



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. 5 № 1 2024**

**Vol. 5 No. 1 2024**



1797

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/10.33910/2687-1270-2024-5-1>

2024. Том 5, № 1

2024. Vol. 5, 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

Е. А. Никитина (Санкт-Петербург, Россия)

Зам. главного редактора

О. А. Любашина (Санкт-Петербург, Россия)

### Редакционный совет журнала

А. П. Филаретова (Санкт-Петербург, Россия)

Н. А. Дюжикова (Санкт-Петербург, Россия)

К. Гиреш (Будапешт, Венгрия)

Т. С. Калинина (Новосибирск, Россия)

А. Н. Стрельцов (Санкт-Петербург, Россия)

### 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. Джебцова (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)

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

Объем 20,7 Мб

Подписано к использованию 01.07.2024

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

### Editorial Team

Editor-in-chief

Ekaterina A. Nikitina (St Petersburg, Russia)

Deputy Editor-in-chief

Olga A. Lyubashina (St Petersburg, Russia)

### Advisory Board

Lyudmila P. Filaretova (St Petersburg, Russia)

Natalia A. Dyuzhikova (St Petersburg, Russia)

Klara Gyires (Budapest, Hungary)

Tatyana S. Kalinina (Novosibirsk, Russia)

Aleksander N. Streltsov (St Petersburg, Russia)

### Editorial Board

Vyacheslav G. Alexandrov (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. Duzhikova (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)

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

Published at 01.07.2024

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.

Корректор М. А. Куракина

Редактор английского текста И. А. Наговицына, К. Ю. Рыбачук

Оформление обложки О. В. Рудневой

Верстка Д. В. Романовой



Санкт-Петербург, 2024

© Российский государственный

педагогический университет им. А. И. Герцена, 2024

## СОДЕРЖАНИЕ

Вступительная статья редакции .....	4
<b>Персоналии .....</b>	<b>6</b>
<i>Чередник И. А., Кашина Ю. В., Полищук С. В., Арделян А. Н.</i> К 95-летию Владимира Михайловича Покровского — создателя представлений о ведущей роли мозгового уровня в иерархической системе ритмогенеза сердца в целостном организме .....	6
<b>Обзоры .....</b>	<b>12</b>
<i>Парфенова Н. С. В. А.</i> Энгельгардт и его роль в развитии современной биохимической науки во второй половине XX века .....	12
<i>Катаев Д. А., Циркин В. И., Трухин А. Н., Трухина С. И.</i> Зависимость величины RMSSD кардиоинтервалограммы от специализации тренировочного процесса, этапа годовичного цикла подготовки и других факторов (обзор) .....	32
<b>Экспериментальные статьи .....</b>	<b>50</b>
<i>Халисов М. М., Беринцева А. В., Подзорова С. А., Крылов Б. В., Пеннийнен В. А.</i> Применение метода атомно-силовой микроскопии для исследования ответов механочувствительных каналов Piezo1 фибробластов сердца .....	50
<i>Буткевич И. П., Михайленко В. А., Вершинина Е. А.</i> Пренатальное влияние бупирона в модели гипоксического стресса на пространственное обучение, память и физиологический ответ у взрослых самцов и самок крыс .....	60
<i>Никитина Е. А.</i> О влиянии мутации <i>white</i> на обучение и память у дрозофилы при действии теплового шока .....	72
<i>Царева И. А., Иванова Г. Т., Лобов Г. И.</i> Функциональное состояние артерий и сосудов микроциркуляторного русла на ранней стадии метаболического синдрома у самцов и самок крыс .....	83
<i>Червова И. В., Шахматов И. И., Обухова Л. Е., Бондарчук Ю. А.</i> Устойчивые сочетания поведенческих актов у высокоэнтропийных и низкоэнтропийных крыс в процессе адаптации к условиям «открытого поля» .....	94

## CONTENTS

Introductory article by the Editorial .....	4
<b>Personalities .....</b>	<b>6</b>
<i>Cherednik I. L., Kashina Yu. V., Polischuk S. V., Ardelyan A. N.</i> To mark the 95 <sup>th</sup> anniversary of Vladimir M. Pokrovsky, the promoter of the leading role of the brain level in the hierarchy of cardiac rhythmogenesis in the whole organism .....	6
<b>Reviews .....</b>	<b>12</b>
<i>Parfenova N. S. V.</i> Engelhardt and his role in the development of modern biochemistry in the second half of the 20 <sup>th</sup> century .....	12
<i>Kataev D. A., Tsirkin V. I., Trukhin A. N., Trukhina S. I.</i> Review of dependence of the RMSSD value in a cardiointervalogram on the specialization of the training process, stage of the annual training cycle and other factors .....	32
<b>Experimental articles .....</b>	<b>50</b>
<i>Khalisov M. M., Berintseva A. V., Podzorova S. A., Krylov B. V., Penniyaynen V. A.</i> Atomic force microscopy as a method to study the responses of mechanosensitive Piezo1 channels of cardiac fibroblasts .....	50
<i>Butkevich I. P., Mikhailenko V. A., Vershinina E. A.</i> Prenatal influence of buspirone in the hypoxia-induced stress model on spatial learning, memory and physiological response in adult male and female rats .....	60
<i>Nikitina E. A.</i> The effect of the <i>white</i> mutation on learning and memory in <i>Drosophila</i> under heat shock .....	72
<i>Tsareva I. A., Ivanova G. T., Lobov G. I.</i> Functional state of arteries and microvasculature at the early stage of metabolic syndrome in male and female rats .....	83
<i>Chervova I. V., Shakhmatov I. I., Obukhova L. E., Bondarchuk Yu. A.</i> Stable combinations of behavioral acts in high- and low-entropy rats during adaptation to the 'open field' .....	94

## Вступительная статья редакции

*Глубокоуважаемые коллеги!*

Перед вами первый за 2024 год номер журнала «Интегративная физиология», цель которого — способствовать развитию интегративной физиологии, нацеленной на понимание, каким образом каждый компонент организма работает как часть, интегрированная в функционирование целостного организма.

В первом номере журнала вниманию читателей предлагаются обзорные и экспериментальные статьи о взаимодействии систем организма для обеспечения его функционирования в разных условиях. Представлены результаты экспериментальных исследований о функциональном состоянии артерий и сосудов микроциркуляторного русла на ранней стадии метаболического синдрома, о зависимости кардиоинтервалограммы от специализации тренировочного процесса. Две экспериментальные статьи посвящены проблеме обучения и памяти в модели гипоксического стресса и при действии теплового шока. В отдельной статье анализируется вопрос о применении метода атомно-силовой микроскопии для исследования ответов механочувствительных каналов Piezo1 фибробластов сердца.

Этим номером открывается пятый год жизни нашего журнала. Вместе с командой авторов статей, рецензентов, редколлегией за четыре года с момента выхода первого номера журнала в 2020 году (т. 1, № 1) мы добились значимых успехов. Журнал является изданием открытого доступа, входит в РИНЦ и имеет  $IF = 0,372$ . В 2023 году журнал вошел в список ВАК по специальностям: 1.5.5. Физиология человека и животных (медицинские науки), 1.5.7. Генетика (биологические науки), 5.12.2. Междисциплинарные исследования мозга (биологические науки).

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

С благодарностью ко всем, кто сделал реальностью выпуск первого номера журнала «Интегративная физиология» за 2024 год.

*С уважением,  
председатель редакционного совета журнала  
Л. П. Филаретова*

## Introductory article by the Editorial

*Dear Colleagues,*

This is the first issue of the journal *Integrative Physiology* in 2024. Its mission is to encourage the development of integrative physiology as a science that aims to gain an insight into how every integral part of human body contributes to its functioning.

The first issue of the journal offers review and experimental articles on the interaction of organism systems to ensure its functioning under various conditions. It presents the results of two experimental studies. One of them focuses on the functional state of arteries and microcirculatory vessel systems at the early stage of metabolic syndrome. The other discusses the relation between the results of a cardio intervalogram and the type of sports training. Two experimental articles explore learning and memory patterns in simulated hypoxic stress and heat shock. Another article analyses the use of atomic force microscopy to study the responses of mechanosensitive Piezo1 channels in heart fibroblasts.

This issue marks the beginning of the fifth year of *Integrative Physiology*. Along with the team of article authors, reviewers, and editorial board members, over the four years since the first issue of the journal in 2020 (Volume 1, Issue 1), we have made remarkable progress. Today, *Integrative Physiology* is an open-access publication included in the Russian Science Citation Index (RSCI) with an Impact Factor (IF) of 0.372. In 2023, *Integrative Physiology* was added to the list of journals approved by the Russian Ministry of Science and Higher Education for the publication of results of doctoral research. In particular, it covers the following specialties: 1.5.5. Human and Animal Physiology (Medical Sciences), 1.5.7. Genetics (Biological Sciences), and 5.12.2. Interdisciplinary Brain Research (Biological Sciences).

I welcome the readers of the first issue of the journal *Integrative Physiology* and look forward to manuscripts containing new knowledge about the physiological processes at the level of the whole organism. We invite manuscripts on the mechanisms that coordinate the interaction of the body systems to ensure its functioning.

I would like to extend my appreciation to all those who made the first issue of the journal *Integrative Physiology* for 2024 a reality.

*Head of the Editorial Council  
Lyudmila P. Filaretova*



УДК 612.1 + 612.8

EDN PSJNMD

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-6-11>

## К 95-летию Владимира Михайловича Покровского — создателя представлений о ведущей роли мозгового уровня в иерархической системе ритмогенеза сердца в целостном организме

И. А. Чередник<sup>1</sup>, Ю. В. Кашина<sup>1</sup>, С. В. Полищук<sup>✉1</sup>, А. Н. Арделян<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Кубанский государственный медицинский университет, 350063, Россия, г. Краснодар, ул. М. Седина, д. 4

### Сведения об авторах

Ирина Леонидовна Чередник, SPIN-код: 3771-2100, Scopus AuthorID: 7004027261, ResearcherID: I-4579-2017, ORCID: 0000-0002-2988-954X, e-mail: [ilch2009@rambler.ru](mailto:ilch2009@rambler.ru)

Юлия Викторовна Кашина, SPIN-код: 3132-5516, Scopus AuthorID: 57206482170, ResearcherID: AAF-6042-2019, ORCID: 0000-0002-3997-5601, e-mail: [yulia-kashina@yandex.ru](mailto:yulia-kashina@yandex.ru)

Светлана Владимировна Полищук, SPIN-код: 8159-1499, ResearcherID: AAB-3411-2022, ORCID: 0000-0003-1147-5311, e-mail: [svpolischuk@rambler.ru](mailto:svpolischuk@rambler.ru)

Александр Николаевич Арделян, SPIN-код: 8230-4232, Scopus AuthorID: 57190250830, ResearcherID: AAB-8692-2022, ORCID: 0000-0002-7882-2595, e-mail: [ardel@bk.ru](mailto:ardel@bk.ru)

**Для цитирования:** Чередник, И. А., Кашина, Ю. В., Полищук, С. В., Арделян, А. Н. (2024) К 95-летию Владимира Михайловича Покровского — создателя представлений о ведущей роли мозгового уровня в иерархической системе ритмогенеза сердца в целостном организме. *Интегративная физиология*, т. 5, № 1, с. 6–11. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-6-11> EDN PSJNMD

**Получена** 9 февраля 2024; прошла рецензирование 20 апреля 2024; принята 22 апреля 2024.

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

**Права:** © И. А. Чередник, Ю. В. Кашина, С. В. Полищук, А. Н. Арделян (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

**Аннотация.** 3 ноября 2023 года исполнилось 95 лет профессору кафедры нормальной физиологии Кубанского государственного медицинского университета Владимиру Михайловичу Покровскому, заслуженному деятелю науки России, доктору медицинских наук, заведующему кафедрой с 1973 по 2021 г. В. М. Покровский показал, что формирование ритма сердца в целостном организме осуществляется иерархической системой, включающей мозговую и внутрисердечный уровни. Используемые оригинальные подходы и методы для исследования системы ритмогенеза сердца раскрывают талант исследователя. Предложенная В. М. Покровским залповая стимуляция эфферентных структур блуждающих нервов явилась адекватной экспериментальной моделью для изучения нервных влияний на сердце в организме. Стимуляция симпатических сердечных нервов выявила их модулирующее влияние на феномен синхронизации вагусного и сердечного ритмов. Предложенная методика получения сердечно-дыхательного синхронизма у всех людей, способных управлять дыханием в такт стимулятора с определенной частотой, показала, что при этом в продолговатом мозге в эфферентных ядрах блуждающих нервов формируются сигналы, поступающие к синоатриальному узлу, и сердце начинает сокращаться с частотой этих сигналов. Центральный генератор обеспечивает адаптивные реакции сердца в естественных условиях, подавляя внутрисердечный генератор, который поддерживает насосную функцию сердца тогда, когда центральная нервная система находится в состоянии глубокого торможения. При двусторонней одномоментной блокаде проведения возбуждения по блуждающим нервам в эксперименте у собак получена кратковременная остановка сердца — преавтоматическая пауза. Переход от центрального ритмовождения к автоматии синоатриального узла сопровождался снижением частоты сердечных сокращений, что свидетельствовало о проявлении принципа градиента автоматии. При моделировании снижения степени доминантности центрального уровня ритмогенеза у собак регистрировали нарастание электрокардиографических проявлений синдрома слабости

синусового узла, при этом фиксировали уменьшение сечения очага первоначального возбуждения в синоатриальной области сердца.

**Ключевые слова:** трудовая деятельность и научные достижения В. М. Покровского, формирование ритма сердца в организме человека и животных, сердечно-дыхательный синхронизм, преавтоматическая пауза, синдром слабости синусового узла

## To mark the 95<sup>th</sup> anniversary of Vladimir M. Pokrovsky, the promoter of the leading role of the brain level in the hierarchy of cardiac rhythmogenesis in the whole organism

I. L. Cherednik<sup>1</sup>, Yu. V. Kashina<sup>1</sup>, S. V. Polischuk<sup>✉1</sup>, A. N. Ardelyan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kuban State Medical University, 4 M. Sedina Str., Krasnodar 350063, Russia

### Authors

Irina L. Cherednik, SPIN: 3771-2100, Scopus AuthorID: 7004027261, ResearcherID: I-4579-2017, ORCID: 0000-0002-2988-954X, e-mail: [ilch2009@rambler.ru](mailto:ilch2009@rambler.ru)

Yulia V. Kashina, SPIN: 3132-5516, Scopus AuthorID: 57206482170, ResearcherID: AAF-6042-2019, ORCID: 0000-0002-3997-5601, e-mail: [yulia-kashina@yandex.ru](mailto:yulia-kashina@yandex.ru)

Svetlana V. Polischuk, SPIN: 8159-1499, ResearcherID: AAB-3411-2022, ORCID: 0000-0003-1147-5311, e-mail: [svpolischuk@rambler.ru](mailto:svpolischuk@rambler.ru)

Alexander N. Ardelyan, SPIN: 8230-4232, Scopus AuthorID: 57190250830, ResearcherID: AAB-8692-2022, ORCID: 0000-0002-7882-2595, e-mail: [ardel@bk.ru](mailto:ardel@bk.ru)

**For citation:** Cherednik, I. L., Kashina, Yu. V., Polischuk, S. V., Ardelyan, A. N. (2024) To mark the 95<sup>th</sup> anniversary of Vladimir M. Pokrovsky, the promoter of the leading role of the brain level in the hierarchy of cardiac rhythmogenesis in the whole organism. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 1, pp. 6–11. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-6-11> EDN PSJNMD

**Received** 9 February 2024; reviewed 20 April 2024; accepted 22 April 2024.

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

**Copyright:** © I. L. Cherednik, Yu. V. Kashina, S. V. Polischuk, A. N. Ardelyan (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

**Abstract.** On November 3, 2023, Vladimir M. Pokrovsky — professor at the Department of Normal Physiology, Kuban State Medical University, honored scientist of Russia, Doctor of Medical Sciences and head of the Department from 1973 to 2021 — turned 95 years old. The researcher showed that cardiac rhythm in the whole organism is formed by a hierarchical system comprising the brain and intracardiac levels. His talent is exemplified by the original approaches and methods used to study the system of cardiac rhythmogenesis. The volley stimulation of efferent structures of the vagus nerves proposed by Pokrovsky was an experimental model well suited for studying nervous effects on the heart in the body. Stimulation of the sympathetic cardiac nerves revealed their modulating effect on the synchronization of vagal and cardiac rhythms. The method proposed to obtain cardio-respiratory synchrony in all people who are able to control their breathing in time with the beat of the stimulator at a certain frequency shows that efferent nuclei of the vagus nerves in the medulla oblongata form signals that come to the sinoatrial node, and the heart begins to contract with the frequency of these signals. The central generator provides adaptive responses of the heart under natural conditions by suppressing the intracardiac generator, which supports the pumping function of the heart when the central nervous system is in a state of deep inhibition. The experiment obtained a short-term cardiac arrest, or a preautomatic pause, in dogs with a bilateral one-time blockade of vagus nerve excitation. The transition from central rhythm guidance to the automation of the sinoatrial node was accompanied by a decrease in the heart rate, which indicated the gradient of automation principle. Simulation of a reduced dominance of the central level of rhythmogenesis in dogs showed an increase in electrocardiographic manifestations of the sinus node weakness syndrome and a decrease in the cross-section of the focus of initial excitation in the sinoatrial region of the heart.

**Keywords:** work and scientific achievements of V. M. Pokrovsky, heart rhythm development in the human and animal body, cardiorespiratory synchrony, preautomatic pause, weak sinus node syndrome

Заслуженному деятелю науки России, доктору медицинских наук, профессору Владимиру Михайловичу Покровскому 3 ноября 2023 года исполнилось 95 лет. Коллектив кафедры нормальной физиологии Кубанского государственного медицинского университета присоединяется к искренним поздравлениям, пришедшим в адрес Владимира Михайловича от физиологов и врачей России.

Окончив с отличием Кубанский государственный медицинский институт в 1951 году, В. М. Покровский пришел работать на кафедру нормальной физиологии, где прошло его становление до заведующего кафедрой (1973–2021) и на которой он продолжает работать в должности профессора (рис. 1). Работая с 1977 по 2003 год проректором по научной работе, В. М. Покровский развивал научно-организационную работу в вузе, создал в 1979 году диссертационный совет, в 1993 году воссоздал журнал «Кубанский научный медицинский вестник».



Рис. 1. Владимир Михайлович Покровский в рабочем кабинете с учебником «Физиология человека» под его редакцией, 2008 г. (Источник: <http://pokrovskii.kuban.ru/index.html>)

Fig. 1. Vladimir M. Pokrovsky in his office with the textbook *Human Physiology*, of which he was the editor, 2008 (URL: <http://pokrovskii.kuban.ru/index.html>)

За период с 2019 по 2023 год под руководством Владимира Михайловича защищены 1 докторская и 3 кандидатские диссертации, получен патент на полезную модель, успешно выполнено исследование при финансовой поддержке грантом «Наставник», опубликовано 36 статей в рецензируемых журналах, а также тезисы и методические пособия.

В. М. Покровский, придя на кафедру, быстро овладел техникой сложного физиологического эксперимента и постоянно проявлял творческий подход как в совершенствовании осваиваемых методов, так и в создании новых оригинальных демонстрационных методик, так как лекции в те годы всегда сопровождалась демонстрациями классических опытов на животных.

Владимир Михайлович является автором новых представлений о ритмогенезе сердца в целостном организме, основанных на научных доказательствах, которые получены им в последовательных сериях экспериментов. Результаты своих исследований В. М. Покровский объединил в монографии «Формирование ритма сердца в организме человека и животных» и сформулировал следующие выводы:

1. Синхронизация вагусного и сердечного ритмов возникает при залповой стимуляции эфферентных структур блуждающих нервов как в продолговатом мозге, так и ствола блуждающего нерва (Покровский 2007, 38). Качественное различие в реакции сердца на раздражение блуждающего нерва, осуществляемое традиционным способом, и при раздражении нерва залпами импульсов достигается за счет приближения параметров раздражения нерва при залповой стимуляции к естественной импульсации в нем и делает экспериментальную модель адекватной для изучения нервных влияний на сердце в организме (Покровский 2007, 23).

2. Активация симпатических влияний на сердце за счет стимуляции симпатических сердечных нервов, действия адреналина и синтетического препарата изадрина, а также посредством рефлекторной активации симпатoadrenalового механизма закономерно смещает синхронизацию вагусного и сердечного ритмов, достигаемую залповым раздражением блуждающего нерва, вверх по шкале частот. При значительных интенсивностях симпатических влияний полоса управляемого ритма захватывает и зону тахикардии. При блокаде симпатических эфферентов обзиданом диапазоны вагусно-сердечной синхронизации смещаются вниз — в сторону углубления брадикардии. Симпатическая нервная система оказывает модулирующее влияние на феномен синхронизации вагусного

и сердечного ритмов, имеющий парасимпатическую природу (Покровский 2007, 46). Этот феномен надежно дублирован: он имеет место как при стимуляции только одного правого или одного левого блуждающего нерва, так и при их совместной стимуляции. Феномен воспроизведен у 10 видов животных, что свидетельствует о его общебиологической природе (Покровский 2007, 56).

3. Для выявления возможности формирования ритма сердца в естественных условиях в точном соответствии с частотой сигналов, возникших в центральной нервной системе и поступающих к сердцу по блуждающим нервам, была создана методика для наблюдения и анализа этого процесса с помощью сознательного управления дыханием. В результате экспериментов показана возможность получения сердечно-дыхательного синхронизма у всех здоровых людей, способных осуществлять учащенное дыхание в задаваемом ритме фотостимуляции (Покровский 2007, 67).

4. Полученные экспериментально факты свидетельствуют о формировании сигналов в эфферентных ядрах блуждающего нерва в продолговатом мозге, при поступлении которых по блуждающим нервам к сердцу в нем генерируется ритм в точном соответствии с частотой поступивших сигналов. Логично было предпринять исследования, позволяющие выяснить взаимодействие сигналов, поступивших по блуждающим нервам к сердцу, с его собственной ритмогенной структурой — синоатриальным узлом (Покровский 2007, 71).

5. Анализ электрофизиологических процессов в синоатриальном узле сердца показал, что при воспроизведении сердцем ритма сигналов, поступающих к нему по блуждающим нервам как при искусственной стимуляции нервов, так и при формировании ритмических посылок к сердцу в центральной нервной системе, очаг инициации возбуждения в узле резко увеличивается. Важно, что степень увеличения площади очага инициации возрастает как при интенсификации раздражения блуждающих нервов в остром опыте, так и при восстановлении функционального состояния организма человека и животного после оперативного вмешательства. Наряду с увеличением площади очага инициации в наблюдениях на целостном организме возрастает роль надсегментарных мозговых структур в формировании ритма сердца. Обнаружение факта корреляции размеров очага инициации возбуждения и диапазона синхронизации сердечного и дыхательного ритмов открывает возможность неинвазивной оценки

функционального состояния организма человека (Покровский 2007, 120).

6. Показано, что в естественных условиях жизнедеятельности организма синоатриальный узел выполняет роль латентного водителя ритма. Ритм сердца формируется сигналами, поступающими к нему по блуждающим нервам. Площадь очага инициации возбуждения в синоатриальном узле сердца отражает степень доминантности мозгового уровня иерархической системы ритмогенеза (Покровский 2007, 132).

7. Интеграция двух иерархических уровней ритмогенеза обеспечивает надежность и функциональное совершенство системы генерации ритма сердца в целостном организме. Внутрисердечный генератор является жизнеобеспечивающим фактором, который поддерживает насосную функцию сердца тогда, когда центральная нервная система находится в состоянии глубокого торможения. Центральный генератор обеспечивает адаптивные реакции сердца в естественных условиях, подавляя автоматию синоатриального узла (Покровский 2007, 139). Проверка этого факта выполнена в хронических экспериментах с двусторонней одномоментной блокадой проведения возбуждения по блуждающим нервам у собак. При таком воздействии развивается кратковременная остановка сердца, представляющая собой преавтоматическую паузу, обусловленную переходом от центрального ритмовождения к проявлению собственной автоматии синоатриального узла. Факт перехода подтверждался уменьшением площади инициации возбуждения в синоатриальном узле. Переход сопровождался снижением частоты сердечных сокращений, что свидетельствовало о проявлении принципа градиента автоматии (Покровский 2007, 138). Понимание процессов формирования ритма сердца в целостном организме открывает возможности для решения целого ряда прикладных аспектов в экспериментальной и клинической кардиологии, а также в оценке функционального состояния организма как целостной системы (Покровский 2007, 141).

8. С позиций взаимодействия мозгового и внутрисердечного уровней иерархической системы ритмогенеза показана возможность моделирования ряда патогенетических механизмов возникновения нарушений ритма сердца, таких как синдром слабости синусового узла, внезапная сердечная смерть и других (Покровский 2007, 141).

9. Создана методика эксперимента, позволявшая у собак, полностью вышедших из наркоза, через трое суток после подготовительной

операции производить частичную блокаду проведения возбуждения по обоим блуждающим нервам посредством анодной блокады. Степень доминантности центрального (мозгового) уровня иерархической системы ритмогенеза оценивали по сечению очага первоначального возбуждения в синоатриальной области сердца. Сечение очага первоначального возбуждения в исходном состоянии (до блокады проведения возбуждения по блуждающим нервам) находилось под шестью электродами зонда. При увеличении степени частичной анодной двусторонней блокады блуждающих нервов наблюдали нарастание электрокардиографических проявлений синдрома слабости синусового узла от синусовой брадикардии, миграции водителя ритма к выскальзывающим сокращениям, синдрому тахикардии-брадикардии и, наконец, к ригидной брадикардии. При этом отмечалось уменьшение сечения очага первоначального возбуждения в синоатриальной области сердца (Покровский 2010, 232). Следовательно, в основе патогенеза синдрома слабости синусового узла «функциональной» природы лежит разобщение мозгового и внутрисердечного уровней иерархической системы ритмогенеза, описанной Владимиром Михайловичем Покровским.

Приведенные в книге представления об иерархической структуре формирования ритма сердца в организме позволяют по-новому оценить происхождение адаптивных реакций органа, рассмотреть патогенез ряда форм его аритмий и, следовательно, выработать пути патогенетической терапии, дать физиологическое осмысление параметрам вариабельности сердечного ритма (Ноздрачев 2008).

Владимир Михайлович Покровский, создав научную школу, стал победителем конкурса на получение гранта Президента Российской Федерации для поддержки ведущих научных школ РФ, под его руководством подготовлено 14 докторов наук и 94 кандидата наук, он является автором 539 печатных работ, в том числе 5 монографий, 15 патентов.

Многие поколения врачей помнят лекции Владимира Михайловича, нашедшие воплоще-

ние в созданном учебнике для образовательных учреждений высшего профессионального образования «Физиология человека», выпущенном издательством «Медицина» (Москва). Учебник регулярно переиздавался с 1997 года, в 2011 году вышел в третьем издании. В 2005 году Владимир Михайлович Покровский удостоен звания лауреата премии Правительства Российской Федерации в области образования.

Талантливый ученый, ведущий специалист в области физиологии, Владимир Михайлович всегда пользовался заслуженным уважением среди коллег и многочисленных учеников-врачей, гармонично сочетая плодотворную научную, педагогическую и общественную деятельность. Благодаря высокому профессионализму, организаторскому таланту, творческому потенциалу Владимир Михайлович является Героем труда Кубани, почетным гражданином города Краснодара и заслуженным деятелем науки России, Кубани и Республики Адыгея. Выражаем Владимиру Михайловичу Покровскому искреннюю благодарность за многолетний подвижнический труд и желаем ему здоровья, долголетия, неугасающего интереса к жизни и новых творческих дерзаний на благо российской науки.

### 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

Авторы участвовали в подготовке статьи в равной степени.

### Author Contributions

The authors made an equal contribution to the preparation of this article.

## Литература

- Ноздрачев, А. Д. (2008) Впечатления от книги В. М. Покровского «Формирование ритма сердца в организме человека и животных». *Успехи физиологических наук*, т. 39, № 3, с. 89–90.
- Покровский, В. М. (2007) *Формирование ритма сердца в организме человека и животных*. Краснодар: Кубань-книга, 143 с.
- Покровский, В. М. (2010) *Сердечно-дыхательный синхронизм в оценке регуляторно-адаптивных возможностей организма*. Краснодар: Кубань-книга, 244 с.

## References

- Nozdrachev, A. D. (2008) Vпечатleniya ot knigi V. M. Pokrovskogo "Formirovanie ritma serdtsaa v organizme cheloveka i zivotnykh". [Impressions of the book by V. M. Pokrovsky "Heart rhythm formation in the human and animal organism"]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*, vol. 39, no. 3, pp. 89–90. (In Russian)
- Pokrovskij, V. M. (2007) *Formirovanie ritma serdtsa v organizme cheloveka i zivotnykh* [Heart rhythm formation in the human and animal organism]. Krasnodar: Kuban-Kniga Publ., 143 p. (In Russian)
- Pokrovskij, V. M. (2010) *Serdechno-dykhatel'nyj sinkhronizm v otsenke regulyatorno-adaptivnykh vozmozhnostej organizma* [Cardiorespiratory synchronism used for estimation of regulatory-adaptive possibilities of organism]. Krasnodar: Kuban-Kniga Publ., 244 p. (In Russian)



Check for updates

Обзоры

УДК 577.1

EDN SDHKEM

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-12-31>

## В. А. Энгельгардт и его роль в развитии современной биохимической науки во второй половине XX века

Н. С. Парфенова <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт экспериментальной медицины, 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12

### Сведения об авторе

Нина Соломоновна Парфенова, SPIN-код: [9415-0241](https://orcid.org/0000-0002-1236-3058), Scopus AuthorID: [7003709364](https://orcid.org/7003709364), ResearcherID: [E-6672-2014](https://orcid.org/E-6672-2014), ORCID: [0000-0002-1236-3058](https://orcid.org/0000-0002-1236-3058), e-mail: [nina.parf@mail.ru](mailto:nina.parf@mail.ru)

**Для цитирования:** Парфенова, Н. С. (2024) В. А. Энгельгардт и его роль в развитии современной биохимической науки во второй половине XX века. *Интегративная физиология*, т. 5, № 1, с. 12–31. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-12-31> EDN SDHKEM

**Получена** 15 января 2024; прошла рецензирование 29 февраля 2024; принята 1 марта 2024.

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

**Права:** © Н. С. Парфенова (2024). 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 рассказывается о замечательном ученом Владимире Александровиче Энгельгардте, руководившем отделом биохимии Института экспериментальной медицины АМН СССР с 1944 по 1952 год и лабораторией биохимии животной клетки в Физиологическом институте им. И. П. Павлова АН СССР с 1944 по 1950 год. Представлены его наиболее значимые исследования, обогатившие отечественную и мировую науку. Прослеживается становление В. А. Энгельгардта как ученого, от врача в Красной армии во время Гражданской войны до академика, основателя Института молекулярной биологии. Описаны исследования В. А. Энгельгардта и его сотрудников в отделе биохимии ИЭМ, которые заложили основы современной молекулярной биологии. Известность и мировое признание В. А. Энгельгардт получил в 1930-е годы за открытие процесса окислительного фосфорилирования с участием АТФ. В начале 1940-х годов, вместе с М. Н. Любимовой, он открыл, что мышечный белок миозин обладает АТФ-азной активностью. За эту работу они были номинированы на Нобелевскую премию по физиологии или медицине. Отражена роль Энгельгардта в сохранении научных исследований, связанных с наследственностью, в условиях пагубного влияния известной сессии ВАСХНИЛ 1948 года. Ему пришлось работать в небывало трудное для жизни страны и отечественной науки время, но он явился эталоном высочайшей нравственности и поэтому выстоял несмотря ни на что.

**Ключевые слова:** Владимир Александрович Энгельгардт, Милица Николаевна Любимова, отдел биохимии Института экспериментальной медицины АМН СССР, лаборатория биохимии животной клетки Физиологического института им. И. П. Павлова АН СССР, биохимия, молекулярная биология, номинация на Нобелевскую премию

# V. A. Engelhardt and his role in the development of modern biochemistry in the second half of the 20<sup>th</sup> century

N. S. Parfenova <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Experimental Medicine, 12 Akademika Pavlova Str., Saint Petersburg 197022, Russia

## Author

Nina S. Parfenova, SPIN: [9415-0241](#), Scopus AuthorID: [7003709364](#), ResearcherID: [E-6672-2014](#), ORCID: [0000-0002-1236-3058](#), e-mail: [nina.parf@mail.ru](mailto:nina.parf@mail.ru)

**For citation:** Parfenova, N. S. (2024) V. A. Engelhardt and his role in the development of modern biochemistry in the second half of the 20<sup>th</sup> century. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 1, pp. 12–31. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-12-31> EDN [SDHKEM](#)

**Received** 15 January 2024; reviewed 29 February 2024; accepted 1 March 2024.

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

**Copyright:** © N. S. Parfenova (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](#).

**Abstract.** This paper is devoted to the well-known scientist Vladimir A. Engelhardt, who was at the head of the Department of Biochemistry, Institute of Experimental Medicine (IEM) of the USSR Academy of Medical Sciences, from 1944 to 1952, and the Laboratory of Animal Cell Biochemistry at the I. P. Pavlov Physiology Institute of the Academy of Sciences of the USSR from 1944 to 1950. Presented are his most famous investigations, which made a valuable contribution to science in Russia and across the globe. We chart Engelhardt's research pathway starting from his service in the Red Army as a regular physician during the Russian Civil War up to his membership in the Academy of Sciences of the USSR and input in the foundation of the Institute of Molecular Biology. We provide an overview of the research undertaken by Engelhardt himself and his colleagues from the Department of Biochemistry, IEM, who laid the foundations of present-day molecular biology. V. A. Engelhardt garnered world recognition in the 1930s following the discovery of oxidative phosphorylation involving ATP. In the early 1940s, together with Militsa Lyubimova, he detected ATPase activity in the myosin muscle protein — the finding that brought them a nomination for the Nobel Prize in Physiology or Medicine. Engelhardt's major discoveries earned him fame as one of the greatest biochemists in the first half of the 20<sup>th</sup> century, who laid the groundwork for functional and dynamic biochemistry. We also explore Engelhardt's role in preserving scientific work on heredity against a harsh political setting created by the August session of the Academy of Agricultural Sciences, 1948. Engelhardt had to work in a very hard period in the history of our country and science; however, he was the epitome of high morality and toughed it out.

**Keywords:** Vladimir A. Engelhardt, Militsa N. Lyubimova, Department of Biochemistry at the Institute of Experimental Medicine, Laboratory of Animal Cell Biochemistry at the I. P. Pavlov Physiology Institute of the Academy of Sciences of the USSR, biochemistry, molecular biology, Nobel Prize nomination

Владимир Александрович Энгельгардт (рис. 1) родился 22.11 (04.12) 1894 года, в Москве, в семье земского врача. По достижении школьного возраста родители отправили его в Царское село, где он начал учиться в общеобразовательной школе Е. С. Левицкой. Частная школа Елены Сергеевны Левицкой с 1900 по 1917 год была первой в России школой совместного обучения девочек и мальчиков, что было смелым экспериментом в русской педагогике, причем имела статус гимназии. Эмблемой школы был весенний цветок — подснежник, олицетворяющий ростки нового в структуре старой школы. Это начинание всячески поддерживал известный ученый филолог, прогрессивный педагог, директор мужской Царскосельской гимназии, поэт Иннокентий Федорович Анненский (1855–1909).

Лепку и рисование в этой школе преподавала будущая писательница исторических романов Ольга Дмитриевна Форш (1873–1961), тогда воспитанница знаменитого Павла Петровича Чистякова (1832–1919), учителя и наставника И. Е. Репина, М. А. Врубеля, В. Е. Савинского, В. И. Сурикова, В. А. Серова, В. Д. Поленова. В этой школе мальчик окончил шесть классов и переехал в Ярославль, где закончил гимназию. В 1913 году поступил на математический факультет Московского университета, затем перешел на медицинский, который закончил в 1919 году. По окончании университета был призван в Красную армию и направлен на Южный фронт, где работал на эвакуационном пункте врачом, служил главным врачом госпиталя. В 1920 году был назначен начальником санитарной части 2-й Конной армии,

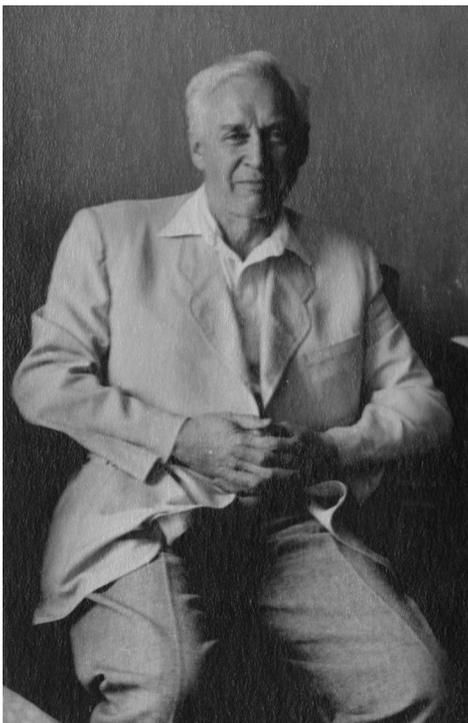


Рис. 1. Владимир Александрович Энгельгардт (1894–1984) (Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 1. Vladimir A. Engelhardt (1894–1984) (Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)

затем был главным врачом госпиталя Тифлисского эвакуопункта. Летом 1921 года был прикомандирован к Биохимическому институту (директор академик А. Н. Бах) в Москве, где работал научным сотрудником (рис. 2, 3) (Энгельгардт 1985).

