vol. 203, no. 2, pp. 787–797. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.185066> (In English)
- Xiao, C., Robertson, R. M. (2017) White—cGMP interaction promotes fast locomotor recovery from anoxia in adult *Drosophila*. *PLoS One*, vol. 12, no. 1, article e0168361. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168361> (In English)
- Xiao, C., Qiu, S. (2021) Frequency-specific modification of locomotor components by the *white* gene in *Drosophila melanogaster* adult flies. *Genes, Brain and Behavior*, vol. 20, no. 2, article e12703. <https://doi.org/10.1111/gbb.12703> (In English)
- Xiao, C., Qiu, S., Robertson, R. M. (2017) The *white* gene controls copulation success in *Drosophila melanogaster*. *Scientific Reports*, vol. 7, article 7712. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08155-y> (In English)
- Yarali, A., Krischke, M., Michels, B. et al. (2009) Genetic distortion of the balance between punishment and relief learning in *Drosophila*. *Journal of Neurogenetics*, vol. 23, no. 1-2, pp. 235–247. <https://doi.org/10.1080/01677060802441372> (In English)
- Zatsepina, O. G., Chuvakova, L. N., Nikitina E. A. et al. (2022) Genes responsible for H<sub>2</sub>S production and metabolism are involved in learning and memory in *Drosophila melanogaster*. *Biomolecules*, vol. 12, no. 6, article 751. <https://doi.org/10.3390/biom12060751> (In English)
- Zatsepina, O. G., Nikitina, E. A., Shilova, V. Y. et al. (2021) *Hsp70* affects memory formation and behaviorally relevant gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Cell Stress and Chaperones*, vol. 26, no. 3, pp. 575–594. <https://doi.org/10.1007/s12192-021-01203-7> (In English)
- Zhang, S. D., Odenwald, W. F. (1995) Misexpression of the *white* (*w*) gene triggers male-male courtship in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, vol. 92, no. 12, pp. 5525–5529. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.12.5525> (In English)
- Zhuravlev, A. V., Nikitina, E. A., Savvateeva-Popova, E. V. (2015) Obuchenie i pamyat' u drozofily: fiziologo-geneticheskie osnovy [Learning and memory in *Drosophila*: Physiologic and genetic bases]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*, vol. 46, no. 1, pp. 76–92. (In Russian)
- Zhuravlev, A. V., Nikitina, E. A., Savvateeva-Popova, E. V. (2020) Rol' kinureninov v regulyatsii povedeniya i protsessov pamyati u drozofily [Role of kynurenines in regulation of behavior and memory processes in *Drosophila*]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 1, no. 1, pp. 40–50. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2020-1-1-40-50> (In Russian)
- Zhuravlev, A. V., Shchegolev, B. F., Zakharov, G. A. et al. (2022) 3-hydroxykynurenine as a potential ligand for *hsp70* proteins and its effects on *Drosophila* memory after heat shock. *Molecular Neurobiology*, vol. 59, pp. 1862–1871. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02704-3> (In English)
- Zimmerman, J. E., Chan, M. T., Jackson, N. et al. (2012) Genetic background has a major impact on differences in sleep resulting from environmental influences in *Drosophila*. *SLEEP*, vol. 35, no. 4, pp. 545–557. <http://doi.org/10.5665/sleep.1744> (In English)



УДК 57.045

EDN LQVYSB

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-103-110>

## Влияние факторов космического полета на поведение самцов *Drosophila melanogaster*

Ю. В. Брагина<sup>✉1</sup>, Н. Г. Беседина<sup>1</sup>, Л. В. Даниленкова<sup>1</sup>, Е. А. Камышева<sup>1</sup>, О. Н. Ларина<sup>2</sup>,  
А. А. Бурлакова<sup>3</sup>, Н. Г. Камышев<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Россия, г. Москва, Хорошевское шоссе, д. 76А

<sup>3</sup> Ракетно-космическая корпорация «Энергия» им. С. П. Королева, 141070, Россия, Московская обл., г. Королев, ул. Ленина, д. 4А

### Сведения об авторах

Юлия Валерьевна Брагина, SPIN-код: 3908-4633, Scopus AuthorID: 6505789804, ResearcherID: J-8116-2018, ORCID: 0000-0003-0432-0063, e-mail: [julia\\_bragina@infran.ru](mailto:julia_bragina@infran.ru)

Наталья Геннадьевна Беседина, ORCID: 0000-0003-0603-9486, e-mail: [nbesedina21@infran.ru](mailto:nbesedina21@infran.ru)

Лариса Владимировна Даниленкова, ORCID: 0000-0001-7826-6106, e-mail: [danilenkova@infran.ru](mailto:danilenkova@infran.ru)

Елена Аркадьевна Камышева, ORCID: 0000-0002-5301-2393, e-mail: [kamyshvaea@infran.ru](mailto:kamyshvaea@infran.ru)

Ольга Николаевна Ларина, ORCID: 0000-0002-2827-3428, e-mail: [olarina@imbp.ru](mailto:olarina@imbp.ru)

Анна Алексеевна Бурлакова, e-mail: [anna.burlakova@mail.ru](mailto:anna.burlakova@mail.ru)

Николай Григорьевич Камышев, SPIN-код: 4461-9955, Scopus AuthorID: 6603773316, ResearcherID: N-3922-2017, ORCID: 0000-0002-3611-7417, e-mail: [kamyshvng@infran.ru](mailto:kamyshvng@infran.ru)

**Для цитирования:** Брагина, Ю. В., Беседина, Н. Г., Даниленкова, Л. В., Камышева, Е. А., Ларина, О. Н., Бурлакова, А. А., Камышев, Н. Г. (2023) Влияние факторов космического полета на поведение самцов *Drosophila melanogaster*. *Интегративная физиология*, т. 4, № 1, с. 103–110. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-103-110>  
EDN LQVYSB

**Получена** 20 января 2023; прошла рецензирование 14 марта 2023; принята 16 марта 2023.

**Финансирование:** Работа выполнена при поддержке Государственной программы РФ 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030) (тема 63.1).

**Права:** © Ю. В. Брагина, Н. Г. Беседина, Л. В. Даниленкова, Е. А. Камышева, О. Н. Ларина, А. А. Бурлакова, Н. Г. Камышев (2023). 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.** Дрозофила уже полвека служит модельным объектом в биомедицинских исследованиях влияния факторов космического полета на стабильность генома, продолжительность жизни, метаболизм, иммунитет. До настоящего времени изучение поведения проводили у потомков мух, побывавших в космосе, либо у мух непосредственно на международной космической станции (МКС). Нами впервые показано, что у самцов дрозофилы после возвращения на Землю из полета на МКС происходит нарушение реакции геотаксиса, снижение общего уровня локомоторной активности и интенсивности ухаживания. Нарушения поведения сохраняются не менее двух недель. Во время космических полетов основным стрессирующим фактором для физиологических процессов в организме является микрогравитация. В условиях микрогравитации нарушается способность живого организма контролировать положение своего тела в пространстве и без специальной подготовки снижается возможность совершать целенаправленные движения. В условиях микрогравитации отсутствует тепловая конвекция воздуха, что может приводить к локальным изменениям процентного соотношения кислорода и углекислого газа. В результате в полетных контейнерах с мухами со временем изменяется микроклимат, что может отражаться на физиологическом состоянии дрозофилы. Изменение (ухудшение) физиологического состояния мух может оказывать влияние на результаты послеполетных испытаний.

**Ключевые слова:** дрозофила, космический полет, микрогравитация, международная космическая станция, взбирание, локомоторная активность, поведение ухаживания, звукопродукция

# The effect of spaceflight on behavior of *Drosophila melanogaster* males

Yu. V. Bragina<sup>✉1</sup>, N. G. Besedina<sup>1</sup>, L. V. Danilenkova<sup>1</sup>, E. A. Kamysheva<sup>1</sup>, O. N. Larina<sup>2</sup>,  
A. A. Burlakova<sup>3</sup>, N. G. Kamyshev<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, 76a Khoroshevskoye Highway, Moscow 123007, Russia

<sup>3</sup> S. P. Korolev Rocket and Space Corporation Energia, 4A Lenin Str., Korolev 141070, Russia

## Authors

Yulia V. Bragina, SPIN: 3908-4633, Scopus AuthorID: 6505789804, ResearcherID: J-8116-2018, ORCID: 0000-0003-0432-0063, e-mail: [julia\\_bragina@infran.ru](mailto:julia_bragina@infran.ru)

Natalia G. Besedina, ORCID: 0000-0003-0603-9486, e-mail: [nbesedina21@infran.ru](mailto:nbesedina21@infran.ru)

Larisa V. Danilenkova, ORCID: 0000-0001-7826-6106, e-mail: [danilenkova@infran.ru](mailto:danilenkova@infran.ru)

Elena A. Kamysheva, ORCID: 0000-0002-5301-2393, e-mail: [kamyshevaea@infran.ru](mailto:kamyshevaea@infran.ru)

Olga N. Larina, ORCID: 0000-0002-2827-3428, e-mail: [olarina@imbp.ru](mailto:olarina@imbp.ru)

Anna A. Burlakova, e-mail: [anna.burlakova@mail.ru](mailto:anna.burlakova@mail.ru)

Nikolai G. Kamyshev, SPIN: 4461-9955, Scopus AuthorID: 6603773316, ResearcherID: N-3922-2017, ORCID: 0000-0002-3611-7417, e-mail: [kamyshevng@infran.ru](mailto:kamyshevng@infran.ru)

**For citation:** Bragina, Yu. V., Besedina, N. G., Danilenkova, L. V., Kamysheva, E. A., Larina, O. N., Burlakova, A. A., Kamyshev, N. G. (2023) The effect of spaceflight on behavior of *Drosophila melanogaster* males. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 1, pp. 103–110. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-103-110> EDN LQVYSB

**Received** 20 January 2023; reviewed 14 March 2023; accepted 16 March 2023.

**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) (63.1).

**Copyright:** © Yu. V. Bragina, N. G. Besedina, L. V. Danilenkova, E. A. Kamysheva, O. N. Larina, A. A. Burlakova, N. G. Kamyshev (2023). 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.** For about half a century *Drosophila* has served as a model subject in biomedical research in the influence of spaceflight factors on genome stability, lifespan, metabolism and immunity. Up to now behavioral investigations have been performed either with offspring of flies that had been to space or directly with flies onboard the International Space Station (ISS). Ours is the first research providing evidence that upon return to the Earth after the spaceflight to the ISS, *drosophila* males show impaired geotaxis, reduced locomotor activity and decreased courtship intensity. The behavioral changes retain for at least two weeks. The main stress factor during the spaceflight is microgravity. Under these conditions living organisms are less able to control posture and goal-directed movements. Microgravity disturbs warm air convection that may cause local changes in oxygen-carbon dioxide balance. This creates unfavorable conditions in vials worsening the physiological state of flies that may influence the results of postflight tests.

**Keywords:** *Drosophila*, spaceflight, microgravity, International Space Station, climbing, locomotion, courtship, courtship song

## Введение

Уже более века дрозофила является универсальным модельным объектом в биомедицинских исследованиях. Дрозофила оказалась первым живым существом, которое побывало в космосе — в 1947 г. во время полета на баллистической ракете мухи около трех минут находились в суборбитальном пространстве, а затем благополучно вернулись на Землю на парашюте (Harrington 2014). В 1960 г. вместе со знаменитыми собаками Белкой и Стрелкой мухи в течение суток летали на корабле Спутник-5.

Были контейнеры с мухами и на корабле Восток-1 вместе с Юрием Гагариным в 1961 г. В дальнейшем мухи регулярно летали на биоспутниках, пилотируемых кораблях и на орбитальных станциях. Дрозофилу использовали для выяснения влияния факторов космического полета (микрогравитации, космических лучей и др.) на частоту возникновения мутаций, нарушения развития и метаболизма, процессы старения, иммунный ответ и пр. Результаты основных исследований за полвека были суммированы в обзоре Иера (Iyer et al. 2022).

Влияние микрогравитации на поведение дрозофилы начали изучать только в конце прошлого века (Benguria et al. 1996). В условиях невесомости наблюдается увеличение двигательной активности, мухи способны успешно ползать по стенкам полетных контейнеров, спариваться и откладывать яйца, хотя и испытывают при этом определенные трудности. Также было проведено много экспериментов по моделированию микро- и гипергравитации в лабораторных условиях с помощью центрифуг (Mhatre et al. 2022). В целом авторы отмечают, что эффект зависит от интенсивности воздействия, времени экспозиции и стадии развития дрозофилы. Изучение продолжительности адаптации к уровню земной гравитации после космических полетов у мух пока еще не проводилось.

Дрозофила в условиях космического полета находится в контейнерах с воздухопроницаемыми крышками. В условиях микрогравитации отсутствует тепловая конвекция воздуха, а, следовательно, концентрация кислорода и углекислого газа может отличаться в разных участках космических аппаратов даже несмотря на принудительную вентиляцию. Из-за нарушения нормального воздухообмена микроклимат внутри контейнеров с дрозофилой меняется, мухи, возможно, испытывают кислородное голодание, что может оказывать неспецифический эффект на регистрируемые физиологические показатели биообъектов.

Цель данной работы — изучить длительность сохранения изменений поведения самцов

дрозофилы после полета на Международную космическую станцию (МКС) и в эксперименте с моделированием ограничения воздухообмена в лабораторных условиях.

## Материалы и методы

Использовали самцов инбредной линии *VB09*, выделенной из Волгоградской природной популяции в 2009 г. Далее линию поддерживали в Институте медико-биологических проблем РАН и Институте физиологии им. И. П. Павлова РАН. Мух содержали на стандартной изюмно-дрожжевой среде, при 12:12 световом цикле, при температуре 25°C. Все манипуляции с мухами проводили без наркотизации.

### Полет на МКС

Доставка самцов на МКС состоялась 8 декабря 2021 г., возвращение — 20 декабря 2021 г. на корабле Союз МС-20. Общая продолжительность полета составила 11 суток 19 часов.

По 50 самцов в возрасте 1–2 суток помещали в полетные пластиковые контейнеры (28x115 мм) с питательной средой. Контейнеры закрывали винтовой крышкой с воздухопроницаемой мембраной. Свободный объем воздуха в контейнерах составлял около 40 мл. Контейнеры упаковывали в укладку «Дрозофила» (рис. 1). За сутки до старта укладку закрывали. После доставки на МКС укладку открывали и устанавливали в служебном модуле российского сегмента МКС. Во время полета освещение было



Рис. 1. Полетный контейнер и укладка «Дрозофила»

Fig. 1. 'Drosophila': a vial and a transport packaging set

постоянным, температура варьировала (17–27 °С). За день до отправки на Землю укладку снова закрывали. Контрольных самцов помещали в аналогичные контейнеры, содержали при постоянном приглушенном освещении и температуре 25 °С в лаборатории.

#### *Эксперимент с ограничением воздухообмена*

Эксперимент проводили с 28 мая по 8 июня 2022 г. 50 экспериментальных самцов в возрасте 1–2 суток помещали в полетные контейнеры, упаковывали в укладку, закрывали на сутки. После открытия укладки площадь воздухопроницаемой поверхности в контейнерах уменьшали на 90%. Укладку размещали в лабораторных условиях при постоянном приглушенном освещении и переменной температуре среды (17–27 °С). За сутки до окончания эксперимента укладку закрывали. Общая продолжительность всех манипуляций составляла 12 суток. Контрольных самцов содержали в полетных контейнерах при постоянном приглушенном освещении и температуре 25 °С.

#### *Тестирование поведения*

После завершения воздействий мух пересаживали в лабораторные стаканчики (25 x 90 мм) по 20–23 особи, оставляли на сутки в стандартных лабораторных условиях для адаптации после транспортировки. Всех экспериментальных самцов делили на три группы. Регистрацию взбирания и локомоторной активности первой группы проводили на третий день после завершения экспериментов (возраст самцов составлял 16–17 дней). После тестов самцов рассаживали по одному в стаканчик. На пятый день после завершения экспериментов самцов этой группы (возраст 18–19 дней) делили на две части — у одних регистрировали поведение ухаживания, у вторых записывали песню ухаживания. Самцов второй группы тестировали соответственно на седьмые (возраст самцов — 20–21 день) и девятые (возраст — 22–23 дня) сутки, самцов третьей группы — на одиннадцатые (возраст самцов — 24–25 дней) и тринадцатые (возраст — 26–27 дней) сутки после завершения экспериментов. Контрольных мух тестировали по такой же схеме. Количество особей составило 30–40 в тестах взбирание/локомоторная активность, 15–22 — в тестах поведение ухаживания/звукопродукция.

#### *Регистрация взбирания*

Прибор для регистрации взбирания представляет собой стеклянную трубку (15 x 450 мм) с поролоновыми пробками на концах. Группу

из 18–24 самцов помещали в трубку с помощью воронки. Трубку устанавливали вертикально, мух стряхивали вниз и через десять секунд фотографировали распределение мух, процедуру повторяли десять раз. Высота трубки была разбита на девять секторов по пять сантиметров. По фотографиям проводили подсчет и рассчитывали индекс взбирания группы по формуле

$$\Sigma(nm) / N,$$

где  $n$  — количество особей в секторе  $m$ ,  $m$  — порядковый номер сектора по высоте трубки (от одного до девяти),  $N$  — количество мух.

#### *Регистрация локомоторной активности*

После завершения регистрации взбирания самцов с помощью аспиратора рассаживали по одному в камеры для регистрации локомоторной активности. Для регистрации параметров локомоции использовали стандартную методику (Fedotov et al. 2014; Panova et al. 2013). С помощью нескольких веб-камер и компьютерной программы «Drosophila Tracks» (Н. Г. Камышев) в течение пяти часов регистрировали поведение до 80 самцов одновременно. Параметры локомоторной активности — индекс активности (% времени, занятый побежками), частоту инициации, длительность, скорость побежек — вычисляли с помощью анализирующего модуля программы. Расчеты представлены по первому часу наблюдения.

#### *Регистрация поведения ухаживания*

В экспериментах в качестве партнеров стандартно использовали самок линии *Canton-S* (возраст 3–5 суток), оплодотворенных самцами этой же линии. Для регистрации и анализа данных использовали программу «Drosophila Courtship» (Н. Г. Камышев). Этограмму поведения самца фиксировали в течение пяти минут. Для вычисления параметров этограммы (элементы ритуала ухаживания и поведения, не связанного с ухаживанием) использовали анализирующий модуль программы.

#### *Регистрация звукопродукции*

Регистрацию звукопродукции осуществляли с помощью чувствительных ленточных микрофонов в течение пяти минут. Звукозаписи сохраняли в виде звуковых файлов (wav файл, mono, 44100 Гц, 16 bit). Записи анализировали с помощью программы «Drosophila courtship song analysis» (DCSA, Н. Г. Камышев), которая автоматически распознавала импульсную песню и после ручного редактирования результатов

распознавания рассчитывала ее параметры (индекс, частота, длительность, межимпульсный интервал) (Fedotov et al. 2018).

Статистическую обработку проводили с помощью двустороннего теста рандомизации ( $p < 0,05$ ).

## Результаты и обсуждение

### Взбирание и локомоторная активность

Взбирание и локомоторную активность регистрировали на одних и тех же мухах последо-

вательно в один день. После полета на МКС у мух наблюдается значительное снижение способности к взбиранию. Это снижение сохраняется по крайней мере в течение 11 суток после завершения полета (рис. 2А). На способность к взбиранию по вертикальной поверхности влияют два фактора — общий уровень двигательной активности и геотаксис. Для дрозофилы в норме характерен отрицательный геотаксис (направленная двигательная реакция, вызываемая земной гравитацией). Вполне ожидаемо, что длительное пребывание в условиях микро-

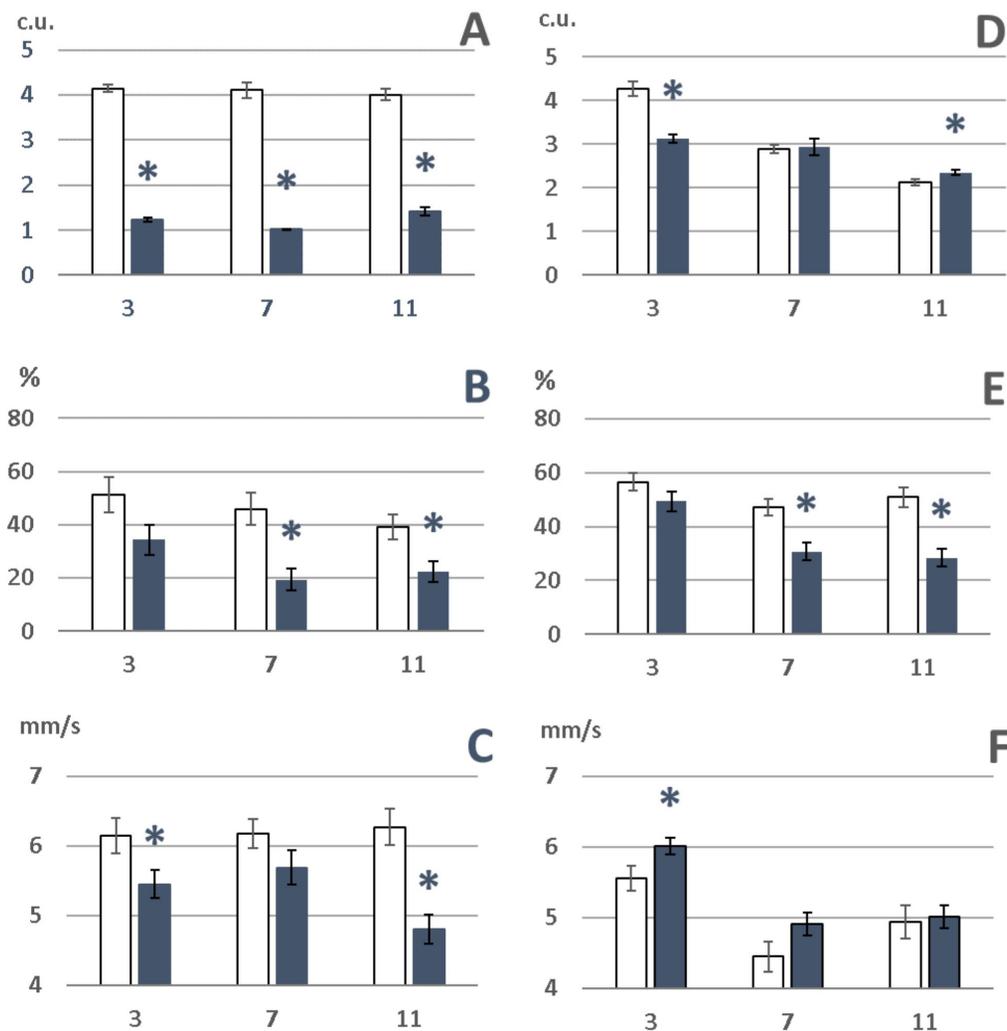


Рис. 2. Взбирание и локомоторная активность. Полет на МКС: А — индекс взбирания, В — индекс двигательной активности, С — скорость побежки. Эксперимент с ограничением воздухообмена: D — индекс взбирания, E — индекс двигательной активности, F — скорость побежки. Белые столбцы — контроль, серые столбцы — эксперимент. По горизонтальной оси — дни после эксперимента. Показаны средние значения со стандартными ошибками. \* —  $p < 0,05$

Fig. 2. Climbing and locomotion. Flight to the ISS: (A) Climbing index; (B) Locomotor activity index; (C) Running speed. Experiment with poor ventilation: (D) Climbing index; (E) Locomotor activity index; (F) Running speed. White—control, gray—experiment. Horizontal axis—days after the experiment. The diagram shows mean values with standard errors. \*— $p < 0.05$

гравитации на МКС приводит к нарушениям геотаксиса и снижению способности к взбиранию. Полет на МКС также вызвал длительное снижение локомоторной активности на горизонтальной поверхности (рис. 2В). Индекс двигательной активности является интегративным показателем, он зависит от длительности и частоты инициации побегов. В данном случае оказались снижены оба показателя (данные не представлены). Также было обнаружено достоверное снижение скорости побегов (рис. 2С). Таким образом, после полета на МКС происходит нарушение реакции геотаксиса и общее снижение уровня двигательной активности.

В эксперименте с ограничением воздухообмена достоверное снижение индекса взбирания наблюдали только в первой контрольной точке (через трое суток после завершения процедуры) (рис. 2D), однако уровень локомоторной активности оказался достоверно ниже, чем в контроле во всех контрольных точках (рис. 2E). Снижение индекса двигательной активности происходило только за счет снижения частоты инициации побегов. Скорость побегов у экспериментальных мух оказалась выше в первой контрольной точке, далее не отличалась от контроля (рис. 2F). Следовательно, отсутствие нормальной вентиляции полетных контейнеров (и, предположительно, кислородное голодание мух в отсутствие конвекции воздуха в условиях микрогравитации на МКС) может оказывать влияние на показатели локомоторной активности и не влияет на геотаксис у мух.

#### *Поведение ухаживания и звукопродукция*

Регистрацию поведения ухаживания самца за оплодотворенной самкой и запись песни ухаживания самца выполняли на двух независимых выборках мух в один и тот же день. Полет на МКС привел к существенному длительному снижению интенсивности ухаживания (рис. 3А). Анализ элементов ритуала ухаживания выявил, что происходит в основном снижение частоты инициации и в меньшей степени длительности ориентации/преследования самки самцом. Во время наблюдения за ухаживанием самца также фиксировали продолжительность элементов поведения, не связанных с ухаживанием (побежка, прининг, покой). После полета на МКС мухи проводили в состоянии покоя в два раза больше времени, чем наземный контроль, в четыре раза возросла продолжительность прининга (данные не представлены). Этот результат согласуется с описанным ранее общим снижением уровня локомоторной активности.

Отличия в параметрах импульсной песни ухаживания (индекс, частота инициации, длительность) у самцов после полета на МКС и наземного контроля были выявлены только через 13 дней после возвращения на Землю (рис. 3В). В первой контрольной точке (пять дней) величина межимпульсного интервала не отличалась у летавших мух и наземного контроля (рис. 3С). Однако через 9 и 13 суток было зарегистрировано достоверное увеличение этого показателя у мух после полета на МКС. Величина межимпульсного интервала позволяет напрямую судить о работе песенного центрального генератора моторного паттерна. Увеличение интервала между импульсами свидетельствует о замедлении работы генератора.