В 1929 году Энгельгардт стал заведующим кафедрой биохимии медицинского факультета Казанского университета (1929–1933). С 1933 по 1940 год — профессор кафедры общей биохимии Ленинградского государственного университета (ЛГУ), а с 1939 года, после смерти Ефима Семеновича Лондона, — заведующий этой кафедрой. В 1940 году, в связи с расширением научной деятельности, В. А. Энгельгардт перешел на работу в Академию наук СССР, в Москву.

С 1944 по 1952 год Владимир Александрович возглавлял отдел биохимии Института экспериментальной медицины АМН СССР (ИЭМ) (рис. 4). Здание отдела сильно пострадало во время войны и блокады, его нужно было восстанавливать, чтобы возобновить исследования. Кто-то из сотрудников не вернулся с фронта, кто-то погиб в блокадном городе или не вернулся из эвакуации, поэтому предстояло фактически создать отдел заново. Его заместителем по отделу стал Владимир Сергеевич Шапот, организовавший и возглавивший лабораторию общей биохимии; также в отделе работали Яков Абрамович Эпштейн (рис. 5) (отец



Рис. 2. В. А. Энгельгардт (сидит в центре) среди сотрудников лаборатории животной клетки Института биохимии имени А. Н. Баха в Москве, 1936 г. (Фото из архива Института молекулярной биологии РАН)

Fig. 2. V. A. Engelhardt (seated in the center) with the staff of the Laboratory of Animal Cell at the Bach Institute of Biochemistry, Moscow, 1936 (Photo from the archive of the Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences)



Рис. 3. Милица Николаевна Любимова и Александр Евсеевич Браунштейн, 1925 г.  
(Фото из архива Института молекулярной биологии РАН)

Fig. 3. Militsa N. Lyubimova and Alexander E. Braunstein, 1925  
(Photo from the archive of the Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences)



Рис. 4. В отделе биохимии, на «дырке», 1948 или 1949 г.  
(Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 4. Photo taken in 1948 or 1949 on the second floor of the entrance hall at the Department of Biochemistry  
(Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)

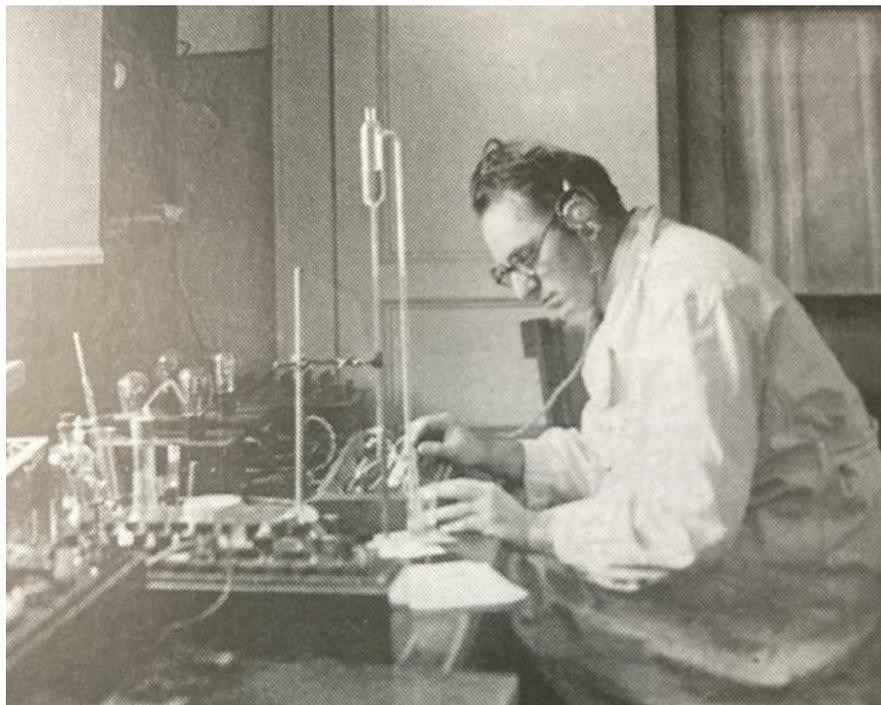


Рис. 5. Яков Абрамович Эпштейн (1899–1976)  
(Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 5. Yakov A. Epstein (1899–1976)  
(Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)

известного вирусолога ИЭМ Рут Яковлевны Поляк, ученицы Энгельгардта, всегда привносившей в свои исследования элементы молекулярной биологии), Соломон Абрамович Нейфах, Иосиф Фридрихович Сейц (рис. 6) и другие. Он собрал здесь высококвалифицированных специалистов, выполнявших под его руководством ряд исследований, составивших основу будущей молекулярной биологии (Парфенова, Голиков 2015, 112).

В. А. Энгельгардт организовал в отделе постоянно действующий семинар по актуальным вопросам биохимии, к участию в котором были приглашены видные ученые Ленинграда и других городов: Сергей Евгеньевич Северин, Георгий Ефимович Владимиров, Юлия Марковна Гефтер, Владимир Моисеевич Карасик, Семен Ефимович Бреслер и другие. По праву считается, что Энгельгардт является основоположником молекулярной биологии в нашей стране (Парфенова, Голиков 2015, 112).

Известность и мировое признание Энгельгардт получил еще в 1930-е годы за открытие процесса окислительного фосфорилирования с участием аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). Он первым высказал идею о наличии на клеточном уровне сопряжения между процессом фосфорилирования аденозиндифосфорной кислоты (АДФ) и дыханием, а в 1929–1931 годах



Рис. 6. Иосиф Фридрихович Сейц  
(Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 6. Iosif F. Seits (Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)

в Казани экспериментально доказал существование окислительного (дыхательного) фосфорилирования — процесса аэробного ресинтеза АТФ, сопряженного с клеточным дыханием. Энгельгардт установил, что энергия, освобождающаяся в окислительных процессах при дыхании клеток, не рассеивается в виде тепла, а накапливается в виде макроэргических фосфатных связей. Открытый Энгельгардтом процесс был назван окислительным фосфорилированием (Баев 1994; Ноздрачев и др. 2016; Парфенова, Голиков 2015; Энгельгардт, Лисовская 1955; Энгельгардт, Любимова 1936).

Известие об открытии появилось вначале в «Казанском медицинском журнале» в 1931 году (Энгельгардт 1931), а затем более подробно в 1932 году в «Biochemische Zeitschrift» в Германии.

В дальнейшем окислительное фосфорилирование стало предметом исследования множества лабораторий во всем мире и легло в основу нового направления биологической науки — биоэнергетики.

В начале 1940-х годов вместе со своей женой Милицей Николаевной Любимовой (1899–1975) (рис. 7, 8) он открыл, что мышечный белок миозин обладает АТФ-азной активностью (Ноздрачев и др. 2016; Энгельгардт 1985; Энгельгардт, Любимова 1942). За эту работу они были номинированы в 1946 году академиком Леоном Абгаровичем Орбели как сотрудники Физиологического института им. акад. И. П. Павлова на Нобелевскую премию по физиологии или медицине за «Химию мышц: открытие ферментативных свойств миозина» (Ноздрачев и др. 2016).

В 1951 году отдел биохимии организовал конференцию по применению изотопов в медицине и биологии, на которой вступительное и заключительное слово произнес В. А. Энгельгардт (Парфенова, Голиков 2015).

Под его руководством расшифрована первичная структура двух транспортных РНК, разработаны новые методы структурных исследований белков и нуклеиновых кислот (Смирнова 1955; Энгельгардт 1985).



Рис. 7. Владимир Александрович Энгельгардт, 1950 г. (Фото из архива Института молекулярной биологии РАН)

Fig. 7. Vladimir A. Engelhardt, 1950. (Photo from the archive of the Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences)



Рис. 8. Милица Николаевна Любимова — супруга и соратница В. А. Энгельгардта (Фото из архива Института молекулярной биологии РАН)

Fig. 8. Militsa N. Lyubimova, V. A. Engelhardt's wife and colleague (Photo from the archive of the Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences)

Энгельгардт указывал, что на основе методов генной инженерии можно «научить» бактерии производить сывороточный альбумин, иммуноглобулин. Институт молекулярной биологии выработал программу бактериального синтеза некоторых белков крови человека. Полученный интерферон стал важным фактором противовирусной защиты (Баев 1994; Мирзабеков, Баев 1994; Энгельгардт 1985).

Одним из первых в СССР Энгельгардт стал заниматься проблемами витаминологии. Велика роль ученого в раскрытии механизма биологического действия ряда витаминов и в налаживании промышленного получения витаминных препаратов (Баев 1994; Энгельгардт 1985; Engelhardt 1982).

Он организовал исследования молекулярных основ обратной транскрипции, которые в 1979 году были отмечены Государственной премией СССР (Мирзабеков, Баев 1994; Энгельгардт 1985).

При В. А. Энгельгардте в ИЭМ работал дружный коллектив высокопрофессиональных ученых. Это биохимики Владимир Сергеевич Шапот, Соломон Абрамович Нейфах, Борис Пантелеевич Головин, Иосиф Фридрихович Сейц, Елена Васильевна Смирнова, Кира Георгиевна Громова, Мария Васильевна Павлова, Мария Петров-

на Фомина, Алла Павловна Здродовская, Галина Васильевна Титова, Инна Ильинична Ниселовская, Маргарита Павловна Мельникова, Галина Владимировна Муха; химики Яков Абрамович Эпштейн и Александр Львович Ремизов; микробиолог Александра Михайловна Витринская (рис. 9–11) (Парфенова, Голиков 2015, 112).

Многих из них я еще застала в отделе, придя в 1972 году из Первого Ленинградского медицинского института в ординатуру к Виталию Сергеевичу Ильину, руководившему отделом биохимии после отъезда Энгельгардта в Москву.

В отделе биохимии ИЭМ предметом исследования являлись ферментативные системы фосфорилирования. Так как Энгельгардт ранее обнаружил, что основной сократительный белок мышц, миозин, способен взаимодействовать с носителем богатых энергией макроэргических фосфатных связей — аденозинтрифосфорной кислотой, в 1951 году Борисом Пантелеевичем Головиным была опубликована статья «О предполагаемом фосфорилировании миозина». Миозин оказался способным катализировать распад АТФ с освобождением энергии. В свою очередь, АТФ изменяет механические свойства миозина, то есть вызывает эффект, который лежит в основе мышечного сокращения. Этими работами была раскрыта связь между химическими



Рис. 9. Сотрудники В. А. Энгельгардта. Слева направо: Мария Васильевна Павлова, Маргарита Павловна Мельникова, Кира Георгиевна Громова, Соломон Абрамович Нейфах, Владимир Сергеевич Шапот, Галина Васильевна Титова, Ольга Николаевна Сытинская, Ольга Константиновна Докусова, Борис Пантелеевич Головин, Инна Ильинична Ниселовская (Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 9. V. A. Engelhardt's Associates (from left to right): Maria V. Pavlova, Margarita P. Melnikova, Kira G. Gromova, Solomon A. Neifakh, Vladimir S. Shapot, Galina V. Titova, Olga N. Sytinskaia, Olga K. Dokusova, Boris P. Golovin, Inna I. Niselovskaia (Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)



Рис. 10. На балконе отдела биохимии. 1954 г. В первом ряду, слева направо:  
М. П. Фомина, М. В. Павлова, Г. В. Муха. Во втором ряду: О. К. Докусова, И. И. Ниселовская,  
В. С. Туровский, О. Н. Сытинская, М. П. Мельникова, Г. В. Титова, А. П. Здродовская

Fig. 10. On the balcony of the Department of Biochemistry in 1954, first row from left to right: M. P. Fomina, M. V. Pavlova, G. V. Mukha. Second row: O. K. Dokusova, I. I. Niselovskaia, V. S. Turovsky, O. N. Sytinskaia, M. P. Melnikova, G. V. Titova, A. P. Zdrodovskaia



Рис. 11. На балконе отдела биохимии  
(Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 11. On the balcony of the Department of Biochemistry  
(Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)

и механическими явлениями в мышце и заложена основа для развития новой области исследования — механохимии мышц (Парфенова, Голиков 2015; Энгельгардт 1985; Энгельгардт и др. 1950). Кроме того, Борис Пантелеевич занимался коэнзимами адениловой системы при различных функциональных состояниях тканей. Его работа «Превращение козимазы в процессах энергетического обмена» была высоко оценена В. А. Энгельгардтом (Головин 1953). Другой важной проблемой, с большой глубиной изученной в работах сотрудников Энгельгардта (рис. 12), было взаимоотношение дыхания и брожения.

В 1938 году был открыт новый ступенеобразный (апотомический) путь окислительного распада углеводов в клетке, и на основе этого расшифрован механизм так называемого пастеровского эффекта угнетения брожения дыханием. В конце 1940-х — начале 1950-х годов в нашем отделе биохимии механизмами пастеровского эффекта занимался Владимир Сергеевич Шапот (1909–1989), Шапотик, как называли его в отделе. Шапот родился в Санкт-Петербурге в очень культурной семье. Он был сыном поэта-символиста Владимира Пяста, друга и биографа Александра Блока. В 1911 году Пяст, живший в это время в Парголово, познакомил Блока с Шуваловским парком, в котором все напоминало Шахматово. «Вечером мы с Пястом были в Ста-

ром Петергофе и смотрели закат в море. Очень хорошо провели время» (А. А. Блок. Письмо к Любови Дмитриевне Менделеевой-Блок. 31 мая 1912 г.). «Вчера вечером тихо гуляли с Пястом между Удельной и Коломягами», «С Пястом — в Сестрорецком Курорте (тишина, дождь, прекрасно)» (Варго и др. 2012). Мать Шапота Елена Павловна преподавала в консерватории иностранные языки. После революции они выжили благодаря тому, что мать, хорошо зная историю и искусство, проводила экскурсии по Эрмитажу для революционных матросов и солдат. Семья дружила с Дмитрием Дмитриевичем Шостаковичем. Шапот собирался стать пианистом, почти закончил консерваторию, когда в поездке по Белому морю познакомился с профессором биохимии, заинтересовался наукой и поступил на биологический факультет ЛГУ. В 1941 году ушел в народное ополчение. После войны в 1946–1953 годах был заведующим лабораторией в ИЭМ. Его дочь Ирина Владимировна Струнина-Шапот вспоминала: «Работали очень дружно. Шумными компаниями бывали у нас в доме на Старо-Невском. Всех принимала мама (супруга Шапота. — *Авт.*) Елена Георгиевна, работавшая зав. отделом рукописей Публичной библиотеки. В компанию входили Нейфах, Юзик Сейц, Дубинин, аспиранты». Сама Ирина четырехлетней девочкой часто проводила время на знаменитом отдельческом



Рис. 12. В. С. Ильин, В. А. Энгельгардт, М. П. Мельникова, Б. П. Головин и С. А. Нейфах (Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 12. V. S. Ilyin, V. A. Engelhardt, M. P. Melnikova, B. P. Golovin and S. A. Neifakh (Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)

балконе. В 1953 году после известных событий Шапот, как и все, был уволен и принял предложение заведовать кафедрой биохимии в Витебском мединституте. На кафедре у него было прозвище Коэнзим Q. В 1960 году его пригласили в Москву на заведование лабораторией биохимии опухолей Института канцерогенеза Всесоюзного онкологического научного центра АМН СССР. Исследования были посвящены проблемам взаимоотношений опухоли и организма на различных системных уровнях, химии нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов. Там же он стал членом-корреспондентом АМН СССР (Парфенова, Голиков 2015, 115–119).

Автор настоящей статьи познакомилась с Владимиром Сергеевичем летом 1985 года в недавно построенном пансионате для сотрудников Академии медицинских наук в Крюково, под Москвой. Узнав, что я из отдела биохимии ИЭМ, он весь месяц, встречая меня, вспоминал о своей работе в отделе. Чувствовалось, что это было самое счастливое время в его жизни. Вспоминал, где что располагалось, кто в какой комнате работал, и как его нечаянно заперли в холодной комнате (там в ватниках и в наше время часами работали с ферментами), и как по счастливой случайности его освободил и спас обходчик!

В отделе им и другими сотрудниками был выполнен ряд блестящих работ «О механизме пастеровского эффекта» (1945), «Пастеровский эффект и превращение аденозинтрифосфорной кислоты в клетке» (1947); «Стабилизация АТФ в ядерных эритроцитах» (1949). Вместе с Александрой Михайловной Витринской (шуточное прозвище в отделе «Кошка рыжая», в отличие от упомянутой выше Елены Васильевны Смирновой (рис. 13), которая была «Кошка белая») (Парфенова 2022, 125–126) была выполнена работа по изучению пастеровского эффекта на дрожжевых клетках, для чего ею, микробиологом по профессии, дрожжи выращивались в специальных средах, чтобы они потеряли бродильную способность, не лишившись привычного физиологического субстрата — сахара (Сейц, Энгельгардт 1949; Шапот 1945; Шапот, Витринская 1948).

В 1952 году Витринская вынуждена была покинуть отдел, где так успешно начиналась ее научная судьба. Забегая вперед, скажу, что в отделе биохимии ИЭМ, как и во всей стране, были трудные времена, только вместо Лысенко был некий Конопелько. Было даже свое «Дело врачей». В отделе сложилась непереносимая обстановка. Именно тогда академик Владимир Александрович Энгельгардт в знак протеста ушел из отдела биохимии и навсегда уехал в Москву!

Александра Михайловна уехала в Ялту и много лет заведовала биохимической лабораторией в одном из санаториев (рис. 14). В ее личном деле хранится выписка из приказа по Министерству здравоохранения Союза ССР от 20 ноября 1951 года, свидетельствующая об этом печальном событии — выписка как свидетельство времени. Очень способный исследователь, ценный Энгельгардтом, к научной работе она уже никогда не смогла вернуться! В Ленинград она вернулась через много лет уже пожилым и больным человеком. Научная жизнь ее была навсегда сломана (Парфенова 2020, 409–411).

В это же время, с 1944 по 1950 год, В. А. Энгельгардт работал в Физиологическом институте им. акад. И. П. Павлова АН СССР, где возглавлял лабораторию биохимии животной клетки (рис. 15, 16). В лаборатории проводились работы, направленные на изучение биохимических процессов, протекающих в покоящихся и функционирующих животных клетках (Ноздрачев и др. 2016; Парфенова, Голиков 2015).

Следует отметить, что время работы В. А. Энгельгардта в ИЭМ в 1944–1952 годах совпало

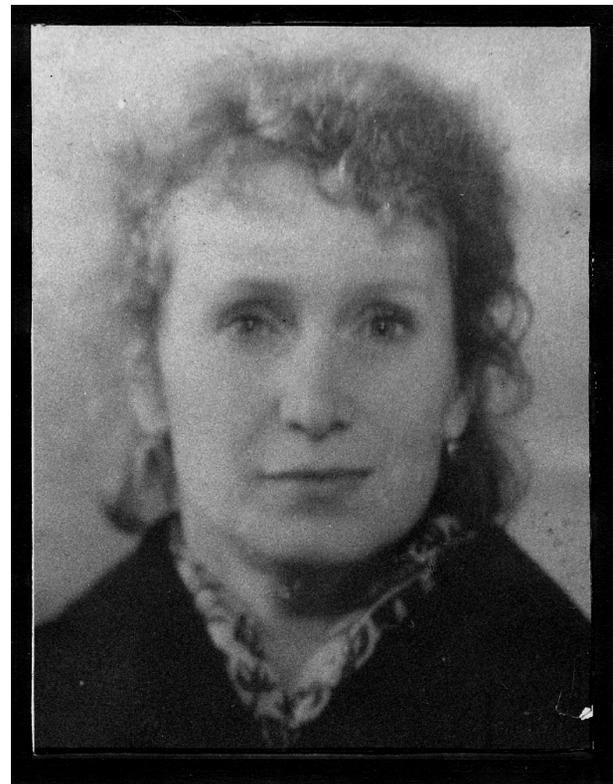


Рис. 13. Елена Васильевна Смирнова  
(Фото из архива Отдела биохимии Института  
экспериментальной медицины)

Fig. 13. Elena V. Smirnova (Photo from the archive  
of the Biochemistry Department of the Institute  
of Experimental Medicine)



Рис. 14. М. П. Мельникова и А. М. Витринская в Ялте, в санатории, где работала, покинув отдел биохимии, Александра Михайловна  
(Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 14. M. P. Melnikova and A. M. Vitrinskaia in Yalta, in the sanatorium where Vitrinskaia worked after leaving the Department of Biochemistry  
(Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)



Рис. 15. Сотрудники отдела биохимии А. Л. Ремизов, И. И. Ниселовская, М. П. Фомина и М. П. Мельникова (Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 15. Members of the Department of Biochemistry: A. L. Remizov, I. I. Niselovskaia, M. P. Fomina and M. P. Melnikova (Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)



Рис. 16. Александр Львович Ремизов  
(Фото из архива Отдела биохимии Института  
экспериментальной медицины)

Fig. 16. Alexander L. Remizov (Photo from the archive of  
the Biochemistry Department of the Institute  
of Experimental Medicine)

с известными трудностями, которые институт испытал не только в связи с восстановлением своей самостоятельности, потребовавшим пересмотра его структуры, уточнения направлений научных исследований, но и вследствие того пагубного влияния, которое оказали на развитие медицинской и биологической науки в нашей стране решения сессии Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук им. В. И. Ленина (ВАСХНИЛ) 1948 года, деятельность Т. Д. Лысенко, О. Б. Лепешинской и некоторых других псевдоученых, а также Научная сессия АН СССР и АМН СССР, посвященная проблемам физиологического учения академика И. П. Павлова в 1950 году, борьба с космополитизмом (рис. 17) (Лейбсон 1990; Парфенова, Голиков 2015).

Принципиальная позиция, занятая сотрудниками института Д. Н. Насоновым, П. Г. Светловым, В. П. Михайловым и другими по отношению к так называемому учению О. Б. Лепешинской, привела к ответным мерам, выразившимся в закрытии в 1950 году отдела общей морфологии и прекращению исследований по перспективным проблемам цитологии, гистологии и эмбриологии и увольнению из института Д. Н. Насонова и многих его коллег (Парфенова, Голиков 2015, 110).

В середине 1950 года В. А. Энгельгардт ушел из Физиологического института им. акад.



Рис. 17. В гостях у Трофима Денисовича Лысенко. 1958 г. Справа налево: Т. Д. Лысенко, П. Л. Капица,  
В. А. Энгельгардт (Фото из архива Института молекулярной биологии РАН)

Fig. 17. Visiting Trofim D. Lysenko. From right to left: T. D. Lysenko, P. L. Kapitsa, V. A. Engelhardt, 1958.  
(Photo from the archive of the Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences)

И. П. Павлова, а в 1952 был вынужден покинуть Институт экспериментальной медицины. Он не согласился организовать биохимические исследования, развивающие «учение» Лепешинской, потому что работать в таких условиях порядочному и честному исследователю было чрезвычайно трудно. Стенографические записи заседаний ученого совета ИЭМ, собраний, заседаний аттестационных комиссий, хранящиеся в Центральном государственном архиве научно-технической документации Санкт-Петербурга, оставляют очень тяжелое впечатление. Не истинные научные данные, а партийность, «связь с народом» декларировались как первейшие качества советского ученого. Одним из документов является стенографический отчет заседания ученого совета, посвященного обсуждению решений августовской сессии ВАСХНИЛ. Участникам таких заседаний приходилось каяться, бичевать себя и других, оправдываться. Создавались комиссии по проверке научных работ сотрудников ИЭМ для выявления в них элементов менделизма-вейсманизма-морганизма. В указанном деле есть документы по поводу идеологической работы в отделе биохимии с выступлениями В. А. Энгельгардта. Он не избежал общей критикующей фразы в сторону «формальной генетики», но в том же

выступлении высказал мысль, что биохимии не отделаться от проблем наследственности (Парфенова, Голиков 2015).

Энгельгардт был одним из первых посланцев советской науки в послевоенные годы за рубежом. Его пригласили на празднование 300-летия Королевского научного общества в Лондоне, на которое были приглашены виднейшие ученые из всех стран мира. Это свидетельство его всемирной известности и широчайших научных связей. Возможно, на него оказала влияние нравственная атмосфера на кафедре биохимии ЛГУ и в отделе биохимии ИЭМ, где он работал около пяти лет. В ИЭМ его коллегой был профессор Ефим Семенович Лондон (рис. 18), который являлся одним из старейших сотрудников института и имел широкие международные контакты с учеными не только в Европе, но и в США (Парфенова, Голиков 2015, 109).

В 1959 году Владимир Александрович Энгельгардт (рис. 19) участвовал в организации в Москве Института радиационной и физико-химической биологии АН СССР, с 1965 года — Института молекулярной биологии, который возглавлял до последних дней жизни (Баев 1994; Готтих 1994; Мирзабеков, Баев 1994).

Энгельгардт был вице-президентом Международного совета научных союзов при ЮНЕСКО



Рис. 18. Ефим Семенович Лондон  
(Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 18. Efim S. London  
(Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)



Рис. 19. Владимир Александрович Энгельгардт  
(Фото из архива Института молекулярной  
биологии РАН)

Fig. 19. Vladimir A. Engelhardt  
(Photo from the archive of the Institute of Molecular  
Biology of the Russian Academy of Sciences)

(1955–1964), основателем и главным редактором (1966–1984) журнала «Молекулярная биология».

Владимиру Александровичу Энгельгардту принадлежат крупные открытия, обогатившие отечественную и мировую науку и снискавшие ему славу одного из крупнейших биохимиков первой половины XX века, заложившего основы функциональной и динамической биохимии (рис. 20) (Ноздрачев и др. 2016; Парфенова, Голиков 2015).

Владимир Александрович Энгельгардт — автор большого числа научных статей по теоретическим проблемам молекулярной и общей биологии, методологии естествознания (Франк, Энгельгардт 1957; Энгельгардт, 1959, 1970, 1975; Engelhardt 1982).

«Значение Владимира Александровича как личности выходит далеко за рамки сделанных им открытий, хотя последние послужили началом совершенно новых направлений исследований, развивающихся по сей день. В науке есть две ценности: одна — это научная истина, вторая — нравственная атмосфера, и создается она людьми. Закладывается эта атмосфера очень незначительным, как выяснилось, числом людей, буквально единицами. В современной биологии нравственную атмосферу наряду с такими ученым, как Кольцов и Вавилов, создал Энгельгардт — он и сам для науки является одной из крупнейших нравственных ценностей. Эта сторона его жизни будет иметь непреходящее значение» (Баев 1989).



Рис. 20. Климент Ефремович Ворошилов награждает Владимира Александровича Энгельгардта орденом  
Трудового Красного Знамени, 1954 г. (Фото из архива Института молекулярной биологии РАН)

Fig. 20. Kliment E. Voroshilov awards Vladimir A. Engelhardt with the Order of the Red Banner of Labor, 1954  
(Photo from the archive of the Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences)

Владимир Александрович всегда славился неформальным, теплым отношением к людям (рис. 21–23). Здесь мы воспользовались цитатой из замечательных воспоминаний сына сотрудника Энгельгардта С. А. Нейфаха — Леонида Соломоновича: «Соломон Абрамович еще застал И. П. Павлова и присутствовал на сессиях 15-го Международного физиологического конгресса, проходившего в Ленинграде и в Москве в 1935 г. С. А. Нейфах (1909–1982) начал работать в ЛФ ВИЭМ в 1935 г., в отделе экспериментальной онкологии, куда его пригласил руководитель отдела Леон Манусович Шабад (1902–1982).

В отделе онкологии, или “раковой лаборатории”, как ее тогда называли, С. А. Нейфах занимал должность научного сотрудника, а с 1938 г. — заместителя заведующего. После войны демобилизоваться, возвратиться в Ленинград и вернуться к научной работе помогло ходатайство ИЭМ по представлению В. А. Энгельгардта. Этот замечательный ученый занимал особое место в жизни отца, его он считал своим подлинным учителем. Они познакомились в 1932 г. на кафедре биохимии ЛГУ. Отец был начинающим сотрудником, а Владимир Александрович уже известным ученым. Он только что переехал

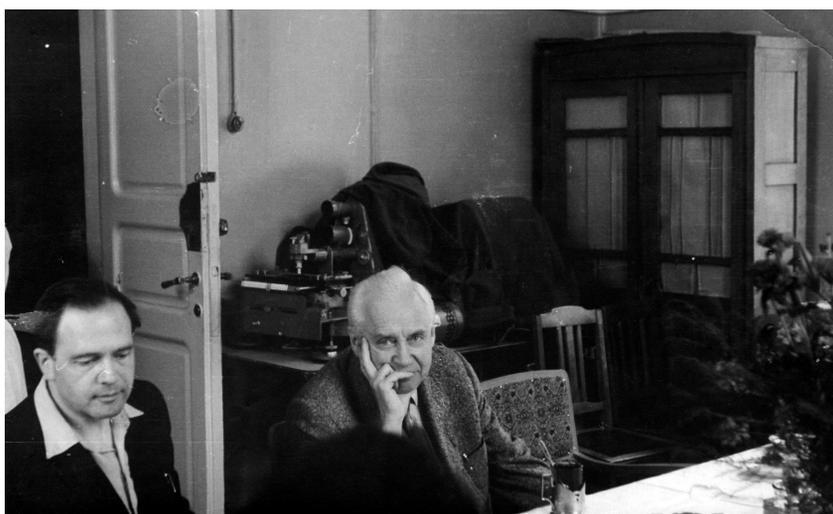


Рис. 21. В знаменитой «оптической» отдела биохимии. С. А. Нейфах и В. А. Энгельгардт (Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 21. In the famous ‘optical’ room of the Department of Biochemistry. S. A. Neifakh and V. A. Engelhardt (Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)



Рис. 22. В. А. Энгельгардт и А. П. Здродовская (Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 22. V. A. Engelhardt and A. P. Zdrovovskaia (Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)

в Ленинград из Казани и поселился прямо в помещении кафедры. Передо мной, — вспоминал Соломон Абрамович, — был высокий красивый человек нордической внешности с respectable манерами. Нас, молодежь, особенно привлекали его красноречие, его изысканный и богатый литературный язык. В каждом слове, в каждом обороте речи чувствовалась высокая культура и хороший вкус».

Возглавляя с 1944 года отдел биохимии ИЭМ и лабораторию биохимии животной клетки в Физиологическом институте им. акад. И. П. Павлова, Владимир Александрович раз в месяц приезжал на неделю из Москвы в Ленинград, привозя сотрудникам свежие журналы, реактивы и даже приборы (рис. 24). Не забывал и об их личных нуждах. В нелегкое послевоенное время просил отдавать им зарплату, которую получал



Рис. 23. Соломон Абрамович Нейфах, Виталий Сергеевич Ильин и Владимир Александрович Энгельгардт (Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 23. Solomon A. Neifakh, Vitaly S. Ilyin and Vladimir A. Engelhardt (Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)



Рис. 24. В. А. Энгельгардт и В. С. Ильин с сотрудниками перед зданием отдела биохимии. 1952 г. Слева направо: А. П. Здродовская, М. П. Мельникова, Н. И. Разумовская, К. Г. Громова, В. С. Ильин, М. П. Фомина, В. А. Энгельгардт, И. И. Ниселовская, В. С. Туровский, Г. В. Муха и С. А. Нейфах (Фото из архива Отдела биохимии Института экспериментальной медицины)

Fig. 24. V. A. Engelhardt and V. S. Ilyin with associates before the Department of Biochemistry. From left to right: A. P. Zdrodovskaia, M. P. Melnikova, N. I. Razumovskaia, K. G. Gromova, V. S. Ilyin, M. P. Fomina, V. A. Engelhardt, I. I. Niselovskaia, V. S. Turovsky, G. V. Mukha and S. A. Neifakh, 1952 (Photo from the archive of the Biochemistry Department of the Institute of Experimental Medicine)

в ИЭМ и которой тяготился. Даже в те времена Владимир Александрович отличался от всех. Вокруг него витала аура потомка Энгельгардта — директора Царскосельского лицея (рис. 25) (Парфенова, Голиков 2015, 125–126).

В. А. Энгельгардта не стало 10 июля 1984 года, он не дожил всего несколько месяцев до своего 90-летия. В 1988 году Институту молекулярной

биологии, который Энгельгардт возглавлял со дня основания до своей смерти, было присвоено его имя.

Владимиру Александровичу Энгельгардту пришлось работать в небывало трудное для жизни страны и науки время, но он явился эталоном высочайшей нравственности и поэтому выстоял несмотря ни на что.



Рис. 25. Пригласительный билет на собрание представителей рода Энгельгардтов, 2008 г. (Источник: [https://www.ng.ru/science/2014-11-26/9\\_engelgardt.html](https://www.ng.ru/science/2014-11-26/9_engelgardt.html))

Fig. 25. Invitation card for the meeting of representatives of the Engelhardt dynasty, 2008 (URL: [https://www.ng.ru/science/2014-11-26/9\\_engelgardt.html](https://www.ng.ru/science/2014-11-26/9_engelgardt.html))

## 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.

## Благодарности

Автор выражает благодарность секретарю Физиологического отдела им. И. П. Павлова ФГБНУ «ИЭМ», хранителю Мемориального кабинета академика Ивана Петровича Павлова Елене Станиславовне Родионовой за неоценимую помощь в сборе материала и предоставление редких фотографий.

Автор благодарит за помощь Николая Николаевича Колмакова, заведующего лаборато-

рией клеточных и протеомных технологий отдела молекулярной генетики ФГБНУ «ИЭМ», а также Евгению Яковлевну Маграчеву и Бориса Львовича Вайсмана, сотрудников National Institute of Health, Мэриленд, США.

## Acknowledgements

The author is very grateful to Elena S. Rodionova, secretary at the Pavlov Physiology Department and curator at the Academician I. P. Pavlov Memorial Study, Institute of Experimental Medicine, for her invaluable help with collecting rare materials and photographs.

The author also expresses her sincere gratitude to Nikolay N. Kolmakov, head of the Laboratory of Cellular and Proteomic Technologies, Department of Molecular Genetics, Institute of Experimental Medicine, and to Eugenia Y. Magracheva and Boris L. Vaisman, National Institute of Health, Maryland, USA, for their help.

## Литература

- Баев, А. А. (ред.). (1989) *Воспоминания о В. А. Энгельгардте (Ученые СССР. Очерки, воспоминания, материалы)*. М.: Наука, 336 с.
- Баев, А. А. (1994) Прошлое в настоящем. К 100-летию со дня рождения ученого-биохимика В. А. Энгельгардта. *Вестник Российской академии наук*, т. 64, № 12, с. 1109–1115.
- Варго, И. Т., Горегина, А. В., Пушкарева, Л. В. (сост.). (2012) *«Здесь тишина цветет...»: Блоковские окрестности Петербурга: путеводитель*. СПб.: ГМИ СПб, 96 с.
- Головин, Б. П. (1953) Кинетические представления о превращениях козимазы в процессах энергетического обмена. *Биохимия*, т. 18, № 4, с. 430–437.
- Готтих, Б. П. (1994) Организатор науки. К 100-летию со дня рождения ученого-биохимика В. А. Энгельгардта. *Вестник Российской академии наук*, т. 64, № 12, с. 1120–1127.
- Лейбсон, Л. Г. (1990) *Академик Л. А. Орбели. Неопубликованные главы биографии*. Л.: Наука, 190 с.
- Мирзабеков, А. Д., Баев, А. А. (1994) К 100-летию со дня рождения Владимира Александровича Энгельгардта. *Молекулярная биология*, т. 28, № 6, с. 1207–1208.
- Ноздрачев, А. Д., Поляков, Е. Л., Вовенко, Е. П. (2016) *Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН в биографиях*. СПб.: КультИнформПресс, 418 с.
- Парфенова, Н. С. (2020) Александра Моисеевна Витринская. В кн.: А. В. Дмитриев, Н. С. Парфенова (ред.). *Женщины-ученые Института экспериментальной медицины: 1890–2020*. СПб.: Изд-во Института экспериментальной медицины, с. 409–411.
- Парфенова, Н. С. (2022) Елена Васильевна Смирнова. В кн.: А. В. Дмитриев, Н. С. Парфенова (ред.). *Женщины-ученые Института экспериментальной медицины*. СПб.: Серебряный век, с. 127–128.
- Парфенова, Н. С., Голиков, Ю. П. (2015) Владимир Александрович Энгельгардт и его сотрудники. В кн.: Н. С. Парфенова (ред.). *Биохимия в институте экспериментальной медицины 1890–2015*. СПб.: ИнформМед, с. 108–139.
- Сейц, И. Ф., Энгельгардт, В. А. (1949) Дыхательное фосфорилирование и пастеровский эффект. *Биохимия*, т. 14, № 6, с. 487–498.
- Смирнова, Н. В. (сост.). (1955) *Материалы к биобиблиографии ученых СССР. Серия биохимии. Вып. 4. Владимир Александрович Энгельгардт*. М.: Изд-во АН СССР, 44 с.
- Франк, Г. М., Энгельгардт, В. А. (1957) *О роли физики и химии в исследовании биологических проблем. Материалы к Всесоюзному совещанию по философским вопросам естествознания*. М.: Изд-во АН СССР, 22 с.
- Шапот, В. С. (1945) О механизме пастеровского эффекта. *Биохимия*, т. 10, № 1, с. 45–53.
- Шапот, В. С., Витринская, А. М. (1948) О подавлении кислородом воздуха бродильной способности у *Torula utilis*. *Доклады Академии наук СССР*, т. 61, № 3, с. 533–536.
- Энгельгардт, В. А. (1931) Анаэробный распад и аэробный ресинтез пироглютата в красных кровяных клетках птиц. *Казанский медицинский журнал*, № 4-5, с. 496–501.

- Энгельгардт, В. А. (1959) *Некоторые проблемы современной биохимии. Доклад на VIII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии*. М.: Изд-во Академии наук СССР, 39 с.
- Энгельгардт, В. А. (1970) *Интегрatism — путь от простого к сложному в познании явлений жизни. Материалы ко Второму Всесоюзному совещанию по философским вопросам современного естествознания, посвященному 100-летию со дня рождения В. И. Ленина*. М.: [б. и.], 47 с.
- Энгельгардт, В. А. (1975) *К новым рубежам в познании основ явлений жизни. Доклад на Юбилейной сессии АН СССР, посвященной 250-летию АН СССР*. М.: Изд-во АН СССР, 27 с.
- Энгельгардт, В. А. (1985) *Познание явлений жизни*. М.: Наука, 304 с.
- Энгельгардт, В. А., Лисовская, Н. П. (1955) Роль субстратов окисления и АТФ в обмене фосфопротеинов. *Биохимия*, т. 20, № 2, с. 225–235.
- Энгельгардт, В. А., Любимова, М. Н. (1936) О двойственном механизме стабилизации аденозинтрифосфорной кислоты в клетке. I. Ретикулоциты. *Доклады Академии наук СССР*, т. 2, № 8, с. 321–323.
- Энгельгардт, В. А., Любимова, М. Н. (1942) К механохимии мышцы. *Биохимия*, т. 7, № 5-6, с. 205–231.
- Энгельгардт, В. А., Демьяновская, Н. С., Венкстерн, Т. В. (1950) Фотосенсибилизированное воздействие метиленовой сини на миозин. *Доклады Академии наук СССР*, т. 72, № 5, с. 923–926.
- Engelhardt, W. A. (1982) Life and science. *Annual Review of Biochemistry*, vol. 51, pp. 1–20. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.51.070182.000245>

## References

- Baev, A. A. (ed.). (1989) *Vospominaniya o V. A. Engel'gardte (Uchenye SSSR. Ocherki, vospominaniya, materialy) [Memories of V. A. Engelhardt (Scientists of the USSR. Essays, memoirs, materials)]*. Moscow: Nauka Publ., 336 p. (In Russian)
- Baev, A. A. (1994) Proshloe v nastoyashchem. K 100-letiyu so dnya rozhdeniya uchenogo-biokhimiika V. A. Engel'gardta [The past in the present: To the 100<sup>th</sup> anniversary of the birth of the biochemist V. A. Engelhardt]. *Vestnik Rossijskoj akademii nauk*, vol. 64, no. 12, pp. 1109–1115. (In Russian)
- Engelhardt, V. A. (1931) Anaerobnyj raspad i aerobnyj resintez pirofosfata v krasnykh krovyanykh kletkakh ptits [Anaerobic breakdown and aerobic resynthesis of pyrophosphate in avian red blood cells]. *Kazanskij meditsinskij zhurnal — Kazan Medical Journal*, no. 4-5, pp. 496–501. (In Russian)
- Engelhardt, V. A. (1959) *Nekotorye problemy sovremennoj biokhimii. Doklad na VIII Mendeleevskom s'ezde po obshchej i prikladnoj khimii [Some problems of modern biochemistry. Report at the VIII Mendeleev Congress of General and Applied Chemistry]*. Moscow: USSR Academy of Sciences Publ., 39 p. (In Russian)
- Engelhardt, V. A. (1970) *Integratism — put' ot prostogo k slozhnomu v poznanii yavlenij zhizni. Materialy ko Vtoromu Vsesoyuznomu soveshchaniyu po filosofskim voprosam sovremennogo estestvoznaniya, posvyashchennomu 100-letiyu so dnya rozhdeniya V. I. Lenina [Integration is the path from simple to complex in understanding the phenomena of life. Materials for the Second All-Union Conference on philosophical issues of modern natural science, dedicated to the 100<sup>th</sup> anniversary of the birth of V. I. Lenin]*. Moscow: [s. n.], 47 p. (In Russian)
- Engelhardt, V. A. (1975) *K novym rubezham v poznanii osnov yavlenij zhizni. Doklad na Yubilejnoj sessii AN SSSR, posvyashchennoj 250-letiyu AN SSSR [Towards new frontiers in knowledge of the fundamentals of life phenomena. Report at the Anniversary Session of the USSR Academy of Sciences, dedicated to the 250<sup>th</sup> anniversary of the USSR Academy of Sciences]*. Moscow: USSR Academy of Sciences Publ., 27 p. (In Russian)
- Engelhardt, V. A. (1985) *Poznanie yavlenij zhizni [Knowledge of life phenomena]*. Moscow: Nauka Publ., 304 p. (In Russian)
- Engelhardt, V. A., Lisovskaya, N. P. (1955) Rol' substratov okisleniya i ATF v obmene fosfoproteinov [The role of oxidation substrates and ATP in phosphoprotein metabolism]. *Biokhimiya — Biochemistry*, vol. 20, no. 2, pp. 225–235. (In Russian)
- Engelhardt, V. A., Lyubimova, M. N. (1936) O dvoystvennom mekhanizme stabilizatsii adenzintri-fosfornoj kisloty v kletke. I. Retikulotsity [About the dual mechanism of stabilization of adenosine triphosphoric acid in the cell. I. Reticulocytes]. *Doklady Akademii nauk SSSR — Proceedings of the USSR Academy of Sciences*, vol. 2, no. 8, pp. 321–323. (In Russian)
- Engelhardt, V. A., Lyubimova, M. N. (1942) K mekhanokhimii myshtsy [On the mechanochemistry of muscle]. *Biokhimiya — Biochemistry*, vol. 7, no. 5-6, pp. 205–231. (In Russian)
- Engelhardt, V. A., Demyanovskaya, N. S., Venkstern, T. V. (1950) Fotosensibilizirovannoe vozdejstvie metilenovoj sini na miozin [Photosensitizing effect of methylene blue on myosin]. *Doklady Akademii nauk SSSR — Proceedings of the USSR Academy of Sciences*, vol. 72, no. 5, pp. 923–926. (In Russian)
- Engelhardt, W. A. (1982) Life and science. *Annual Review of Biochemistry*, vol. 51, pp. 1–20. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.51.070182.000245> (In English)
- Frank, G. M., Engelhardt, V. A. (1957) *O roli fiziki i khimii v issledovanii biologicheskikh problem. Materialy k Vsesoyuznomu soveshchaniyu po Filosofskim voprosam estestvoznaniya [On the role of physics and chemistry in the study of biological problems. Materials for the All-Union Conference on Philosophical issues of natural science]*. Moscow: USSR Academy of Sciences Publ., 22 p. (In Russian)

- Golovin, B. P. (1953) Kineticheskie predstavleniya o prevrashcheniyakh kozimazy v protsessakh energeticheskogo obmena [Kinetic ideas about cosimase transformations in energy metabolism processes]. *Biokhimiya*, vol. 18, no. 4, pp. 430–437. (In Russian)
- Gottikh, B. P. (1994) Organizator nauki. K 100-letiyu so dnya rozhdeniya uchenogo-biokhimiika V. A. Engel'gardta [Organizer of science. To the 100<sup>th</sup> anniversary of the birth of the biochemist V. A. Engelhardt]. *Vestnik Rossijskoj akademii nauk*, vol. 64, no. 12, pp. 1120–1127. (In Russian)
- Lejbson, L. G. (1990) *Akademik L. A. Orbeli. Neopublikovannye glavy biografii* [Academician L. A. Orbeli. Unpublished biography chapters]. Leningrad: Nauka Publ., 190 p. (In Russian)
- Mirzabekov, A. D., Baev, A. A. (1994) K 100-letiyu so dnya rozhdeniya V. A. Engel'gardta [To the 100<sup>th</sup> anniversary of the birth of V. A. Engelhardt]. *Molekulyarnaya biologiya — Molecular Biology*, vol. 28, no. 6, pp. 1207–1208. (In Russian)
- Nozdrachev, A. D., Polyakov, E. L., Vovenko, E. P. (2016) *Institut fiziologii im. I. P. Pavlova RAN v biografiyakh* [Pavlov Institute of Physiology RAS in biographies]. Saint Petersburg: Kul'tInformPress Publ., 418 p. (In Russian)
- Parfenova, N. S. (2020) Aleksandra Moiseevna Vitriinskaya [Aleksandra Moiseevna Vitriinskaya]. In: A. V. Dmitriev, N. S. Parfenova (eds.). *Zhenshchiny-uchenye Instituta eksperimental'noj meditsiny: 1890–2020* [Women scientists of the Institute of Experimental Medicine: 1890–2020]. Saint Petersburg: Institute of Experimental Medicine Publ., pp. 409–411. (In Russian)
- Parfenova, N. S. (2022) Elena Vasil'evna Smirnova [Elena Vasilievna Smirnova]. In: A. V. Dmitriev, N. S. Parfenova (eds.). *Zhenshchiny-uchenye Instituta eksperimental'noj meditsiny* [Women scientists of the Institute of Experimental Medicine]. Saint Petersburg: Serebryanyj vek Publ., pp. 127–128. (In Russian)
- Parfenova, N. S., Golikov, Yu. P. (2015) Vladimir Aleksandrovich Engel'gardt i ego sotrudniki [Vladimir Aleksandrovich Engelhardt and his colleagues]. In: N. S. Parfenova (ed.). *Biokhimiya v Institute eksperimental'noj meditsiny 1890–2015* [Biochemistry at the Institute of Experimental Medicine 1890–2015]. Saint Petersburg: InformMed Publ., pp. 108–139. (In Russian)
- Sejts, I. F., Engelhardt, V. A. (1949) Dykhatel'noe fosforilirovanie i pasterovskij effect [Respiratory phosphorylation and the Pasteur effect]. *Biokhimiya — Biochemistry*, vol. 14, no. 6, pp. 487–498. (In Russian)
- Shapot, V. S. (1945) O mekhanizme pasterovskogo effekta [About the mechanism of the Pasteur effect]. *Biokhimiya — Biochemistry*, vol. 10, no. 1, pp. 45–53. (In Russian)
- Shapot, V. S., Vitriinskaya, A. M. (1948) O podavlenii kislorodom vozdukhha brodil'noj sposobnosti u *Torula utilis* [On the suppression of fermentation ability by air oxygen in *Torula utilis*]. *Doklady Akademii nauk SSSR — Proceedings of the USSR Academy of Sciences*, vol. 61, no. 3, pp. 533–536. (In Russian)
- Smirnova, N. V. (comp.). (1955) *Materialy k biobibliografii uchenykh SSSR. Seriya biokhimii. Vyp. 4. Vladimir Aleksandrovich Engel'gardt* [Materials for the biobibliography of scientists of the USSR. Biochemistry series. Iss. 4. Vladimir Aleksandrovich Engelhardt]. Moscow: USSR Academy of Sciences Publ., 44 p. (In Russian)
- Vargo, I. T., Goregina, A. V., Pushkareva, L. V. (2012) “Zdes' tishina tsvetet...”: *Blokovskie okrestnosti Peterburga: putevoditel'* [“Silence blooms here...”: *Blokovsky neighborhoods of Saint Petersburg: Guide*]. Saint Petersburg: The State Museum of the History of Saint Petersburg Publ., 96 p. (In Russian)



УДК 612.181+612.172+796

EDN NGWSGZ

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-32-49>

## Зависимость величины RMSSD кардиоинтервалограммы от специализации тренировочного процесса, этапа годичного цикла подготовки и других факторов (обзор)

Д. А. Катаев<sup>1,2</sup>, В. И. Циркин<sup>3</sup>, А. Н. Трухин<sup>✉1</sup>, С. И. Трухина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Вятский государственный университет, 610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36

<sup>2</sup>Федерация лыжных гонок Республики Татарстан, 420111, Россия, г. Казань, ул. Чернышевского, д. 26/25

<sup>3</sup>Казанский государственный медицинский университет, 420012, Россия, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49

### Сведения об авторах

Денис Анатольевич Катаев, ORCID: 0000-0002-8051-3521, e-mail: [den.cataev2014@yandex.ru](mailto:den.cataev2014@yandex.ru)

Виктор Иванович Циркин, SPIN-код: 5385-0236, Scopus AuthorID: 57200906302, ResearcherID: O-1603-2017, ORCID: 0000-0003-3467-3919, e-mail: [esbartsirkin@list.ru](mailto:esbartsirkin@list.ru)

Андрей Николаевич Трухин, SPIN-код: 4832-8232, Scopus AuthorID: 7004017343, ORCID: 0000-0001-7259-7078, e-mail: [trukhinandrey@rambler.ru](mailto:trukhinandrey@rambler.ru)

Светлана Ивановна Трухина, SPIN-код: 6505-5899, Scopus AuthorID: 8707074400, ORCID: 0000-0003-3888-1993, e-mail: [trukhinasvetlana@yandex.ru](mailto:trukhinasvetlana@yandex.ru)

**Для цитирования:** Катаев, Д. А., Циркин, В. И., Трухин, А. Н., Трухина, С. И. (2024) Зависимость величины RMSSD кардиоинтервалограммы от специализации тренировочного процесса, этапа годичного цикла подготовки и других факторов (обзор). *Интегративная физиология*, т. 5, № 1, с. 32–49. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-32-49> EDN NGWSGZ

**Получена** 21 марта 2024; прошла рецензирование 19 апреля 2024; принята 22 апреля 2024.

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

**Права:** © Д. А. Катаев, В. И. Циркин, А. Н. Трухин, С. И. Трухина (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) CC BY-NC 4.0.

**Аннотация.** Исследования variability сердечного ритма (BCP) широко востребованы в спорте, так как раскрывают механизмы адаптации человека к двигательной активности. Статья касается сведений о RMSSD, т. е. квадратном корне из среднего квадрата разностей величин последовательных пар интервалов NN (RMSSD) у спортсменов. Данные литературы и результаты наших исследований позволяют заключить, что у спортсменов величина RMSSD зависит от спортивной специализации (особенно она высока у спортсменов, тренирующих выносливость, в том числе у лыжников-гонщиков, а минимальна у спортсменов, развивающих силу (пауэрлифтинг)). Она также зависит от уровня спортивного мастерства (максимальна у элитных спортсменов), от объема и интенсивности тренировочных нагрузок (возрастает с ростом объема аэробных нагрузок). У элитных лыжников величина RMSSD относительно стабильна: в подготовительном периоде она максимальна, а в соревновательном периоде снижается, что мы объясняем формированием тревожности. Она также стабильна на протяжении каждого мезоцикла, т. е. учебно-тренировочного сбора (УТС). У элитных лыжников на протяжении всего сезона стабилен и тип вегетативной регуляции, который, согласно классификации Н. И. Шлык, относится к автономному типу, или ваготонии. Постулируется, что у элитных лыжников по мере роста их спортивного мастерства формируется антиапоптическая система, одним из компонентов которой является ненейрональный ацетилхолин (НН-АХ). Предполагается, что величина RMSSD может отражать наличие синтеза ненейронального АХ, а ее снижение у элитных лыжников — следствие торможения этого синтеза, что может быть причиной перетренированности.

**Ключевые слова:** спортсмены, адаптация к физическим нагрузкам, автономная нервная система, variability сердечного ритма, RMSSD, ненейрональный ацетилхолин, антиапоптическая система

# Review of dependence of the RMSSD value in a cardiointervalogram on the specialization of the training process, stage of the annual training cycle and other factors

D. A. Kataev<sup>1,2</sup>, V. I. Tsirkin<sup>3</sup>, A. N. Trukhin<sup>✉1</sup>, S. I. Trukhina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Vyatka State University, 36 Moskovskaya Str., Kirov 610000, Russia

<sup>2</sup> Federation of Ski Racing of the Republic of Tatarstan, 26/25 Chernyshevskogo Str., Kazan 420111, Russia

<sup>3</sup> Kazan State Medical University, 49 Butlerova Str., Kazan 420012, Russia

## Authors

Denis A. Kataev, ORCID: 0000-0002-8051-3521, e-mail: den.kataev2014@yandex.ru

Viktor I. Tsirkin, SPIN: 5385-0236, Scopus AuthorID: 57200906302, ResearcherID: O-1603-2017, ORCID: 0000-0003-3467-3919, e-mail: esbartsirkin@list.ru

Andrey N. Trukhin, SPIN: 4832-8232, Scopus AuthorID: 7004017343, ORCID: 0000-0001-7259-7078, e-mail: trukhinandrey@rambler.ru

Svetlana I. Trukhina, SPIN: 6505-5899, Scopus AuthorID: 8707074400, ORCID: 0000-0003-3888-1993, e-mail: trukhinasvetlana@yandex.ru

**For citation:** Kataev, D. A., Tsirkin, V. I., Trukhin, A. N., Trukhina, S. I. (2024) Review of dependence of the RMSSD value in a cardiointervalogram on the specialization of the training process, stage of the annual training cycle and other factors. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 1, pp. 32–49. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-32-49> EDN NGWSGZ

**Received** 21 March 2024; reviewed 19 April 2024; accepted 22 April 2024.

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

**Copyright:** © D. A. Kataev, V. I. Tsirkin, A. N. Trukhin, S. I. Trukhina (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

**Abstract.** The study of heart rate variability (HRV) is common in sports as it reveals the mechanisms of human adaptation to physical activity. This article deals with information about RMSSD, i. e. the square root of the mean square of the differences in the values of successive pairs of NN intervals (RMSSD) in athletes. Literature-backed data and our research findings suggest that the RMSSD value in athletes depends on their specialization: it is especially high in athletes building endurance, including cross-country skiers, and minimal in those focusing on strength, such as powerlifters. It also correlates with the level of sportsmanship (reaching its maximum among elite athletes) and the volume and intensity of training (going up with the volume of aerobic exercise). In elite skiers, the RMSSD value is relatively stable, peaking in the preparatory period and falling in the competitive one — something that we explain by the onset of anxiety. It also remains stable throughout each mesocycle, i. e. training camp (TC). Elite skiers also have stable autonomic regulation throughout the entire season, which is classified according to N. I. Shlyk as an autonomous type, or vagotonia. It is postulated that as elite skiers build their athletic skills, they form an anti-apoptotic system, which includes non-neuronal acetylcholine (ACh) among its components. It is assumed that the RMSSD value may reflect the presence of non-neuronal ACh synthesis, and its decrease in elite skiers results from the inhibition of this synthesis, which may be the cause of overtraining.

**Keywords:** athletes, adaptation to physical activity, autonomic nervous system, heart rate variability, RMSSD, non-neuronal acetylcholine, anti-apoptotic system

## Введение

Вариабельность сердечного ритма (ВСР) позволяет дать оценку состоянию автономной нервной системы (АНС), участвующей в процессах адаптации организма спортсмена к интенсивной мышечной деятельности (Калабин, Михайлов 2021). Среди спектральных показателей ВСР выделяют мощность HF-, LF-, VLF-волн, отражающую соответственно влияние парасимпатического отдела (ПО) АНС, симпатического отдела (СО) АНС, модулируемое

барорефлексом, и в совокупности СО и ПО АНС, а также биологически активных веществ (БАВ) на сердце (Михайлов 2017; Perek, Raz-Pasteur 2021). При этом суммарное влияние ПО, СО и БАВ отражает общая мощность спектра (TP), а относительная мощность HF-, LF- и VLF-волн, выраженная в процентах к TP, т. е. HF%, LF% и VLF%, отражает удельный вклад ПО, СО АНС и БАВ в регуляцию деятельности сердца (Катаев и др. 2023а).

Ранее нами проанализированы данные литературы и результаты собственных исследований,

касающихся спектральных показателей ВСР действующих элитных лыжников-гонщиков — шести мастеров спорта (МС) и двух мастеров спорта международного класса (МСМК), членов сборной команды Республики Татарстан. Удалось подтвердить (Катаев и др. 2023b), что величины TP, HF-, LF- и VLF-волн, а также VLF%, зарегистрированные в условиях клиностаза, отражают влияние ПО АНС на сердце. Также нами выдвинуто предположение, что величина VLF% у спортсменов, тренирующихся на выносливость, отражает интенсивность синтеза кардиомиоцитами ненеуронального ацетилхолина (НН-АХ) (Катаев и др. 2023a), а значения LF% и HF% у них отражают состояние тревоги в связи с предстоящими стартами (Катаев и др. 2023a). Выявлена прямая зависимость медианы TP и абсолютной мощности VLF-волн от объема циклической нагрузки (ОЦН), выраженного в километрах пути ( $V_{км}$ ), а также от длительности аэробной нагрузки, выполняемой при «рабочем» пульсе ( $ЧСС_{р.п.}$ ), равном 120–121 уд/мин (Катаев и др. 2023a).

Из временных показателей ВСР нами были рассмотрены стресс-индекс (SI) (Катаев и др. 2023b); длительность нормальных интервалов RR, т. е. RRNN (мс), отношение последовательных интервалов NN, различие между которыми превышает 50 мс, в процентах к общему числу интервалов NN, т. е. pNN50 (Kataev et al. 2024). Анализ динамики величин SI, RRNN, pNN50% подтверждает наши выводы (Катаев и др. 2023a; Kataev et al. 2024) и выводы других авторов (Pla et al. 2019) о том, что для спортсменов, развивающих выносливость, особенно для элитных лыжников-гонщиков, характерна высокая активность ПО АНС. Кроме того, на основе анализа SI и абсолютных значений VLF, по которым предложено определять тип вегетативной регуляции (ТВР) сердечной деятельности (Shlyk 2016), показано, что у элитных лыжников-гонщиков (Катаев и др. 2023b) ТВР не меняется на протяжении всего годичного макроцикла и оценивается по классификации Н. И. Шлык (Shlyk 2016) как выраженная автономная регуляция (ваготония).

Наш анализ спектральных и временных показателей ВСР действующих элитных лыжников-гонщиков позволил сформулировать представление об антиапоптической системе миокарда, формирующейся при тренировках, развивающих выносливость. С учетом данных литературы (Kakinuma 2021; Munasinghe et al. 2023), мы предполагаем, что основным компонентом этой системы является ненеурональный ацетилхолин (Катаев и др. 2023a; 2023b; 2024).

В данной статье анализируются сведения литературы в отношении квадратного корня из среднего квадрата разностей величин последовательных пар интервалов NN, т. е. RMSSD, отражающего влияние ПО ВНС на ритм сердца, в том числе синусовую аритмию, связанную с дыханием; при доминировании СО АНС величина RMSSD уменьшается, а при доминировании ПО АНС — возрастает (Михайлов 2017; Ходырев и др. 2011). При этом в обзоре мы учитывали, что величину RMSSD можно представлять в виде средней арифметической, либо в виде медианы; в ряде случаев это отмечалось при изложении материала. Цель данного обзора — предоставить сведения о величине RMSSD в зависимости от ряда факторов, в том числе от спортивной специализации, периодов подготовки, от объема тренировочной нагрузки аэробного характера.

### **Величина RMSSD (мс) в зависимости от уровня двигательной активности (спортсмены в сравнении с неспортсменами)**

#### ***Велосипедисты и неспортсмены***

У 12 велосипедистов величина RMSSD была значимо выше (71 мс), чем у 10 сверстников-неспортсменов (49 мс) (Pluim et al. 1999). У 15 велосипедистов (21 год) значения RMSSD были выше, чем у неспортсменов того же возраста (86 мс против 30 мс) (Bonaduce et al. 1998).

#### ***Легкоатлеты и неспортсмены***

У элитных бегунов-мужчин (25 лет) величина RMSSD была выше, чем у неспортсменов (Jensen-Urstad et al. 1997). У 50 студентов-легкоатлетов (20 лет; 1–2 разряд) величина RMSSD была выше, чем у 26 работников (29 лет) компании ООО «Нейрософт» — 49 мс против 30 мс (Михайлов 2017). У 8 легкоатлетов-спринтеров (51 год) и 8 стайеров (53 года), значения RMSSD были статистически значимо выше, чем у 17 неспортсменов (47 лет) — соответственно 40 мс и 38 мс против 20 мс (Deus et al. 2019).

#### ***Спортсмены, тренирующиеся на выносливость, и неспортсмены***

У 138 спортсменов, тренирующихся на выносливость, значения RMSSD были статистически значимо выше, чем у 100 неспортсменов того же возраста — 71 мс против 50 мс (Kiss et al. 2016). А по данным греческих исследователей (Kaltsatou et al. 2011), величина RMSSD была значимо выше у спортсменов, развивающих выносливость и силу, чем у неспортсменов.

### **Пауэрлифтинг (силовое троеборье) и неспортсмены**

У 19 пауэрлифтеров величина RMSSD была значимо ниже, чем у неспортсменов ( $n = 20$ ) — 32 мс против 56 мс (Калабин, Спицин 2011).

Итак, почти все цитируемые выше авторы (Михайлов 2017; Bonaduce et al. 1998; Deus et al. 2019; Jensen-Urstad et al. 1997; Kaltsatou et al. 2011; Kiss et al. 2016; Pluim et al. 1999) утверждают, что у спортсменов величина RMSSD выше, чем у неспортсменов. Это означает, что двигательная активность способствует росту величины RMSSD. Однако у спортсменов, тренирующих мышечную силу, величина RMSSD ниже, чем у неспортсменов (Калабин, Спицин 2011).

### **Величина RMSSD (мс) в зависимости от длительности (стажа) занятия спортом и уровня спортивного мастерства**

У дзюдоистов международного класса величина RMSSD выше, чем у дзюдоистов национального уровня (Morales et al. 2013). Аналогично у элитных девяти спортсменов-ориентировщиков величина RMSSD была выше, чем у менее квалифицированных: 103 мс против 87 мс (Seiler et al. 2007). У футболистов международного уровня величина RMSSD выше, чем у футболистов второго дивизиона Италии (Proietti et al. 2017). У 12 пловцов национального уровня величина RMSSD была статистически значимо выше, чем у 16 пловцов регионального уровня (Flatt et al. 2021). У баскетболистов — МС, КМС и у разрядников величина RMSSD составила соответственно 165, 92 и 63 мс (Погодин, Алексанянц 2018). Исследуя 16 лыжников (18–25 лет), (Литвин и др. 2012) установили, что величина RMSSD в начале учебно-тренировочного сбора (УТС) у МС, КМС и у перворазрядников составила соответственно 112, 98 и 67 мс, а после завершения УТС — соответственно 125, 102 и 96 мс. Это указывает на то, что и у лыжников величина RMSSD повышается с ростом квалификации спортсмена. Ярким примером служат данные о том, что у пятикратного олимпийского чемпиона по биатлону Мартена Фуркада величины RMSSD возрастали с 2009 по 2019 год включительно с 31 мс до 114 мс (Schmitt et al. 2021).

Таким образом, у спортсменов, в том числе тренирующихся на выносливость, значения RMSSD повышаются с ростом стажа и уровня спортивного мастерства (Литвин и др. 2012; Погодин, Алексанянц 2018; Flatt et al. 2021; Morales et al. 2013; Proietti et al. 2017; Schmitt et al.

2021; Seiler 2007). Однако у спортсменов-силовиков, наоборот, с ростом мастерства значения RMSSD снижаются (Калабин, Спицин 2011) — согласно их данным, у 8 МС по пауэрлифтингу значения RMSSD были значимо ниже, чем у 11 пауэрлифтеров-разрядников (23 мс против 37 мс). Полагаем, что особенность динамики величины RMSSD (ее снижение с ростом мастерства) у спортсменов, развивающих мышечную силу, требует исследования с позиций изучения механизмов адаптации организма человека к физической активности в зависимости от ее направленности.

### **Величина RMSSD (мс) в зависимости от спортивного результата**

У лыжников-гонщиков 16–17 лет величина RMSSD была тем выше, чем выше результат лыжной гонки (Остроумов, Викулов 2012). У пятикратного олимпийского чемпиона по биатлону Мартена Фуркада величины RMSSD за 11 лет, т. е. с 2009 по 2019 год включительно, по годам выглядят следующим образом: 31, 44, 51, 95, 89, 91, 114, 99, 99, 108, 94 мс (Schmitt et al. 2021). Авторы указывают, что число позиций топ-3 увеличилось с 2 до 24–26 с 2009 по 2018 год (пик в 2016–2018 годы) и снизилось до 6 в 2019 году. Итак, рост величины RMSSD указывает на повышение работоспособности спортсмена-лыжника и достижение высоких результатов в соревнованиях (Остроумов, Викулов 2012; Schmitt et al. 2021). Это согласуется с нашим выводом, сделанным в предыдущем разделе, согласно которому у спортсменов, в том числе тренирующихся на выносливость, значения RMSSD повышаются с ростом стажа и уровня спортивного мастерства.

### **Величина RMSSD (мс) в зависимости от вида спортивной специализации**

#### **Футболисты**

По данным испанских исследователей (Ayuso-Moreno et al. 2021), у 13 футболисток второго дивизиона чемпионата Испании (18–28 лет) величина RMSSD составила 66 мс. У мужчин-футболистов ( $n = 76$ ) — 77 мс (Lengyel et al. 2011). А по данным Михайлова (Михайлов 2017) у мужчин-футболистов ( $n = 20$ ) — 54 мс. Согласно недавним исследованиям (Исмаил (Бергман) и др. 2021), у 15 юных футболистов (16 лет) средние значения RMSSD статистически значимо ниже у вратарей (38 мс), чем у полузащитников (60–91 мс) и защитников или нападающих (19–107 мс).

### *Хоккеисты*

У 20 хоккеистов (16 лет) перед поездкой на чемпионат мира величина RMSSD составила 91 мс (Михайлов 2017).

### *Волейболисты*

У профессионального волейболиста, олимпийского чемпиона ЗМС М. М. Михайлова величина RMSSD составила 70 мс (Калабин, Михайлов 2023).

### *Параютисты*

У 17 парашютистов (Михайлов 2017), участвующих в специальном тренировочном сборе, величина RMSSD составила 48 мс.

### *Борцы*

У 15 борцов греко-римского стиля величина RMSSD составила 78 мс (Сарыг и др. 2015), а у 34 элитных 23-летних женщин-борцов по дзюдо величина RMSSD составила 82 мс (Tian et al. 2013).

### *Пауэрлифтинг (силовое троеборье)*

У 8 МС по пауэрлифтингу (Калабин, Спицин 2011) величина RMSSD составила 23 мс, а у 11 пауэрлифтеров-разрядников — 37 мс.

### *Шорт-трековики*

У 7 спортсменов-мужчин (Кротова, Терехов 2021) (КМС, МС, 16–22 лет), занимающихся шорт-треком, величина RMSSD составляла 46 мс.

### *Пловцы*

У 14-летних пловцов (n = 22) величина RMSSD составила 73 мс (Kamandulis et al. 2020).

### *Велосипедисты*

У 12 велосипедистов (18–40 лет) регионального уровня величина RMSSD составила 59 мс (Oliveira-Silva et al. 2018). А по данным Плюм с соавторами (Pluim et al. 1999), у 12 велосипедистов она составила 71 мс. У 15 профессиональных велосипедистов (21 год) величина RMSSD составила 86 мс (Bonaduce et al. 1998); по данным других авторов, эта величина составила 48 мс (Barak et al. 2010) или 43 мс (Swart, Constantinou 2023).

### *Биатлонисты*

У пятикратного олимпийского чемпиона по биатлону Мартена Фуркада (Schmitt et al. 2021) величина RMSSD достигала максимума — 114 мс.

### *Лыжники-гонщики*

У 16 действующих элитных лыжников-гонщиков из России, Норвегии, Швейцарии величина RMSSD варьировала в пределах 99–101 мс (Schäfer et al. 2015). По нашим данным (Катаев и др. 2024), у элитных лыжников-гонщиков Республики Татарстан медиана RMSSD варьировала от 92 до 129 мс, в том числе у элитного лыжника-гонщика Д. Катаева (МС) она варьировала от 96 до 108 мс. У 10–12-летних лыжников-гонщиков (n = 46) величина RMSSD варьировала от 32 до 56 мс (Ефремова, Спицин 2017), а у 18–20-летних студентов 2–4 курсов спортивного факультета она составила 93 мс (Воронина, Сафаров 2008).

### *Спортсмены, тренирующиеся на выносливость*

У спортсменов, развивающих выносливость, величина RMSSD была выше, чем у спортсменов, развивающих силу (Kaltsatou et al. 2011; Mal'tsev et al. 2010). Согласно швейцарским исследованиям (Sztajzel et al. 2008), спортсмены, тренирующие выносливость, имеют особенно высокие показатели RMSSD в сравнении с общей популяцией спортсменов.

Итак, анализ литературы показывает, что самые высокие величины RMSSD зарегистрированы у элитных лыжников-гонщиков (Катаев и др. 2024; Schäfer et al. 2015) и биатлонистов (Schmitt et al. 2021), а также у лыжников-гонщиков юниорского возраста (Воронина, Сафаров 2008). Более низкие величины RMSSD характерны для профессиональных велосипедистов (Bonaduce et al. 1998), хоккеистов (Михайлов 2017), борцов-дзюдо (Bonaduce et al. 1998), футболистов (Lengyel et al. 2011), волейболистов (Калабин, Михайлов 2023), а также для менее квалифицированных велосипедистов (Barak et al. 2010; Oliveira-Silva et al. 2018; Pluim et al. 1999; Swart, Constantinou 2023), пловцов (Kamandulis et al. 2020), борцов греко-римского стиля (Сарыг и др. 2015), футболистов (Михайлов 2017; Ayuso-Moreno et al. 2021), особенно вратарей (Исмаил (Бергман) и др. 2021). Самые низкие величины RMSSD характерны для лыжников-гонщиков начальных разрядов (Ефремова, Спицин 2017), парашютистов (Михайлов 2017), шорт-трековиков (Кротова, Терехов 2021) и спортсменов, тренирующихся на развитие мышечной силы (Калабин, Спицин 2011; Kaltsatou et al. 2011; Mal'tsev et al. 2010).

## Величина RMSSD при перетренированности

У элитного спортсмена-триатлета в течение подготовки к старту величина RMSSD постепенно снижалась, что расценивалось как признак перетренированности (Plews et al. 2012). При исследовании 14-летних пловцов ( $n = 22$ ) выявлено, что снижение величины RMSSD может служить симптомом перетренированности (Kamandulis et al. 2020). По мнению Тиан с соавторами (Tian et al. 2013), снижение величины RMSSD до 45 мс у дзюдоистов ( $n = 34$ ; 23 года) отражает перетренированность. Итак, снижение величины RMSSD у действующих спортсменов расценивается как срыв адаптационных процессов у спортсменов, развивающих выносливость, т. е. является симптомом перетренированности (Kamandulis et al. 2020; Plews et al. 2012; Tian et al. 2013).

### Величина RMSSD (мс) в зависимости от гендера

Исследуя элитных лыжников-гонщиков (16 мужчин и 19 женщин) в начале и в конце подготовительного периода, а также в соревновательном периоде (Schäfer et al. 2015), не выявили половых различий: у мужчин величины RMSSD составили соответственно 99, 101 и 98, а у женщин 97, 100 и 100 мс. Исследуя 12 мужчин и 10 женщин лыжников-гонщиков высокой квалификации (1 взр, КМС, МС, МСМК) в возрасте 16–34 года, Солонин с соавторами (Солонин и др. 2019) не выявили статистически значимых различий между ними: у мужчин медиана RMSSD и центили составили 68 мс (56–86 мс), а у женщин — 51 мс (40–73 мс). Исследуя лыжниц и лыжников команды Республики Коми, Марков не выявил существенных половых различий в величине RMSSD: у 15–16-летних юношей она составила 80 мс, а у девушек — 77 мс; у 17–18-летних юношей — 73 мс, у девушек — 79 мс (Марков 2019). Не выявлено значимых различий у спортсменов (КМС, МС), занимающихся шорт-треком: у 7 юношей и 4 девушек в возрасте 16–22 лет величина RMSSD составляла соответственно 46 мс и 41 мс (Кротова, Терехов 2021). И лишь Гаврилова, исследовав баскетболистов, в том числе 15 женщин и 30 мужчин, установила, что у женщин величина RMSSD выше, чем у мужчин (73 мс против 57 мс) (Гаврилова 2015).