В эксперименте с ограничением воздухообмена регистрация поведения ухаживания и общих параметров звукопродукции не выявила отличий между контрольной и экспериментальной группами (рис. 3D, E). Обнаружены разнонаправленные изменения величины межимпульсного интервала в разные сроки после завершения эксперимента (рис. 3F). Таким образом, нарушение комплексного поведения, такого, как ритуал ухаживания, напрямую связано и зависит от общего снижения двигательной активности после полета на МКС.

### **Заключение**

Впервые исследованы изменения поведения и динамика адаптации к земной гравитации после невесомости в условиях полета на МКС. После 12-суточного воздействия микрогравитации происходит нарушение реакции геотаксиса, снижение уровня локомоторной активности и скорости побегов самцов дрозофилы. Снижение интенсивности ухаживания самца за самкой по-видимому обусловлено общим снижением уровня двигательной активности. Уровень звукопродукции самцов не изменяется, однако обнаружены нарушения в параметрах импульсной песни ухаживания — увеличение межимпульсного интервала, что может свидетельствовать о нарушении (замедлении) работы песенного центрального генератора моторного паттерна. Все обнаруженные нарушения поведения сохраняются в течение двух недель после завершения космического полета.

Изменение микроклимата внутри контейнеров с мухами из-за ограничения воздухообмена в условиях микрогравитации может оказывать неспецифическое влияние на результаты

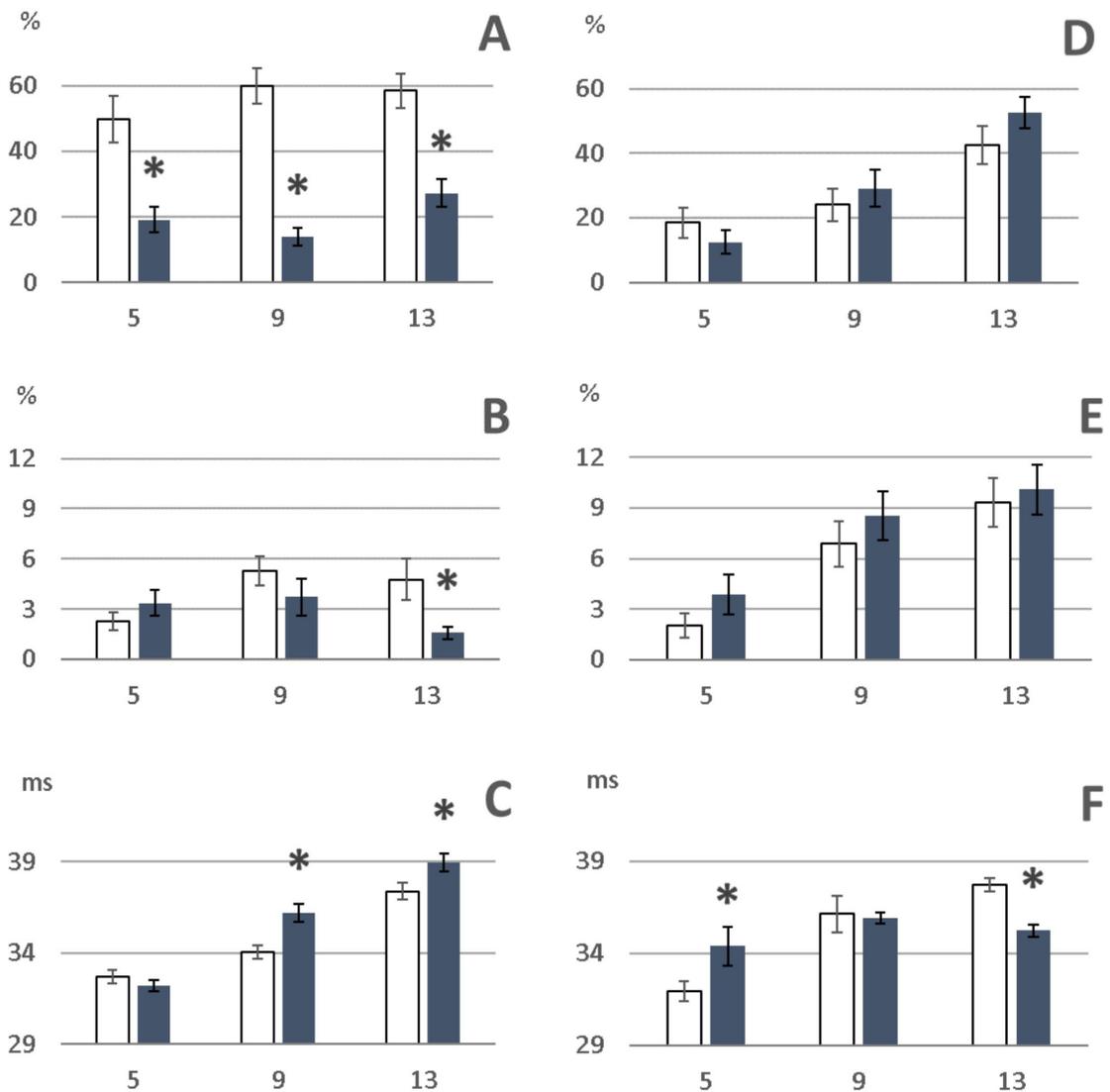


Рис. 3. Поведение ухаживания и звукопродукция. Полет на МКС: А — индекс ухаживания, В — индекс импульсной песни, С — межимпульсный интервал. Эксперимент с ограничением воздухообмена: D — индекс ухаживания, E — индекс импульсной песни, F — межимпульсный интервал. Белые столбцы — контроль, серые столбцы — эксперимент. По горизонтальной оси — дни после эксперимента. Показаны средние значения со стандартными ошибками. \* —  $p < 0,05$

Fig. 3. Courtship behavior and sound production. Flight to the ISS: (A) Courtship index; (B) Pulse song index; (C) Interpulse interval. Experiment with poor ventilation: (D) Courtship index; (E) Pulse song index; (F) Interpulse interval. White—control, gray—experiment. Horizontal axis—days after the experiment. The diagram shows mean values with standard errors. \*— $p < 0.05$

послеполетных поведенческих тестов. Обеспечение физиологического состава дыхательной смеси внутри полетных контейнеров с мухами позволит снизить неспецифическое влияние микроклимата.

### 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. Брагина Юлия Валерьевна — планирование экспериментов, обработка данных, написание и редактирование рукописи;

б. Беседина Наталья Геннадьевна — сбор и обработка данных;  
в. Даниленкова Лариса Владимировна — сбор и обработка данных;  
г. Камышева Елена Аркадьевна — сбор и обработка данных;  
д. Ларина Ольга Николаевна — идея, планирование и проведение экспериментов;  
е. Бурлакова Анна Алексеевна — обеспечение полетного этапа эксперимента на МКС;  
ж. Камышев Николай Григорьевич — написание и редактирование рукописи.

### Author Contributions

a. Julia V. Bragina designed the experiment, processed the data and drafted the manuscript;  
b. Natalia G. Besedina collected and processed the data;  
c. Larisa V. Danilenkova collected and processed the data;  
d. Elena A. Kamysheva collected and processed the data;

e. Olga N. Larina conceived, designed and set up the experiments;  
f. Anna A. Burlakova ensured the flight stage of the experiment on the ISS;  
g. Nikolai G. Kamyshev drafted and edited the manuscript.

### Благодарности

Авторы благодарят ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем» Института физиологии им. И. П. Павлова РАН за помощь в содержании линий дрозофилы.

### Acknowledgements

The authors thank the Center for Collective Use “Biocollection of the IF RAS for the Study of Integrative Mechanisms of the Activity of Nervous and Visceral Systems” of the Pavlov Institute of Physiology RAS for their help in maintaining *Drosophila* strains.

### References

- Benguría, A., Grande, E., De Juan, E. et al. (1996) Microgravity effects on *Drosophila melanogaster* behavior and aging. Implications of the IML-2 experiment. *Journal of Biotechnology*, vol. 47, no. 2-3, pp. 191–201. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(96\)01407-1](https://doi.org/10.1016/0168-1656(96)01407-1) (In English)
- Fedotov, S. A., Bragina, J. V., Besedina, N. G. et al. (2014) The effect of neurospecific knockdown of candidate genes for locomotor behavior and sound production in *Drosophila melanogaster*. *Fly*, vol. 8, no. 3, pp. 176–187. <https://doi.org/10.4161/19336934.2014.983389> (In English)
- Fedotov, S. A., Bragina, J. V., Besedina, N. G. et al. (2018) Gene *CG15630 (fipi)* is involved in regulation of the interpulse interval in *Drosophila* courtship song. *Journal of Neurogenetics*, vol. 32, no. 1, pp. 15–26. <https://doi.org/10.1080/01677063.2017.1405000> (In English)
- Harrington, M. (2014) Fruit flies in space. *LabAnimal*, vol. 43, no. 1, article 3. <https://doi.org/10.1038/lab.451> (In English)
- Iyer, J., Mhatre, S. D., Gilbert, R., Bhattacharya, S. (2022) Multi-system responses to altered gravity and spaceflight: Insights from *Drosophila melanogaster*. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 142, article 104880. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104880> (In English)
- Mhatre, S. D., Iyer, J., Petereit, J. et al. (2022) Artificial gravity partially protects space-induced neurological deficits in *Drosophila melanogaster*. *Cell Reports*, vol. 40, no. 10, article 111279. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111279> (In English)
- Panova, A. A., Bragina, J. V., Danilenkova, L. V. et al. (2013) Group rearing leads to long-term changes in locomotor activity of *Drosophila* males. *Open Journal of Animal Sciences*, vol. 3, no. 4B, pp. 31–35. <http://doi.org/10.4236/ojas.2013.34A2004> (In English)



УДК 612.88+57.041

EDN RRMDQE

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-111-121>

## Сравнительный аспект нейроиммунологического влияния интерферона и дефенсина на активность афферентного синапса вестибулярного аппарата

И. В. Рыжова<sup>✉1</sup>, Т. В. Тобиас<sup>1</sup>

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

### Сведения об авторах

Ирина Викторовна Рыжова, SPIN-код: [2199-3019](#), Scopus AuthorID: [7004887065](#), ORCID: [0000-0001-6243-9420](#), e-mail: [ireneryzhova@mail.ru](mailto:ireneryzhova@mail.ru)

Татьяна Витальевна Тобиас, SPIN-код: [6196-4058](#), Scopus AuthorID: [6603752219](#), ORCID: [0000-0001-6034-8728](#), e-mail: [tvtobias@yandex.ru](mailto:tvtobias@yandex.ru)

**Для цитирования:** Рыжова, И. В., Тобиас, Т. В. (2023) Сравнительный аспект нейроиммунологического влияния интерферона и дефенсина на активность афферентного синапса вестибулярного аппарата. *Интегративная физиология*, т. 4, № 1, с. 111–121. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-111-121> EDN RRMDQE

**Получена** 19 января 2023; прошла рецензирование 19 марта 2023; принята 2 апреля 2023.

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

**Права:** © И. В. Рыжова, Т. В. Тобиас (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии [CC BY-NC 4.0](#).

**Аннотация.** Синаптические процессы в вестибулярной системе подвержены влиянию многочисленных экзогенных и эндогенных факторов, одними из которых являются активные молекулы врожденного и адаптивного иммунитета. До недавнего времени считалось, что структуры внутреннего уха лишены своей специфической иммунной защиты из-за отсутствия лимфодренажа и наличия гематолабиринтного барьера. В норме количество иммунных клеток и концентрация провоспалительных цитокинов в структурах внутреннего уха находятся на крайне низком уровне, но значительно возрастают при патологии. Задача работы состояла в сравнительном изучении влияния провоспалительного цитокина интерферона (ИФН) и эндогенного нейтрофильного антибиотика дефенсина (ДЕФ) на афферентную глутаматергическую синаптическую передачу при помощи метода регистрации импульсной активности нерва, контактирующего с полукружным каналом (ramus ampulla posterior). ИФН (0,2–40 нг/мл) в зависимости от концентрации вызывал увеличение частоты фоновой импульсной активности афферентных волокон, которое при высоких концентрациях сопровождалось последующим уменьшением частоты разрядов. ДЕФ (0,001–10 нМ), оказывал противоположное действие, понижая частоту фоновой импульсной активности афферентных волокон. Как ИФН, так и ДЕФ уменьшали амплитуду ответа на аппликацию глутамата и NMDA относительно нового, ими измененного уровня фоновой активности. Данные свидетельствуют о полифункциональном нейромодулирующем влиянии иммунной системы на синаптические процессы внутреннего уха.