В отношении спортсменов также не выявлены статистически значимые половые различия по величине RMSSD. Так, Веневцева с соавторами, исследуя 60 женщин и 40 мужчин, студентов 6-го курса медицинского института,

показали, что величина RMSSD составила соответственно 37 мс и 44 мс ( $p > 0,05$ ) (Веневцева и др. 2019). Исследовав 29 мальчиков и 38 девочек, учащихся 9–10-х классов (14–16 лет) общеобразовательной школы, Михайлов не выявил значимых различий в величине RMSSD, которая составила соответственно 32 мс и 40 мс (Михайлов 2017). Не выявлено различий по величине RMSSD между 366 мужчинами и 271 женщиной (Park et al. 2007). И лишь в работе Питкевич с соавторами (Питкевич и др. 2010) сообщается, что у женщин медиана RMSSD статистически значимо выше, чем у мужчин.

Итак, большинство авторов не выявило половых различий по величине RMSSD у спортсменов (Кротова, Терехов 2021; Марков 2019; Солонин и др. 2019), и у спортсменов (Веневцева и др. 2019; Михайлов 2017; Park et al. 2007) и только, согласно данным Гавриловой (Гаврилова 2015), у женщин-баскетболисток величина RMSSD выше, чем у мужчин-баскетболистов, а среди спортсменов, согласно данным Питкевич с соавторами (Питкевич и др. 2010), у женщин она выше, чем у мужчин.

### Величина RMSSD (мс) в зависимости от периода годового цикла (подготовительный, соревновательный, переходный)

Исследуя 15 профессиональных велосипедистов (21 год), показано, что значения RMSSD в переходном периоде (один месяц отдыха) составили 86 мс, а в конце подготовительного периода, т. е. после пяти месяцев непрерывного тренировочного процесса, они составили 96 мс, но авторы не указали статистическую значимость различий (Bonaduce et al. 1998). Барреро с соавторами исследовали ВСР у десяти элитных велосипедисток (на шоссе) во время соревнования «Тур де Франс 2017», на протяжении 21 этапа (Barrero et al. 2019). Так, перед туром величина RMSSD составила 93 мс, а после 1–9 этапов — 49 мс, после 10–15 этапов — 56 мс, а в конце многодневки, т. е. после 16–21 этапов — 57 мс. Однако после кратковременного (два дня) отдыха величина RMSSD восстанавливалась почти до исходного уровня. Итак, на каждом этапе тура величина RMSSD статистически значимо снижалась, что косвенно говорит об утомлении, которое проходило в период отдыха. При исследовании 16 элитных лыжников-гонщиков из России, Норвегии, Швейцарии показано (Schäfer et al. 2015), что величина RMSSD в первой половине подготовительного периода (июнь–август) составила 99 мс, во второй

половине этого периода (сентябрь–ноябрь) — 101 мс, а в соревновательном периоде (декабрь–март) — соответственно 98 мс. Это свидетельствует о том, что на протяжении подготовительного и соревновательного периодов величины RMSSD у элитных лыжников оставались относительно стабильными, хотя имеется тенденция к снижению величины этого показателя в соревновательный период. Нами (Катаев и др. 2024) установлено, что у спортсмена Д. Катаева медиана и 25-й и 75-й центили RMSSD в подготовительном периоде составили 108 мс (97/120 мс), что статистически значимо было выше, чем в соревновательном периоде — 101 мс (94/111 мс) и в переходном периоде — 96 мс (91/107 мс) ( $p < 0,05$ ); при этом различия между соревновательным и переходным периодами были незначимы ( $p > 0,05$ ). У 8 членов сборной команды Татарстана (6 МС и 2 МСМК) величина RMSSD имела такую же динамику, как у спортсмена Д. Катаева — в подготовительном периоде величина RMSSD составила 110 мс (92/135 мс), а в соревновательном периоде — 96 (86/105 мс). Это говорит о том, что у всех членов сборной команды Татарстана, в том числе и у лыжника Д. Катаева величина RMSSD относительно стабильна на протяжении сезона, а незначительное (хотя и статистически значимое) снижение в соревновательном периоде можно объяснить формированием чувства тревожности, которое сопровождалось повышением активности СО АНС, регистрируемом при клиностатической КИГ.

Данные литературы также указывают на снижение величины RMSSD в соревновательном периоде, что особенно характерно для других видов спорта. Так, у 12 испанских футзалистов (23 года) в соревновательном периоде значения RMSSD были статистически значимо ниже, чем в подготовительном периоде (Nakamura et al. 2023). У 5 конькобежцев международного класса в конце соревновательного периода величина RMSSD была статистически значимо ниже, чем в начале этого периода — 42 мс против 61 мс (Iizuka et al. 2020). У легкоатлето-бегунов (24 года) регионального уровня величина RMSSD в соревновательном периоде была ниже (67 мс), чем в подготовительном периоде (83 мс), хотя различия были статистически незначимы (Raczak et al. 2006).

Таким образом, в соревновательном периоде у спортсменов (Nakamura et al. 2023), в том числе тренирующихся на выносливость (Катаев и др. 2024; Barrero et al. 2019; Bonaduce et al. 1998; Iizuka et al. 2020; Raczak et al. 2006; Schäfer et al. 2015), величина RMSSD в соревновательном периоде ниже, чем в подготовительном. Это,

как мы уже отмечали, можно объяснить формированием у спортсмена в соревновательном периоде чувства тревожности.

### **Величина RMSSD (мс) в зависимости от этапа мезоцикла (учебно-тренировочного сбора, УТС)**

В подготовке лыжников-гонщиков, помимо макроцикла, принято выделять отдельные мезоциклы или УТС, средняя продолжительность которых обычно составляет один календарный месяц (Миссина и др. 2022). При исследовании 6 лыжников-гонщиков (18–25 лет; 1 взр, КМС, МС) показано (Литвин и др. 2012), что до начала УТС величина RMSSD у разрядников составила 67 мс, а после завершения УТС — 96 мс, у КМС соответственно 98 мс и 102 мс, у МС — 112 мс и 125 мс (статистическая значимость различий не указана). Косвенно эти данные позволяют заключить, что на протяжении одного УТС величина RMSSD у малокачественных лыжников может возрастать, а у элитных лыжников она сохраняется стабильно высокой. При исследовании легкоатлетов и триатлетов (5 мужчин и 5 женщин) показано (Baumert et al. 2006), что значения RMSSD в начале, середине и конце УТС составили соответственно 68, 52 и 61 мс, при этом все различия были статистически значимы. У команды Татарстана по лыжным гонкам, в том числе у спортсмена Д. Катаева, в сезонах 2019–2020 годов было проведено десять УТС. Медианы и центили RMSSD, зарегистрированные у спортсмена Д. Катаева в начале, середине и конце семи УТС подготовительного периода, составили соответственно 117 (104/120 мс), 118 (107/119 мс) и 98 мс (93/113 мс). При этом все эти изменения были статистически незначимы ( $p > 0,05$ ). Это подтверждает представление о стабильности величины RMSSD у элитного лыжника на протяжении одномесечного УТС.

Итак, на основе данных литературы (Литвин и др. 2012; Baumert et al. 2006) и наших данных, полученных при исследовании лыжника-гонщика Д. Катаева (Катаев и др. 2024), можно заключить, что в структуре одного мезоцикла (УТС) величина RMSSD у элитных лыжников относительно стабильна.

### **Величина RMSSD в зависимости от объема и интенсивности тренировочных и соревновательных нагрузок**

При исследовании элитного пловца (на открытой воде) установлено (Pla et al. 2019), что

величина RMSSD повышалась с увеличением объема нагрузки, выполняемой с низкой и средней интенсивностью. При исследовании пятикратного олимпийского чемпиона по биатлону Мартена Фуркада выявлена положительная зависимость величины RMSSD от объема аэробной нагрузки (Schmitt et al. 2021). Полагают (Buchheit 2014), что аэробные тренировки большого объема повышают величину RMSSD. Согласно нашим данным (Катаев и др. 2024), полученным при регистрации КИГ у лыжника Д. Катаева, имеется прямая зависимость медианы RMSSD от длительности аэробной нагрузки (при медиане «рабочего» пульса, равной 120–121 уд/мин). Это характерно в целом для сезона (величина коэффициента Спирмена составила 0,15;  $p < 0,05$ ). Итак, большие по объему аэробные тренировочные нагрузки способствуют росту величины RMSSD, а тем самым — повышению влияния ПО АНС на работу сердца спортсменов (Катаев и др. 2024; Buchheit 2014; Pla et al. 2019; Schmitt et al. 2021). Сообщение (Kamandulis et al. 2020) о снижении у 14-летних пловцов величины RMSSD (до 73 мс) при увеличении объема тренировочных нагрузок, вероятно, можно расценивать как следствие перетренированности юных пловцов.

### Величина RMSSD у спортсменов в зависимости от типа вегетативной регуляции сердечной деятельности (ТВРСД)

Нам не удалось найти сведений, касающихся ТВРСД, оцениваемых по величине RMSSD. По мнению Н. И. Шлык (Shlyk 2016), у спортсменов, независимо от спортивной специализации, возраста и других факторов, показатели ВСР преимущественно определяются ТВРСД. Согласно Н. И. Шлык (Shlyk 2016), с учетом величины индекса напряжения (SI) и абсолютной мощности VLF (AMVLF), следует выделять четыре типа (I, II, III и IV) ТВРСД, что определяется выраженностью либо центральной, либо автономной регуляции деятельности сердца. Так, согласно Н. И. Шлык, I и II типы регуляции — это спортсмены соответственно с умеренным ( $SI > 100$ ;  $AMVLF > 240$  мс<sup>2</sup>) или выраженным ( $SI > 100$ ;  $AMVLF < 240$  мс<sup>2</sup>) преобладанием центральной регуляции, а III и IV типы — это спортсмены соответственно с умеренным ( $SI = 30–100$ ;  $AMVLF > 240$  мс<sup>2</sup>), или выраженным ( $SI < 30$ ;  $AMVLF > 500$  мс<sup>2</sup>) преобладанием автономной регуляции. По сути, центральная регуляция, согласно Н. И. Шлык, — это доминирование влияния СО АНС на сердце в условиях клиностаза, в то время как автономная регуля-

ция — это доминирование влияния ПО АНС в этих же условиях. В работе (Шлык и др. 2012) спортсмены, независимо от их возраста, квалификации и вида спорта, были разделены на четыре типа регуляции, согласно приведенным выше критериям. У спортсменов, относящихся к I, II, III и IV ТВРСД, величина RMSSD была равной соответственно 37, 32, 75 мс, 126 мс. В то же время Литвин с соавторами (Литвин и др. 2021), исследовавшие 12 пауэрлифтеров (КМС, МС), показали, что у 5 спортсменов, имеющих III ТВРСД по классификации Н. И. Шлык (на основе SI и VLF), т. е. умеренный автономный тип, величина RMSSD не отличалась от 7 спортсменов, имеющих I ТВРСД, — умеренный центральный — величина RMSSD составила соответственно 33 мс и 32 мс. Используя классификацию Н. И. Шлык (Shlyk 2016), мы оценили ТВРСД у 8 членов сборной Татарстана, включая спортсмена Д. Катаева, и установили, что у 7 из них и в подготовительном, и в соревновательном периодах имелся IV ТВРСД, а у спортсмена Г. В. в обоих периодах имелся III ТВРСД (Катаев и др. 2023b). Как уже отмечалось выше, у всех членов команды Татарстана, в том числе у спортсмена Д. Катаева медиана RMSSD в указанные периоды (а у Д. Катаева и в переходном периоде) варьировала от 96 до 110 мс, что отражает высокую активность ПО АНС. Это дает основание утверждать, что показатель RMSSD может также служить одним из критериев для выделения ТВРСД деятельности сердца.

### Заключение

Ранее мы проанализировали динамику спектральных показателей ВСР в процессе годового цикла элитных лыжников, в том числе TP, абсолютную мощность (мс<sup>2</sup>) HF-, LF-, VLF-волн и относительную мощность (в процентах к TP) этих волн, т. е. HF%, LF% и VLF% (Катаев и др. 2023a), а также динамику ряда временных показателей (SI, усл. ед) (Катаев и др. 2023b); (RRNN, мс), pNN50% (Kataev et al. 2024). Мы установили, что на протяжении годового цикла значения TP, HF-, LF- и VLF-волн существенно меняются, в то время как значения SI, R-R (RRNN), pNN50% и RMSSD претерпевают небольшие изменения. Но в целом мы подтвердили, что все перечисленные спектральные и временные показатели ВСР (в условиях клиностаза) отражают влияние ПО АНС на сердце, которое достигает максимальных значений в подготовительном периоде и снижается в соревновательном периоде. При этом мы предположили, что показатель VLF% отражает

синтез кардиомиоцитами ненейронального ацетилхолина (Катаев и др. 2023а), а величины LF% и HF% (Катаев и др. 2023а) и RRNN отражают формирование у спортсмена состояния тревоги в связи с предстоящими стартами.

Результаты данного обзора подтверждают представление о том, что величина RMSSD отражает активность ПО АНС: чем выше значения этого показателя, тем выраженнее влияние ПО АНС на деятельность сердца (Михайлов 2017; Barak et al. 2010; Bonaduce et al. 1998; Deus et al. 2019; Jensen-Urstad et al. 1997; Kaltsatou et al. 2011; Kiss et al. 2016; Pluim et al. 1999; Swart, Constantinou 2023). Это особенно характерно для элитных лыжников (Катаев и др. 2024; Литвин и др. 2012; Schäfer et al. 2015).

У спортсменов самые высокие значения RMSSD зарегистрированы у элитных лыжников-гонщиков (Катаев и др. 2024; Schäfer et al. 2015) и биатлонистов (Schmitt et al. 2021), а самые низкие — у лыжников-гонщиков начальных разрядов (Ефремова, Спицин 2017), парашютистов (Михайлов 2017), шорт-трековиков (Кротова, Терехов 2021) и спортсменов, тренирующихся на развитие мышечной силы (Калабин, Спицин 2011; Kaltsatou et al. 2011; Mal'tsev et al. 2010).

Данные литературы свидетельствуют о том, что даже у начинающих спортсменов величины RMSSD выше, чем у неспортсменов: 32–56 мс против 20–30 мс (Михайлов 2017; Bonaduce et al. 1998; Deus et al. 2019; Kaltsatou et al. 2011). Это согласуется с представлением о том, что двигательная активность способствует повышению влияния ПО АНС на сердце. Поэтому вполне объяснимы высокие значения RMSSD (96–110 мс), характерные для элитных лыжников. Яркий пример тому — данные о повышении значений RMSSD у известного биатлониста Мартена Фуркада на протяжении 11 лет, т. е. с 2009 по 2019 год (Schmitt et al. 2021). Поэтому многие авторы заключают, что рост величины RMSSD у спортсменов, тренирующихся на выносливость, служит предиктором спортивного успеха (Остроумов, Викулов 2012; Botek et al. 2014; Schmitt et al. 2021), а снижение величины RMSSD, вероятнее всего, отражает состояние перетренированности (Kamandulis et al. 2020; Plews et al. 2012; Tian et al. 2013), при котором возрастает активность СО АНС. Нами показано, что на протяжении каждого учебно-тренировочного сбора (УТС) у элитных спортсменов, в том числе у лыжников, как правило, значения RMSSD сохраняются стабильно высокими (Катаев и др. 2024). Это означает, что показатель RMSSD не обладает высокой информативностью в срав-

нении со спектральными показателями, но, очевидно, он позволяет диагностировать перетренированность (Kamandulis et al. 2020; Plews et al. 2012; Tian et al. 2013). Сведения, полученные другими авторами (Литвин и др. 2012) при исследовании лыжников на УТС, подтверждают этот вывод.

Данные литературы также свидетельствуют об относительной стабильности показателя RMSSD на протяжении годового цикла у спортсменов, тренирующихся на выносливость (Катаев и др. 2024; Barrero et al. 2019; Bonaduce et al. 1998; Liao, Li 2022; Raczak et al. 2006; Schäfer et al. 2015). Отметим, что при силовых тренировках динамика показателя RMSSD существенно иная (Калабин, Спицин 2011; Kaltsatou et al. 2011; Mal'tsev et al. 2010), чем у спортсменов, тренирующихся на выносливость. Но эта особенность касается не только показателя RMSSD, но и других временных показателей ВСР, в том числе SI (Катаев и др. 2023b); RRNN, рNN50% (Катаев et al. 2024) и RMSSD (Катаев и др. 2024).

Нами впервые установлено, что с повышением длительности тренировочных нагрузок ( $V_{\text{мин}}$ ), проводимых в аэробном режиме, в частности, при «рабочем» пульсе, равном 120–121 уд/мин за тренировку, возрастает медиана RMSSD, что характерно в целом по сезону (Катаев и др. 2024). К аналогичному выводу приходят и другие авторы (Buchheit 2014; Pla et al. 2019; Schmitt et al. 2021).

В настоящее время существует мнение о том, что значения показателей ВСР у спортсменов зависят не от пола, стажа занятий спортом, уровня спортивного мастерства и других факторов, а определяются генетически врожденным ТВРСД (Shlyk 2016), основным критерием классификации которого являются величины SI и VLF. Согласно данной классификации, 7 членов команды Татарстана, включая Д. Катаева, отнесены к IV ТВРСД и лишь один из них — к III типу ТВРСД (Катаев и др. 2023b). По нашему мнению, показатель RMSSD может также служить одним из критериев для оценки ТВРСД. Полагаем, что вопрос о зависимости показателей ВСР от ТВРСД, поднятый в ряде работ (Ефремова, Спицин 2017; Литвин и др. 2021; Шлык и др. 2012; Shlyk 2016), заслуживает внимания, но требует дальнейших исследований. По нашему мнению, ТВРСД зависит от генома спортсмена, в том числе от способности кардиомиоцитов желудочков сердца синтезировать ненейрональный ацетилхолин (НН-АХ), что в конечном итоге и определяет его успешность в избранном виде спорта.

Установлено, что половые различия не влияли на RMSSD (Веневцева и др. 2019; Кротова, Терехов 2021; Марков 2019; Михайлов 2017; Солонин и др. 2019; Park et al. 2007; Schäfer et al. 2015).

В целом наши данные в отношении величины RMSSD (Катаев и др. 2024) не противоречат высказанному ранее предположению о том, что в процессе адаптации организма к физическим нагрузкам, требующим выносливости, в сердце формируется антиапоптотическая система, которая препятствует повреждению сердца, неизбежно возникающему под влиянием окислительного стресса и активации бета<sub>1</sub>-адренорецепторов сердца (Катаев и др. 2023а). Одним из важных компонентов этого механизма является так называемый ненейрональный АХ (НН-АХ), который под влиянием физических нагрузок большого объема продуцируется кардиомиоцитами. В основе антиапоптотического действия АХ, по мнению Какинумы (Kakinuma 2021), лежит активация M<sub>3</sub>-XP или альфа<sub>7</sub>-Н-XP, благодаря которой активируется транскрипционный фактор Nrf-2, регулирующий экспрессию более 500 генов, в том числе повышающий экспрессию антиоксидантов типа глутатиона и антиоксидантных ферментов. Ранее мы показали (Катаев и др. 2024), что процесс синтеза ненейронального АХ (НН-АХ) отражает такой спектральный показатель, как относительная мощность VLF-волн (VLF%), т. е. выраженная в процентах к TP (Катаев и др. 2023а). Тот факт, что высокие спортивные показатели лыжников и других спортсменов, тренирующихся на выносливость, коррелируют с ростом значений RMSSD (Остроумов, Викулов 2012; Botek et al. 2014; Schmitt et al. 2021), а перетренированность спортсмена проявляется в снижении величины RMSSD (Kamandulis et al. 2020; Plews et al. 2012; Tian et al. 2013), позволяет предположить, что величина RMSSD отражает интенсивность синтеза ненейронального АХ (НН-АХ) в желудочках миокарда в процессе тренировок и ее снижение при перетренировках. С учетом данных литературы о том, что снижение синтеза ненейронального АХ (НН-АХ) является одной из причин гипертонии (Meng et al. 2021), а также причиной развития сердечной недостаточности при сахарном диабете-1 (Munasinghe et al. 2023), полагаем, что величины спектральных и временных показателей ВСР элитных лыжников, в том числе величины относительной мощности VLF-волн и RMSSD (и вероятно, других) могут служить индикатором производства ненейронального АХ (НН-АХ) кардиомиоцитами желудочков сердца человека. Но для доказательства этого

предположения требуются дальнейшие исследования параметров ВСР лыжников, совмещенные с оценкой состояния системы синтеза ненейронального АХ, в том числе активности холинацетилтрансферазы, транспортера холина-1 и везикулярного транспортера АХ, а также состояния митохондрий как источника холина и ацетила для синтеза синаптического и ненейронального АХ.

## Выводы

1. Величина RMSSD зависит от уровня двигательной активности, а у спортсменов от спортивной специализации (она максимальна у спортсменов, тренирующихся на выносливость, в частности, у лыжников-гонщиков высокой квалификации, а минимальна у спортсменов, развивающих силу, в частности, у пауэрлифтеров); от стажа занятий спортом и квалификации (у лыжников-гонщиков с повышением мастерства величина RMSSD увеличивается).

2. Величина RMSSD зависит от периодов подготовки спортсменов; в частности, у тренирующихся на выносливость, например, у элитных лыжников, она достигает максимума в подготовительный период и остается относительно стабильной на протяжении всего сезона, незначительно снижаясь в соревновательный период, что связано с формированием чувства тревожности. Она также стабильна у элитных лыжников на протяжении учебно-тренировочного сбора (УТС).

3. У спортсменов, тренирующихся на выносливость, в том числе у элитных лыжников-гонщиков, медиана RMSSD возрастает с повышением длительности аэробной тренировочной нагрузки, что косвенно говорит о повышении у них влияния парасимпатической системы на деятельность сердца.

4. Тип вегетативной регуляции сердечной деятельности (ТВРСД) у элитных лыжников-гонщиков не меняется на протяжении всего годового сезона и оценивается по классификации Н. И. Шлык как выраженная автономная регуляция, т. е. ваготония.

## 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 исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 года и ее последующих обновлениях, и одобрены локальным биоэтическим комитетом Вятского государственного университета (Киров) от 11.01.2022 г., протокол № 2.

### Ethics Approval

All the studies were conducted in accordance with the principles of biomedical ethics set forth in the 1964 Declaration of Helsinki and its updates, and approved by the local bioethics committee of Vyatka State University, Kirov, dated January 11, 2022, protocol No. 2.

### Вклад авторов

а. Катаев Денис Анатольевич — сбор и обработка материала, анализ литературы, написание статьи;

б. Циркин Виктор Иванович — концепция и дизайн исследования, анализ литературы, написание статьи;

в. Трухин Андрей Николаевич — научное редактирование, оформление статьи и необходимой документации;

г. Трухина Светлана Ивановна — концепция и дизайн исследования, научное редактирование, оформление статьи и необходимой документации.

### Author Contributions

a. Denis A. Kataev — collecting and processing the materials, literature analysis, drafting the article;

b. Viktor I. Tsirkin — study concept and design, literature analysis, drafting the article;

c. Andrey N. Trukhin — scientific editing, preparation of the article and related documentation;

d. Svetlana I. Trukhina — study concept and design, scientific editing, preparation of the article and related documentation.

### Список сокращений

АНС — автономная нервная система; АХ — ацетилхолин; БАВ — биологически активные вещества; ВСП — вариабельность сердечного ритма; ЗМС — заслуженный мастер спорта; КИГ — кардиоинтервалография; КМС — кандидат в мастера спорта; МС — мастер спорта; МСМК — мастер спорта международного класса; ОЦН — объем циклической нагрузки; ПО — парасимпатический отдел АНС; СО — симпатический отдел АНС; ТВР — тип вегетативной регуляции; ТВРСД — тип вегетативной регуляции сердечной деятельности; УТС — учебно-тренировочный сбор.

Спектральные показатели ВСП: TP — общая мощность спектра; HF — мощность быстрых волн; LF — мощность медленных волн; VLF — мощность очень медленных волн; HF%, LF% и VLF% — относительная мощность HF-, LF- и VLF-волн, выраженная в процентах к TP. Временные показатели ВСП: pNN50% — отношение последовательных интервалов NN, различие между которыми превышает 50 мс, в процентах к общему числу нормальных (NN) интервалов RR; RMSSD — квадратный корень из среднего квадрата разностей величин последовательных пар интервалов NN; RRNN — длительность нормальных интервалов RR; SI — стресс-индекс, или индекс напряжения.

### List of Abbreviations

ACh — acetylcholine; ANS — autonomous nervous system; BAS — biologically active substances; CIG — cardiointervalography; CLV — cyclic load volume; CMS — Candidate for Master of Sports; HMS — Honored Master of Sports; HRV — heart rate variability; IMS — International Master of Sports; MS — Master of Sports; PNS — parasympathetic nervous system; SNS — sympathetic nervous system; TAR — type of autonomic regulation; TARCA — type of autonomic regulation of cardiac activity; TC — training camp.

HRV spectral indices: TP — total spectrum power; HF — power of fast waves; LF — slow wave power; VLF — power of very slow waves; HF%, LF% and VLF% — relative power of HF-, LF- and VLF waves expressed as a percentage of TP. HRV time indicators: pNN50% — ratio of consecutive NN intervals the difference between which exceeds 50 ms as a percentage of the total number of normal (NN) RR intervals; RMSSD — square root of the mean square of the magnitude differences of consecutive pairs of NN intervals; RRNN — duration of normal RR intervals; SI — stress index or voltage index.

## Литература

- Веневцева, Ю. Л., Путилин, Л. В., Прохоров, П. Ю. (2019) Гендерные особенности variability сердечного ритма и психометрического тестирования у здоровых студентов. *Современные вопросы биомедицины*, т. 3, № 3, с. 16–25.
- Воронина, Г. А., Сафарова, Р. И. (2008) Характеристика основных параметров variability сердечного ритма как показателя тренированности лыжников-гонщиков. В кн.: Р. М. Баевский, Н. И. Шлык (ред.). *Вариабельность сердечного ритма: теоретические аспекты и практическое применение. Тезисы докладов IV Всероссийского симпозиума с международным участием*. Ижевск: Изд-во Удмуртского государственного университета, с. 65–68.
- Гаврилова, Е. А. (2015) *Спорт, стресс, variability*. М.: Спорт, 169 с.
- Ефремова, Р. И., Спицин, А. П. (2017) Особенности устойчивости симпатотонического типа вегетативной регуляции у юных лыжников под действием тренировочных и соревновательных нагрузок. *Журнал медико-биологических исследований*, т. 5, № 4, с. 90–92. <https://doi.org/10.17238/issn2542-1298.2017.5.4.90>
- Исмаил (Бергман), А. И., Захарьева, Н. Н., Берсенева, Е. Ю. (2021) Особенности формирования автономной регуляции сердечной деятельности у юных футболистов различного игрового амплуа. В кн.: Н. И. Шлык (ред.). *Вариабельность сердечного ритма: теоретические аспекты и практическое применение в спорте и массовой физкультуре. Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием*. Ижевск: Изд-во Удмуртского государственного университета, с. 57–66.
- Калабин, О. В., Михайлов, М. М. (2021) Применение экспресс-метода анализа variability ритма сердца для коррекции тренировочного процесса в волейболе. В кн.: Н. И. Шлык (ред.). *Вариабельность сердечного ритма: теоретические аспекты и практическое применение в спорте и массовой физкультуре. Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием*. Ижевск: Изд-во Удмуртского государственного университета, с. 152–157.
- Калабин, О. В., Спицин, А. П. (2011) Variability сердечного ритма у спортсменов с силовой направленностью тренировочного процесса. *Новые исследования*, т. 29, № 4, с. 124–131.
- Катаев, Д. А., Циркин, В. И., Завалин, Н. С. и др. (2023a) Динамика TP-, HF-, LF- и VLF-волн кардиоинтервалограммы (в условиях клиностаза) элитного лыжника-гонщика в подготовительном, соревновательном и переходном периодах в зависимости от объема и интенсивности тренировочных нагрузок. *Физиология человека*, т. 49, № 5, с. 87–100. <https://doi.org/10.31857/S0131164623700303>
- Катаев, Д. А., Циркин, В. И., Трухин, А. Н., Трухина, С. И. (2023b) Динамика стресс-индекса и спектральных показателей кардиоинтервалограммы элитных лыжников-гонщиков в подготовительном, соревновательном и переходном периодах в зависимости от объема и интенсивности тренировочных нагрузок. *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». Реабилитация, Врач и Здоровье*, т. 13, № 6, с. 12–25. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2023.6.PHYS.1>
- Катаев, Д. А., Циркин, В. И., Трухина, С. И., Трухин, А. Н. (2024) Динамика RMSSD кардиоинтервалограммы у элитных лыжников-гонщиков в течение годового макроцикла (подготовительного, соревновательного и переходного периодов) в зависимости от объема и интенсивности тренировочных и соревновательных нагрузок. *Человек. Спорт. Медицина*. (В печати)
- Кротова, К. А., Терехов, П. А. (2021) Особенности variability сердечного ритма у шорт-трековиков при ортостатической пробе с учетом гендерных различий. В кн.: Н. И. Шлык (ред.). *Вариабельность сердечного ритма: теоретические аспекты и практическое применение в спорте и массовой физкультуре. Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием*. Ижевск: Изд-во Удмуртского государственного университета, с. 158–162.
- Литвин, Ф. Б., Аносов, И. П., Асямолов, П. О. и др. (2012) Сердечный ритм и система микроциркуляции у лыжников в предсоревновательном периоде спортивной подготовки. *Вестник Удмуртского университета. Серия Биология. Науки о земле*, № 1, с. 67–74.
- Литвин, Ф. Б., Жигало, В. Я., Бойко, Г. М. (2021) Вариации поведения разных типов вегетативной регуляции сердечного ритма, вызванные применением биодобавки к спортивному питанию. В кн.: Н. И. Шлык (ред.). *Вариабельность сердечного ритма: теоретические аспекты и практическое применение в спорте и массовой физкультуре. Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием*. Ижевск: Изд-во Удмуртского государственного университета, с. 177–182.
- Марков, А. Л. (2019) Variability сердечного ритма у лыжников-гонщиков Республики Коми 15–18 лет: возрастные и половые различия. *Журнал медико-биологических исследований*, т. 7, № 2, с. 151–160. <https://doi.org/10.17238/issn2542-1298.2019.7.2.151>
- Миссина, С. С., Адодин, Н. В., Крючков, А. С., Мякинченко, Е. Б. (2022) Модели периодизации нагрузок силовой направленности в мезоциклах подготовки лыжников-гонщиков высокого класса. *Педагогико-психологические и медико-биологические проблемы физической культуры и спорта*, т. 17, № 3, с. 23–30.
- Михайлов, В. М. (2017) *Вариабельность ритма сердца (новый взгляд на старую парадигму)*. Иваново: Нейрософт, 516 с.