**Ключевые слова:** вестибулярный аппарат, волосковые клетки, глутаматергический синапс, нейроиммуномодуляция, интерферон, дефенсин, опиатные рецепторы

# Comparative aspect of the neuroimmunological effect of interferon and defensin on the activity of the vestibular afferent synapse

I. V. Ryzhova<sup>✉1</sup>, T. V. Tobias<sup>1</sup>

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

## Authors

Irina V. Ryzhova, SPIN: 2199-3019, Scopus AuthorID: 7004887065, ORCID: 0000-0001-6243-9420, e-mail: ireneryzhova@mail.ru

Tatyana V. Tobias, SPIN: 6196-4058, Scopus AuthorID: 6603752219, ORCID: 0000-0001-6034-8728, e-mail: tvtobias@yandex.ru

**For citation:** Ryzhova, I. V., Tobias, T. V. (2023) Comparative aspect of the neuroimmunological effect of interferon and defensin on the activity of the vestibular afferent synapse. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 1, pp. 111–121. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-111-121> EDN RRMDQE

**Received** 19 January 2023; reviewed 19 March 2023; accepted 2 April 2023.

**Funding:** The study was supported by the Government Program GP-47 “Scientific and Technological development of the Russian Federation” (2019-2030), topic 0134-2019-0001.

**Copyright:** © I. V. Ryzhova, T. V. Tobias (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

**Abstract.** Synaptic processes in the vestibular epithelium are modulated by numerous exogenous and endogenous factors, including the active molecules of innate and adaptive immunity. Normally, the number of immune cells and proinflammatory cytokines in the cochlea and vestibular organs is extremely low, but they increase significantly in pathology. The objective of the study was to compare the effect of the proinflammatory cytokine interferon  $\alpha 2b$  (IFN) and the endogenous neutrophil antibiotic defensin (DEF) on glutamatergic synaptic transmission using the method of multiunit recording of pulse activity of afferent fibers. IFN (0.2–40 ng/ml), depending on the concentration, caused an increase in the frequency of background pulse activity of afferent fibers, which at high concentrations was accompanied by a subsequent decrease in the frequency of discharges. DEF (0.001–10 nM) displays the opposite effect, lowering the frequency of resting pulse activity of afferent fibers by 30%. Both substances reduced the amplitude of L-glutamate and NMDA evoked responses. The data indicate a multifunctional neuromodulating effect of the immune system on the synaptic processes of the inner ear. This suggests a range of different mechanisms that control the afferent flow from the vestibular organs to the central nervous system.

**Keywords:** vestibular apparatus, hair cells, glutamatergic synapse, neuroimmunomodulation, interferon, defensin, opiate receptors

## Введение

Вестибулярная система играет ведущую роль в поддержании баланса, позы и мышечного тонуса. Вестибулярные рефлексы являются одними из наиболее быстрых рефлексов, что требует быстрой обработки вестибулярной информации. В вестибулярных органах на клеточном уровне эти требования удовлетворяются волосковыми клетками I и II типов, у базальной мембраны которых располагается хорошо развитое синаптическое тело, обеспечивающее быстрое и длительное высвобождение глутамата из пресинаптических зон (Moser et al. 2006; Nouvian et al. 2006). Высокая пластичность глутаматергического синапса обеспечивается посредством некантового и кантового выделения медиатора (Highstein et al. 2015; Holt et al. 2007),

а у клеток I типа — за счет спилловера глутамата (Sadeghi et al. 2014), высвобождения протонов  $H^+$  с участием механизма экструзии (Highstein et al. 2014). Совокупность этих механизмов обеспечивает высокую чувствительность и пластичность афферентного глутаматергического синапса. В то же время синапс подвержен эксайтотоксичности и крайне чувствителен к влиянию эндогенных (Andrianov et al. 2009; González-Garrido et al. 2015; Ryzhova et al. 2018; 2020) и ототоксических факторов (Barbieri et al. 2019; Jiang et al. 2017), приводящих к патологии синаптической передачи в структурах внутреннего уха. Можно предположить, что активные молекулы иммунной системы, образующиеся в процессе функционирования и при воспалении, ишемии или микротравме, могут модулировать афферентную синаптическую передачу.

Структуры внутреннего уха защищены гематолабиринтным барьером, контролирующим обмен между кровью и интерстициальным пространством в улитке и в вестибулярных органах и поддерживающим ионный градиент эндокохлеарного рецепторного потенциала для активных процессов механо-электрической трансдукции волосковых клеток (Zhang et al. 2015). Согласно современным представлениям, местный иммунитет в вестибулярной и слуховой системах регулируется эндолимфатическим мешочком, разрушение стенок которого вызывает снижение иммунного ответа внутреннего уха. Антитела и липополисахариды повреждают гематолабиринтный барьер путем разрушения белков плотных контактов окклюдина, кадгерина, ZO-1 и клаудина и подавления их экспрессии (Shi 2016; Zhang et al. 2015.) Повышенная проницаемость гематолабиринтного барьера сопровождается морфофункциональными изменениями перицитов и периваскулярно-резидентных макрофагоподобных меланоцитов и увеличением их количества (Zhang et al. 2015). Хемокины и цитокины, например, фракталкин, CX3CL1, стимулируют движение макрофагов (Liu et al. 2019).

У здоровых людей в структурах внутреннего уха количество иммунных клеток, уровень цитокинов и хемокинов находится на крайне низком уровне. Однако при патологии (болезни Меньера) наблюдается повышение уровня таких цитокинов и хемокинов, как IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-6, CCL5, CXCL1, IFNA2, CXCL5 (Flook et al. 2019).

При акустической травме наблюдалось увеличение количества иммунных клеток, причем преобладающими являлись В, Т, НК и миелоидные клетки (макрофаги и нейтрофилы), что предполагает их рекрутирование в поврежденную улитку в разные моменты времени и выделение различных про- и противовоспалительных цитокинов (Rai et al. 2020). При патологических воздействиях активированные Т-лимфоциты могут попадать в улитку и инициировать синтез ИФН- $\gamma$  (Baek et al. 2006). В свою очередь цитокиновый каскад может активировать миграцию в улитку клеток кроветворного происхождения, в частности, макрофагов (Fujioka et al. 2014; Liu et al. 2019). Острое поражение внутреннего уха у мышей под воздействием шума или ототоксических препаратов вызывает воспаление и приводит к увеличению кохлеарных макрофагов и нейтрофилов в сосудистой полоске и спиральном ганглии (Zhang et al. 2012).

Актуальной задачей сенсорной патофизиологии является поиск маркеров при вестибулярных расстройствах, травмах и имплантации

структур внутреннего уха, нейросенсорной тугоухости, вызванной шумовой травмой и старением. Несомненным успехом являются данные, указывающие на повышенный уровень провоспалительных цитокинов IL-6, TNF- $\alpha$  и CXCL1 в волосковых клетках, а также повышенный уровень цитокина CXCL1 в опорных клетках улитки (Landegger et al. 2019). Особую диагностическую важность представляют исследования специфического профиля провоспалительных цитокинов в перилимфе вестибулярных органов при различных вестибулярных расстройствах, но одинаковых симптомах, что позволяет отличить пациентов с вестибулярной мигренью от пациентов с болезнью Меньера (Flook et al. 2019).

В перилимфе у больных с потерей слуха, вызванной шванномой, обнаружена повышенная экспрессия фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), хемокинового рецептора-4 (CXCR4) (Lassaletta et al. 2019), белка  $\mu$ -кристаллина (CRYM), белка 2, связанного с рецептором липопротеинов низкой плотности (LRP2). Концентрация TNF $\alpha$ , экспрессия которого находится на крайне низком уровне в здоровой улитке (Zou et al. 2005), повышается при воспалении (Aminpour et al. 2005), акустической травме (Fujioka et al. 2006; Landegger et al. 2019), вибрации (Zou et al. 2005), при аутоиммунных расстройствах (Svrakic et al. 2012) и при лечении ототоксическими препаратами (Altun et al. 2014; Jiang et al. 2017).

Таким образом, анализ современной литературы позволяет заключить, что при патологии структур внутреннего уха иммунный ответ в перилимфе улитки и вестибулярных органов характеризуется присутствием иммунных клеток, а также хемокинов и провоспалительных цитокинов, влияние которых на синаптические процессы в структурах внутреннего уха остается практически неисследованным. Известно, что цитокины могут оказывать разнонаправленные модулирующие влияния на синаптические функции ЦНС с участием различных механизмов (Loseva et al. 2008; Miller et al. 2013). Интерфероны изменяют баланс таких физиологически активных молекул, как триптофан, серотонин, глутамат, понижают уровень астроцитарного переносчика глутамата — аспартата (GLAST) (Hosseini et al. 2020), изменяют концентрации эндогенных лигандов NMDA рецепторов кинуреновой и куинолиновой кислот (Erhardt et al. 2007; Haroon et al. 2014; Miller et al. 2013; Raison et al. 2010). Можно предположить, что активные молекулы иммунной системы, образующиеся в процессе функционирования и при воспалении, ишемии или микротравме, могут модулировать

афферентную синаптическую передачу вестибулярного аппарата.

Цель работы состояла в сравнительном анализе влияния молекул врожденного иммунитета эндогенного нейтрофильного антибиотика дефенсина (ДФ) и провоспалительного цитокина интерферона (ИФН) I типа на синаптические процессы афферентного глутаматергического синапса. Несмотря на то, что интерфероны отнесены к ототоксическим веществам (Mendes-Corrêa et al. 2011; Sharifian et al. 2013), механизм их нейромодулирующего и ототоксического влияния на синаптические процессы вестибулярного аппарата до сих пор не изучался. Исследование влияния эндогенного антибиотика ДФ на синаптические процессы внутреннего уха представляло особый интерес в сравнении с ототоксическим влиянием аминогликозидных антибиотиков, также вызывающим патологию слуха и равновесия (Jiang et al. 2017).

Данные о влиянии ДФ и ИФН на синаптические процессы внутреннего уха отсутствуют.

### Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены *in vitro* на 53 вестибулярных препаратах лягушки *Rana temporaria* в летне-осенне-зимний период. Вестибулярный аппарат помещали в ванночку, непрерывно перфузируемую физиологическим раствором, максимально приближенным к составу перилимфы (N), при комнатной температуре.

Регистрацию множественной импульсной активности нерва *ramus ampulla posterior*, контактирующего с рецепторными клетками заднего полукружного канала, осуществляли при помощи засасывающего стеклянного электрода с диаметром кончика 100–300 мкм. Регистрируемые сигналы подавали на усилитель АМ systems, Inc. 3000, контролировали на экране катодного осциллографа С1-93, преобразовывали в прямоугольные импульсы длительностью 1,5 мс при помощи АЦП. Сформированные прямоугольные импульсы в течение всего эксперимента регистрировали на компьютере при помощи оригинальной программы. Каждая точка записи представляла усредненное значение частоты афферентной импульсной активности, регистрируемой за 10 с. Изучение влияния различных концентраций ИФН и ДФ проводили на одном и том же препарате.

В опытах использовали реактивы фирмы SIGMA: глутамат (L-Glu), агонист ионотропных глутаматных рецепторов N-methyl-D-aspartic acid (NMDA), нейтрофильный ДФ человека (HNP-1), а также ИФН  $\alpha 2b$  производства

«Альтевир» ООО Фармапарк (раствор в ампулах 5 млн МЕ на 1 мл). ИФН подвергали очистке с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. ИФН «IFN-alpha 2b human Sigma-Aldrich SRP4595B» использовали в качестве стандарта. Растворы подавали в синаптическую область методом внешней перфузии с использованием шестиканальной перфузионной системы Warner Instruments VC-6.

Влияние ИФН и ДФ на уровень фоновой активности афферентных волокон оценивали в процентах как отношение максимального значения импульсной активности при аппликации веществ к частоте фоновой активности, предшествующей перфузии. Статистическую обработку проводили для нормированных данных.

Результаты представлены средними значениями  $\pm$  ошибка среднего. Анализ данных проводили с использованием двухвыборочных критериев Манна — Уитни, Вилкоксона, а также применяли t-тест. Исследование эффектов влияния препаратов на импульсную активность проводили методами дисперсионного анализа ANOVA RM для зависимых переменных.

Графики изменения частоты импульсной активности под влиянием действия ИФН и ДФ строили в программе MS-Excel.

### Результаты и обсуждение

Для сравнительного анализа влияния активных молекул врожденного иммунитета на синаптическую активность вестибулярного аппарата изучали влияние эндогенного антибиотика HNP-1 и провоспалительного цитокина ИФН  $\alpha 2b$  на синаптическую передачу в глутаматергическом синапсе в широком диапазоне концентраций.

Перфузия синаптической области раствором ИФН в концентрациях 0,2, 1, 2 и 10 нг/мл статистически значимо увеличивала частоту фоновой активности афферентных волокон по сравнению с первоначальным уровнем фоновой активности (рис. 1) соответственно на  $30,1 \pm 4,3\%$ ,  $p = 0,018$ ,  $25,1 \pm 5,9\%$ ,  $p = 0,028$ ,  $30,5 \pm 5,8\%$ ,  $p = 0,001$  и  $31,1 \pm 7,1\%$ ,  $p = 0,004$  (критерий Вилкоксона). Стимулирующий эффект ИФН был обратим, импульсная активность возвращалась к первоначальному уровню в N растворе. В этом диапазоне концентраций не наблюдали дозозависимого эффекта. ИФН в концентрации 20 нг/мл увеличивал уровень фоновой активности на  $90 \pm 35,6\%$ ,  $p = 0,021$ , а при концентрации 40 нг/мл — на  $165,6 \pm 71,9\%$ ,  $p = 0,028$ , по сравнению с фоновым уровнем.

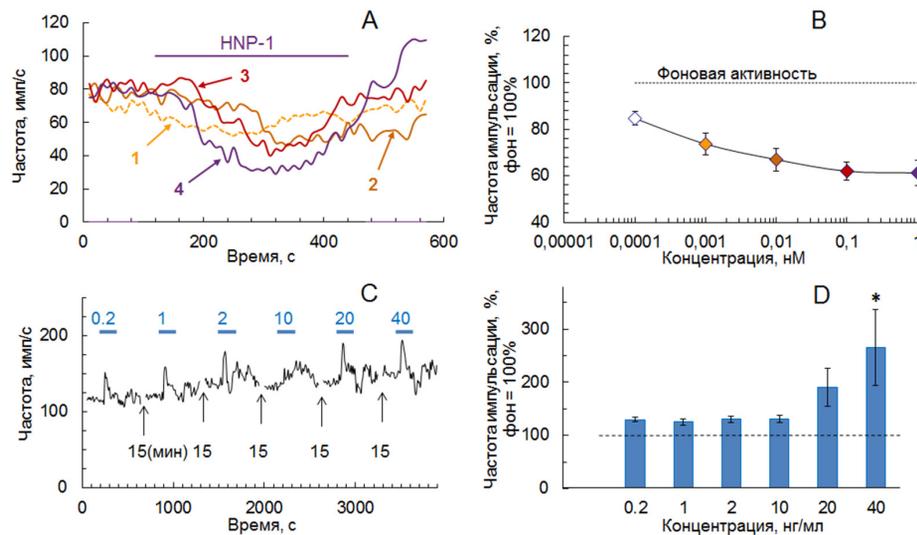


Рис. 1. Влияние различных концентраций ДЕФ (HNP-1) (A, B) и ИФН  $\alpha 2b$  (C, D) на уровень фоновой активности афферентных волокон *ramus ampulla posterior*, иннервирующих задний полукружный канал лягушки. A, C: оригинальные записи экспериментов. Каждая точка записи представляет усредненное значение частоты афферентной импульсной активности, регистрируемой за 10 с.

Горизонтальные линии — отметки аппликации HNP-1 и ИФН. A: наложение кривых, полученных в одном опыте при воздействии различных концентраций ДЕФ: 1 — 0,001 нМ; 2 — 0,01 нМ; 3 — 0,1 нМ; 4 — 1 нМ. Промежуток между аппликацией препаратов составлял не менее 15 мин. B: суммарная кривая ингибирования фоновой активности различными концентрациями HNP-1. Каждая точка представляет среднее и ошибку среднего (%). N = 6. C: изменение частоты фоновой импульсной активности афферентных волокон при аппликации различных концентраций ИФН  $\alpha 2b$ , зарегистрированных в одном опыте. D: диаграмма, отражающая средние значения и ошибки среднего (%) увеличения импульсной активности *ramus ampulla posterior* при воздействии различных концентраций ИФН. N = 6 – 13

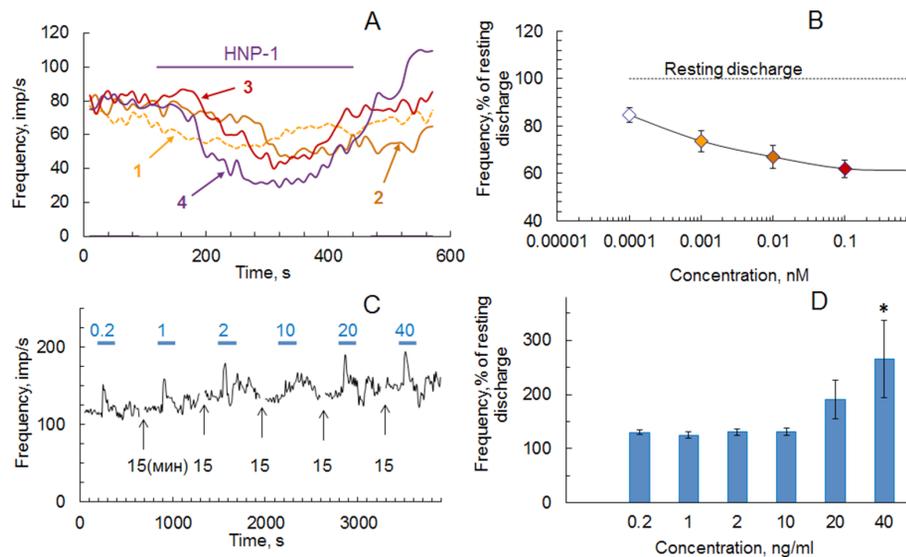


Fig. 1. Effect of different concentrations of DEF (HNP-1) (A, B) and IFN  $\alpha 2b$  (C, D) on the background activity of *ramus ampulla posterior* afferent fibers. A, C: original records of experiments. The horizontal bars above each record indicate the duration of drug application. A: overlay of the impulse activity traces, recording in the same experiment. HNP-1 concentrations: 1—0.001 nM; 2—0.01 nM; 3—0.1 nM; 4—1 nM. Each trace point was determined over sequential 10s periods from the corresponding computer records. The interval between the applications of drugs was at least 15 minutes. B: summary curve of background activity inhibition by different concentrations of HNP-1. The influence of DEF is presented as a change in the frequency of background activity, %. Each point represents the mean  $\pm$  SEM. N = 6. C: effects of different concentrations of IFN  $\alpha 2b$  on the resting activity in the semicircular canal nerve afferent fibers, recording in the same experiment. D: average chart of the impulse activity (the mean  $\pm$  SEM, %) in response to various concentrations of IFN. N = 6 – 13

ННР-1 оказывал противоположное ИФН- $\gamma$  депрессорное влияние на уровень фоновой активности. Пороговая концентрация составляла 0,1 пМ. В диапазоне концентраций дефенсина от 0,1 пМ до 1 нМ ингибирующее действие антибиотика увеличивалось и достигало максимального эффекта, до 30% от фона.

Для того чтобы показать, что ДЕФ и ИФН оказывают модулирующее влияние именно на глутаматные рецепторы, сравнивали амплитуду ответов на аппликацию L-Glu и агониста ионотропных глутаматных рецепторов NMDA до и на фоне перфузии синаптической области растворами ННР-1 и ИФН  $\alpha 2b$  в течение двух минут (рис. 2). Для этого вначале синаптическую область перфузировали раствором L-Glu или NMDA, после возвращения импульсной активности в N растворе к первоначальному уровню и 15-минутной отмывки препарата апплицировали ИФН (или ДЕФ), а затем L-Glu или NMDA на фоне перфузии ИФН (или ДЕФ). Несмотря на то, что дефенсин и интерферон оказывали противоположное действие на уровень фоновой активности, оба вещества уменьшали ответы L-Glu и NMDA относительно измененного ими нового уровня импульсной активности.

Нами впервые представлены данные о том, что афферентный глутаматергический синапс вестибулярного аппарата является мишенью активных метаболитов иммунной системы.

Действительно, такие молекулы врожденного иммунитета, как ННР-1 и ИФН могут значимо и разнонаправленно изменять синаптическую активность вестибулярного эпителия.

В вестибулярном эпителии ИФН I типа значимо увеличивал уровень фоновой импульсной активности афферентных волокон, что наблюдалось уже при концентрации 0,2 нг/мл (соответствует 268 пмоль/л).

Стимулирующее влияние ИФН на глутаматергическую синаптическую передачу было выявлено Куин с соавторами, которые на срезах спинного мозга крыс показали, что ИФН- $\alpha$  дозозависимо увеличивал частоту возбуждающих спонтанных постсинаптических токов в нейронах желатинозной субстанции. Авторы приходят к выводу о том, что ИФН- $\alpha$  усиливает возбуждающие процессы на пресинаптическом уровне (Qin et al. 2012).

Противоположное депрессорное влияние ИФН на частоту фоновой активности нейронов задних рогов спинного мозга было отмечено при концентрации 25 нг/мл, что сопоставимо с концентрациями, вызывающими модулирующий эффект в афферентном синапсе вестибулярного эпителия (Liu et al. 2016).

В противоположность ИФН эндогенный антибиотик ННР-1 в пиколярных концентрациях ингибировал уровень фоновой активности,

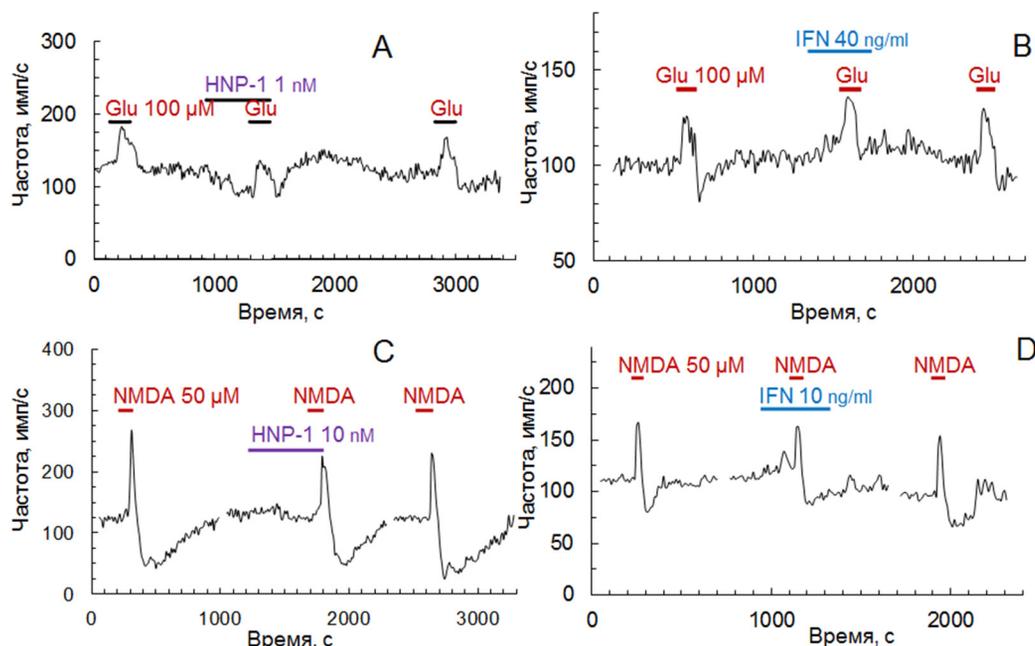


Рис. 2. Изменение амплитуды ответов L-Glu и агониста ионотропных глутаматных рецепторов NMDA на фоне перфузии синаптической области растворами ДЕФ (ННР-1) (А, С) и ИФН  $\alpha 2b$  (В, D).

Оригинальные записи опытов

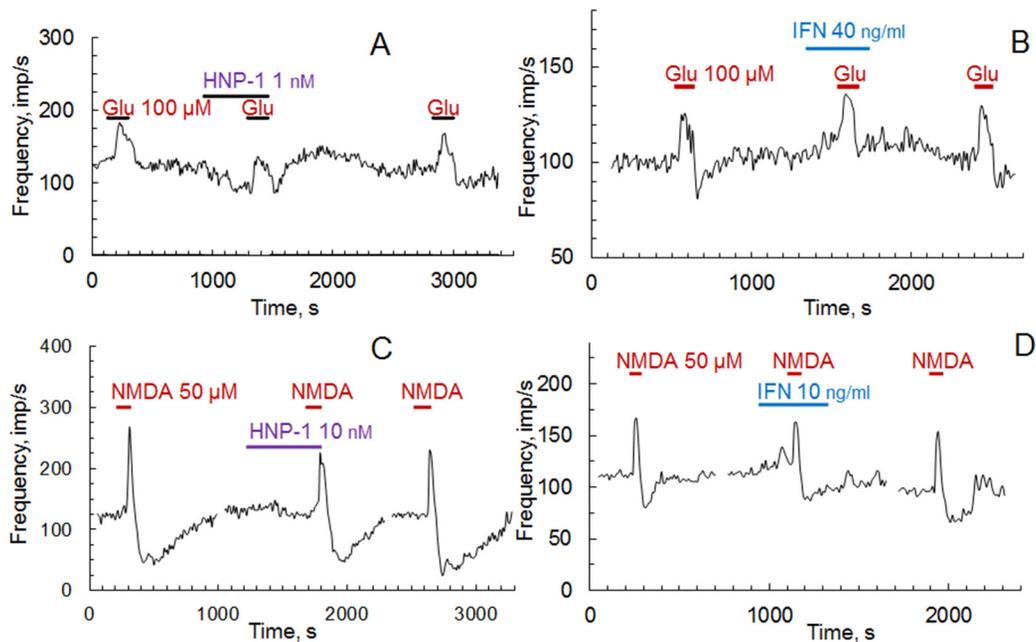


Fig. 2. Effects of DEF (HNP-1) (A, C) and IFN  $\alpha$ 2b (B, D) on the amplitude of L-Glu and NMDA evoked responses. Original records of experiments

а его тормозный максимальный эффект наблюдался при наномолярных концентрациях.

Сопоставляя микромолярный уровень антибактериального действия дефенсина (Azimova et al. 2015; Raj, Dentino 2002) и пикомолярные концентрации его нейроиммуномодулирующего влияния в вестибулярном эпителии, можно предположить, что модуляция глутаматергической синаптической передачи в волосковых клетках осуществляется с участием механизмов, отличных от иммунологических.