- Остроумов, Р. С., Викулов, А. Д. (2012) Анализ соревновательной деятельности лыжников-гонщиков с помощью прибора «Foregunner 305». *Ярославский педагогический вестник (Психолого-педагогические науки)*, т. 2, № 2, с. 125–128.
- Питкевич, Ю. Э., Лосицкий, Е. А., Загородный, Г. М., Ярошевич, О. А. (2010) *Алгоритм диагностического применения программно-аппаратного комплекса «Омега-С» в спортивной медицине*. Гомель: Гомельский государственный медицинский университет, 160 с.
- Погодин, А. А., Алексанянц, Г. Д. (2018) Симпато-парасимпатические взаимодействия в регуляции сердечного ритма баскетболистов студенческой лиги. *Физиология*, № 1, с. 62–68.
- Сарыг, С. К. О., Лопсан, А. Д. О., Будук-оол, А. К. С. (2015) Показатели variability ритма сердца у спортсменов. *Вестник Тувинского государственного университета. № 2 Естественные и сельскохозяйственные науки*, № 2 (25), с. 48–52.
- Солонин, Ю. Г., Бойко, Е. Р., Ватлин, А. В. и др. (2019) *Физиолого-биохимические механизмы обеспечения спортивной деятельности зимних циклических видов спорта*. Сыктывкар: Коми республиканская типография, 256 с.
- Ходырев, Г. Н., Хлыбова, С. В., Циркин, В. И. и др. (2011) Методические аспекты анализа временных и спектральных показателей variability сердечного ритма (обзор литературы). *Вятский медицинский вестник*, № 3–4, с. 60–70.
- Шлык, Н. И., Сапожникова, Е. Н., Кириллова, Т. Г., Жужгов, А. П. (2012) Об особенностях ортостатической реакции у спортсменов с разными типами вегетативной регуляции. *Вестник Удмуртского университета. Серия Биология. Науки о земле*, № 1, с. 114–125.
- Ayuso-Moreno, R. M., Fuentes-García, J. P., Nobari, H., Villafaina, S. (2021) Impact of the result of soccer matches on the heart rate variability of women soccer players. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 18, no. 17, article 9414. <https://doi.org/10.3390/ijerph18179414>
- Barak, O. F., Jakovljevic, D. G., Popadic Gacesa, J. Z. et al. (2010) Heart rate variability before and after cycle exercise in relation to different body positions. *Journal of Sports Science and Medicine*, vol. 9, no. 2, pp. 176–182. PMID: 24149683
- Barrero, A., Schnell, F., Carrault, G. et al. (2019) Daily fatigue-recovery balance monitoring with heart rate variability in well-trained female cyclists on the Tour de France circuit. *PLoS One*, vol. 14, no. 3, article e0213472. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213472>
- Baumert, M., Brechtel, L., Lock, J. et al. (2006) Heart rate variability, blood pressure variability, and baroreflex sensitivity in overtrained athletes. *Clinical Journal of Sport Medicine*, vol. 16, no. 5, pp. 412–417. <https://doi.org/10.1097/01.jsm.0000244610.34594.07>
- Bonaduce, D., Petretta, M., Cavallaro, V. et al. (1998) Intensive training and cardiac autonomic control in high level athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 30, no. 5, pp. 691–696. <https://doi.org/10.1097/00005768-199805000-00008>
- Botek, M., McKune, A. J., Krejci, J. et al. (2014) Change in performance in response to training load adjustment based on autonomic activity. *International Journal of Sports Medicine*, vol. 35, no. 6, pp. 482–488. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1354385>
- Buchheit, M. (2014) Monitoring training status with HR measures: Do all roads lead to Rome? *Frontiers in Physiology*, vol. 5, article 73. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00073>
- Deus, L. A., Sousa, C. V., Rosa, T. S. et al. (2019) Heart rate variability in middle-aged sprint and endurance athletes. *Physiology & Behavior*, vol. 205, pp. 39–43. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.10.018>
- Flatt, A. A., Hornikel, B., Nakamura, F. Y., Esco, M. R. (2021) Effect of competitive status and experience on heart rate variability profiles in collegiate sprint-swimmers. *Journal of Strength and Conditioning Research*, vol. 36, no. 10, pp. 2898–2904. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000003992>
- Iizuka, T., Kon, M., Maegawa, T. et al. (2020) Comparison of morning heart rate variability at the beginning and end of a competition season in elite speed skaters. *Sports*, vol. 8, no. 12, article 164. <https://doi.org/10.3390/sports8120164>
- Jensen-Urstad, K., Saltin, B., Ericson, M. et al. (1997) Pronounced resting bradycardia in male elite runners is associated with high heart rate variability. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, vol. 7, no. 5, pp. 274–278. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.1997.tb00152.x>
- Kakinuma, Y. (2021) Characteristic effects of the cardiac non-neuronal acetylcholine system augmentation on brain functions. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 2, article 545. <https://doi.org/10.3390/ijms22020545>
- Kaltsatou, A., Kouidi, E., Fotiou, D., Deligiannis, P. (2011) The use of pupillometry in the assessment of cardiac autonomic function in elite different type trained athletes. *European Journal of Applied Physiology*, vol. 111, no. 9, pp. 2079–2087. <https://doi.org/10.1007/s00421-011-1836-0>
- Kamandulis, S., Juodsnukis, A., Stanislovaitiene, J. et al. (2020) Daily resting heart rate variability in adolescent swimmers during 11 weeks of training. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 17, no. 6, article 2097. <https://doi.org/10.3390/ijerph17062097>

- Kataev, D. A., Tsirkin, V. I., Trukhin, A. N., Trukhina, S. I. (2024) Indicator PNN50% cardiointervalogram depending on the specialization of the training process, stage of the annual training cycle and other factors (literature review). *Anatomy Physiology & Biochemistry International Journal*, vol. 7, no. 2, article 555707.
- Kiss, O., Sydó, N., Vargha, P. et al. (2016) Detailed heart rate variability analysis in athletes. *Clinical Autonomic Research*, vol. 26, no. 4, pp. 245–252. <https://doi.org/10.1007/s10286-016-0360-z>
- Lengyel, C., Orosz, A., Hegyi, P. et al. (2011) Increased short-term variability of the QT interval in professional soccer players: Possible implications for arrhythmia prediction. *PLoS One*, vol. 6, no. 4, article e18751. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018751>
- Liao, L., Li, J. (2022) Research on effect of load stimulation change on heart rate variability of women volleyball athletes. *Computational Intelligence and Neuroscience*, vol. 2022, article 3917415. <https://doi.org/10.1155/2022/3917415>
- Mal'tsev, A. Iu., Mel'nikov, A. A., Vikulov, A. D., Gromova, K. S. (2010) The state of central hemodynamics and variability of heart rate in sportsmen with various direction of training process. *Human Physiology*, vol. 36, no. 1, pp. 112–118. PMID: [20196455](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20196455/)
- Meng, Z., Sun, B., Chen, W. et al. (2021) Depression of non-neuronal cholinergic system may play a role in co-occurrence of subjective daytime sleepiness and hypertension in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Nature and Science of Sleep*, vol. 13, pp. 2153–2163. <https://doi.org/10.2147/NSS.S339038>
- Morales, J., Garcia, V., García-Massó, X. et al. (2013) The use of heart rate variability in assessing precompetitive stress in high-standard judo athletes. *International Journal of Sports Medicine*, vol. 34, no. 2, pp. 144–151. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1323719>
- Munasinghe, P. E., Saw, E. L., Reily-Bell, M. et al. (2023) Non-neuronal cholinergic system delays cardiac remodelling in type 1 diabetes. *Heliyon*, vol. 9, no. 6, article e17434. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17434>
- Nakamura, F. Y., Costa, J. A., Travassos, B. et al. (2023) Intraindividual relationships between training loads and heart-rate variability in high-level female futsal players: A longitudinal study. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, vol. 18, no. 3, pp. 306–312. <https://doi.org/10.1123/ijssp.2021-0500>
- Oliveira-Silva, I., Silva, V. A., Cunha, R. M., Foster, C. (2018) Autonomic changes induced by pre-competitive stress in cyclists in relation to physical fitness and anxiety. *PLoS One*, vol. 13, no. 12, article e0209834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209834>
- Park, S. B., Lee, B. C., Jeong, K. S. (2007) Standardized tests of heart rate variability for autonomic function tests in healthy Koreans. *International Journal of Neuroscience*, vol. 117, no. 12, pp. 1707–1717. <https://doi.org/10.1080/00207450601050097>
- Perek, S., Raz-Pasteur, A. (2021) Heart rate variability: The age-old tool still remains current. *Harefuah*, vol. 160, no. 8, pp. 533–536. PMID: [34396730](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34396730/)
- Pla, R., Aubry, A., Resseguier, N. et al. (2019) Training organization, physiological profile and heart rate variability changes in an open-water world champion. *International Journal of Sports Medicine*, vol. 40, no. 8, pp. 519–527. <https://doi.org/10.1055/a-0877-6981>
- Plews, D. J., Laursen, P. B., Kilding, A. E., Buchheit, M. (2012) Heart rate variability in elite triathletes, is variation in variability the key to effective training? A case comparison. *European Journal of Applied Physiology*, vol. 112, no. 11, pp. 3729–3741. <https://doi.org/10.1007/s00421-012-2354-4>
- Pluim, B. M., Swenne, C. A., Zwinderman, A. H. et al. (1999) Correlation of heart rate variability with cardiac functional and metabolic variables in cyclists with training induced left ventricular hypertrophy. *Heart*, vol. 81, no. 6, pp. 612–617. <https://doi.org/10.1136/hrt.81.6.612>
- Proietti, R., di Fronso, S., Pereira, L. A. et al. (2017) Heart rate variability discriminates competitive levels in professional soccer players. *Journal of Strength and Conditioning Research*, vol. 31, no. 6, pp. 1719–1725. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000001795>
- Raczak, G., Daniłowicz-Szymanowicz, L., Kobuszewska-Chwirot, M. et al. (2006) Long-term exercise training improves autonomic nervous system profile in professional runners. *Kardiologia Polska*, vol. 64, no. 2, pp. 135–140. PMID: [16502362](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16502362/)
- Schäfer, D., Gjerdalen, G. F., Solberg, E. E. et al. (2015) Sex differences in heart rate variability: A longitudinal study in international elite cross-country skiers. *European Journal of Applied Physiology*, vol. 115, no. 10, pp. 2107–2114. <https://doi.org/10.1007/s00421-015-3190-0>
- Schmitt, L., Bouthiaux, S., Millet, G. P. (2021) Eleven years' monitoring of the world's most successful male biathlete of the last decade. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, vol. 16, no. 6, pp. 900–905. <https://doi.org/10.1123/ijssp.2020-0148>
- Seiler, S., Haugen, O., Kuffel, E. (2007) Autonomic recovery after exercise in trained athletes: Intensity and duration effects. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 39, no. 8, pp. 1366–1373. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e318060f17d>
- Shlyk, N. I. (2016) Management of athletic training with consideration of individual heart rate variability characteristics. *Human Physiology*, vol. 42, no. 6, pp. 81–91. PMID: [29932530](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29932530/)
- Swart, A., Constantinou, D. (2023) The effects of a 3-day mountain bike cycling race on the autonomic nervous system (ANS) and heart rate variability in amateur cyclists: A prospective quantitative research design. *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation*, vol. 15, no. 1, article 2. <https://doi.org/10.1186/s13102-022-00614-y>

- Sztajzel, J., Jung, M., Sievert, K., Bayes De Luna, A. (2008) Cardiac autonomic profile in different sports disciplines during all-day activity. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, vol. 48, no. 4, pp. 495–501. PMID: [18997654](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18997654/)
- Tian, Y., He, Z.-H., Zhao, J.-X. et al. (2013) Heart rate variability threshold values for early-warning nonfunctional overreaching in elite female wrestlers. *Journal of Strength and Conditioning Research*, vol. 27, no. 6, pp. 1511–1519. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e31826caef8>

## References

- Ayuso-Moreno, R. M., Fuentes-García, J. P., Nobari, H., Villafaina, S. (2021) Impact of the result of soccer matches on the heart rate variability of women soccer players. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 18, no. 17, article 9414. <https://doi.org/10.3390/ijerph18179414> (In English)
- Barak, O. F., Jakovljevic, D. G., Popadic Gacesa, J. Z. et al. (2010) Heart rate variability before and after cycle exercise in relation to different body positions. *Journal of Sports Science and Medicine*, vol. 9, no. 2, pp. 176–182. PMID: [24149683](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24149683/) (In English)
- Barrero, A., Schnell, F., Carrault, G. et al. (2019) Daily fatigue-recovery balance monitoring with heart rate variability in well-trained female cyclists on the Tour de France circuit. *PLoS One*, vol. 14, no. 3, article e0213472. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213472> (In English)
- Baumert, M., Brechtel, L., Lock, J. et al. (2006) Heart rate variability, blood pressure variability, and baroreflex sensitivity in overtrained athletes. *Clinical Journal of Sport Medicine*, vol. 16, no. 5, pp. 412–417. <https://doi.org/10.1097/01.jsm.0000244610.34594.07> (In English)
- Bonaduce, D., Petretta, M., Cavallaro, V. et al. (1998) Intensive training and cardiac autonomic control in high level athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 30, no. 5, pp. 691–696. <https://doi.org/10.1097/00005768-199805000-00008> (In English)
- Botek, M., McKune, A. J., Krejci, J. et al. (2014) Change in performance in response to training load adjustment based on autonomic activity. *International Journal of Sports Medicine*, vol. 35, no. 6, pp. 482–488. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1354385> (In English)
- Buchheit, M. (2014) Monitoring training status with HR measures: Do all roads lead to Rome? *Frontiers in Physiology*, vol. 5, article 73. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00073> (In English)
- Deus, L. A., Sousa, C. V., Rosa, T. S. et al. (2019) Heart rate variability in middle-aged sprint and endurance athletes. *Physiology & Behavior*, vol. 205, pp. 39–43. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.10.018> (In English)
- Efremova, R. I., Spitsin, A. P. (2017) Osobennosti ustojchivosti simpatotonicheskogo tipa vegetativnoj regulyatsii u yunyh lyzhnikov pod dejstviem trenirovochnykh i sorevnovatel'nykh nagruzok [Stability of the sympathotonic type of autonomic regulation in young skiers under the influence of preparatory and competitive loads]. *Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovaniy — Journal of Medical and Biological Researches*, vol. 5, no. 4, pp. 90–92. <https://doi.org/10.17238/issn2542-1298.2017.5.4.90> (In Russian)
- Flatt, A. A., Hornikel, B., Nakamura, F. Y., Esco, M. R. (2021) Effect of competitive status and experience on heart rate variability profiles in collegiate sprint-swimmers. *Journal of Strength and Conditioning Research*, vol. 36, no. 10, pp. 2898–2904. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000003992> (In English)
- Gavrilova, E. A. (2015) *Sport, stress, variabel'nost'* [Sports, stress, variability]. Moscow: Sport Publ., 169 p. (In Russian)
- Iizuka, T., Kon, M., Maegawa, T. et al. (2020) Comparison of morning heart rate variability at the beginning and end of a competition season in elite speed skaters. *Sports*, vol. 8, no. 12, article 164. <https://doi.org/10.3390/sports8120164> (In English)
- Ismail (Bergman), A. Kh., Zakhar'eva, N. N., Bersenev, E. Yu. (2021) Osobennosti formirovaniya avtonomnoj regulyatsii serdechnoj deyatel'nosti u yunyh futbolistov razlichnogo igrovogo amplua [Features of the formation of autonomous regulation of cardiac activity in young football players of various playing roles]. In: N. I. Shlyk (ed.). *Variabel'nost' serdechnogo ritma: teoreticheskie aspekty i prakticheskoe primenenie v sporte i massovoj fizkul'ture. Materialy VII Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem [Heart rate variability: Theoretical aspects and practical application in sports and mass physical education. Materials of the VII All-Russian scientific and practical conference with international participation]*. Izhevsk: Udmurt State University Publ., pp. 57–66. (In Russian)
- Jensen-Urstad, K., Saltin, B., Ericson, M. et al. (1997) Pronounced resting bradycardia in male elite runners is associated with high heart rate variability. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, vol. 7, no. 5, pp. 274–278. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.1997.tb00152.x> (In English)
- Kakinuma, Y. (2021) Characteristic effects of the cardiac non-neuronal acetylcholine system augmentation on brain functions. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 2, article 545. <https://doi.org/10.3390/ijms22020545> (In English)
- Kalabin, O. V., Mikhailov, M. M. (2021) Primenenie ekspress-metoda analiza variabel'nosti ritma serdtsa dlya korrektsii trenirovochnogo protsessa v volejbole [Application of an express method of analyzing heart rate variability to correct the training process in volleyball]. In: N. I. Shlyk (ed.). *Variabel'nost' serdechnogo ritma:*

*teoreticheskie aspekty i prakticheskoe primenenie v sporte i massovoj fizkul'ture. Materialy VII Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem [Heart rate variability: Theoretical aspects and practical application in sports and mass physical education. Materials of the VII All-Russian scientific and practical conference with international participation]. Izhevsk: Udmurt State University Publ., pp. 152–157. (In Russian)*

- Kalabin, O. V. Spitsin, A. P. (2011) Variabel'nost' serdechnogo ritma u sportsmenov s silovoj napravlennost'yu trenirovochnogo protsessa [Heart rate variability in athletes with a strength-oriented training process]. *Novye issledovaniya*, vol. 29, no. 4, pp.124–131. (In Russian)
- Kaltsatou, A., Kouidi, E., Fotiou, D., Deligiannis, P. (2011) The use of pupillometry in the assessment of cardiac autonomic function in elite different type trained athletes. *European Journal of Applied Physiology*, vol. 111, no. 9, pp. 2079–2087. <https://doi.org/10.1007/s00421-011-1836-0> (In English)
- Kamandulis, S., Juodsnukis, A., Stanislovaitiene, J. et al. (2020) Daily resting heart rate variability in adolescent swimmers during 11 weeks of training. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 17, no. 6, article 2097. <https://doi.org/10.3390/ijerph17062097> (In English)
- Kataev, D. A., Tsirkin, V. I., Zavalin, N. S. et al. (2023a) Dinamika TP-, HF-, LF- i VLF-voln kardiointervalogrammy (v usloviyakh klinostaza) elitnogo lyzhnika-gonshchika v podgotovitel'nom, sorevnovatel'nom i perekhodnom periodakh v zavisimosti ot ob'ema i intensivnosti trenirovochnykh nagruzok [Dynamics of TP-, HF-, LF- and VLF-waves of the cardiointervalogram (in clinostasis condition) of an elite ski racer in the preparatory, competitive and transitional periods, depending on the volume and intensity of training loads]. *Fiziologiya cheloveka — Human Physiology*, vol. 49, no. 5, pp. 87–100. <https://doi.org/10.31857/S0131164623700303> (In Russian)
- Kataev, D. A., Tsirkin, V. I., Trukhin, A. N., Trukhina, S. I. (2023b) Dinamika stress-indekса i spektral'nykh pokazatelej kardiointervalogrammy elitnykh lyzhnikov-gonshchikov v podgotovitel'nom, sorevnovatel'nom i perekhodnom periodakh v zavisimosti ot ob'ema i intensivnosti trenirovochnykh nagruzok [Dynamics of the stress index and spectral indicators of the cardiointervalogram of elite cross-country skiers in the preparatory, competitive and transition periods, depending on the volume and intensity of training loads]. *Vestnik meditsinskogo instituta "REAVIZ". Reabilitatsiya, Vrach i Zdorov'e — Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ". Rehabilitation, Doctor and Health*, vol. 13, no. 6, pp. 12–25. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2023.6.PHYS.1> (In Russian)
- Kataev, D. A., Tsirkin, V. I., Trukhin, A. N., Trukhina, S. I. (2024) Indicator PNN50% cardiointervalogram depending on the specialization of the training process, stage of the annual training cycle and other factors (literature review). *Anatomy Physiology & Biochemistry International Journal*, vol. 7, no. 2, article 555707. (In English)
- Kataev, D. A., Tsirkin, V. I., Trukhina, S. I., Trukhin, A. N. (2024) Dinamika RMSSD kardiointervalogrammy u elitnykh lyzhnikov-gonshchikov v techenii godichnogo makrotsikla (podgotovitel'nogo, sorevnovatel'nogo i perekhodnogo periodov) v zavisimosti ot ob'ema i intensivnosti trenirovochnykh i sorevnovatel'nykh nagruzok [Dynamics of RMSSD cardiointervalogram in elite cross-country skiers during the annual macrocycle (preparatory, competitive and transition periods) depending on the volume and intensity of training and competitive loads]. *Chelovek. Sport. Meditsina — Human. Sport. Medicine*. (In press). (In Russian)
- Khodyrev, G. N., Khylova, S. V., Cirkin, V. I. et al. (2011) Metodicheskie aspekty analiza vremennykh i spektral'nykh pokazatelej variabel'nosti serdechnogo ritma (obzor literatury) [Methodological aspects of the analysis of temporal and spectral indicators of heart rate variability (literature review)]. *Vjatskij medicinskij vestnik*, no. 3–4, pp. 60–70. (In Russian)
- Kiss, O., Sydó, N., Vargha, P. et al. (2016) Detailed heart rate variability analysis in athletes. *Clinical Autonomic Research*, vol. 26, no. 4, pp. 245–252. <https://doi.org/10.1007/s10286-016-0360-z> (In English)
- Krotova, K. A., Terekhov, P. A. (2021) Osobennosti variabel'nosti serdechnogo ritma u short-trekovikov pri ortostaticeskoy probe s uchedom gendernykh razlichij [Heart rate variability in short track speed skaters during an orthostatic test, adjusted for gender]. In: N. I. Shlyk (ed.). *Variabel'nost' serdechnogo ritma: teoreticheskie aspekty i prakticheskoe primenenie v sporte i massovoj fizkul'ture. Materialy VII Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem [Heart rate variability: Theoretical aspects and practical application in sports and mass physical education. Materials of the VII All-Russian scientific and practical conference with international participation]. Izhevsk: Udmurt State University Publ., pp. 158–162. (In Russian)*
- Lengyel, C., Orosz, A., Hegyi, P. et al. (2011) Increased short-term variability of the QT interval in professional soccer players: Possible implications for arrhythmia prediction. *PLoS One*, vol. 6, no. 4, article e18751. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018751> (In English)
- Liao, L., Li, J. (2022) Research on effect of load stimulation change on heart rate variability of women volleyball athletes. *Computational Intelligence and Neuroscience*, vol. 2022, article 3917415. <https://doi.org/10.1155/2022/3917415> (In English)
- Litvin, F. B., Anosov, I. P., Asyamolov, P. O. et al. (2012) Serdechnyj ritm i sistema mikrotsirkulyatsii u lyzhnikov v predsorevnovatel'nom periode sportivnoj podgotovki [Warm rhythm and microcirculation at skiers in the precompetitive period of sports preparation]. *Vestnik Udmurtskogo universiteta. Seriya Biologiya. Nauki o zemle — Bulletin of Udmurt University. Series Biology. Earth Sciences*, no. 1, pp. 67–74. (In Russian)
- Litvin, F. B., Zhigalo, V. Ya., Bojko, G. M. (2021) Variatsii povedeniya raznykh tipov vegetativnoj regulyatsii serdechnogo ritma, vyzvannye primeneniem biodobavki k sportivnomu pitaniyu [Variations in the behavior

- of different types of autonomic regulation of heart rate caused by the use of dietary supplements to sports nutrition]. In: N. I. Shlyk (ed.). *Variabel'nost' serdechnogo ritma: teoreticheskie aspekty i prakticheskoe primenenie v sporte i massovoj fizkul'ture. Materialy VII Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem [Heart rate variability: Theoretical aspects and practical application in sports and mass physical education. Materials of the VII All-Russian scientific and practical conference with international participation]*. Izhevsk: Udmurt State University Publ., pp. 177–182. (In Russian)
- Mal'tsev, A. Iu., Mel'nikov, A. A., Vikulov, A. D., Gromova, K. S. (2010) The state of central hemodynamics and variability of heart rate in sportsmen with various direction of training process. *Human Physiology*, vol. 36, no. 1, pp. 112–118. PMID: 20196455 (In English)
- Markov, A. L. (2019) Variabel'nost' serdechnogo ritma u lyzhnikov-gonshchikov Respubliki Komi 15–18 let: vozrastnye i polovye razlichiya [Heart rate variability in cross-country skiers aged 15–18 years living in the Komi Republic: Age- and sex-related differences]. *Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovanij — Journal of Medical and Biological Research*, vol. 7, no. 2, pp. 151–160. <https://doi.org/10.17238/issn2542-1298.2019.7.2.151> (In Russian)
- Meng, Z., Sun, B., Chen, W. et al. (2021) Depression of non-neuronal cholinergic system may play a role in co-occurrence of subjective daytime sleepiness and hypertension in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Nature and Science of Sleep*, vol. 13, pp. 2153–2163. <https://doi.org/10.2147/NSS.S339038> (In English)
- Mikhajlov, V. M. (2017) *Variabel'nost' ritma serdtsa (novyj vzglyad na staruyu paradigmu) [Heart rate variability (a new look at the old paradigm)]*. Ivanovo: Neurosoft Publ., 516 p. (In Russian)
- Missina, S. S., Adodin, N. V., Kryuchkov, A. S., Myakinchenko, E. B. (2022) Modeli periodizatsii nagruzok silovoj napravlenosti v mezotsiklakh podgotovki lyzhnikov-gonshchikov vysokogo klassa [The models of strength-oriented loads periodization in mesocycles of training high-class racing skiers]. *Pedagogiko-psikhologicheskie i mediko-biologicheskie problemy fizicheskoy kul'tury i sporta — Pedagogics, Psychology, Medical-Biological Problems of Physical Training and Sports*, vol. 17, no. 3, pp. 23–30. (In Russian)
- Morales, J., Garcia, V., Garcia-Massó, X. et al. (2013) The use of heart rate variability in assessing precompetitive stress in high-standard judo athletes. *International Journal of Sports Medicine*, vol. 34, no. 2, pp. 144–151. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1323719> (In English)
- Munasinghe, P. E., Saw, E. L., Reily-Bell, M. et al. (2023) Non-neuronal cholinergic system delays cardiac remodelling in type 1 diabetes. *Heliyon*, vol. 9, no. 6, article e17434. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17434> (In English)
- Nakamura, F. Y., Costa, J. A., Travassos, B. et al. (2023) Intraindividual relationships between training loads and heart-rate variability in high-level female futsal players: A longitudinal study. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, vol. 18, no. 3, pp. 306–312. <https://doi.org/10.1123/ijsp.2021-0500> (In English)
- Oliveira-Silva, I., Silva, V. A., Cunha, R. M., Foster, C. (2018) Autonomic changes induced by pre-competitive stress in cyclists in relation to physical fitness and anxiety. *PLoS One*, vol. 13, no. 12, article e0209834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209834> (In English)
- Ostroumov, R. S., Vikulov, A. D. (2012) Analiz sorevnovatel'noj deyatel'nosti lyzhnikov-gonshchikov s pomoshch'yu pribora "Forerunner 305" [The analysis of the competitive activity of skier racers by means of device "Forerunner 305"]. *Yaroslavskij pedagogicheskij vestnik (Psikhologo-pedagogicheskie nauki) — Yaroslavl Pedagogical Bulletin (Psychological and Pedagogical Sciences)*, vol. 2, no. 2, pp. 125–128. (In Russian)
- Park, S. B., Lee, B. C., Jeong, K. S. (2007) Standardized tests of heart rate variability for autonomic function tests in healthy Koreans. *International Journal of Neuroscience*, vol. 117, no. 12, pp. 1707–1717. <https://doi.org/10.1080/00207450601050097> (In English)
- Perek, S., Raz-Pasteur, A. (2021) Heart rate variability: The age-old tool still remains current. *Harefuah*, vol. 160, no. 8, pp. 533–536. PMID: 34396730 (In English)
- Pitkevich, Yu. E., Lositskij, E. A., Zagorodnyj, G. M., Yaroshevich, O. A. (2010) *Algoritm diagnosticheskogo primeneniya programmno-apparatnogo kompleksa "Omega-S" v sportivnoj meditsine [Algorithm of diagnostic application of Omega-S program and apparatus complex in sports medicine]*. Gomel: Gomel State Medical University Publ., 160 p. (In Russian)
- Pla, R., Aubry, A., Resseguier, N. et al. (2019) Training Organization, physiological profile and heart rate variability changes in an open-water world champion. *International Journal of Sports Medicine*, vol. 40, no. 8, pp. 519–527. <https://doi.org/10.1055/a-0877-6981> (In English)
- Plews, D. J., Laursen, P. B., Kilding, A. E., Buchheit, M. (2012) Heart rate variability in elite triathletes, is variation in variability the key to effective training? A case comparison. *European Journal of Applied Physiology*, vol. 112, no. 11, pp. 3729–3741. <https://doi.org/10.1007/s00421-012-2354-4> (In English)
- Pluim, B. M., Swenne, C. A., Zwinderman, A. H. et al. (1999) Correlation of heart rate variability with cardiac functional and metabolic variables in cyclists with training induced left ventricular hypertrophy. *Heart*, vol. 81, no. 6, pp. 612–617. <https://doi.org/10.1136/hrt.81.6.612> (In English)
- Pogodin, A. A., Aleksanyants, G. D. (2018) Simpato-parasimpaticheskie vzaimodejstviya v reguljatsii serdechnogo ritma basketbolistov studencheskoj ligi [Sympathetic-parasympathetic interactions in the regulation of the cardiac rhythm of basketball players from the students league]. *Fiziologiya — Physiology*, no. 1, pp. 62–68. (In Russian)

- Proietti, R., di Fronso, S., Pereira, L. A. et al. (2017) Heart rate variability discriminates competitive levels in professional soccer players. *Journal of Strength and Conditioning Research*, vol. 31, no. 6, pp. 1719–1725. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000001795> (In English)
- Raczak, G., Daniłowicz-Szymanowicz, L., Kobuszewska-Chwirot, M. et al. (2006) Long-term exercise training improves autonomic nervous system profile in professional runners. *Kardiologia Polska*, vol. 64, no. 2, pp. 135–140. PMID: 16502362 (In English)
- Saryg, S. K. O., Lopsan, A. D. O., Buduk-ool, L. K. S. (2015) Pokazateli variabel'nosti ritma serdtsa u sportsmenov [Indicators of heart rate variability in athletes]. *Vestnik Tuvinskogo gosudarstvennogo universiteta. No. 2 Estestvennye i sel'skokhozyajstvennye nauki — Bulletin of Tuva State University. No. 2 Natural and Agricultural Sciences*, no. 2, pp. 48–52. (In Russian)
- Schäfer, D., Gjerdalen, G. F., Solberg, E. E. et al. (2015) Sex differences in heart rate variability: A longitudinal study in international elite cross-country skiers. *European Journal of Applied Physiology*, vol. 115, no. 10, pp. 2107–2114. <https://doi.org/10.1007/s00421-015-3190-0> (In English)
- Schmitt, L., Bouthiaux, S., Millet, G. P. (2021) Eleven years' monitoring of the world's most successful male biathlete of the last decade. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, vol. 16, no. 6, pp. 900–905. <https://doi.org/10.1123/ijspp.2020-0148> (In English)
- Seiler, S., Haugen, O., Kuffel, E. (2007) Autonomic recovery after exercise in trained athletes: Intensity and duration effects. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 39, no. 8, pp. 1366–1373. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e318060f17d> (In English)
- Shlyk, N. I. (2016) Management of athletic training with consideration of individual heart rate variability characteristics. *Human Physiology*, vol. 42, no. 6, pp. 81–91. PMID: 29932530 (In English)
- Shlyk, N. I., Sapozhnikova, E. N., Kirillova, T. G., Zhuzhgov, A. P. (2012) Ob osobennostyakh ortostaticeskoy reaktsii u sportsmenov s raznymi tipami vegetativnoj regulyatsii [About profiles of orthostatic reactions in athletes with different types of autonomic regulation]. *Vestnik Udmurtskogo universiteta. Seriya Biologiya. Nauki o zemle — Bulletin of Udmurt University. Series Biology. Earth Sciences*, no. 1, pp. 114–125. (In Russian)
- Solonin, Yu. G., Bojko, E. R., Vatlin, A. V. et al. (2019) *Fiziologo-biokhimicheskie mekhanizmy obespecheniya sportivnoj deyatel'nosti zimnikh tsiklicheskih vidov sporta [Physiological and biochemical mechanisms for ensuring sports activity in winter cyclic sports]*. Syktyvkar: Komi Republican Printing House, 256 p. (In Russian)
- Swart, A., Constantinou, D. (2023) The effects of a 3-day mountain bike cycling race on the autonomic nervous system (ANS) and heart rate variability in amateur cyclists: A prospective quantitative research design. *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation*, vol. 15, no. 1, article 2. <https://doi.org/10.1186/s13102-022-00614-y> (In English)
- Sztajzel, J., Jung, M., Sievert, K., Bayes De Luna, A. (2008) Cardiac autonomic profile in different sports disciplines during all-day activity. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, vol. 48, no. 4, pp. 495–501. PMID: 18997654 (In English)
- Tian, Y., He, Z.-H., Zhao, J.-X. et al. (2013) Heart rate variability threshold values for early-warning nonfunctional overreaching in elite female wrestlers. *Journal of Strength and Conditioning Research*, vol. 27, no. 6, pp. 1511–1519. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e31826cae8> (In English)
- Venevtseva, Yu. L., Putilin, L. V., Prokhorov, P. Yu. (2019) Gendernye osobennosti variabel'nosti serdechnogo ritma i psikhometricheskogo testirovaniya u zdorovykh studentov [Gender differences in heart rate variability and psychometric testing in healthy students]. *Sovremennye voprosy biomeditsiny — Modern Issues of Biomedicine*, vol. 3, no. 3, pp. 16–25. (In Russian)
- Voronina, G. A., Safarova, R. I. (2008) Kharakteristika osnovnykh parametrov variabel'nosti serdechnogo ritma kak pokazatelya trenirovannosti lyzhnikov-gonshchikov [Characteristics of the main parameters of heart rate variability as an indicator of the fitness of ski racers]. In: R. M. Baevskij, N. I. Shlyk (eds.). *Variabel'nost' serdechnogo ritma: teoreticheskie aspekty i prakticheskoe primenenie. Tezisy dokladov IV Vserossijskogo simpoziuma s mezhdunarodnym uchastiem [Heart rate variability: Theoretical aspects and practical application. Abstracts at the IV All-Russian Symposium with international participation]*. Izhevsk: Udmurt State University Publ., pp. 65–68. (In Russian)



Check for updates

Экспериментальные статьи

УДК 57.085.23 + 577.29 + 576.32/.36

EDN MJISJH

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-50-59>

## Применение метода атомно-силовой микроскопии для исследования ответов механочувствительных каналов Piezo1 фибробластов сердца

М. М. Халисов <sup>✉1</sup>, А. В. Беринцева <sup>1</sup>, С. А. Подзорова <sup>1</sup>, Б. В. Крылов <sup>1</sup>, В. А. Пеннийнен <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

Максим Миндигаев Халисов, SPIN-код: 5815-3655, Scopus AuthorID: 56771519000, ResearcherID: G-2826-2015, ORCID: 0000-0002-5171-4690, e-mail: [khalisovmm@infran.ru](mailto:khalisovmm@infran.ru)

Анна Владиславовна Беринцева, SPIN-код: 5790-1836, ResearcherID: JKR-7499-2023, ORCID: 0009-0003-3686-9699, e-mail: [berintsevaav@infran.ru](mailto:berintsevaav@infran.ru)

Светлана Александровна Подзорова, SPIN-код: 3974-3430, Scopus AuthorID: 6602224180, ResearcherID: ABB-8808-2020, e-mail: [podzorova@infran.ru](mailto:podzorova@infran.ru)

Борис Владимирович Крылов, SPIN-код: 3946-6408, Scopus AuthorID: 7004655760, ResearcherID: ABD-5044-2020, ORCID: 0000-0001-5258-1597, e-mail: [krylov@infran.ru](mailto:krylov@infran.ru)

Валентина Альбертовна Пеннийнен, SPIN-код: 6610-3718, Scopus AuthorID: 6603501257, ResearcherID: Q-3979-2016, ORCID: 0000-0003-3936-8681, e-mail: [penniyaynenv@infran.ru](mailto:penniyaynenv@infran.ru)

**Для цитирования:** Халисов, М. М., Беринцева, А. В., Подзорова, С. А., Крылов, Б. В., Пеннийнен, В. А. (2024) Применение метода атомно-силовой микроскопии для исследования ответов механочувствительных каналов Piezo1 фибробластов сердца. *Интегративная физиология*, т. 5, № 1, с. 50–59. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-50-59> EDN MJISJH

**Получена** 15 декабря 2023; прошла рецензирование 22 января 2024; принята 26 января 2024.

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

**Права:** © М. М. Халисов, А. В. Беринцева, С. А. Подзорова, Б. В. Крылов, В. А. Пеннийнен (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

**Аннотация.** Установлено, что Jedi2, активатор механочувствительных каналов Piezo1, влияет на рост эксплантатов сердца эмбриональной ткани. Зависимость изменения индекса площади от концентрации действующего агента описывается уравнением Хилла ( $K_d \approx 20$  мкМ, коэффициент Хилла — 1,6). Концентрация Jedi2, равная 10 мкМ, была выбрана для химической активации механочувствительных каналов Piezo1 в исследовании с помощью метода атомно-силовой микроскопии, поскольку она не влияла на рост эксплантатов сердца. На основании полученной зависимости стимул–ответ для механического воздействия со стороны зонда атомно-силового микроскопа при исследовании влияния Jedi2 на фибробласты была выбрана сила 3 нН, не приводящая к изменению жесткости клеток в ответ на механическую стимуляцию. В отличие от малых сил (1–5 нН), при больших силах стимуляции (6–7 нН) наблюдалось резкое увеличение модуля Юнга фибробластов. Исследование с помощью атомно-силовой микроскопии показало, что Jedi2 вызывает увеличение жесткости фибробластов — модуль Юнга клеток после воздействия исследуемого вещества ( $68 \pm 7$  кПа,  $n = 33$ ) растет по сравнению с контролем ( $37 \pm 4$  кПа,  $n = 29$ ). Эффект воздействия Jedi2 усиливается со временем: в рамках рассмотренного периода максимальное влияние на механические характеристики фибробластов достигается спустя более двух часов воздействия вещества. Мы предполагаем, что наблюдаемый при воздействии Jedi2 и силе стимуляции 3 нН рост жесткости фибробластов связан с вызванным модуляцией работы каналов Piezo1 сдвигом порога запуска ответа клеток в сторону меньших сил.

**Ключевые слова:** фибробласты, органотипическая культура ткани, каналы Piezo1, Jedi2, атомно-силовая микроскопия

# Atomic force microscopy as a method to study the responses of mechanosensitive Piezo1 channels of cardiac fibroblasts

M. M. Khalisov <sup>✉1</sup>, A. V. Berintseva <sup>1</sup>, S. A. Podzorova <sup>1</sup>, B. V. Krylov <sup>1</sup>, V. A. Penniyaynen <sup>1</sup>

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

## Authors

Maksim M. Khalisov, SPIN: 5815-3655, Scopus AuthorID: 56771519000, ResearcherID: G-2826-2015, ORCID: 0000-0002-5171-4690, e-mail: [khalisovmm@infran.ru](mailto:khalisovmm@infran.ru)

Anna V. Berintseva, SPIN: 5790-1836, ResearcherID: JKR-7499-2023, ORCID: 0009-0003-3686-9699, e-mail: [berintsevaav@infran.ru](mailto:berintsevaav@infran.ru)

Svetlana A. Podzorova, SPIN: 3974-3430, Scopus AuthorID: 6602224180, ResearcherID: ABB-8808-2020, e-mail: [podzorova@infran.ru](mailto:podzorova@infran.ru)

Boris V. Krylov, SPIN: 3946-6408, Scopus AuthorID: 7004655760, ResearcherID: ABD-5044-2020, ORCID: 0000-0001-5258-1597, e-mail: [krylov@infran.ru](mailto:krylov@infran.ru)

Valentina A. Penniyaynen, SPIN: 6610-3718, Scopus AuthorID: 6603501257, ResearcherID: Q-3979-2016, ORCID: 0000-0003-3936-8681, e-mail: [penniyaynenv@infran.ru](mailto:penniyaynenv@infran.ru)

**For citation:** Khalisov, M. M., Berintseva, A. V., Podzorova, S. A., Krylov, B. V., Penniyaynen, V. A. (2024) Atomic force microscopy as a method to study the responses of mechanosensitive Piezo1 channels of cardiac fibroblasts. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 1, pp. 50–59. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-50-59> EDN MJISJH

**Received** 15 December 2023; reviewed 22 January 2024; accepted 26 January 2024.

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

**Copyright:** © M. M. Khalisov, A. V. Berintseva, S. A. Podzorova, B. V. Krylov, V. A. Penniyaynen (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

**Abstract.** Jedi2, an activator of mechanosensitive Piezo1 channels, was found to affect the growth of embryonic heart tissue explants. The dependence of the change in the area index on the Jedi2 concentration is described by the Hill equation ( $K_d \approx 20 \mu\text{M}$ , Hill coefficient — 1.6). A concentration of  $10 \mu\text{M}$  was chosen to chemically activate mechanosensitive Piezo1 channels in the atomic force microscopy (AFM) study since it did not impact the growth of heart explants. Based on the obtained stimulus–response relationship, a force of 3 nN was chosen for mechanical action from the AFM probe when studying the effect of Jedi2 on fibroblasts, which does not lead to a change in cell stiffness in response to mechanical stimulation. In contrast to low forces (1–5 nN), high stimulation forces (6–7 nN) were associated with a sharp increase in the Young’s modulus of fibroblasts. An AFM study showed that Jedi2 augments fibroblast stiffness: the Young’s modulus of cells after exposure to the test substance ( $68 \pm 7 \text{ kPa}$ ,  $n = 33$ ) increases compared to the control ( $37 \pm 4 \text{ kPa}$ ,  $n = 29$ ). The effect of Jedi2 becomes stronger with time, with the maximum effect on fibroblast mechanical characteristics achieved after more than two hours of exposure to the substance. We assume that the increase in fibroblast stiffness observed under the influence of Jedi2 and at a stimulation force of 3 nN is associated with a shift in the threshold for triggering the cell response towards lower forces caused by the modulation of the Piezo1 channels.