В вестибулярном эпителии основным медиатором является глутамат, спонтанное выделение которого из базальной мембраны волосковой клетки обуславливает фоновую активность афферентных волокон вестибулярных нервов, которая осуществляется путем активации AMPA рецепторов постсинаптической мембраны (Bonsacquet et al. 2006). Обращает на себя внимание тот факт, что, несмотря на различный вектор влияния ДЕФ и ИФН на уровень фоновой активности, оба вещества уменьшают амплитуду ответов на аппликацию L-Glu и NMDA относительно нового ими созданного уровня. Это предполагает, что ионотропные глутаматные рецепторы NMDA и AMPA подтипов являются мишенью различного нейроиммунологического влияния молекул врожденного иммунитета.

Факт разнонаправленного влияния ДЕФ и ИФН на уровень фоновой активности гипо-

тетически можно объяснить различными механизмами влияния исследуемых веществ на пре- и постсинаптическом уровне. Ранее нами было показано, что депрессорный эффект ДЕФ на фоновую активность афферентных волокон осуществляется с участием  $\mu$ - и  $\kappa$ -опиатных рецепторов на пре- и постсинаптическом уровне (Ryzhova et al. 2013), что однако не исключает и другие механизмы влияния ДЕФ, отличные от опиоидных.

ИФН может оказывать нейроиммуномодулирующее действие посредством целого ряда механизмов. ИФН связывается со специфическими рецепторами интерферона IFNRI (Cohen et al. 1995) и с опиатными рецепторами (Panchenko et al. 1987), которые модулируют синаптическую передачу на пре- и постсинаптическом уровне (Reeves et al. 2022). Показано, что ИФН облегчает выход медиаторов из пресинаптических мембран и изменяет их обратный захват (Miller et al. 2013). ИФН может косвенно изменять уровень фоновой активности афферентного синапса посредством влияния на медиаторные процессы эфферентной системы, модулируя допаминергическую и холинергическую синаптическую передачу.

Механизмы влияния интерферона на синаптические процессы в вестибулярном эпителии остаются совершенно неизученными. Отсутствуют данные о локализации рецепторов

интерферона на волосковых и опорных клетках, и, следовательно, остается открытым вопрос о модулирующем влиянии JAK-STAT сигнального каскада на функцию афферентного синапса. Совершенно неисследованным остается вопрос и о вовлечении опиоидной системы в модулирующий эффект интерферона.

Даже эти немногочисленные данные указывают на наличие различных механизмов в модуляции синаптической функции вестибулярного эпителия со стороны иммунной системы.

### **Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### **Conflict of Interest**

The authors declare that there is no conflict of interest.

### **Соответствие принципам этики**

При проведении исследований авторы руководствовались этическими принципами, изложенными в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для эксперимента и других научных целей».

### **Ethics Approval**

When conducting research, authors were guided by the ethical principles set out in the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes”.

### **Вклад авторов**

а. Рыжова Ирина Викторовна — концепция статьи, проведение экспериментов, анализ экспериментальных данных, статистическая об-

работка результатов, написание, подготовка и корректировка рукописи;

б. Тобиас Татьяна Витальевна — проведение экспериментов, анализ экспериментальных данных, статистическая обработка результатов, подготовка графических материалов, подготовка и корректировка рукописи.

### **Author Contributions**

a. Irina V. Ryzhova developed the concept of the article, conducted experiments, analyzed experimental data, performed statistical data processing, wrote, edited and proofread the article;

b. Tatyana V. Tobias conducted experiments, analyzed experimental data, performed statistical data processing, designed the figures, drafted and proofread the article.

### **Благодарности**

Авторы выражают благодарность О. В. Шамовай, чл.-корр. РАН, зав. отдела патологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» и ведущему инженеру указанного отдела Е. А. Протасову за предоставление интерферона. Авторы выражают благодарность заведующей кафедрой нормальной физиологии Первого государственного Санкт-Петербургского медицинского университета им. И. П. Павлова Е. В. Лопатиной за предоставление экспериментальных животных.

### **Acknowledgements**

The authors would like to thank O. V. Shamova, Corresponding Member of RAS, Head of Department of Pathology at the Institute of Experimental Medicine, and E. A. Protasov, Leading Engineer of the Department of Pathology, for providing interferon. The authors are also thankful to E. V. Lopatina, Head of the Department of Normal Physiology of the I. P. Pavlov First State St. Petersburg Medical University, for providing experimental animals.

### **Список сокращений**

ДФФ — дефенсин, ИФН — интерферон, HNP-1 — нейтрофильный дефенсин человека HNP-1, L-Glu — глутамат, NMDA — агонист ионотропных глутаматных рецепторов N-methyl-D-aspartic acid, TNF $\alpha$  — фактор некроза опухоли  $\alpha$ .

### **Abbreviations**

DEF—defensin, HNP-1—human neutrophil defensin HNP-1, L-Glu—glutamate, IFN—interferon, NMDA—ionotropic glutamate receptor agonist N-methyl-D-aspartic acid, TNF $\alpha$ —tumor necrosis factor  $\alpha$ .

## References

- Altun, Z., Olgun, Y., Ercetin, P. et al. (2014) Protective effect of acetyl-L-carnitine against cisplatin ototoxicity: Role of apoptosis-related genes and pro-inflammatory cytokines. *Cell Proliferation*, vol. 47, no. 1, pp. 72–80. <https://doi.org/10.1111/cpr.12080> (In English)
- Aminpour, S., Tinling, S. P., Brodie, H. A. (2005) Role of tumor necrosis factor- $\alpha$  in sensorineural hearing loss after bacterial meningitis. *Otology & Neurotology*, vol. 26, no. 4, pp. 602–609. <https://doi.org/10.1097/01.mao.0000178121.28365.0d> (In English)
- Andrianov, G. N., Ryzhova, I. V., Tobias, T. V. (2009) Dopaminergic modulation of afferent synaptic transmission in the semicircular canals of frog. *Neuro-Signals*, vol. 17, no. 3, pp. 222–228. <https://doi.org/10.1159/000224632> (In English)
- Azimova, V. T., Potaturkina-Nesterova, N. I., Nesterov, A. S. (2015) Endogennye antimikrobnnye peptidy cheloveka [Human endogenous antimicrobialpeptides (literature review)]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya — Modern Problems of Science and Education*, no. 1-1. [Online]. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=17746> (accessed 02.01.2023). (In Russian)
- Baek, M.-J., Park, H.-M., Johnson, J. M. et al. (2006) Increased frequencies of cochlin-specific T cells in patients with autoimmune sensorineural hearing loss. *The Journal of Immunology*, vol. 177, no. 6, pp. 4203–4210. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.6.4203> (In English)
- Barbieri, M. A., Cicala, G., Cutroneo, P. M. et al. (2019) Ototoxic adverse drug reactions: A disproportionality analysis using the Italian spontaneous reporting database. *Frontiers in Pharmacology*, vol. 10, article 1161. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01161> (In English)
- Bonsacquet, J., Brugeaud, A., Compan, V. et al. (2006) AMPA type glutamate receptor mediates neurotransmission at turtle vestibular calyx synapse. *The Journal of Physiology*, vol. 576, no. 1, pp. 63–71. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.116467> (In English)
- Cohen, B., Novick, D., Barak, S., Rubinstein, M. (1995) Ligand-induced association of the type I interferon receptor components. *Molecular and Cellular Biology*, vol. 15, no. 8, pp. 4208–4214. <https://doi.org/10.1128/MCB.15.8.4208> (In English)
- Erhardt, S., Schwieler, L., Nilsson, L. et al. (2007) The kynurenic acid hypothesis of schizophrenia. *Physiology & Behavior*, vol. 92, no. 1–2, pp. 203–209. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.05.025> (In English)
- Flook, M., Frejo, L., Gallego-Martinez, A. et al. (2019) Differential proinflammatory signature in vestibular migraine and meniere disease. *Frontiers in Immunology*, vol. 10, article 1229. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01229> (In English)
- Fujioka, M., Kanzaki, S., Okano, H. J. et al. (2006) Proinflammatory cytokines expression in noise-induced damaged cochlea. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 83, no. 4, pp. 575–583. <https://doi.org/10.1002/jnr.20764> (In English)
- Fujioka, M., Okano, H., Ogawa, K. (2014) Inflammatory and immune responses in the cochlea: Potential therapeutic targets for sensorineural hearing loss. *Frontiers in Pharmacology*, vol. 5, article 287. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00287> (In English)
- Haroon, E., Woolwine, B. J., Chen, X. et al. (2014) IFN- $\alpha$ -induced cortical and subcortical glutamate changes assessed by magnetic resonance spectroscopy. *Neuropsychopharmacology*, vol. 39, no. 7, pp. 1777–1785. <https://doi.org/10.1038/npp.2014.25> (In English)
- Highstein, S. M., Holstein, G. R., Mann, M. A., Rabbit, R. D. (2014) Evidence that protons act as neurotransmitters at vestibular hair cell-calyx afferent synapses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 111, no. 14, pp. 5421–5426. <https://doi.org/10.1073/pnas.1319561111> (In English)
- Highstein, S. M., Mann, M. A., Holstein, G. R., Rabbit, R. D. (2015) The quantal component of synaptic transmission from sensory hair cells to the vestibular calyx. *Journal of Neurophysiology*, vol. 113, no. 10, pp. 3827–3835. <https://doi.org/10.1152/jn.00055.2015> (In English)
- Holt, J. C., Chatlani, S., Lysakowski, A., Goldberg, J. M. (2007) Quantal and nonquantal transmission in calyx-bearing fibers of the turtle posterior crista. *Journal of Neurophysiology*, vol. 98, no. 3, pp. 1083–1101. <https://doi.org/10.1152/jn.00332.2007> (In English)
- Hosseini, S., Michaelsen-Preusse, K., Grigoryan, G. et al. (2020) Type I interferon receptor signaling in astrocytes regulates hippocampal synaptic plasticity and cognitive function of the healthy CNS. *Cell Reports*, vol. 31, no. 7, article 107666. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107666> (In English)
- González-Garrido, A., Vega, R., Mercado, F. et al. (2015) Acid-Sensing ion channels expression, identity and role in the excitability of the cochlear afferent neurons. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, vol. 9, article 483. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00483> (In English)
- Jiang, M., Taghizadeh, F., Steyger, P. S. (2017) Potential mechanisms underlying inflammation-enhanced aminoglycoside-induced cochleotoxicity. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, vol. 11, article 362. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00362> (In English)
- Landegger, L. D., Vasilijic, S., Fujita, T. et al. (2019) Cytokine levels in inner ear fluid of young and aged mice as molecular biomarkers of noise-induced hearing loss. *Frontiers in Neurology*, vol. 10, article 977. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00977> (In English)

- Lassaletta, L., Calvino, M., Morales-Puebla, J. M. et al. (2019) Biomarkers in vestibular schwannoma-associated hearing loss. *Frontiers in Neurology*, vol. 10, article 978. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00978> (In English)
- Liu, C. C., Gao, Y. J., Luo, H. et al. (2016) Interferon alpha inhibits spinal cord synaptic and nociceptive transmission via neuronal-glia interactions. *Scientific Reports*, vol. 6, article 34356. <https://doi.org/10.1038/srep34356> (In English)
- Liu, W., Kämpfe Nordström, C., Danckwardt-Lillieström, N. et al. (2019) Human inner ear immune activity: A super-resolution immunohistochemistry study. *Frontiers in Neurology*, vol. 10, article 728. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00728> (In English)
- Loseva, E. V., Loginova, N. A., Akmaev, I. G. (2008) Rol' interferona-alfa v regulyatsii funktsij nervnoj sistemy [The role of interferon-alpha in regulation of nervous system functions]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*, vol. 39, no. 2, pp. 32–46. (In Russian)
- Mendes-Corrêa, M. C. J., Bittar, R. S. M., Salmito, N., Oitictca, J. (2011) Pegylated interferon/ribavirin-associated sudden hearing loss in a patient with chronic hepatitis C in Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, vol. 15, no. 1, pp. 87–89. [https://doi.org/10.1016/s1413-8670\(11\)70147-7](https://doi.org/10.1016/s1413-8670(11)70147-7) (In English)
- Miller, A. H., Haroon, E., Raison, C. L., Felger, J. C. (2013) Cytokine targets in the brain: Impact on neurotransmitters and neurocircuits. *Depression and Anxiety*, vol. 30, no. 4, pp. 297–306. <https://doi.org/10.1002/da.22084> (In English)
- Moser, T., Brandt, A., Lysakowski, A. (2006) Hair cell ribbon synapses. *Cell and Tissue Research*, vol. 326, no. 2, pp. 347–359. <https://doi.org/10.1007/s00441-006-0276-3> (In English)
- Nouvian, R., Beutner, D., Parsons, T. D., Moser, T. (2006) Structure and function of the hair cell ribbon synapse. *The Journal of Membrane Biology*, vol. 209, no. 2–3, pp. 153–165. <https://doi.org/10.1007/s00232-005-0854-4> (In English)
- Panchenko, L. F., Alyab'eva, T. N., Malinovskaya, V. V., Balashov, A. M. (1987) Vzaimodejstvie al'fa-interferona s opiatnymi retseptorami v mozge krysa [Alpha interferon interaction with opiate receptors in the rat brain]. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i meditsiny*, vol. 104, no. 7, pp. 87–89. (In Russian)
- Qin, Z.-F., Hou, D.-Y., Fang, Y.-Q. et al. (2012) Interferon-Alpha enhances excitatory transmission in substantia gelatinosa neurons of rat spinal cord. *Neuroimmunomodulation*, vol. 19, no. 4, pp. 235–240. <https://doi.org/10.1159/000335167> (In English)
- Rai, V., Wood, M. B., Feng, H. et al. (2020) The immune response after noise damage in the cochlea is characterized by a heterogeneous mix of adaptive and innate immune cells. *Scientific Reports*, vol. 10, no. 1, article 15167. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72181-6> (In English)
- Raison, C. L., Dantzer, R., Kelley, K. W. et al. (2010) CSF concentrations of brain tryptophan and kynurenines during immune stimulation with IFN- $\alpha$ : Relationship to CNS immune responses and depression. *Molecular Psychiatry*, vol. 15, no. 4, pp. 393–403. <https://doi.org/10.1038/mp.2009.116> (In English)
- Raj, P. A., Dentino, A. R. (2002) Current status of defensins and their role in innate and adaptive immunity. *FEMS Microbiology Letters*, vol. 206, no. 1, pp. 9–18. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb10979.x> (In English)
- Reeves, K. C., Shah, N., Muñoz, B., Atwood, B. K. (2022) Opioid receptor-mediated regulation of neurotransmission in the brain. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, vol. 15, article 919773. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.919773> (In English)
- Ryzhova, I. V., Nozdrachev, A. D., Tobias, T. V., Vershinina, E. A. (2018) Soluble guanylate cyclase as the key enzyme in the modulating effect of NO on metabotropic glutamate receptors. *Acta Naturae*, vol. 10, no. 2, pp. 71–78. PMID: 30116618. (In English)
- Ryzhova, I. V., Tobias, T. V., Andrianov, Yu. N., Nozdrachev, A. D. (2013) Rol' opiatnykh retseptorov v mekhanizme nejromoduliruyushchego vliyaniya endogennoho antibiotika defensina v vestibulyarnom epitelii lyagushki [The role of opiate receptors in the mechanism of neuromodulation of endogenous antibiotic defensine in the frog vestibular epithelium]. *Meditsinskij akademicheskij zhurnal — Medical Academic Journal*, vol. 13, no. 3, pp. 97–105. (In Russian)
- Ryzhova, I. V., Tobias, T. V., Nozdrachev, A. D. (2020) Antagonists D1 and D2 of dopamine receptors determine different mechanisms of neuroprotective action in the frog vestibular. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, vol. 492, no. 1, pp. 139–141. <https://doi.org/10.1134/S1607672920030084> (In English)
- Sadeghi, S. G., Pyott, S. J., Yu, Z., Glowatzki, E. (2014) Glutamatergic signaling at the vestibular hair cell calyx synapse. *Journal of Neuroscience*, vol. 34, no. 44, pp. 14536–14550. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0369-13.2014> (In English)
- Sharifian, M. R., Kamandi, S., Sima, H. R. et al. (2013) INF- $\alpha$  and ototoxicity. *BioMed Research International*, vol. 2013, article 295327. <https://doi.org/10.1155/2013/295327> (In English)
- Shi, X. (2016) Pathophysiology of the cochlear intrastrial fluid-blood barrier (review). *Hearing Research*, vol. 338, pp. 52–63. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2016.01.010> (In English)
- Svrakic, M., Pathak, S., Goldofsky, E. et al. (2012) Diagnostic and prognostic utility of measuring tumor necrosis factor in the peripheral circulation of patients with immune-mediated sensorineural hearing loss. *Archives of Otolaryngology — Head & Neck Surgery*, vol. 138, no. 11, pp. 1052–1058. <https://doi.org/10.1001/2013.jamaoto.76> (In English)

- Zhang, W., Dai, M., Fridberger, A. et al. (2012) Perivascular-resident macrophage-like melanocytes in the inner ear are essential for the integrity of the intrastrial fluid-blood barrier. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 109, no. 26, pp. 10388–10393. <https://doi.org/10.1073/pnas.1205210109> (In English)
- Zhang, J., Chen, S., Hou, Z. et al. (2015) Lipopolysaccharide-induced middle ear inflammation disrupts the cochlear intra-strial fluid-blood barrier through down-regulation of tight junction proteins. *PloS One*, vol. 10, no. 3, article e0122572. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122572> (In English)
- Zou, J., Pyykkö, I., Sutinen, P., Toppila, E. (2005) Vibration induced hearing loss in guinea pig cochlea: Expression of TNF- $\alpha$  and VEGF. *Hearing Research*, vol. 202, no. 1–2, pp. 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2004.10.008> (In English)



UDC 612.21

EDN QYQEKO

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-122-127>

## Breathing parameters in healthy men and women in supine, sitting, and standing positions

N. D. Shandybina<sup>✉1</sup>, S. S. Ananev<sup>1</sup>, T. A. Klishkovskaia<sup>2</sup>, A. Yu. Aksenov<sup>2</sup>, T. R. Moshonkina<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Saint Petersburg Electrotechnical University "LETI", 5 Professora Popova Str., Saint Petersburg 197022, Russia

### Authors

Natalia D. Shandybina, SPIN: [3735-5445](#), ORCID: [0000-0001-8332-1843](#), e-mail: [shandibinan@infran.ru](mailto:shandibinan@infran.ru)

Sergey S. Ananev, SPIN: [9675-4616](#), ORCID: [0000-0001-9757-7946](#), e-mail: [sergananev13@gmail.com](mailto:sergananev13@gmail.com)

Tatiana A. Klishkovskaia, Scopus AuthorID: [57194199945](#), ORCID: [0000-0001-5341-6446](#), e-mail: [t.klishkovskaia@outlook.com](mailto:t.klishkovskaia@outlook.com)

Andrey Yu. Aksenov, ORCID: [0000-0002-7180-0561](#), e-mail: [a.aksenov@hotmail.com](mailto:a.aksenov@hotmail.com)

Tatiana R. Moshonkina, SPIN: [8537-6871](#), ORCID: [0000-0002-8934-5253](#), ResearcherID: [Q-2141-2018](#), e-mail: [moshonkina@infran.ru](mailto:moshonkina@infran.ru)

**For citation:** Shandybina, N. D., Ananev, S. S., Klishkovskaia, T. A., Aksenov, A. Yu., Moshonkina, T. R. (2023) Breathing parameters in healthy men and women in supine, sitting, and standing positions. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 1, pp. 122–127. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-122-127> EDN QYQEKO

**Received** 10 February 2023; reviewed 4 April 2023; accepted 5 April 2023.

**Funding:** This study was supported by the State Program of the Russian Federation 47 GP "Scientific and Technological Development of the Russian Federation" (2019-2030) (0134-2019-0002).

**Copyright:** © N. D. Shandybina, S. S. Ananev, T. A. Klishkovskaia, A. Yu. Aksenov, T. R. Moshonkina (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](#).

**Abstract.** The present study aimed to investigate the relationship between postural stability, external breathing, and sex, as this area of research is not yet well explored. The study included 19 healthy participants, both male and female, and compared their breathing parameters in three positions: sitting, standing, and supine. The objective was to collect data to develop a non-contact method for recording external respiration. The analysis included measurements of vital capacity and forced vital capacity pulmonary tests, as well as parameters of natural breathing. We confirmed that the lung volume component was higher in males than in females in the sitting position. Additionally, postural influence on breathing was observed only in male participants, with no significant impact on females. Men also exhibited an increased respiratory rate in both standing and supine positions, as well as increased minute ventilation when standing as compared to sitting. Furthermore, men demonstrated higher maximum inspiratory and expiratory vital capacities in all positions as compared to women. These results have important implications not only for the development of non-contact methods for recording respiration but also in the studies of vertical stance, in clinical investigations.

**Keywords:** external breathing, tidal volume, vital capacity, respiratory rate, sex differences, posture

### Introduction

The human vertical pose is affected by the breathing parameters (Neiva et al. 2018), and vice versa, the parameters of external breathing depend on the human pose (Kocjan et al. 2017). The same complex relationship exists between sex and breathing, and between sex and posture. Morphological and functional differences exist

between the male and female pulmonary systems (Dominelli, Molgat-Seon 2022). Moreover, the relationship between sex and postural stability is also complex (Dean et al. 2020).

There is a lack of comprehensive information on the mechanisms of maintaining an upright stance in humans, particularly with regards to sex-based differences in external respiration parameters. To investigate these mechanisms non-contact

methods for recording external respiration parameters are needed. We studied the breathing parameters of healthy men and women in standing, sitting, and supine positions to create the non-contact method for recording external respiration.

## Methods

### Subjects

Twenty volunteers participated in the study (ten males) (Table 1). Four men are smokers, all women are non-smokers. The subjects, by signing an informed consent to participate in the study, confirmed that they were healthy. To check the normal state of the respiratory system, we determined the Tiffeneau-Pinelli index.

### Protocol

Seven recordings of breathing parameters were performed in the following order:

- 1) sitting position: vital capacity and forced vital capacity pulmonary tests were conducted three times each;
- 2) sitting position; natural breathing; 1 min;
- 3) sitting position; vital capacity pulmonary tests, three times each;
- 4) standing position; natural breathing; 1 min;
- 5) standing position; vital capacity tests, three times each;
- 6) supine position; natural breathing; 1 min;
- 7) supine position; vital capacity tests, three times each.

All pulmonary tests were performed in accordance with the Guidelines of the Russian Respiratory Society (Aysanov et al. 2021).

### Equipment

The Diamant KM-AP-01 clinical spiograph (Diamant LLC, Russia) was used for recording No. 1. The system combining PowerLab C, Octal Bio Amp and Spirometry Pod with a 1000 L respiratory flow

head (ADInstruments Pty Ltd, Australia) was used for recordings No. 2–7.

Before each recording of the breathing, the equipment was calibrated using a one-liter calibration syringe.

### Tested breathing parameters

The following breathing parameters were obtained in recording No. 1: tidal volume (TV) calculated from the forced vital capacity test, inspiratory vital capacity (IVC), expiratory vital capacity (EVC), forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in the first second during forced exhalation after maximal inspiration (FEV1), peak expiratory flow (PEF), and the FEV1/FVC ratio (Tiffeneau-Pinelli index).

In recordings No. 2–7, the following parameters were registered: TV from the entire recording, minute ventilation (MV), respiratory rate (RR), maximum inspiratory vital capacity ( $IVC_{max}$ ), and maximum expiratory vital capacity ( $EVC_{max}$ ). To register  $IVC_{max}$  and  $EVC_{max}$ , we asked participants to perform 3–5 series of maximum inspiration followed by maximum expiration.

### Statistical analysis

Data were presented as median  $\pm$  standard deviation and extremum range. Comparisons between sexes for anthropometric variables were performed using the Mann-Whitney test. Paired comparisons within sex subgroups were performed using the Wilcoxon signed-rank test for dependent variables. Spearman's correlation analysis was used.

## Results

One of the twenty participants, a 36 years old male had an FEV1/FVC ratio of 63% which indicated airway obstruction (Swanney et al. 2008), therefore we excluded his data from further analysis. The remaining participants had an FEV1/FVC ratio of over 75% ( $94.6 \pm 4.6\%$ ) which demonstrates

Table 1. Anthropometric parameters

	Men (N = 9)	Women (N = 10)	p-value <sup>1</sup>
Age (years)	31.5 $\pm$ 12.7 [18–55]	27.2 $\pm$ 9.4 [24–48]	p > 0.05
Weight (kg)	78.1 $\pm$ 27.5 [67–160]	60.1 $\pm$ 8.2 [60–78]	p < 0.01
Height (cm)	179.5 $\pm$ 5.7 [172–191]	169 $\pm$ 5.7 [158–175]	p < 0.01

Note: <sup>1</sup>—comparison between men and women.

the absence of obstructive and restrictive lung disease (Forced Expiration 1995).

The anthropometric characteristics of the entire group were divided based on sex (Table 1). The two sex subgroups were homogeneous in age but differed in weight and height ( $p < 0.01$ ).

The results of the study showed significant differences in TV, IVC, EVC, FVC, and PEF between men and women obtained from recording No. 1 (Table 2). FEV1 and FEV1/FVC ratio did not differ significantly. Men have higher TV, IVC, EVC, FVC, and PEF compared to women. These results are consistent with the global reference values for static lung volumes in individuals of European ancestry for men and women (Hall et al. 2021). However, there are currently no reference values for standing and supine positions.

The Spearman's correlation analysis showed that breathing parameters obtained in the sitting position were highly influenced by sex (Fig. 1).

There were significant negative ( $p < 0.01$ ) correlations between sex and breathing parameters which indicates differences between female and male breathing patterns. Women had lower TV, IVC, EVC, FVC and PEF (correlation coefficients were  $-0.70, -0.73, -0.60, -0.51$  and  $-0.61$ , respectively). The lung volume components also correlated with weight and height (Dominelli, Molgat-Seon 2022), which were higher in the men in our study group. There were also expected significant correlations between FVC and EVC ( $0.85, p < 0.001$ ), PEF and all volume characteristics regardless of sex. At the same time correlation between these volume breathing parameters in the subgroups was not similar in all cases. Coefficients in pairs EVC/FVC and EVC/PEF were over  $0.7$  ( $p < 0.01$ ) in the female subgroup, and these ones were  $\sim 0.5$  (non-significant) in the male subgroup.