**Keywords:** fibroblasts, organotypic tissue culture method, Piezo1 channels, Jedi2, atomic force microscopy

## Введение

Механотрансдукция представляет собой процесс, с помощью которого клетки преобразуют механические стимулы в биохимические сигналы. Такие сигналы могут привести к изменениям экспрессии генов, синтеза белков и, как следствие, фенотипа клетки (Goldmann 2014). У млекопитающих эмбриональное развитие, рост нейритов, гравитация, осязание, боль, проприоцепция, слух, регулировка тонуса сосудов и кровотока, рост и повреждение легких, гомеостаз костей и мышц, а также метастазирование

регулируются механотрансдукцией (Chalfie 2009; Coste et al. 2010; Franze 2013). Нарушение процессов механотрансдукции может привести к различным патологиям, таким как глухота (Vollrath et al. 2007), нейрональные и сердечно-сосудистые заболевания (Lyon et al. 2015; Ostrow, Sachs 2005), фиброз (Duscher et al. 2014), метастазирование рака (Broders-Bondon et al. 2018).

Механотрансдукция в клетках осуществляется за счет специальных белков (механотрансдукторов), которые представляют собой встроенные в плазматическую мембрану ионные каналы. Механотрансдукторы могут быстро

реагировать на изменения механической силы, приводя к возбуждению клеточных мембран и запуску внутриклеточных сигнальных путей (Chalfie 2009; Ranade et al. 2015; Wang et al. 2022). Ключевую роль в механотрансдукции клеток млекопитающих играют каналы семейства Piezo, состоящего всего из двух белков — Piezo1 и Piezo2 (Coste et al. 2010; 2012). Эти катионные каналы преимущественно проницаемы для ионов  $Ca^{2+}$ , приток которых в клетку лежит в основе значительной части процессов внутриклеточной и мембранной сигнализации (Coste et al. 2010; Vasileva, Chubinskiy-Nadezhdin 2023).

Piezo1 экспрессируется в электронеовозбудимых типах клеток и активируется различными формами механической стимуляции как внешней природы (растяжение, напряжение сдвига и прогиб субстрата), так и эндогенно возникающим локальным натяжением мембраны (Bavi et al. 2019; Coste et al. 2010; Jiang et al. 2021). Напротив, Piezo2 преимущественно экспрессируется в сенсорных нейронах, а также соматосенсорных ганглиях, наружных волосковых клетках, энтерохромаффинных клетках кишечника и клетках Меркеля (Anderson et al. 2017; Jiang et al. 2021; Qin et al. 2021). Piezo2 эффективно активируется при нажатии, но относительно слабо реагирует на растяжение (Jiang et al. 2021; Taberner et al. 2019). Кроме того, Piezo1 может активироваться синтетическими химическими веществами: Yoda1 (Syeda et al. 2015), а также Jedi1 и Jedi2 (Wang et al. 2018). Как Yoda1, так и Jedi1/2 могут связываться с каналом Piezo1, что приводит к повышению его механочувствительности и замедленной инактивации с помощью независимых механизмов действия (Botello-Smith et al. 2019; Syeda et al. 2015; Wang et al. 2018).

Данная работа посвящена исследованию механочувствительных каналов Piezo1. Несмотря на значительные успехи в исследовании белков Piezo1, достигнутые с момента их открытия в 2010 году (Coste et al. 2010), все еще остается немало нерешенных вопросов, связанных с функционированием этих каналов. В частности, в полной мере неизвестно, какие сигнальные пути могут запускаться в результате активации каналов Piezo1 и какие изменения свойств клеток при этом наблюдаются. Одним из неизученных является вопрос о влиянии активности канала Piezo1 на механические характеристики клеток. Эффективным инструментом для изучения механических свойств клеток является метод атомно-силовой микроскопии (АСМ). Мы применили АСМ для ис-

следования роли каналов Piezo1 в регуляции механических свойств клеток.

Важно отметить, что силовое взаимодействие зонда с клеткой в АСМ не только позволяет изучать механические свойства последней, но и само может явиться стимулом, запускающим процесс механотрансдукции. В данной работе была предпринята попытка выяснить, влияет ли механическая стимуляция клеток АСМ-зондом на их механические свойства. Для этого был проведен ряд экспериментов с варьируемой величиной силы взаимодействия зонд–клетка.

В качестве модели для АСМ-исследования были выбраны фибробласты сердца. Ранее было показано, что в фибробластах сердца (человека, мыши) экспрессируются каналы Piezo1 (Blythe et al. 2019). Эти клетки хорошо подходят для исследования с помощью АСМ, поскольку имеют удобную для АСМ-сканирования форму, а также, не повреждаясь, выдерживают механическое воздействие со стороны АСМ-зонда.

Метод органотипической культуры ткани широко используется в ходе фундаментальных и прикладных исследований в различных областях физиологии, фармакологии и практической медицины. Он представляет собой наиболее подходящую систему для изучения различных воздействий, новых фармакологических соединений, проведения тестов на токсичность (Habeler et al. 2009; Sundstrom et al. 2005; Watson et al. 2017). Метод органотипической культуры ткани был применен для изучения действия вещества Jedi2, специфического химического активатора механочувствительных каналов Piezo1, на рост эксплантатов сердца.

В данной работе получена зависимость стимул–ответ для фибробластов сердца, где стимул — сила механического воздействия со стороны зонда атомно-силового микроскопа на клетку, а ответ — ее механические свойства. Также с помощью метода АСМ показано влияние Jedi2, активирующего механочувствительные каналы Piezo1, на механические характеристики фибробластов сердца.

## Методы исследования

### Органотипическая культура ткани

Метод органотипической культуры ткани был использован для исследования влияния Jedi2, активатора каналов Piezo1, на рост эксплантатов сердца 10–12-дневных куриных эмбрионов *White Leghorn* (Lopatina et al. 2015; Penniyaunen et al. 2015). Вкратце, эксплантаты сердца культивировали в течение трех суток

в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (Sanyo, Япония) при температуре 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. Контрольными считали эксплантаты, культивируемые только в питательной среде. Для количественной оценки роста эксплантатов применяли морфометрический метод. Рассчитывали индекс площади (ИП) как отношение площади зоны роста эксплантата к исходной центральной площади. Контрольное значение ИП принимали за 100% (Lopatina et al. 2015; Penniaynen et al. 2015). Для прижизненной визуализации эксплантатов использовали микроскоп Axio Observer Z1 (Carl Zeiss, Германия). Анализ полученных изображений осуществляли с помощью программ ImageJ и ZEN\_2012.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Конфокальная микроскопия» Института физиологии им. И. П. Павлова РАН.

### *Атомно-силовая микроскопия*

Исследование механических характеристик фибробластов сердца 10–12-дневных куриных эмбрионов осуществляли с помощью установки, состоящей из атомно-силового микроскопа BioScope Catalyst (Bruker, США) и инвертированного оптического микроскопа Axio Observer Z1. Оптическая визуализация позволяла находить клетки для АСМ-сканирования, точно позиционировать зонд перед его подводом к поверхности подложки и контролировать состояние фибробластов во время их АСМ-исследования. Эксперименты с использованием атомно-силового микроскопа проводили в 40 мм чашках Петри (Медполимер, Россия) с питательной средой при температуре ≈ 37°C. Термостатирование клеток обеспечивали нагревательным элементом под управлением термоконтроллера 335-й модели (Lake Shore, США). Дно чашек Петри предварительно покрывали коллагеном для лучшей адгезии фибробластов с подложкой.

В экспериментах по изучению влияния механической стимуляции зондом атомно-силового микроскопа на механические свойства клеток исследовали фибробласты, культивируемые только в питательной среде. В другой серии экспериментов к фибробластам непосредственно перед исследованием с помощью атомно-силового микроскопа добавляли Jedi2 в концентрации 10 мкМ. В дальнейшем механические свойства этих клеток сравнивали со свойствами контрольных фибробластов, культивируемых только в питательной среде.

Для изучения механических свойств фибробластов применяли кантилеверы Bruker SNL-C с коэффициентом жесткости, согласно паспорту, 0,24 Н/м. Более точное значение коэффици-

ента жесткости определяли для каждого кантилевера перед исследованием клеток с помощью метода, основанного на анализе тепловых шумов (Hutter, Bechhoefer 1993). АСМ-сканирование фибробластов осуществляли в режиме PeakForce QNM, позволяющем одновременно визуализировать топографию исследуемой поверхности (рис. 1А) и картировать локальные механические характеристики, такие как величина деформации или (кажущийся) модуль Юнга. Возможность картирования механических характеристик обусловлена анализом поточечно регистрируемых силовых кривых АСМ — зависимостей силы взаимодействия между зондом и клеткой от расстояния между ними. В данной работе для характеристики механических свойств фибробластов использовали значения модуля Юнга ( $E$ ). Их определяли по модели Снеддона, принимающей форму острия зонда конической (Sneddon 1965), на основании следующего выражения:

$$F = \frac{2}{\pi} \frac{E}{(1-\nu^2)} \tan(\alpha) \delta^2,$$

где  $F$  — сила взаимодействия между зондом и исследуемой поверхностью,  $\nu$  — коэффициент Пуассона (для клеток равен 0,5),  $\alpha$  — половинный угол раствора конуса (для используемых зондов приблизительно равен 18°),  $\delta$  — величина деформации.

АСМ-визуализацию осуществляли со следующими параметрами сканирования: АСМ-кадр 256 × 256 или 128 × 128 точек, частота строчной развертки — 0,15 Гц, амплитуда и частота вертикальных колебаний зонда — 1 мкм и 0,25 кГц соответственно. В экспериментах по изучению отклика клеток на механическую стимуляцию значение пиковой силы варьировали в диапазоне от 1 до 7 нН с шагом в 1 нН. При исследовании действия Jedi2 все фибробласты сканировали с одинаковой пиковой силой — 3 нН.

Поскольку фибробласты склонны к расплыванию по подложке, они могут испытывать значительную деформацию относительно толщины клетки под действием АСМ-зонда. Чтобы избежать возможного влияния близости твердой подложки на результаты измерений, был применен подход, предложенный в работе (Gavara, Chadwick 2012), который дает возможность учесть конечную толщину клеток при определении их модуля Юнга (рис. 1В).

По АСМ-картам скорректированного модуля Юнга для каждого фибробласта определяли среднее значение данного параметра (рис. 1С). Из анализа исключали граничные области, где острие зонда могло контактировать с клеткой

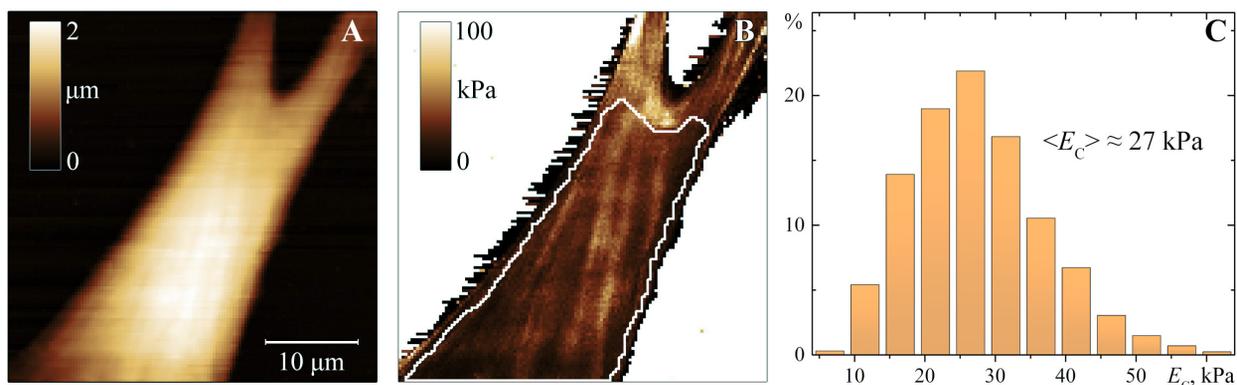


Рис. 1. АСМ-изображения контрольного фибробласта: (А) топография поверхности; (В) карта модуля Юнга с учетом коррекции (Gavara, Chadwick 2012), контуром белого цвета обозначена область анализа; (С) гистограмма распределения модуля Юнга в рамках выделенной области анализа на (В), показано среднее значение модуля Юнга  $\langle E_C \rangle$

Fig. 1. AFM images of a control fibroblast: (A) surface topography; (B) corrected Young's modulus map (Gavara, Chadwick 2012), a white contour indicates the area of analysis; (C) histogram of the Young's modulus distribution within the selected area of analysis in (B), the Young's modulus average value is shown as  $\langle E_C \rangle$

боковой гранью, и, кроме того, ошибка пиковой силы могла достигать максимальных по модулю значений. Также исключали такие локальные особенности, как места загрязнения мембраны фибробластов фрагментами клеток и резко отличающиеся по жесткости фибриллы цитоскелета.

Для изучения влияния Jedi2, активатора механочувствительных каналов Piezo1, на механические свойства фибробластов осуществляли сравнение средних значений модуля Юнга клеток, подвергшихся воздействию исследуемого вещества, и контрольных фибробластов. Кроме того, была предпринята попытка проанализировать динамику клеточного ответа на химическую активацию механочувствительных каналов Piezo1. Для этого клетки, культуральная среда которых содержала Jedi2, были разделены на три группы в зависимости от времени воздействия исследуемой субстанции: I — 0–1 ч, II — 1–2 ч, III — 2–3 ч. Средние значения модуля Юнга для каждой группы сравнивали с контрольным.

Для обработки АСМ-данных использовали программу Gwyddion 2.58.

### Статистическая обработка

Все данные представлены в виде среднего значения, плюс-минус стандартная ошибка среднего. Статистический анализ данных проводили с помощью пакета STATISTICA 10.0 (StatSoft, США) с использованием  $t$ -критерия Стьюдента (метод органотипической культуры ткани) и  $U$ -критерия Манна — Уитни (АСМ). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Результаты изучения механических характеристик фибробластов при варьировании силы воздействия АСМ-зонда на клетку представлены на рисунке 2. Наблюдаемое резкое увеличение средних значений модуля Юнга при больших силах надавливания (6–7 нН) может быть связано с реакцией фибробластов на механический стимул со стороны зонда атомно-силового микроскопа, опосредованной активацией механочувствительных каналов Piezo1. При меньших силах механического воздействия на клетку (1–5 нН) такой реакции не отмечалось — значение  $E_C$  менялось относительно слабо, что, вероятно, свидетельствует о недостаточности стимула для запуска реакции фибробласта на механическое воздействие. В дальнейшем для исследования влияния активатора Jedi2 механочувствительных каналов Piezo1 на механические свойства фибробластов из диапазона сил, не вызывающих изменения механических свойств, было выбрано среднее значение силы — 3 нН.

Для оценки влияния специфического активатора Jedi2, действующего на каналы Piezo1, был применен высокочувствительный метод органотипической культуры ткани. Количественную оценку роста эксплантатов сердца проводили путем расчета изменения их индекса площади (ИП) в контрольных условиях и после воздействия Jedi2 в следующих концентрациях: 1 мкМ, 10 мкМ, 20 мкМ, 50 мкМ и 0,1 мМ (рис. 3). Jedi2 в концентрациях 50 мкМ ( $n = 28$ ) и 0,1 мМ ( $n = 25$ ) практически полностью блокировал рост

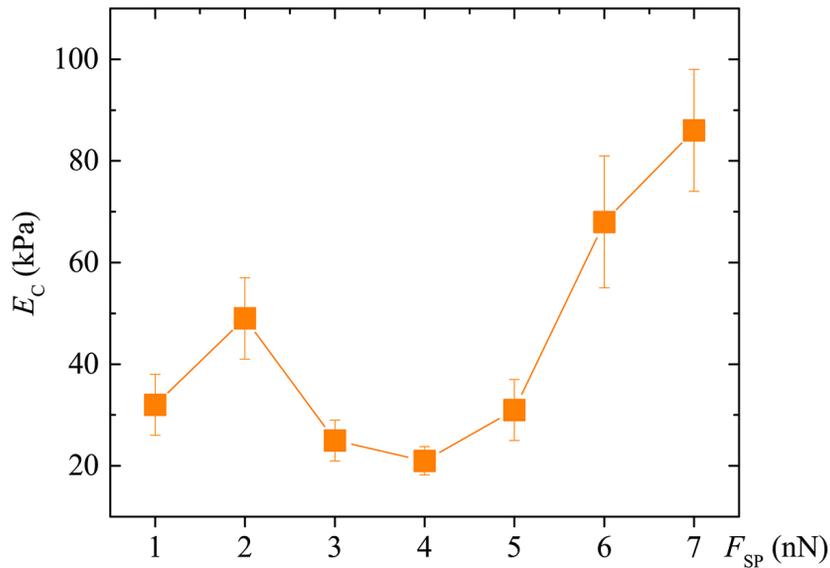


Рис. 2. Зависимость модуля Юнга с учетом коррекции,  $E_C$  (Gavara, Chadwick 2012) от заданной величины пиковой силы  $F_{SP}$ , число клеток  $n = 13, 22, 15, 12, 15, 23, 37$  для  $F_{SP} = 1...7$  нН соответственно

Fig. 2. Dependence of the Young's modulus taking into account the correction,  $E_C$  (Gavara, Chadwick 2012) on a value of the peak force setpoint  $F_{SP}$ , the number of cells  $n = 13, 22, 15, 12, 15, 23, 37$  for  $F_{SP} = 1...7$  nN, respectively

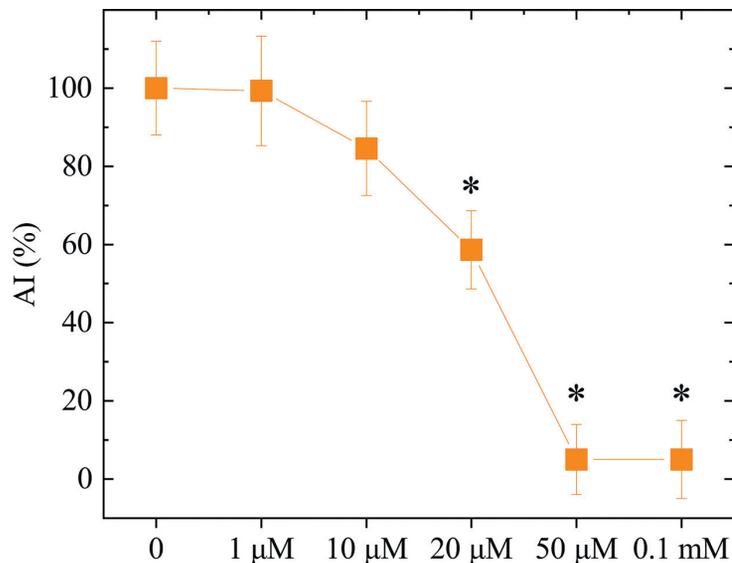


Рис. 3. Влияние Jedi2 на рост эксплантатов сердца. Нулевая концентрация соответствует контролю. Индекс площади в контроле принят за 100%; ось ординат — индекс площади (AI); \* — статистически значимое различие,  $p < 0,05$

Fig. 3. Effect of Jedi2 on the growth of heart explants. Zero concentration corresponds to the control. The area index in the control is assumed to be 100%; the ordinate axis is the area index (AI); \* — statistically significant difference,  $p < 0,05$

эксплантатов сердца. При введении в питательную среду исследуемого вещества в концентрации 20 мкМ наблюдали статистически значимое ингибирование роста эксплантатов. ИП экспериментальных эксплантатов был на  $41 \pm 5\%$  ( $n = 27, p < 0,05$ ) ниже контрольного значения ( $n = 22$ ). В более низких концентрациях (10 мкМ,

$n = 25$  и 1 мкМ,  $n = 29$ ) Jedi2 практически не влиял на рост эксплантатов исследуемой ткани и ИП практически не отличался от контрольного значения ( $n = 25$ ). Kd составил  $\approx 20$  мкМ, а коэффициент Хилла — 1,6. Ингибирующий эффект Jedi2, по-видимому, связан с  $Ca^{2+}$ -зависимой сигнализацией, опосредованной Piezo1. При

исследовании с помощью АСМ была выбрана концентрация 10 мкМ, которая практически не влияла на рост эксплантатов сердца.

АСМ — метод исследования поверхности, принцип действия которого основан на силовом взаимодействии между объектом и закрепленным на конце упругой консоли острием (зондом). АСМ, в частности, применяется для изучения механочувствительных каналов Piezo1. С помощью высокоскоростной АСМ были визуализированы отдельные каналы Piezo1, а также было продемонстрировано, что они способны обратимо менять свою изначальную искривленную форму, становясь плоскими, под действием острия зонда (Lin et al. 2019). В работе Думитру с соавторами (Dumitru et al. 2021) АСМ была задействована в исследовании распределения субмикронных кластеров каналов Piezo1 в плазматической мембране эритроцитов. Был отмечен рост присутствия этих каналов в области с более высоким натяжением мембраны при химической активации каналов Piezo1 посредством Yoda1. Также на основании полученных данных авторы выдвинули гипотезу о том, что каналы взаимодействуют с цитоскелетом, вероятно, способствуя снижению диффузии и стабилизации формирования кластеров Piezo1.

Одним из направлений применения АСМ является изучение механических характеристик индивидуальных клеток (Haase, Pelling 2015). Получать информацию о механических свойствах клеток в АСМ можно за счет индентирования, продавливания поверхности клетки зондом с заданной силой и одновременной регистрацией величины деформации; см. подробнее в работе Гавара (Gavara 2016). Механические характеристики клеток могут служить индикатором патологических состояний (Lekka 2016) или реакции клеток на внешние воздействия, включая различные химические соединения (Khalisov et al. 2020; Rotsch, Radmacher 2000). В данной работе исследуется влияние специфического активатора Jedi2 механочувствительных каналов Piezo1 на механические свойства фибробластов сердца.

В среднем фибробласты индентировались (продавливались) АСМ-зондом на глубину  $\approx 300$  нм, что составило около 20% толщины клетки. В зону деформации могли попадать разнообразные компоненты клетки: плазматическая мембрана, цитоскелет, ядро, вакуоли, различные органеллы. Считается, что в первую очередь определяемая с помощью АСМ жесткость клеток связана со свойствами актинового цитоскелета (Haase, Pelling 2015; Rotsch, Radmacher 2000). Действительно, на АСМ-картах механических

параметров многих фибробластов были отчетливо различимы нитевидные структуры разной толщины, имеющие повышенную жесткость. У некоторых фибробластов АСМ-изображения позволяли обнаружить ядра, однако области локализации ядер по жесткости выделялись слабо и не исключались из анализа. В редких случаях наблюдались локальные особенности с отклоняющимися механическими характеристиками, обычно круглой формы, которые, например, могли соответствовать вакуолям. Такие фрагменты не учитывали при определении среднего значения модуля Юнга клетки. Всего с помощью АСМ было исследовано 33 фибробласта, подвергшихся воздействию активатора механочувствительных каналов Piezo1, Jedi2, в концентрации 10 мкМ, и 29 контрольных клеток. Анализ данных показал, что применение исследуемого вещества вызывает увеличение жесткости фибробластов: наблюдался рост модуля Юнга по сравнению с контролем (рис. 4А).

При рассмотрении временной зависимости была обнаружена тенденция к увеличению модуля Юнга с повышением продолжительности воздействия Jedi2 (рис. 4В). Следует отметить, что статистически значимое отличие средних значений модуля Юнга от контрольного наблюдалось лишь в III группе клеток.

Таким образом, полученные АСМ-данные свидетельствуют о том, что в результате воздействия Jedi2, активатора механочувствительных каналов Piezo1, фибробласты становятся жестче. В рамках рассмотренного временного периода жесткость клеток постепенно растет, достигая максимума при времени воздействия исследуемой субстанции от двух до трех часов.

Вероятно, зарегистрированное в данной работе увеличение жесткости фибробластов в ответ на действие Jedi2, активатора механочувствительных каналов Piezo1, может быть связано с изменением организации актинового цитоскелета.

Есть данные о том, что существует (биохимическая и функциональная) связь между механочувствительными каналами Piezo1 и актиновым цитоскелетом (Wang et al. 2022). По-видимому, взаимодействие этих каналов с цитоскелетом участвует в регуляции активности Piezo1.

Косвенно на взаимосвязь механочувствительных каналов Piezo1 и актинового цитоскелета фибробластов указывают результаты работы Эмиг с соавторами (Emig et al. 2021). В ней было обнаружено, что сверхэкспрессия каналов Piezo1 в клеточной линии фибробластов предсердия человека приводила к значительному увеличению их жесткости, в то время как гене-

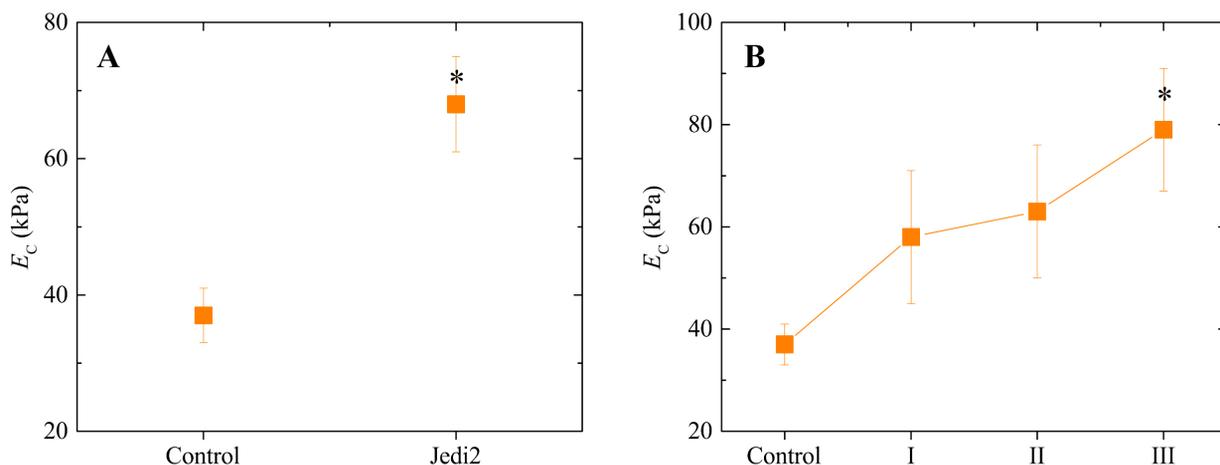


Рис. 4. Результаты определения модуля Юнга с учетом коррекции,  $E_C$ , (Gavara, Chadwick 2012) фибробластов сердца куриных эмбрионов с помощью АСМ (А), зависимость  $E_C$  от времени воздействия исследуемого вещества (В), количество исследованных клеток n: контроль — 29, группы I, II и III — 8, 12 и 13 соответственно; \* —  $p < 0,05$

Fig. 4. Results of the Young's modulus determination taking into account the correction,  $E_C$ , (Gavara, Chadwick 2012) of chicken embryo cardiac fibroblasts using AFM (A),  $E_C$  dependence on the exposure time of the test substance (B), the number of studied cells n: control — 29, groups I, II and III — 8, 12 and 13, correspondingly; \* —  $p < 0.05$

тический нокдаун Piezo1, наоборот, снижал жесткость клеток. Кроме этого, фибробласты со сверхэкспрессией Piezo1 демонстрировали существенно большее содержание F-актина по сравнению с контролем, а клетки с нокдауном — заметно меньшее. Также было показано, что экспрессирующие Piezo1 сверх нормы фибробласты имели более толстые пучки актиновых микрофиламентов, чем контрольные. В другой работе отмечалось, что увеличенный поток кальция, опосредованный Piezo1, может играть важную роль в реорганизации цитоскелета, поскольку он индуцирует образование актиновых стрессовых волокон (Braidotti et al. 2022).

В работе Чубинского-Надеждина и других авторов изучалось влияние вещества Yoda1, еще одного селективного активатора механочувствительных каналов Piezo1, на мышечные фибробласты ЗТЗВ-SV40 (Chubinskiy-Nadezhdin et al. 2019). Было обнаружено, что химическая активация каналов Piezo1 сопровождается усилением полимеризации актиновых микрофиламентов и формированием стресс-фибрилл. Подобная реакция клеток в ответ на химическое воздействие способна отражаться на их механических свойствах, определяемых с помощью АСМ. В работе Халисова с соавторами (Khalisov et al. 2020) было показано, что колхицин провоцирует значительное увеличение внутриклеточного F-актина в фибробластах сердца новорожденных крысят, как следствие, вызывая регистрируемое посредством АСМ повышение жесткости клеток.

Связано ли зарегистрированное в данной работе увеличение жесткости фибробластов на действие Jedi2 с перестройкой актинового цитоскелета фибробластов, дадут ответ будущие исследования.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

### Conflict of Interest

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

### Соответствие принципам этики

Все процедуры, выполненные в исследовании, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами Российской Федерации, и рекомендациям биоэтического комитета Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (разрешение № 12/09/2021).

### Ethics Approval

All the procedures performed in the study complied with the ethical standards approved by the regulations of the Russian Federation and the recommendations of the Bioethics Committee of the Pavlov Institute of Physiology, RAS (Permit No. 12/09/2021).

## Вклад авторов

а. Халисов Максим Миндигалеевич — планирование и проведение экспериментов, обработка результатов, подготовка рукописи;  
б. Беринцева Анна Владиславовна — обработка результатов, подготовка рукописи;  
в. Подзорова Светлана Александровна — обработка результатов, подготовка рукописи;  
г. Крылов Борис Владимирович — постановка задачи, редактирование рукописи;  
д. Пенниайнен Валентина Альбертовна — идея работы, планирование и проведение экспериментов, подготовка рукописи.

## Author Contributions

a. Maksim M. Khalisov — planning and conducting the experiments, processing the experimental data, drafting the manuscript;  
b. Anna V. Berintseva — processing the experimental data, drafting the manuscript;  
c. Svetlana A. Podzorova — processing the experimental data, drafting the manuscript;  
d. Boris V. Krylov — problem setting, manuscript editing;  
e. Valentina A. Penniyaynen — study concept, planning and conducting the experiments, drafting the manuscript.

## References

- Anderson, E. O., Schneider, E. R., Bagriantsev, S. N. (2017) Piezo2 in cutaneous and proprioceptive mechanotransduction in vertebrates. *Current Topics in Membranes*, vol. 79, pp. 197–217. <https://doi.org/10.1016/bs.ctm.2016.11.002> (In English)
- Bavi, N., Richardson, J., Heu, C. et al. (2019) PIEZO1-mediated currents are modulated by substrate mechanics. *ACS Nano*, vol. 13, no. 11, pp. 13545–13559. <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b07499> (In English)
- Blythe, N. M., Muraki, K., Ludlow, M. J. et al. (2019) Mechanically activated Piezo1 channels of cardiac fibroblasts stimulate p38 mitogen-activated protein kinase activity and interleukin-6 secretion. *Journal of Biological Chemistry*, vol. 294, no. 46, pp. 17395–17408. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.009167> (In English)
- Botello-Smith, W. M., Jiang, W., Zhang, H. et al. (2019) A mechanism for the activation of the mechanosensitive Piezo1 channel by the small molecule Yoda1. *Nature Communications*, vol. 10, no. 1, article 4503. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12501-1> (In English)
- Braidotti, N., Chen, S. N., Long, C. S. et al. (2022) Piezo1 channel as a potential target for hindering cardiac fibrotic remodeling. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 15, article 8065. <https://doi.org/10.3390/ijms23158065> (In English)
- Brodgers-Bondon, F., Nguyen Ho-Boulidoires, T. H., Fernandez-Sanchez, M.-E. et al. (2018) Mechanotransduction in tumor progression: The dark side of the force. *Journal of Cell Biology*, vol. 217, no. 5, pp. 1571–1587. <https://doi.org/10.1083/jcb.201701039> (In English)
- Chalfie, M. (2009) Neurosensory mechanotransduction. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 10, no. 1, pp. 44–52. <https://doi.org/10.1038/nrm2595> (In English)
- Chubinskiy-Nadezhdin, V. I., Vasileva, V. Y., Vassilieva, I. O. et al. (2019) Agonist-induced Piezo1 activation suppresses migration of transformed fibroblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 514, no. 1, pp. 173–179. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.04.139> (In English)
- Coste, B., Mathur, J., Schmidt, M. et al. (2010) Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels. *Science*, vol. 330, no. 6000, pp. 55–60. <https://doi.org/10.1126/science.1193270> (In English)
- Coste, B., Xiao, B., Santos, J. S. et al. (2012) Piezo proteins are pore-forming subunits of mechanically activated channels. *Nature*, vol. 483, no. 7388, pp. 176–181. <https://doi.org/10.1038/nature10812> (In English)
- Dumitru, A. C., Stommen, A., Koehler, M. et al. (2021) Probing PIEZO1 localization upon activation using high-resolution atomic force and confocal microscopy. *Nano Letters*, vol. 21, no. 12, pp. 4950–4958. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.1c00599> (In English)
- Duscher, D., Maan, Z. N., Wong, V. W. et al. (2014) Mechanotransduction and fibrosis. *Journal of Biomechanics*, vol. 47, no. 9, pp. 1997–2005. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2014.03.031> (In English)
- Emig, R., Knodt, W., Krussig, M. J. et al. (2021) Piezo1 channels contribute to the regulation of human atrial fibroblast mechanical properties and matrix stiffness sensing. *Cells*, vol. 10, no. 3, article 663. <https://doi.org/10.3390/cells10030663> (In English)
- Franze, K. (2013) The mechanical control of nervous system development. *Development*, vol. 140, no. 15, pp. 3069–3077. <https://doi.org/10.1242/dev.079145> (In English)
- Gavara, N. (2016) A beginner's guide to atomic force microscopy probing for cell mechanics. *Microscopy Research and Technique*, vol. 80, no. 1, pp. 75–84. <https://doi.org/10.1002/jemt.22776> (In English)
- Gavara, N., Chadwick, R. S. (2012) Determination of the elastic moduli of thin samples and adherent cells using conical atomic force microscope tips. *Nature Nanotechnology*, vol. 7, no. 11, pp. 733–736. <https://doi.org/10.1038/nnano.2012.163> (In English)
- Goldmann, W. H. (2014) Mechanosensation: A basic cellular process. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, vol. 126, pp. 75–102. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394624-9.00004-X> (In English)