To analyse the impact of posture, we used the sitting position as a control measurement and

Table 2. Respiratory parameters of males and females differed significantly in the sitting position ( $p < 0.05$ )

Sex	TV (l)	IVC (l)	EVC (l)	FVC (l)	PEF (l/s)
Male	1.06 ± 0.29	4.19 ± 1.04	5.07 ± 0.96	4.67 ± 1.08	9.96 ± 2.50
Female	0.63 ± 0.68	2.61 ± 0.55	3.62 ± 0.74	3.39 ± 0.82	6.96 ± 1.74

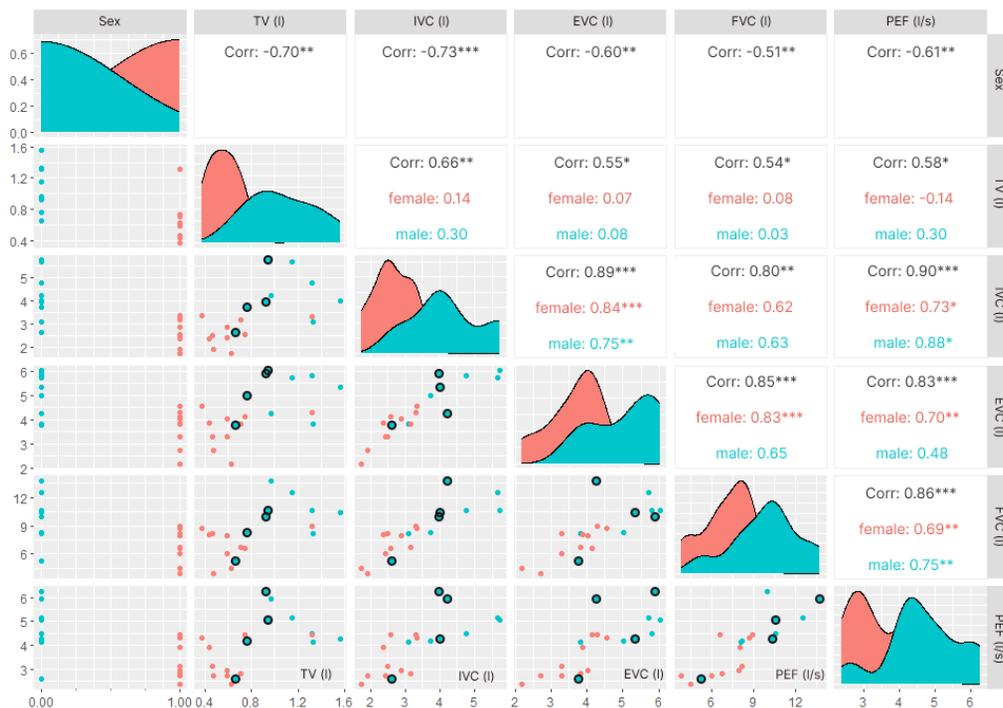


Fig. 1. Spearman's correlations between breathing parameters in sitting position grouped by sex. Correlations between breathing parameters and sex are shown in black font at the first row. Correlations between breathing parameters ungrouped by sex are shown in black font in all other rows. Correlations grouped by sex are shown in red (female) and blue (male) fonts. \*— $p < 0.05$ , \*\*— $p < 0.01$ , \*\*\*— $p < 0.001$ . Density plots are arranged diagonally, scatter plots are presented under the diagonal. The breathing data of smokers are circled in black

compared natural breathing data in the standing and supine positions separately in each subgroup (Table 3). The results showed that RR significantly increased in the supine and standing positions in men, while MV increased only in the standing position, whereas there were no changes in TV. The position did not affect breathing parameters in women. There were also statistically different TV values in the supine position between the two subgroups.

We calculated  $IVC_{max}$  and  $EVC_{max}$  from recordings No. 3, No. 5 and, No. 7 (Table 4). The data corresponds with the results obtained from natural breathing. Two subgroups showed statistically different  $IVC_{max}$  and  $EVC_{max}$  in all the registered positions (Table 4; Fig. 2).

#### *Influence of smoking on breathing parameters*

We checked whether the obtained difference in the parameters of male and female breathing is

associated with the presence of smokers in the male group. The analysis was repeated after excluding the data of four smokers and it showed the same correlations as demonstrated in Fig. 1 ( $-0.70$ ,  $-0.72$ ,  $-0.64$ ,  $-0.62$  and  $-0.62$  for TV, IVC, EVC, FVC and PEF, respectively, without smokers). The breathing data of four smokers was plotted in Fig. 1 and their TV, EVC, IVC and PEF were evenly distributed among the data of non-smokers.

### Conclusion

The significant differences in lung volume component between male and female subgroups observed in the sitting position were not revealed in the standing and supine positions. The position did not affect breathing parameters in women. The postural influence was observed in the male subgroup with a significant increase in RR in standing and supine positions and increased MV in the standing

Table 3. Spirometry data by sex in supine, sitting and standing positions during natural breathing

Sex	Position	TV (l)	MV (l)	RR (bpm)
Male	Supine	$0.78 \pm 0.20^{\alpha}$	$11.10 \pm 5.20$	$14.05 \pm 4.10^{\beta, \gamma}$
	Sitting	$0.80 \pm 0.13$	$10.65 \pm 2.85$	$13.25 \pm 3.10$
	Standing	$0.73 \pm 0.16$	$13.00 \pm 4.73^{\beta}$	$15.95 \pm 4.01^{\beta}$
Female	Supine	$0.56 \pm 0.08$	$9.64 \pm 2.93$	$18.60 \pm 3.06$
	Sitting	$0.52 \pm 0.25$	$9.25 \pm 4.12$	$15.90 \pm 2.70$
	Standing	$0.55 \pm 0.21$	$9.40 \pm 3.96$	$17.10 \pm 2.38$

Note:  $\alpha$ — $p < 0.05$  with female supine,  $\beta$ — $p < 0.01$  with male sitting,  $\gamma$ — $p < 0.01$  with male standing.

Table 4.  $IVC_{max}$  and  $EVC_{max}$  of males and females

Sex	Position	$IVC_{max}$ (l)	$EVC_{max}$ (l)
Male	Supine	$9.7 \pm 3.3^{\alpha}$	$9.8 \pm 3.2^{\alpha}$
	Sitting	$11.8 \pm 3.5^{\beta}$	$12.2 \pm 3.5^{\beta}$
	Standing	$9.8 \pm 4.7^{\gamma}$	$11.4 \pm 4.5^{\gamma}$
Female	Supine	$7.35 \pm 1.8$	$7.4 \pm 1.9$
	Sitting	$7.5 \pm 1.7$	$7.9 \pm 1.8$
	Standing	$7.9 \pm 1.8$	$7.8 \pm 1.9$

Note:  $\alpha$ — $p < 0.01$  with female supine,  $\beta$ — $p < 0.01$  with female sitting,  $\gamma$ — $p < 0.05$  with female standing.

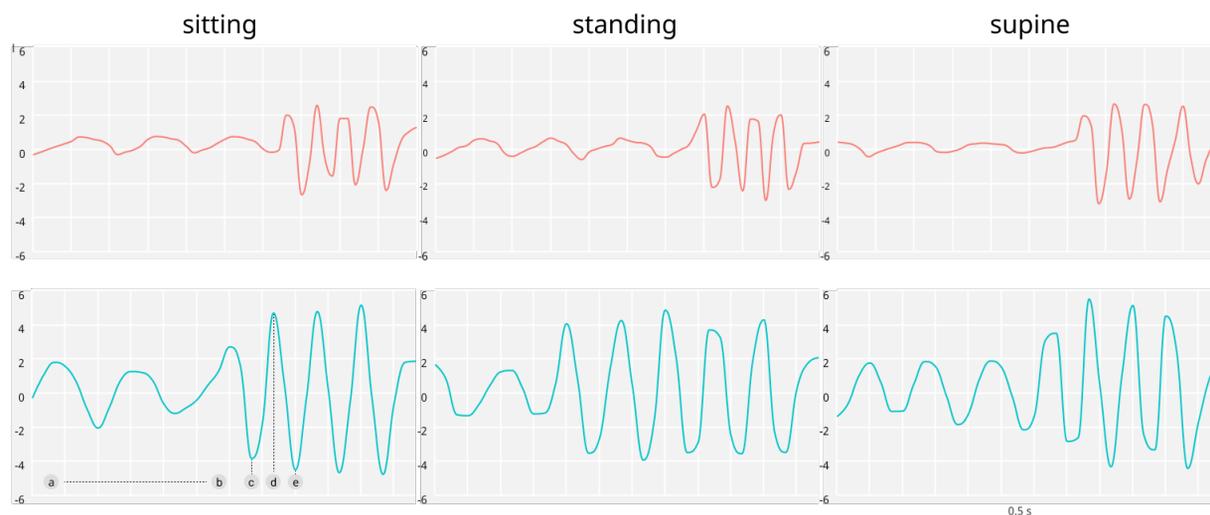


Fig. 2. Individual  $IVC_{max}$  and  $EVC_{max}$  in all registered positions in female EA, 42 y.o. at the upper part and male OV, 30 y.o. From a to b—natural breathing, from c to d— $IVC_{max}$ , from d to e— $EVC_{max}$ .

compared to the sitting position. Men also had statistically higher  $IVC_{max}$  and  $EVC_{max}$  in all positions compared to women.

The results obtained can be used in studies of the participation of respiration in maintaining vertical balance, in clinical studies. The authoritative clinical guidelines for spirometry (Graham et al. 2019) say that posture affects respiratory performance and there is no information that posture effects are different in the male and female subgroups. These data will be used for the development of non-contact methods for recording respiration.

### Conflict of Interest

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

### Ethics Approval

The procedures and investigations were approved by the Ethics Committee of Pavlov Institute of Physiology RAS (minutes No. 22–06, date

of approval 3 November 2022) and were performed in accordance with the Declaration of Helsinki.

### Author Contributions

- a. Natalia D. Shandybina—methodology, writing an article;
- b. Sergey S. Ananov—investigation;
- c. Tatiana A. Klishkovskaia—data processing;
- d. Andrey Yu. Aksenov—data processing;
- e. Tatiana R. Moshonkina—methodology, writing an article, supervision.

### Acknowledgments

The authors are grateful to E. Prazdnikova for her help with the research and A. Kudryashov for assisting with the subject recruitment.

### References

- Aysanov, Z. R., Kameneva, M. Yu., Chernyak, A. V. et al. (2021) *Spirometriya. Rukovodstvo Rossijskogo respiratirnogo obschestva [Spirometry. Guidelines of Russian Respiratory Society]*. [Online]. Available at: [https://pulmo.ru/upload/spirometriya\\_16\\_12\\_2021\\_extEd.pdf?t=1](https://pulmo.ru/upload/spirometriya_16_12_2021_extEd.pdf?t=1) (accessed 05.02.2023). (In Russian)
- Dean, C. J., Sell, T. C., Robertson, A. M. (2020) Sex-based differences in postural stability: A systematic review. *Duke Orthopedic Journal*, vol. 10, no. 1, pp. 1–9. (In English)
- Dominelli, P. B., Molgat-Seon, Y. (2022) Sex, gender and the pulmonary physiology of exercise. *European Respiratory Review*, vol. 31, no. 163, article 210074. <https://doi.org/10.1183/16000617.0074-2021> (In English)
- Forced Expiration. (1995) *Johns Hopkins University*. [Online]. Available at: [https://oac.med.jhmi.edu/res\\_phys/encyclopedia/forcedexpiration/forcedexpiration.html](https://oac.med.jhmi.edu/res_phys/encyclopedia/forcedexpiration/forcedexpiration.html) (accessed 28.01.2023). (In English)
- Graham, B. L., Steenbruggen, I., Miller, M. R. et al. (2019). Standardization of spirometry 2019 update. An official American thoracic society and European respiratory society technical statement. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 200, no. 8, pp. e70–e88. <https://doi.org/10.1164/rccm.201908-1590ST> (In English)

- Hall, G., Filipow, N., Ruppel, G. et al. (2021) Official ERS technical standard: Global Lung Function Initiative reference values for static lung volumes in individuals of European ancestry. *European Respiratory Journal*, vol. 57, no. 3, article 2000289. <https://doi.org/10.1183/13993003.00289-2020> (In English)
- Kocjan, J., Adamek, M., Gzik-Zroska, B. et al. (2017) Network of breathing. Multifunctional role of the diaphragm: A review. *Advances in Respiratory Medicine*, vol. 85, no. 4, pp. 224–232. <https://doi.org/10.5603/ARM.2017.0037> (In English)
- Neiva, P. D., Kirkwood, R. N., Mendes, P. L. et al. (2018) Postural disorders in mouth breathing children: A systematic review. *Brazilian Journal of Physical Therapy*, vol. 22, no. 1, pp. 7–19. <https://doi.org/10.1016/j.bjpt.2017.06.011> (In English)
- Swanney, M. P., Ruppel, G., Enright, P. L. et al. (2008) Using the lower limit of normal for the FEV1/FVC ratio reduces the misclassification of airway obstruction. *Thorax*, vol. 63, no. 12, pp. 1046–1051. <https://doi.org/10.1136/thx.2008.098483> (In English)