- Haase, K., Pelling, A. E. (2015) Investigating cell mechanics with atomic force microscopy. *Journal of the Royal Society Interface*, vol. 12, no. 104, article 20140970. <https://doi.org/10.1098/rsif.2014.0970> (In English)
- Habeler, W., Peschanski, M., Monville, C. (2009) Organotypic heart slices for cell transplantation and physiological studies. *Organogenesis*, vol. 5, no. 2, pp. 62–66. <https://doi.org/10.4161/org.5.2.9091> (In English)
- Hutter, J. L., Bechhoefer, J. (1993) Calibration of atomic force microscope tips. *Review of Scientific Instruments*, vol. 64, no. 7, pp. 1868–1873. <https://doi.org/10.1063/1.1143970> (In English)
- Jiang, Y., Yang, X., Jiang, J., Xiao, B. (2021) Structural designs and mechanogating mechanisms of the mechanosensitive Piezo channels. *Trends in Biochemical Sciences*, vol. 46, no. 6, pp. 472–488. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2021.01.008> (In English)
- Khalisov, M. M., Penniyaynen, V. A., Podzorova, S. A. et al. (2020) Kolkhitsin izmenyaet strukturu tsitoskeleta fibroblastov: kolichestvennoe issledovanie adaptivnoj kletочноj reaktсии metodami atomno-silovoj i konfokal'noj lazernoj skaniruyushchej mikroskopii [The effect of colchicine on the structure of the fibroblast cytoskeleton: A quantitative study of an adaptive cell response by means of atomic force and confocal laser scanning microscopy methods]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 1, no. 2, pp. 115–122. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2020-1-2-115-122> (In Russian)
- Lekka, M. (2016) Discrimination between normal and cancerous cells using AFM. *BioNanoScience*, vol. 6, pp. 65–80. <https://doi.org/10.1007/s12668-016-0191-3> (In English)
- Lin, Y.-C., Guo, Y. R., Miyagi, A. et al. (2019) Force-induced conformational changes in Piezo1. *Nature*, vol. 573, no. 7773, pp. 230–234. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1499-2> (In English)
- Lopatina, E. V., Kipenko, A. V., Penniyaynen, V. A. et al. (2015) Organotypic tissue culture investigation of homocysteine thiolactone cardiotoxic effect. *Acta Physiologica Hungarica*, vol. 102, no. 2, pp. 137–142. <https://doi.org/10.1556/036.102.2015.2.4> (In English)
- Lyon, R. C., Zanella, F., Omens, J. H., Sheikh, F. (2015) Mechanotransduction in cardiac hypertrophy and failure. *Circulation Research*, vol. 116, no. 8, pp. 1462–1476. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.304937> (In English)
- Ostrow, L. W., Sachs, F. (2005) Mechanosensation and endothelin in astrocytes-hypothetical roles in CNS pathophysiology. *Brain Research Reviews*, vol. 48, no. 3, pp. 488–508. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2004.09.005> (In English)
- Penniyaynen, V. A., Kipenko, A. V., Lopatina, E. V. et al. (2015) The effect of marinobufagenin on the growth and proliferation of cells in the organotypic culture. *Doklady Biological Sciences*, vol. 462, pp. 164–166. <https://doi.org/10.1134/S0012496615030096> (In English)
- Qin, L., He, T., Chen, S. et al. (2021) Roles of mechanosensitive channel Piezo1/2 proteins in skeleton and other tissues. *Bone Research*, vol. 9, article 44. <https://doi.org/10.1038/s41413-021-00168-8> (In English)
- Ranade, S. S., Syeda, R., Patapoutian, A. (2015) Mechanically activated ion channels. *Neuron*, vol. 87, no. 6, pp. 1162–1179. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.08.032> (In English)
- Rotsch, C., Radmacher, M. (2000) Drug-induced changes of cytoskeletal structure and mechanics in fibroblasts: An atomic force microscopy study. *Biophysical Journal*, vol. 78, no. 1, pp. 520–535. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(00\)76614-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(00)76614-8) (In English)
- Sneddon, I. N. (1965) The relation between load and penetration in the axi-symmetric boussinesq problem for a punch of arbitrary profile. *International Journal of Engineering Science*, vol. 3, no. 1, pp. 47–57. [https://doi.org/10.1016/0020-7225\(65\)90019-4](https://doi.org/10.1016/0020-7225(65)90019-4) (In English)
- Sundstrom, L., Pringle, A., Morrison, B. III., Bradley, M. (2005) Organotypic cultures as tools for functional screening in the CNS. *Drug Discovery Today*, vol. 10, no. 14, pp. 993–1000. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(05\)03502-6](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(05)03502-6) (In English)
- Syeda, R., Xu, J., Dubin, A. E. et al. (2015) Chemical activation of the mechanotransduction channel Piezo1. *eLife*, vol. 4, article e07369. <https://doi.org/10.7554/eLife.07369> (In English)
- Taberner, F. J., Prato, V., Schaefer, I. et al. (2019) Structure-guided examination of the mechanogating mechanism of Piezo2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 116, no. 28, pp. 14260–14269. <https://doi.org/10.1073/pnas.1905985116> (In English)
- Vasileva, V., Chubinskiy-Nadezhdin, V. (2023) Regulation of PIEZO1 channels by lipids and the structural components of extracellular matrix/cell cytoskeleton. *Journal of Cellular Physiology*, vol. 238, no. 5, pp. 918–930. <https://doi.org/10.1002/jcp.31001> (In English)
- Vollrath, M. A., Kwan, K. Y., Corey, D. P. (2007) The micromachinery of mechanotransduction in hair cells. *Annual Review of Neuroscience*, vol. 30, pp. 339–365. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.112917> (In English)
- Wang, J., Jiang, J., Yang, X. et al. (2022) Tethering Piezo channels to the actin cytoskeleton for mechanogating via the cadherin- $\beta$ -catenin mechanotransduction complex. *Cell Reports*, vol. 38, no. 6, article 110342. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110342> (In English)
- Wang, Y., Chi, S., Guo, H. et al. (2018) A lever-like transduction pathway for long-distance chemical-and mechanogating of the mechanosensitive Piezo1 channel. *Nature Communications*, vol. 9, no. 1, article 1300. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03570-9> (In English)
- Watson, S. A., Scigliano, M., Bardi, I. et al. (2017) Preparation of viable adult ventricular myocardial slices from large and small mammals. *Nature Protocols*, vol. 12, no. 12, pp. 2623–2639. <https://doi.org/10.1038/nprot.2017.139> (In English)



УДК 612.648 + 612.65 + 615.214

EDN HBOOAF

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-60-71>

## Пренатальное влияние бупирона в модели гипоксического стресса на пространственное обучение, память и физиологический ответ у взрослых самцов и самок крыс

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: 7006438341, 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. (2024) Пренатальное влияние бупирона в модели гипоксического стресса на пространственное обучение, память и физиологический ответ у взрослых самцов и самок крыс. *Интегративная физиология*, т. 5, № 1, с. 60–71. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-60-71> EDN HBOOAF

**Получена** 13 марта 2024; прошла рецензирование 7 апреля 2024; принята 11 апреля 2024.

**Финансирование:** Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН (№1023032400236-8-3.1.4).

**Права:** © И. П. Буткевич, В. А. Михайленко, Е. А. Вершинина (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

**Аннотация.** Влияние анксиолитика и антидепрессанта бупирона (агонист серотонинергического 5-HT<sub>1A</sub> рецептора), используемого для лечения тревожно-депрессивного состояния женщин во время беременности, на адаптивное поведение потомства является вопросом дискуссии. Изучение внутриутробного влияния сочетания бупирона и гипоксии, имеющего место в неонатальной клинике, на когнитивную сферу и стрессорный ответ, особенно у взрослых разнополых особей, важно для неонатологов в прогностическом аспекте. Мы впервые исследовали эффект хронического введения бупирона, умеренной острой нормобарической гипоксии и их взаимодействия в пренатальный период развития на пространственное обучение, память и реактивность гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГТАКС), а также массу тела у взрослых самцов и самок крыс. Каждый пренатальный фактор в отдельности не ухудшил способность к пространственному обучению и память у крыс обоего пола. Взаимодействие бупирона и гипоксии ослабило выявленное улучшенное влияние гипоксии на пространственное обучение у самцов и эффективность пространственной долговременной памяти у самок, что сочеталось у последних со снижением стрессорного ответа кортикостерона в плазме крови. У самцов во влиянии пренатальных воздействий не было обнаружено изменений в эффективности пространственной памяти и реактивности ГТАКС. У крыс обоего пола совместное действие пренатальных факторов снизило эффективность пространственной долговременной памяти по сравнению с эффективностью пространственной памяти в первый день тестирования. Пренатальный бупирон вызвал снижение массы тела у крыс обоего пола. Обнаруженный половой диморфизм в действии пренатальных факторов на когнитивную сферу и реактивность ГТАКС у взрослых крыс может указывать на различные изменения нейрональной пластичности в областях гиппокампа, участвующих в пространственном обучении и памяти, в зависимости от половой принадлежности.

**Ключевые слова:** пренатальный бупирон или/и гипоксия, долговременное влияние, пространственное обучение и память, кортикостерон, половой диморфизм

# Prenatal influence of buspirone in the hypoxia-induced stress model on spatial learning, memory and physiological response in adult male and female rats

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: [7006438341](#), 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. (2024) Prenatal influence of buspirone in the hypoxia-induced stress model on spatial learning, memory and physiological response in adult male and female rats. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 1, pp. 60–71. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-60-71> EDN [HBOOAF](#)

**Received** 13 March 2024; reviewed 7 April 2024; accepted 11 April 2024.

**Funding:** The study was supported by the State funding allocated to the Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences (№1023032400236-8-3.1.4).

**Copyright:** © I. P. Butkevich, V. A. Mikhailenko, E. A. Vershinina (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](#).

**Abstract.** This paper discusses the influence of the anxiolytic and antidepressant 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist, buspirone, used to treat anxious-depressive state in pregnant women on the adaptive behavior of the offspring. The study of the intrauterine influence of the buspirone and hypoxia combination on cognition and stressful response notably in adult individuals of different sex has a high prognostic value for neonatologists. We investigated, for the first time, the effect of chronic buspirone administration, moderate acute normobaric hypoxia and their interaction in the prenatal period on spatial learning, memory and reactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system (HPA) and body weight in adult male and female rats. Each prenatal factor alone did not impair spatial learning or memory in rats of either sex, while the combination of buspirone and hypoxia weakened the improved effect of hypoxia on spatial learning in male rats and the efficiency of spatial long-term memory in female rats, which was combined in the latter with a decrease in the stress response of corticosterone in the blood plasma. In rats of both sexes, the combined effect of prenatal factors reduced the effectiveness of spatial long-term memory compared to the effectiveness of spatial memory on the first day of testing. Prenatal buspirone caused a decrease in body weight in rats of both sexes. The observed sexual dimorphism in the influence of prenatal factors on cognition and the HPA axis reactivity in adult rats may indicate various changes of neuronal plasticity in hippocampal regions involved in spatial learning and memory, depending on sex.

**Keywords:** prenatal buspirone and/or hypoxia, long-term influence, spatial learning and memory, corticosterone, sexual dimorphism

## Введение

Исследование влияний агониста серотонинергического рецептора 1A (5-HT<sub>1A</sub>) буспилона и умеренной гипоксии во время беременности на адаптивное поведение потомства вызывает повышенный интерес у неонатологов и имеет важное медико-социальное значение (De Kloet et al. 2018; Nalivaeva et al. 2018; Post et al. 2023). Буспирон обычно применяют для лечения тревожности у женщин репродуктивного возраста. Буспирон является полным агонистом серотонинергических пресинаптических ауторецепторов и частичным агонистом

постсинаптических гетерорецепторов типа 1A. Рецептор 5-HT<sub>1A</sub> (5-HT<sub>1AR</sub>) выявляется в гиппокампе крысы на 12-й эмбриональный день (ЭД12), затем данный рецептор экспрессируется в миндалевидном теле, префронтальной коре (Patel, Zhou 2005), где он опосредует влияние серотонина (5-HT) на психоэмоциональное поведение, когнитивную систему и другие нейробиологические функции организма. Буспирон проникает через плацентарный и гематоэнцефалический барьеры и может изменить уровень 5-HT в мозге плода. В пренатальный период 5-HT отвечает за развитие 5-HT-ергической системы и регулирует процессы нейрогенеза

и синаптогенеза (Buller et al. 2012). Дисбаланс в развитии 5-НТ-ергической системы вызывает морфофункциональные нарушения в структурах мозга, что в дальнейшем изменяет функционирование гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГТАКС) и когнитивной сферы (Brummelte et al. 2017). Серотонинергическая система и ГТАКС нейроанатомически и функционально тесно взаимосвязаны и участвуют в развитии и регуляции гиппокампа — главной структуры мозга, вовлеченной в реализацию процессов обучения, кратковременной и долговременной памяти и пространственной навигации (Lisman et al. 2017). Нейроны гиппокампа обильно снабжены 5-НТ1А рецепторами и глюкокортикоидными рецепторами (Vombardi et al. 2021; De Kloet et al. 2018), что обуславливает высокую чувствительность гиппокампа к стрессорным факторам (Kim, Kim 2023). Данные, полученные с использованием позитронно-эмиссионной томографии на человеке, и генетические исследования свидетельствуют об участии 5-НТ и 5-НТ1А в гиппокампе в пространственном обучении и памяти (Gajardo et al. 2023; Glikmann-Johnston et al. 2015). Принимая во внимание ответственную роль 5-НТ и 5-НТ1А в развитии головного мозга, становится понятным острый интерес клиницистов к пренатальному влиянию буспилона на развитие важнейших интегративных функций организма. Имеющаяся информация по этому вопросу неоднозначна, представлена на особях мужского пола, долгосрочные последствия пренатально введенного буспилона не исследованы, как и сам механизм действия буспилона (Freeman et al. 2022; Thorsness et al. 2018).

Пренатальная гипоксия является распространенным стрессорным фактором в неонатальной клинике, механизм пренатальной гипоксии интенсивно исследуется на грызунах (Andrade 2023; Post et al. 2023). В адаптации организма к гипоксическому стрессу ведущая роль принадлежит стрессорной ГТАКС и 5-НТ-ергической системе (Carneiro et al. 2022; Rybnikova, Nalivaeva 2021). Изучение влияний умеренной пренатальной гипоксии, которая встречается в неонатальной клинике гораздо чаще, чем тяжелая форма гипоксии, но менее исследована, важно для понимания механизмов устойчивости и уязвимости адаптивных систем к стрессорным воздействиям (Hanswijk et al. 2020).

Принимая во внимание вышеизложенное, а также необходимость изучения влияния сочетания различных пренатальных воздействий как прогностического фактора для возможной

коррекции их последствий, цель работы состояла в исследовании пространственного обучения, памяти, реактивности ГТАКС и массы тела у взрослых самцов и самок крыс, рожденных матерями, подвергнутыми во время беременности хроническому введению буспилона, острой умеренной нормобарической гипоксии и их совместному действию.

## Материалы и методы

Взрослые самки и самцы 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 9 февраля 2022 г.); работа проводилась в соответствии с международными принципами биомедицинских исследований с использованием животных (CIOMS, Женева, 1985). Беременных самок ( $n = 20$ ) помещали по 3–4 особи в стандартные клетки. С 9-го по 20-й день беременности экспериментальных самок ( $n = 10$ ) подвергали ежедневно одноразовой инъекции агониста 5-НТ1А буспилона (3,5 мг/кг, 1 мл внутривентриально), контрольных беременных самок ( $n = 10$ ) — инъекции физиологического раствора (ФР) в том же объеме. На 14-й день беременности (ЭД14) половину от числа экспериментальных и числа контрольных самок помещали в барокамеру для воздействия острой нормобарической гипоксией (содержание кислорода в газовой смеси — 7,6–7,8%, углекислого газа — 0,15–0,21%, азота — 91,8% при температуре 21–23°C) в течение 60 минут. Остальных крыс помещали в барокамеру, но не подвергали гипоксии. Данная модель гипоксии используется в лаборатории онтогенеза нервной системы (Khozhai, Otellin 2022).

В возрасте 30 сут (P30) крысят разлучали с матерью, разнополых особей рассаживали по четыре в разные стандартные клетки. Для исследования были сформированы следующие группы крыс: буспирон и гипоксия (самцы  $n = 9$ , самки  $n = 8$ ), ФР и гипоксия (самцы  $n = 9$ , самки  $n = 10$ ), буспирон без гипоксии (самцы  $n = 9$ , самки  $n = 8$ ), ФР без гипоксии (самцы  $n = 7$ , самки  $n = 9$ ), от каждой матери в эксперимент брали не более двух разнополых крысят.

У 90–100-дневных животных исследовали способность к пространственному обучению в водном лабиринте Морриса в течение пяти дней. Подробное описание данной процедуры было представлено нами ранее (Mikhailenko et al.

2023). На рисунке 1 представлена схема экспериментов. Бассейн, в котором исследовали процессы обучения и памяти, визуально был разделен на четыре квадранта, в одном из которых, целевом, находилась платформа. Ежедневно крысе предоставляли две одинаковые пробы, каждая из четырех попыток, с 4-минутным отдыхом между ними в сухой клетке. В каждой попытке регистрировали время (не более 60 с), за которое крыса находила платформу (латентный период, ЛП), нахождение на платформе составляло 20 с, между попытками крысе давали 15 с отдыха. На пятый день обучения после первой пробы платформу убрали из бассейна и регистрировали эффективность памяти в первый день после удаления платформы, а через 96 ч — эффективность долговременной памяти. С помощью вебкамеры и компьютерной программы регистрировали траекторию движения крысы, время достижения платформы (с) и время пребывания в целевом квадранте (с) за 60 с, где во время обучения находилась платформа. После опытов крыс взвешивали.

Через 30 мин после тестирования долговременной памяти у крыс путем декапитации собирали образцы крови для определения содержания кортикостерона в плазме крови методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов («Хема-Медика Со» Cat №: K210R; Россия) с помощью спектрофотометрической пластины (Spectrostar NANO, BMG Labtech, Германия) (Mikhailenko et al. 2023).

После проверки гипотезы об отклонении распределений данных от нормального с использованием критерия Колмогорова — Смирнова, проводили статистический анализ результатов с использованием дисперсионного анализа ANOVA в программном комплексе SPSS Inc 26 с последующими множественными сравнениями с поправкой Бонферрони. Данные представлены средними значениями плюс-минус стандартные ошибки. Принятый уровень значимости составлял 5%.

### Результаты исследования

Проведенный статистический анализ динамики латентного периода (ЛП) достижения платформы показал, что среднее значение ЛП (по четырем попыткам) в первой пробе в первые сутки было значимо выше по сравнению с аналогичным средним значением ЛП во второй пробе в первые сутки у крыс обоего пола ( $p < 0,001$ ) и выше ЛП обеих проб в последующие сутки тренировки ( $p < 0,01$ ). Дисперсионный анализ с факторами пол (самцы, самки), условие (без гипоксии/гипоксия), воздействие (ФР/буспирон) показал значимое взаимодействие факторов условия и воздействия.

$F(1,62) = 6,896$ ,  $p = 0,011$ ,  $\eta^2 = 0,100$  для усредненных по четырем попыткам данных в первой пробе в первые сутки. Значимое влияние фактора пола выявлено не было, как и не было обнаружено значимое взаимодействие факторов пол и условие, а также факторов пол и воздействие. Обнаружено, что гипоксия уменьшила

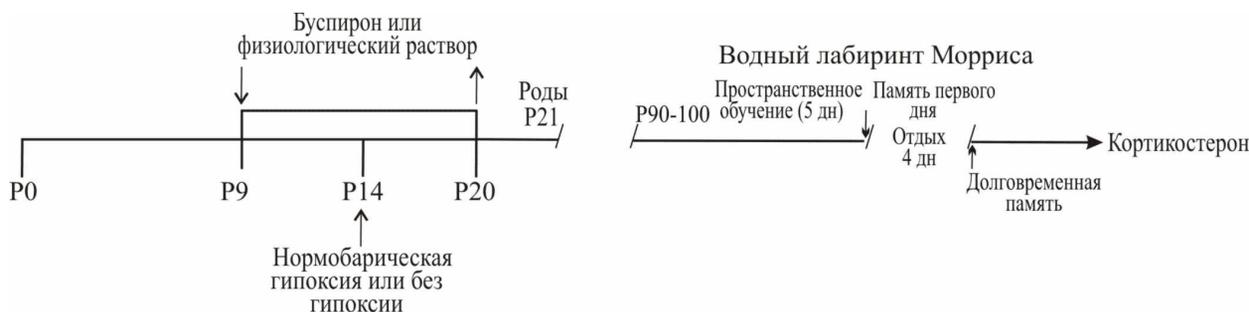


Рис. 1. Схема экспериментов на беременных крысах и их потомстве обоего пола

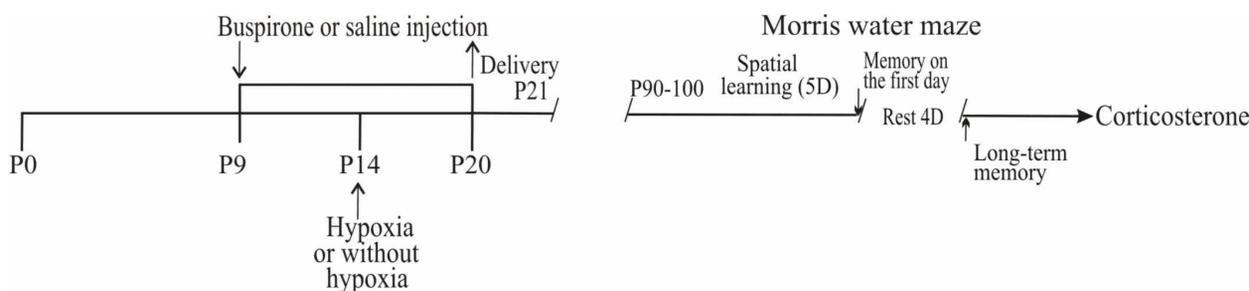


Fig. 1. Scheme of the experiments on pregnant rats and their offspring of both sexes

ЛП в первой пробе в первый день тестирования у самцов, пренатально подвергнутых введению ФР, по сравнению с ЛП у самцов без гипоксического воздействия (рис. 2А, В, С). Буспирон нивелировал улучшение обучения у гипоксических крыс: ЛП у самцов и самок с воздействием

буспилона не различался с ЛП у крыс, подвергнутых и не подвергнутых гипоксии (рис. 2А, В, С, D, E, F). Данный показатель обучения у самцов крыс с сочетанием гипоксии и буспилона был больше по сравнению с сочетанием гипоксии и ФР ( $p = 0,049$ ) (рис. 2А).

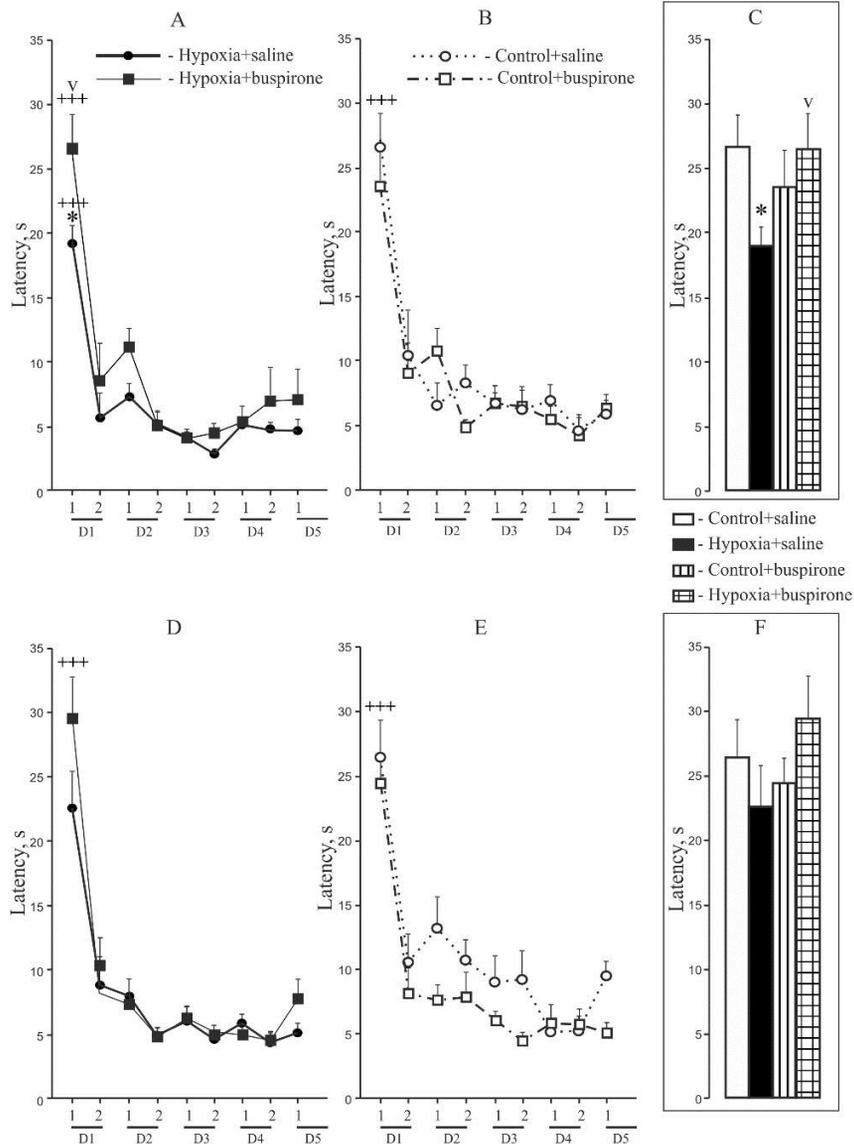


Рис. 2. Динамика времени достижения платформы (ЛП) в водном лабиринте Морриса в течение пяти дней у взрослых самцов (А, В, С) и самок (D, E, F) крыс, подвергнутых воздействию гипоксии (А, D) и без гипоксии (контроль) (В, Е) в пренатальный период развития. 1 и 2 — первая и вторая пробы, D1–D5 — пять тренировочных дней. Панели (С) и (F) показывают гистограммы ЛП в первую пробу в первый день у самцов и самок крыс соответственно. \* —  $p < 0,05$  гипоксия + ФР vs контроль + ФР (А, В); +++ —  $p < 0,001$  первая проба первого дня vs вторая проба первого и всех последующих проб всех дней, во всех группах крыс; v —  $p < 0,05$  гипоксия + буспирон vs гипоксия + ФР у самцов крыс.

Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка

Fig. 2. Dynamics of the time of reaching the platform (LP) in the Morris water maze over five days in adult male (A, B, C) and female (D, E, F) rats exposed to hypoxia (A, D) and without hypoxia (B, E) (control) in the prenatal period. 1 and 2 — first and second trials; D1–D5 — five training days. Panels (C) and (F) show LP histograms on the first trial on day 1 in male and female rats respectively. \* —  $p < 0.05$  hypoxia + saline vs control + saline (A, B); +++ —  $p < 0.001$  the first trial on the first day vs the second trial of the first and all subsequent trials of all the days, in all groups of rats; v —  $p < 0.05$  hypoxia + buspirone vs hypoxia + saline in male rats.

Data presented as mean  $\pm$  SEM

При проведении двух трехфакторных анализов отдельно для показателя памяти в первый день тестирования и долговременной памяти влияние пола на память выявлено не было. Поэтому при исследовании памяти был применен смешанный дисперсионный анализ (факторы: память, условие и воздействие). Тесты внутри субъектов показали значимое влияние памяти 1-го дня тестирования и долговременной памяти у самцов  $F(1, 27) = 25,1$ ,  $p < 0,001$ ,  $\eta^2 = 0,481$  и взаимодействия факторов память, условие и воздействие  $F(1, 27) = 5,2$ ,  $p = 0,031$ ,  $\eta^2 = 0,162$ , а у самок — фактора память  $F(1, 32) = 22,042$ ,  $p < 0,001$ ,  $\eta^2 = 0,408$  и взаимодействия факторов память и воздействия  $F(1, 32) = 4,739$ ,  $p = 0,037$ ,  $\eta^2 = 0,129$ ; тесты между субъектами показали значимое влияние факторов взаимодействия условия и воздействия  $F(1, 32) = 7,445$ ,  $p = 0,01$ ,  $\eta^2 = 0,189$  у самок.

При тестировании эффективности памяти в первый день после удаления платформы обнаружено, что пренатальная гипоксия в сочетании с ФР увеличила время пребывания в целевом квадранте у самок по сравнению с этим показателем у самок, не подвергнутых воздействию гипоксии ( $p = 0,036$ ). У самок, не подвергнутых гипоксии, пренатальный буспирон повысил эффективность памяти по сравнению с эффективностью памяти у самок с введением ФР ( $p = 0,037$ ) (рис. 3А). У самцов в эффективности памяти в первый день тестирования не было обнаружено различий между группами.

При тестировании долговременной памяти обнаружено, что гипоксия увеличила время пребывания в целевом квадранте у самок крыс по сравнению с этим показателем у самок, не подвергнутых гипоксии ( $p = 0,049$ ) (рис. 3В), воздействие гипоксии в сочетании с буспироном

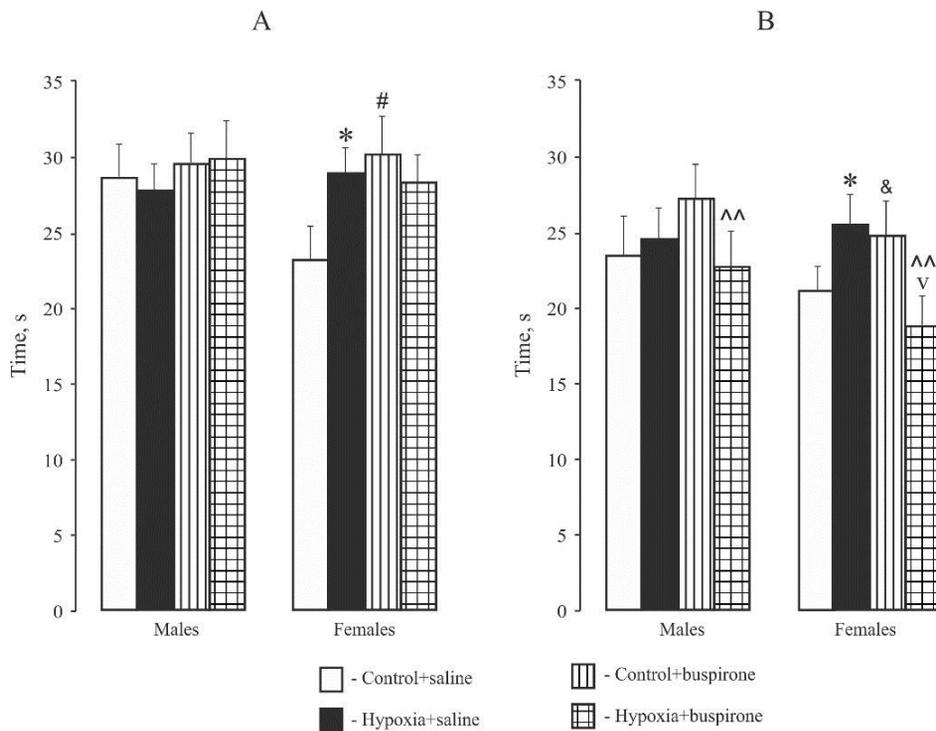


Рис. 3. Эффективность пространственной памяти в первый день тестирования (А) и пространственной долговременной памяти (В) в водном лабиринте Морриса у самцов и самок взрослых крыс, подвергнутых воздействию гипоксии или/и буспирона в пренатальный период развития. Ордината: время пребывания в целевом квадранте (с). Уровень значимости: \* —  $p < 0,05$  гипоксия + ФР vs контроль + ФР; # —  $p < 0,05$  контроль + буспирон vs контроль + ФР; v —  $p < 0,05$  гипоксия + буспирон vs гипоксия + ФР; ^^ —  $p < 0,01$  гипоксия + буспирон (долговременная память) vs гипоксия + буспирон (память первого дня); & —  $p < 0,05$  контроль + буспирон (долговременная память) vs контроль + буспирон (память первого дня).

Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка

Fig. 3. Efficiency of spatial memory on the first day of testing (A) and spatial long-term memory (B) in the Morris water maze in male and female adult rats exposed to hypoxia or/and buspirone in the prenatal period. Ordinate: time spent in the target quadrant (s). \* —  $p < 0.05$  hypoxia + saline vs control + saline; # —  $p < 0.05$  control + buspirone vs control + saline; v —  $p < 0.05$  hypoxia + buspirone vs hypoxia + saline; ^^ —  $p < 0.01$  hypoxia + buspirone (long-term memory) vs hypoxia + buspirone (memory on the first day); & —  $p < 0.05$  control + buspirone (long-term memory) vs control + buspirone (memory on the first day).

Data presented as mean  $\pm$  SEM

уменьшило данный показатель по сравнению с таковым у гипоксических самок с ФР ( $p = 0,028$ ) (рис. 3В). При исследовании времени пребывания в целевом квадранте обнаружены различия между памятью первого дня и долговременной памятью у гипоксических крыс с буспином (самки и самцы  $p = 0,01$ ), у самок крыс без воздействия гипоксии с введением буспилона ( $p = 0,025$ ), во всех случаях с меньшим показателем в долговременной памяти (рис. 3А, В). Не было выявлено различий в данном показателе между памятью в первый день тестирования и долговременной памятью у гипоксических самцов и самок с ФР, у крыс, не подвергнутых гипоксии с введением ФР, и у самцов с введением буспилона.

Таким образом, гипоксия с введением ФР улучшила эффективность обоих типов памяти у самок, а буспирон улучшил показатель памяти в первый день у самок, не подвергнутых гипоксии; сочетание буспилона и гипоксии ухудшило эффективность долговременной памяти по сравнению с сочетанием ФР и гипоксии. У самцов

значимых различий во времени пребывания в целевом квадранте между группами не было обнаружено при тестировании обоих типов памяти.

При исследовании содержания кортикостерона в плазме крови проведение трехфакторного дисперсионного анализа ANOVA (факторы: пол, условие, воздействие) позволило обнаружить тенденцию в главных эффектах для пола  $F(1,61) = 3,073$ ,  $p = 0,085$ ,  $\eta^2 = 0,048$  и во взаимодействии между полом и воздействием  $F(1,61) = 2,768$ ,  $p = 0,085$ ,  $\eta^2 = 0,043$ . Более высокий показатель гормона обнаружен у гипоксических самок с воздействием ФР, чем буспилона ( $p = 0,011$ ) (рис. 4А, В).

При анализе данных по массе тела трехфакторный дисперсионный анализ ANOVA показал главные эффекты для пола  $F(1,61) = 594,2$ ,  $p < 0,001$ ,  $\eta^2 = 0,907$ , воздействия  $F(1,61) = 8,9$ ,  $p = 0,004$ ,  $\eta^2 = 0,128$  и тенденцию во взаимодействии условия и воздействия  $F(1,61) = 3,5$ ,  $p = 0,066$ ,  $\eta^2 = 0,054$ . Апостериорный анализ показал, что у крыс без воздействия гипоксии более низкая

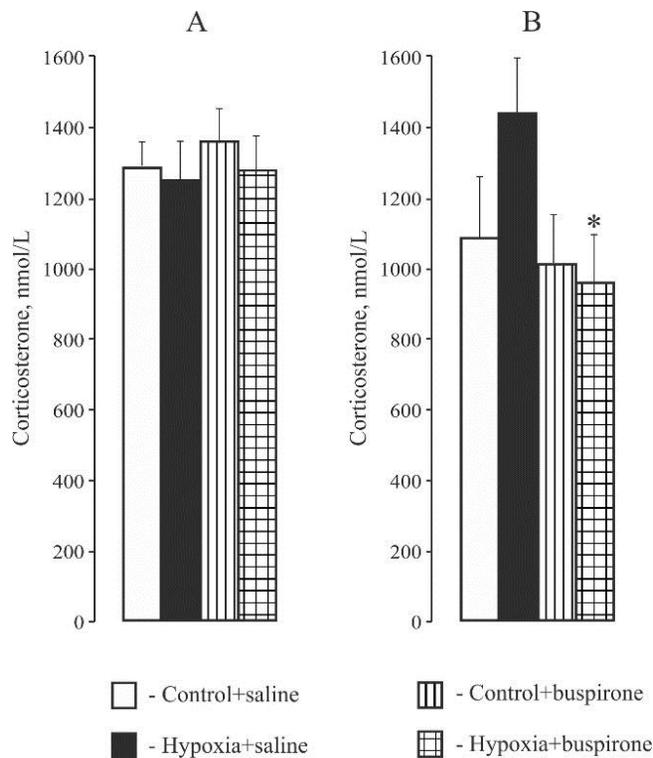


Рис. 4. Содержание кортикостерона в плазме крови в ответ на тестирование долговременной памяти в водном лабиринте Морриса у взрослых самцов (А) и самок (В) крыс, подвергнутых воздействию гипоксии или/и буспилона в пренатальный период развития. Ордината: содержание кортикостерона в плазме крови (нмоль/л). \* —  $p < 0,05$  гипоксия + буспирон vs гипоксия + ФР. Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка

Fig. 4. Content of corticosterone in blood plasma in response to testing long-term memory in the Morris water maze in adult male (A) and female (B) rats exposed to hypoxia or/and buspirone in the prenatal period. Ordinate: corticosterone content in blood plasma (nmol/L). \* —  $p < 0,05$  hypoxia + buspirone vs hypoxia + saline. Data presented as mean  $\pm$  SEM

масса тела была обнаружена с введением буспирона по сравнению с введением ФР у крыс обоего пола ( $p = 0,015$  в обоих случаях) (рис. 5А, В). Масса тела у самцов была больше по сравнению с массой тела у самок ( $p < 0,001$ ) во всех группах (рис. 5А, В).

### Обсуждение

Полученные новые результаты свидетельствуют о том, что пренатальные стрессорные факторы, хроническое введение буспирона или острая умеренная нормобарическая гипоксия не ухудшили способность к пространственному обучению и память в водном лабиринте Морриса у взрослых крыс. Пренатальные факторы могут взаимодействовать, изменяя влияние каждого из них, и оказывать долговременные последствия на когнитивный процесс в зависимости от пола. Взаимодействие буспирона и гипоксии вызывало у самок снижение эффективности долговременной памяти по сравнению с влиянием гипоксии, что сочеталось у них со снижением реактивности ГГКС.

Обнаруженное улучшение пространственного обучения у гипоксических самцов по сравнению

с контрольными самцами может указывать на отсутствие неблагоприятного влияния умеренной по интенсивности гипоксии на фоне ежедневного введения ФР и хэндлинга на данный тип поведения. Умеренная гипоксия могла способствовать усилению процесса нейрогенеза, активно развивающегося в гиппокампе и других структурах мозга у плода крысы (Bond et al. 2022), что и проявилось у взрослых самцов в усилении способности к пространственному обучению. Отсутствие различий во времени достижения платформы у контрольных крыс обоего пола, подвергнутых хроническому влиянию ФР или буспирона, дает возможность говорить об отсутствии вредного влияния буспирона на способность к пространственному обучению.

В литературе сообщалось, что даже тяжелая пренатальная гипобарическая гипоксия на P14–16 не вызывала изменений как в способности к пространственному обучению, так и числе нейронов и астроцитов в СА1 гиппокампа у 90-дневных крыс (Vetrovo et al. 2021). Более раннее исследование свидетельствует, что пренатальная длительная острая нормобарическая гипоксии (кислород 7%, 3 ч на P14) привела

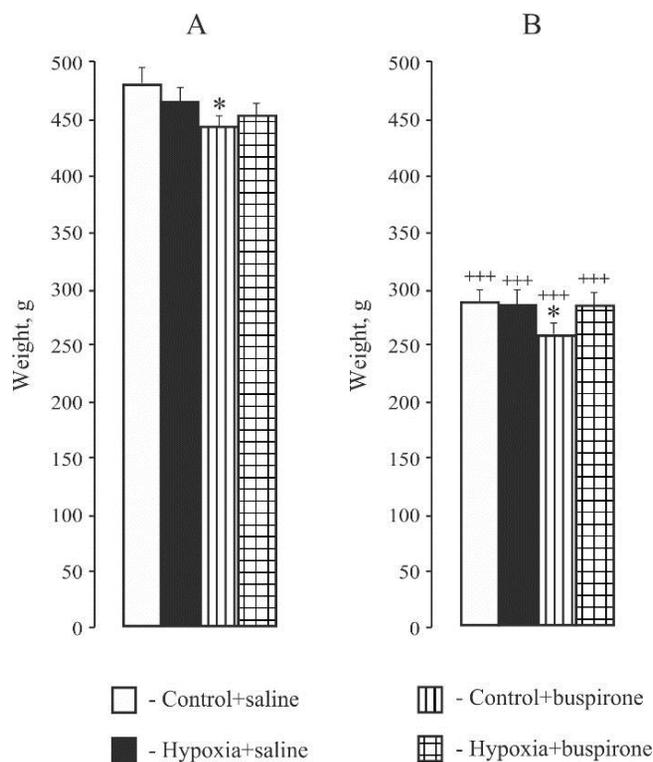


Рис. 5. Масса тела самцов (А) и самок (В) крыс, подвергнутых разным пренатальным воздействиям. Ордината: \* —  $p < 0,05$  контроль + буспирон vs контроль + ФР; +++ —  $p < 0,001$  самцы vs самки во всех группах. Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка

Fig. 5. Body weight of male (A) and female (B) rats exposed to various prenatal effects. Ordinate: \* —  $p < 0.05$  control + buspirone vs control + saline; +++ —  $p < 0.001$  males vs females in all groups. Data presented as mean  $\pm$  SEM

к морфологическим и функциональным изменениям в корковых нейронах и в долговременной потенциации, а также в плотности синапсов в области CA1 гиппокампа у молодых крыс (Zhuravin et al. 2019). Немногочисленные данные о влиянии нормобарической гипоксии в пренатальный период на когнитивную сферу существенно различаются, что вызвано разными условиями эксперимента (Dubrovskaya, Zhuravin 2010; Mabry et al. 2023; Wang et al. 2021; Zhuravin et al. 2019). Интересно, что новые данные указывают на отсутствие различий в физиологическом эффекте между гипобарической гипоксией и нормобарической гипоксией (Post et al. 2023).

Отсутствие улучшения способности к пространственному обучению у гипоксических самцов крыс на фоне пренатального введения буспилона, вероятно, связано с изменением, вызванным воздействием буспилона на 5-HT<sub>1A</sub>R (Albert, Vahid-Ansari 2019), который опосредует влияние 5-HT на когнитивную функцию. Хроническая активация этого рецептора сопровождается активацией ГАКС и увеличением концентрации глюкокортикоидных гормонов в крови (Hanswijk et al. 2020). Именно в последнюю треть беременности у крыс протекает интенсивное развитие ГАКС и 5-HT-ергической системы (Andrews, Matthews 2004), и влияние в это время буспилона может изменить нейрогенез и синаптогенез в гиппокампе.

Повышение эффективности пространственной памяти вне зависимости от сроков тестирования памяти у гипоксических самок крыс могло быть вызвано влиянием острой умеренной гипоксии на усиление процесса нейрогенеза в гиппокампе, который протекает и на ранних этапах развития, способствуя усилению нейрональной пластичности, определяющей эффективность памяти (Kempermann 2022). Обнаруженное снижение эффективности долговременной памяти у самок с взаимодействием буспилона и гипоксии по сравнению с взаимодействием ФР и гипоксии дает возможность сделать предположение о доминирующем влиянии буспилона, который, вызывая через 5-HT<sub>1A</sub>R изменения в 5-HT-ергической системе, модифицирует активность и других нейромедиаторных систем, глутаматергической и дофаминергической, играющих центральную роль в регуляции долговременной пространственной памяти (Hagena, Manahan-Vaughan 2022; Haubrich et al. 2023). Кроме того, буспирон, который наряду с анксиолитическим эффектом обладает и антидепрессивным действием (Yamada et al. 2023), может оказаться под влиянием гетеро-

димерного комплекса 5-HT<sub>1A</sub> и 5-HT<sub>7A</sub> рецепторов, влияющего на ауторегуляцию функциональной активности 5-HT-ергической системы мозга (Solís-Guillén et al. 2021).

Интересный факт мы обнаружили при сравнении сохранности пространственной памяти в зависимости от времени ее тестирования: эффективность долговременной памяти была ниже эффективности памяти в первый день тестирования как у самцов, так и у самок крыс именно с взаимодействием буспилона и гипоксии, но не с взаимодействием ФР и гипоксии. Различное проявление последствий взаимодействия гипоксии и буспилона в двух типах памяти может указывать на различные изменения синаптических механизмов, лежащих в основе памяти первого дня и долговременной памяти. Новые данные литературы указывают на зависимость функции 5-HT<sub>1A</sub>R, связанного с памятью, от холестерина, важного компонента мембран эукариотов, процесс его биосинтеза тесно связан с доступностью кислорода, и этот процесс нарушается в условиях гипоксии (Dutta et al. 2022).

Исследование половых различий является в настоящее время одним из наиболее перспективных и обсуждаемых вопросов в нейронауке (Lafta et al. 2024; Mabry et al. 2023). Выявленные в нашей работе половые различия зависят от эстрогенов, которые, как известно из литературы, модулируют опосредованные гиппокампом формы пространственной памяти (Bowman et al. 2022). Сообщалось, что половое высвобождение эстрогенов в конце пренатального периода с преобладанием женского полового гормона у самцов приводит к дифференцированной сенсibilизации иммунной системы и микроглии у самцов и самок в ответ на стресс. Полагают, что микроглия регулирует половые различия в развитии мозга, поведении и памяти (Dundee et al. 2023; Gregus et al. 2021). Обнаруженное нами у взрослых самок, подвергнутых в утробе матери взаимодействию буспилона и гипоксии, сочетание более низкой эффективности долговременной памяти с более низкой реактивностью ГАКС по сравнению с воздействием гипоксии свидетельствует о том, что пренатальное воздействие данных стрессорных факторов оказывает долговременное комплексное влияние на нейрокогнитивное и нейроэндокринное развитие у особей женского пола, что заслуживает пристального внимания. Снижение массы тела у взрослых крыс обоего пола, рожденных самками, подвергнутыми хроническому введению буспилона, по сравнению с введением физиологического раствора,

могло быть вызвано побочным влиянием бупирона, связанным со снижением аппетита и вызовом анорексии, что показано на взрослых крысах без пренатальных воздействий (Lim et al. 2008). Мы предполагаем, что пренатальный бупирон мог изменить микробиоту матери и плода, подобные изменения показаны с введением ингибиторов обратного захвата серотонина (Desorcy-Scherer et al. 2024), и повлиять в дальнейшем на массу тела потомства.

Таким образом, результаты представленной работы свидетельствуют о том, что пренатальные стрессорные факторы, хроническое введение бупирона или острой умеренной нормобарической гипоксии не ухудшают способность к пространственному обучению и память. Пренатальные факторы могут взаимодействовать, изменяя влияние каждого из них, и оказывать долговременные последствия на когнитивный процесс в зависимости от пола. Полученные на самках крыс данные позволяют предполагать, что взаимодействие бупирона и гипоксии во время беременности может комплексно влиять на долговременное развитие когнитивной и нейроэндокринной систем у женского потомства. Обнаруженный половой диморфизм в долговременном влиянии данных пренатальных стрессорных факторов на когнитивную сферу и реактивность ГПАКС может указывать на различные изменения в нейрональной пластичности в областях гиппокампа, участвующих в пространственном обучении и памяти, в зависимости от половой принадлежности. Полученные новые данные будут способствовать исследованию механизмов резистентности и уязвимости интегративных функций ЦНС к стрессорным воздействиям у разнополых особей и важны для врачей неонатологов в прогностическом аспекте.

### 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. Экспериментальный протокол утвержден Комиссией по гуманному обращению

с животными Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (№ 02/09 от 9 февраля 2022 г.).

### Ethics Approval

All the animal procedures were carried out in accordance with the principles of the Basel Declaration. The experimental protocol was approved by the Commission on Humane Treatment of Animals of the Pavlov Institute of Physiology, RAS (No. 02/09 dated February 09, 2022).

### Вклад авторов

а. Буткевич Ирина Павловна — идея и планирование экспериментов, сбор данных, обработка данных, обсуждение, написание и редактирование рукописи;

б. Михайленко Виктор Анатольевич — идея и планирование экспериментов, сбор данных, обработка данных, обсуждение, написание и редактирование рукописи;

в. Вершинина Елена Андреевна — обработка данных, обсуждение и редактирование рукописи.

### Author Contributions

a. Irina P. Butkevich — experiment design and planning, data collection, data processing, discussion, writing and editing the manuscript;

b. Viktor A. Mikhailenko — experiment design and planning, data collection, data processing, discussion, writing and editing the manuscript;

c. Elena A. Vershinina — data processing, discussing and editing 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 are grateful to E. N. Lavrova and N. A. Ulanova, senior laboratory assistants at the Laboratory of Nervous System Ontogeny, for their help in conducting the experiments and to E. I. Tyulkova, Doctor of Sciences (Biology) at the Laboratory of Brain Neurons Regulation headed by the professor of the RAS, Dr. Sci. E. A. Rybnikova, for conducting the quantitative analysis of corticosterone.

## References

- Albert, P. R., Vahid-Ansari, F. (2019) The 5-HT<sub>1A</sub> receptor: Signaling to behavior. *Biochimie*, vol. 161, pp. 34–45. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.10.015> (In English)
- Andrade, E. (2023) Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy. Progress and new treatments according to the pathophysiological basis of the injury. *Medicina (B Aires)*, vol. 83, suppl. 4, pp. 25–30. PMID: 37714119 (In English)
- Andrews, M. H., Matthews, S. G. (2004) Programming of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis: Serotonergic involvement. *Stress*, vol. 7, no. 1, pp. 15–27. <https://doi.org/10.1080/10253890310001650277> (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.-I., Song, H. (2022) What is the relationship between hippocampal neurogenesis across different stages of the lifespan? *Frontiers in Neuroscience*, vol. 16, article 89171391713. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.891713> (In English)
- Bowman, R., Frankfurt, M., Luine, V. (2022) Sex differences in cognition following variations in endocrine status. *Learning and Memory*, vol. 29, no. 9, pp. 234–245. <https://doi.org/10.1101/lm.053509.121> (In English)
- Brummelte, S., Mc Glanaghy, E., Bonnin, A. et al. (2017) Developmental changes in serotonin signaling: Implications for early brain function, behavior and adaptation. *Neuroscience*, vol. 342, pp. 212–231. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.02.037> (In English)
- Buller, K. M., Wixey, J. A., Reinebrant, H. E. (2012) Disruption of the serotonergic system after neonatal hypoxia-ischemia in a rodent model. *Neurology Research International*, vol. 2012, article 650382. <https://doi.org/10.1155/2012/650382> (In English)
- Carneiro, I. B. C., Toscano, A. E., da Cunha, M. S. B. (2022) Serotonergic mechanisms associated with experimental models of hypoxia: A systematic review. *International Journal of Developing Neuroscience*, vol. 82, no. 8, pp. 668–67980. <https://doi.org/10.1002/jdn.10226> (In English)
- De Kloet, E. R., Meijer, O. C., de Nicola, A. F. et al. (2018) Importance of the brain corticosteroid receptor balance in metaplasticity, cognitive performance and neuro-inflammation. *Frontiers in Neuroendocrinology*, vol. 49, pp. 124–145. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2018.02.003> (In English)
- Desorcy-Scherer, K., Fricke, H. P., Hernandez, L. L. (2024) Selective serotonin reuptake inhibitors during pregnancy and lactation: A scoping review of effects on the maternal and infant gut microbiome. *Developmental Psychobiology*, vol. 66, no. 1, article e22441. <https://doi.org/10.1002/dev.22441> (In English)
- Dubrovskaya, N. M., Zhuravin, I. A. (2010) Ontogenetic characteristics of behavior in rats subjected to hypoxia on day 14 or day 18 of embryogenesis. *Neuroscience and Behavior Physiology*, vol. 40, no. 2, pp. 231–238. <https://doi.org/10.1007/s11055-009-9235-2> (In English)
- Dundee, J. M., Puigdel·l·ivol, M., Butler, R., Brown, G. C. et al. (2023) P2Y<sub>6</sub> Receptor-dependent microglial phagocytosis of synapses during development regulates synapse density and memory. *The Journal of Neuroscience*, vol. 43, no. 48, pp. 8090–8103. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1089-23.2023> (In English)
- Dutta, A., Sarkar, P., Shrivastava, S., Chattopadhyay, A. et al. (2022) Effect of hypoxia on the function of the human serotonin<sub>1A</sub> receptor. *ACS Chemical Neuroscience*, vol. 13, no. 9, pp. 1456–1466. <https://doi.org/10.1021/acscemneuro.2c00181> (In English)
- Freeman, M. P., Szpunar, M. J., Kobylski, L. A. et al. (2022) Pregnancy outcomes after first-trimester exposure to bupirone: Prospective longitudinal outcomes from the MGH National Pregnancy Registry for Psychiatric Medications. *Archives of Women's Mental Health*, vol. 25, no. 5, pp. 923–928. <https://doi.org/10.1007/s00737-022-01250-8> (In English)
- Gajardo, I., Guerra, S., Campusano, J. M. (2023) Navigating like a fly: *Drosophila melanogaster* as a model to explore the contribution of serotonergic neurotransmission to spatial navigation. *International Journal of Molecular Science*, vol. 24, no. 5, article 4407. <https://doi.org/10.3390/ijms24054407> (In English)
- Glikmann-Johnston, Y., Saling, M. M., Chen, J. et al. (2015) Hippocampal 5-HT<sub>1A</sub> receptor binding is related to object-location memory in humans. *Brain Structure Function*, vol. 220, no. 1, pp. 559–570. <https://doi.org/10.1007/s00429-013-0675-7> (In English)
- Gregus, A. M., Levine, I. S., Eddinger, K. A. et al. (2021) Sex differences in neuroimmune and glial mechanisms of pain. *Pain*, vol. 162, no. 8, pp. 2186–2200. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002215> (In English)
- Hagena, H., Manahan-Vaughan, D. (2022) Role of mGlu5 in persistent forms of hippocampal synaptic plasticity and the encoding of spatial experience. *Cells*, vol. 11, no. 21, article 3352. <https://doi.org/10.3390/cells11213352> (In English)
- Hanswijk, S. I., Spoelder, M., Shan, L. et al. (2020) Gestational factors throughout fetal neurodevelopment: The serotonin link. *International Journal of Molecular Science*, vol. 21, no. 16, article 5850. <https://doi.org/10.3390/ijms21165850> (In English)
- Haubrich, J., Hagena, H., Tsanov, M., Manahan-Vaughan, D. (2023) Editorial: Dopaminergic control of experience encoding, memory and cognition. *Frontiers in Behavioral Neuroscience. Section Learning and Memory*, vol. 17, article 1230576. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2023.1230576> (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)
- 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)
- Kim, E. J., Kim, J. J. (2023) Neurocognitive effects of stress: A metaparadigm perspective. *Molecular Psychiatry*, vol. 28, no. 7, pp. 2750–2763. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-01986-4> (In English)
- Lafta, M. S., Mwinyi, J., Affatato, O., Rukh, G. et al. (2024) Exploring sex differences: insights into gene expression, neuroanatomy, neurochemistry, cognition, and pathology. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 18, article 2024. <https://doi.org/10.3389/fnins.2024.1340108> (In English)
- Lim, L. W., Temel, Y., Sesia, T. et al. (2008) Buspirone induced acute and chronic changes of neural activation in the periaqueductal gray of rats. *Neuroscience*, vol. 155, no. 1, pp. 164–173. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.05.038> (In English)
- Lisman, J., Buzsáki, G., Eichenbaum, H. et al. (2017) Viewpoints: How the hippocampus contributes to memory, navigation and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 20, no. 11, pp. 1434–1447. <https://doi.org/10.1038/nrn.4661> (In English)
- Mabry, S., Wilson, E. N., Bradshaw, J. L. et al. (2023) Sex and age differences in social and cognitive function in offspring exposed to late gestational hypoxia. *Biology of Sex Differences*, vol. 14, no. 1, article 81. <https://doi.org/10.1186/s13293-023-00557-0> (In English)
- Mikhailenko, V. A., Butkeвич, I. P., Vershinina, E. A. (2023) Effects of neonatal hypoxia and antidepressant fluoxetine on cognitive and stress-hormonal functions in adult rats. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 59, no. 3, pp. 687–700. <https://doi.org/10.1134/S0022093023030031> (In English)
- Nalivaeva, N. N., Turner, A. J., Zhuravin, I. A. (2018) Role of prenatal hypoxia in brain development, cognitive functions, and neurodegeneration. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 12, article 825. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00825> (In English)
- Patel, T. D., Zhou, F. C. (2005) Ontogeny of 5-HT<sub>1A</sub> receptor expression in the developing hippocampus. *Brain Research Developmental Brain Research*, vol. 157, no. 1, pp. 42–57. <https://doi.org/10.1016/j.devbrainres.2005.03.006> (In English)
- Post, T. E., Heijn, L. G., Jordan, J., van Gerven, J. M. A. (2023) Sensitivity of cognitive function tests to acute hypoxia in healthy subjects: A systematic literature review. *Frontiers in Physiology*, vol. 14, article 1244279. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1244279> (In English)
- Rybnikova, E. A., Nalivaeva, N. N. (2021) Glucocorticoid-dependent mechanisms of brain tolerance to hypoxia. *International Journal Molecular Science*, vol. 22, no. 15, article 17982. <https://doi.org/10.3390/ijms22157982> (In English)
- Solís-Guillén, R., Leopoldo, M., Meneses, A. et al. (2021) Activation of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>7</sub> receptors enhanced a positively reinforced long-term memory. *Behavioral Brain Research*, vol. 397, article 112932. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112932> (In English)
- Thorsness, K. R., Watson, C., LaRusso, E. M. (2018) Perinatal anxiety: Approach to diagnosis and management in the obstetric setting. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 219, no. 4, pp. 326–345. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.05.017> (In English)
- Vetrovoy, O., Stratilov, V., Nimiritsky, P. et al. (2021) Prenatal hypoxia induces premature aging accompanied by impaired function of the glutamatergic system in rat hippocampus. *Neurochemical Research*, vol. 46, no. 3, pp. 550–563. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03191-z> (In English)
- Wang, B., Zeng, H., Liu, J., Sun, M. (2021) Effects of prenatal hypoxia on nervous system development and related diseases. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 15, article 755554. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.755554> (In English)
- Yamada, R., Wada, A., Stickley, A. et al. (2023) Effect of 5-HT<sub>1A</sub> receptor partial agonists of the azapirone class as an add-on therapy on psychopathology and cognition in schizophrenia: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, vol. 26, no. 4, pp. 249–258. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyad004> (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 GAVMJC

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-72-82>

## О влиянии мутации *white* на обучение и память у дрозофилы при действии теплового шока

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](mailto:21074@mail.ru)

**Для цитирования:** Никитина, Е. А. (2024) О влиянии мутации *white* на обучение и память у дрозофилы при действии теплового шока. *Интегративная физиология*, т. 5, № 1, с. 72–82. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-72-82>  
EDN GAVMJC

**Получена** 17 января 2024; прошла рецензирование 16 февраля 2024; принята 17 февраля 2024.

**Финансирование:** Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (№1021062411629-7-3.1.4).

**Права:** © Е. А. Никитина (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

**Аннотация.** С 1910 года генетические исследования с привлечением мутанта *white Drosophila melanogaster* сыграли фундаментальную роль в современной биологии. Бурное развитие такие эксперименты получили после разработки методов трансформации зародышевой линии, позволивших создавать трансгенные линии дрозофилы, что существенно расширило возможности исследования многих биологических процессов, в том числе и поведения. Ген *white* характеризуется плейотропным действием, затрагивающим не только зрение, но и другие важные аспекты жизнедеятельности, включая различные формы поведения, обучения и памяти. Сопоставляя результаты наших предыдущих работ, направленных на изучение способности к обучению и формированию памяти у мутанта *w<sup>1118</sup>* в интактном контроле и при действии теплового шока на имаго, с настоящей работой, нацеленной на анализ влияния на эти процессы стадийспецифичных температурных воздействий, можно констатировать сохранность процессов обучения и памяти у мутанта *w<sup>1118</sup>* как в интактном контроле, так и при действии теплового шока на различных стадиях онтогенеза в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания. Это важно учитывать при выборе методических подходов при планировании поведенческих экспериментов с привлечением трансгенных линий на генетическом фоне *white*.

**Ключевые слова:** дрозофила, мутация *white*, обучение, память, тепловой шок, условно-рефлекторное подавление ухаживания, грибовидные тела, центральный комплекс

# The effect of the *white* mutation on learning and memory in *Drosophila* under heat shock

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 River 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](mailto:21074@mail.ru)

**For citation:** Nikitina, E. A. (2024) The effect of the *white* mutation on learning and memory in *Drosophila* under heat shock. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 1, pp. 72–82. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-72-82> EDN [GAVMJC](#)

**Received** 17 January 2024; reviewed 16 February 2024; accepted 17 February 2024.

**Funding:** The study was supported by the State funding allocated to the Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences (№1021062411629-7-3.1.4).

**Copyright:** © E. A. Nikitina (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

**Abstract.** Since 1910, genetic research involving the mutant *white Drosophila melanogaster* has played a fundamental role in modern biology. Such experiments rapidly followed the emergence of germline transformation methods, which made it possible to create transgenic *Drosophila* strains, which significantly expanded the possibilities for studying many biological processes, including behavior. The *white* gene is characterized by pleiotropic action affecting not only vision, but also other important aspects of life, among them various forms of behavior, learning and memory. By comparing the results of our previous work, aimed at studying the learning ability and memory formation in mutant *w<sup>118</sup>* in the intact control and under heat shock in adults, with the findings of the present work, aimed at analyzing the influence of stage-specific temperature effects on these processes, we can state the retention of learning and memory processes in the mutant *w<sup>118</sup>* both in the intact control and under heat shock at various stages of ontogenesis in the conditioned courtship suppression paradigm. This should be factored into the choice of methodological approaches when planning behavioral experiments involving transgenic strains against a *white* genetic background.

**Keywords:** *Drosophila*, *white* mutation, learning, memory, heat shock, conditioned courtship suppression, mushroom bodies, central complex

Белый цвет — разрешение, бегство и освобождение,  
 белый — это чистая доска, разрешение проблем и новое начало.  
 Макс Люшер

## Введение

Одной из ключевых вех современной генетики можно по праву считать 1910 год, когда Томас Хант Морган ввел в генетическую практику мутанта *white Drosophila melanogaster* (Morgan 1910). В последующие 100 лет эта мутантная линия дрозофилы стала одним из самых полезных инструментов для развития генетики. Новая страница была открыта в 1982 году, когда разработка методов трансформации зародышевой линии (Rubin, Spradling 1982) повлекла за собой создание несметного количества трансгенных линий дрозофилы, позволивших существенно расширить генетические исследования многих биологических процессов, в том числе и поведения. В основе данной технологии преимущественно лежит использование эмбрионов,

несущих мутацию *white*, для конструирования трансгенных линий мух (Johnston 2013).

Однако хорошо известно, что ген *white* вовлечен в нейрональный контроль различных форм поведения. Это обусловлено участием продукта гена *white* — трансмембранного ABC-переносчика — в транспорте не только 3-гидроксикинурина (предшественника глазного пигмента оммохрома), но и биоаминов, нейромедиаторов, промежуточных продуктов метаболизма, вторичных посредников (Bogusz et al. 2008; Evans et al. 2008). Кроме канонической роли в пигментации глаз *white* является геном домашнего хозяйства в центральной нервной системе (Xiao, Robertson 2017).

Имеются многочисленные литературные данные об особенностях протекания поведенческих реакций у мутанта *white*. Так, различные

мутантные линии по локусу *white* демонстрировали разные уровни локомоторной активности (Kostenko, Vorob'eva 2012). Оригинальные данные получены при изучении агрессивности мутантов *white*. Для мутантных самцов, несущих нулевую аллель  $w^{1118}$ , характерен резко сниженный уровень агрессии (Hoyer et al. 2008).

В контексте нашего исследования особый интерес вызывают описанные у этого мутанта изменения поведения ухаживания и способности к обучению. Уместно вспомнить Альфреда Стёртеванта, указывавшего в 1915 году, что самцы *white* менее успешны в ухаживании за самками по сравнению с диким типом (Sturtevant 1915). Но за прошедшее столетие однозначной картины вовлеченности этого гена в реализацию когнитивных процессов у дрозофилы так и не сформировалось. Проведенный Костенко анализ полового поведения выявил связь интенсивности пигментации различных мутантных линий по локусу *white* с активностью поведения ухаживания (Kostenko 2017). Ранее же было показано, что у самцов  $w^{1118}$  активность ухаживания снижена по сравнению с диким типом. Однако это наблюдали только при дневном свете, но не в темноте (Krstic et al. 2013). Различные ученые показали нарушения обучения и памяти у мутанта  $w^{1118}$  с использованием разных исследовательских парадигм. Так, выявлено нарушение оперантного пространственного обучения и памяти (Sitaraman et al. 2008), ольфакторного ассоциативного обучения с негативным подкреплением электрошоком (Myers et al. 2021). Но при этом в каждом конкретном исследовании авторы объясняли результаты изменением уровня различных молекул: серотонина (Krstic et al. 2013; Sitaraman et al. 2008), холестерина (Myers et al. 2021), допамина (van Swinderen, Andretic 2011).

Это натолкнуло нас на закономерный вопрос: является ли влияние мутации *white* на обучение и память дрозофилы универсальным и при использовании других исследовательских парадигм или же эти эффекты обусловлены спецификой конкретных методик? Мы обратились к методике условно-рефлекторного подавления ухаживания, характеризующейся естественностью и физиологичностью, в отличие от метода обучения с негативным подкреплением электрошоком (Zhuravlev et al. 2015). Проведенное исследование показало, что мутант  $w^{1118}$  способен к обучению при различном режиме тренировок (30 мин и 5 часов) и характеризуется нормальным протеканием процессов как среднесрочной, так и долгосрочной памяти (Nikitina 2023). Возможно, так происходит только в интактном контроле, а действие стресса

будет приводить к нарушению когнитивных процессов? Ведь известно, что данный мутант чувствителен к различным видам стресса (голод, обогащенная сахаром диета, воздействие перекисью водорода) (Ferreiro et al. 2018). Однако в том же исследовании было установлено, что и при действии теплового шока (ТШ) у мутанта  $w^{1118}$  процессы обучения, среднесрочной и долгосрочной памяти остаются сохраняемыми (Nikitina 2023). И еще один вопрос требовал разрешения: существует ли онтогенетический аспект влияния мутации *white* на процессы обучения и памяти?

Таким образом, цель данной работы состояла в оценке роли мутации  $w^{1118}$  дрозофилы в обучении и формировании памяти в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания при действии теплового шока на разных стадиях онтогенеза.

## 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>1118</sup> ( $w^{1118}$ )* — мутантная линия, несущая частичную делецию локуса *white* (X: 3B6-3B6); отсутствие глазных пигментов, белый цвет глаз.

Развитие мух обеих линий проходило в стаканчиках объемом 160 мл на стандартной изюмно-дрожжевой среде при  $+25^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 60% влажности и свето-темновом цикле 12 : 12 ч.

### Воздействие тепловым шоком

Тепловое воздействие проводили в водяном термостате GFL 1086 (GFL, Германия) при температуре  $+37^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин. Температурное воздействие проводили на разных стадиях развития (рис. 1):

1. На стадии самцов-имаго, которых помещали в термостат в предварительно прогретых пробирках, погруженных в воду. Тепловой шок (ТШ) осуществляли за один час до проведения поведенческого эксперимента.
2. На стадии личинок первого возраста. Помещали личинок в предварительно прогретые пробирки на влажную фильтровальную бумагу. После воздействия личинок помещали в пробирки с изюмно-дрожжевой средой, где они завершали развитие при температуре  $+25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .

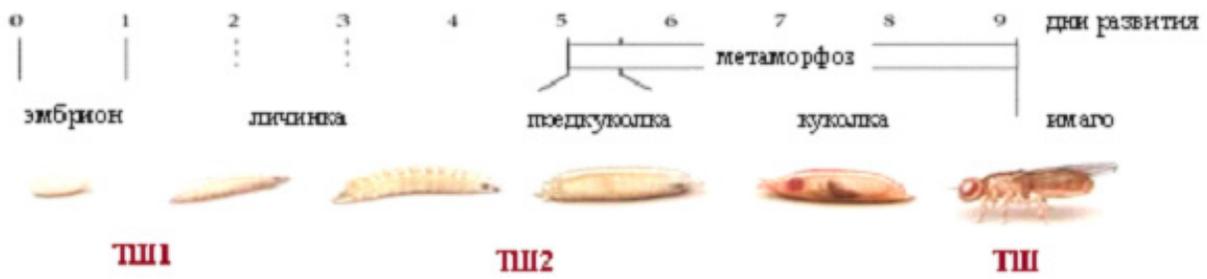


Рис. 1. Схема температурного воздействия на разных стадиях развития дрозифилы. ТШ — тепловой шок на стадии самцов-имаго; ТШ1 — тепловой шок на стадии личинок первого возраста; ТШ2 — тепловой шок на стадии предкуколки

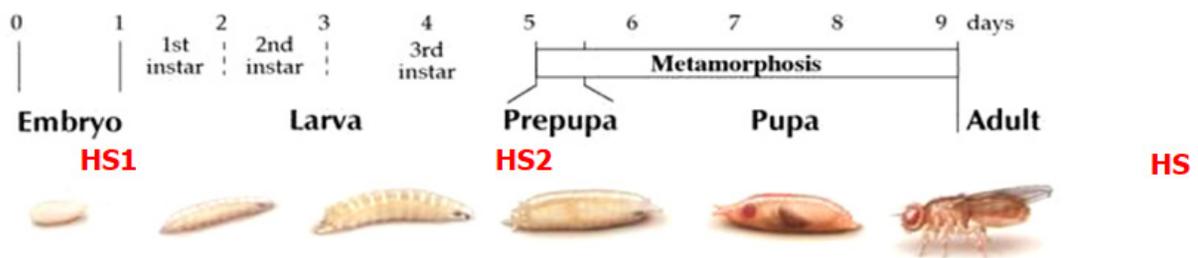


Fig. 1. Scheme of temperature impact at different stages of *Drosophila* development. HS — heat shock in adult males; HS1 — heat shock in first-instar larvae; HS2 — heat shock in prepupae

3. На стадии предкуколки. Воздействие проводили аналогично.

Во всех вариантах опыта использовали интактный контроль (Nikitina et al. 2003b).

### Оценка способности к обучению и формированию памяти

Для поведенческих опытов использовали самцов дрозифилы в возрасте пяти суток, которых собирали без эфирного наркоза и содержали индивидуально на изюмно-дрожжевой среде. В качестве объектов уходаживания 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 памяти (ССП) самцов дрозифилы применяли методику условно-рефлекторного подавления уходаживания (УРПУ) (Kamyshev et al. 1999). Для выработки условно-рефлекторного подавления уходаживания (тренировки) пятисуточного самца исследуемой линии, не имеющего опыта полового поведения, помещали вместе с оплодотворенной пятисуточной самкой *CS* в экспериментальную камеру на 30 мин. Память тестировали через разные интервалы времени после

тренировки: 0 и 3 ч. В качестве контроля использовали самцов, не имеющих опыта полового поведения. Этограмму поведения самца регистрировали в течение 300 с, фиксируя время начала отдельных элементов уходаживания (ориентация и преследование, вибрация, лизание, попытка копуляции), а также время исполнения элементов, несвязанных с уходаживанием (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 уходаживания (ИУ), т. е. время уходаживания самца за самкой, выраженное в процентах от общего времени наблюдения. Для количественной оценки результатов обучения вычисляли индекс обучения (ИО) по формуле:

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

где  $\text{ИУ}_H$  и  $\text{ИУ}_T$  — средние индексы уходаживания для независимых выборок самцов, не имеющих опыта полового поведения, и самцов, прошедших тренировку (Kamyshev et al. 1999; Sokal, Rohlf 1995).

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

## Результаты

Линия дикого типа *CS* в интактном контроле оказалась способной к обучению, о чем свидетельствует выработка УРПУ. Через три часа ИО сохранялся на уровне, достигнутом сразу после окончания тренировки, что говорит о нормальном формировании процессов ССП (рис. 2А). Это вполне согласуется с нашими предыдущими работами (Nikitina 2023; Nikitina et al. 2021). Также подтверждают полученные ранее результаты (Savvateeva-Popova et al. 2007; 2008) данные по оценке способности к обучению и формированию ССП при воздействии ТШ на стадии самцов-имаго: данное воздействие не оказывало влияния на процессы обучения и ССП у линии *CS*. ИО сразу после тренировки и через три часа после нее были сопоставимы с таковыми в интактном контроле (рис. 2В).

Обратимся к анализу способности к обучению и формированию ССП у линии дикого типа *CS* при воздействии ТШ в онтогенезе — на стадии личинки I возраста (рис. 2С) и предкуколки (рис. 2D). Однако и эти варианты температурного воздействия не нарушают протекание исследуемых когнитивных процессов у данной линии, что также находится в русле наших предыдущих исследований (Nikitina et al. 2003b; 2012; 2014; Zhuravlev et al. 2022).

Таким образом, у линии дикого типа *CS* не выявлено дефектов обучения и ССП ни в норме, ни в условиях стресса независимо от варианта воздействия. Следует упомянуть, что индексы ухаживания наивных (не имеющих опыта полового поведения) самцов *CS* во всех четырех вариантах эксперимента не отличаются и характеризуются высокими значениями, что вполне ожидаемо, т. к. для мух дикого типа свойственен значительный уровень активности полового поведения.

У мутанта *w<sup>1118</sup>* в интактном контроле также происходила выработка УРПУ, что говорит о способности к обучению. ИО на протяжении трех часов сохранялся на уровне, наблюдаемом сразу после тренировки, не отличаясь от показателей линии дикого типа (рис. 3А). Это служит еще одним убедительным подтверждением отсутствия нарушений обучения и ССП у данного мутанта, недавно продемонстрированного нами (Zatsepina et al. 2021; 2022). Тепловой шок на стадии самцов-имаго также не вызывал дефектов обучения и памяти, ИО сразу

после тренировки и через три часа после нее были сопоставимы с таковыми в интактном контроле (рис. 3В). Межлинейных различий с линией *CS* также не наблюдали.

Переходя к ключевому вопросу данного исследования — влиянию ТШ на разных стадиях онтогенеза на реализацию когнитивных процессов у мутанта *w<sup>1118</sup>* — можно констатировать, что, как и у линии дикого типа *CS*, температурное воздействие ни на стадии личинки первого возраста (рис. 3С), ни на стадии предкуколки (рис. 3D) не приводит к нарушениям обучения и ССП.

Отдельно нужно остановиться на уровне ухаживания мутанта *w<sup>1118</sup>*. Как видно на рисунке 3, ИУ во всех вариантах эксперимента достоверно ниже таковых индексов линии дикого типа *CS*. Очевидно, это обусловлено нарушениями зрения, связанными с дефектами синтеза глазных пигментов. Однако ИУ при различных вариантах температурного воздействия не отличаются друг от друга и от интактного контроля. Это важно учитывать в контексте исследования, направленного на выяснение роли мутации *w<sup>1118</sup>* в обучении и формировании памяти при действии ТШ на разных стадиях онтогенеза.

Подводя итог описанию результатов экспериментов, следует подчеркнуть, что обе линии (*CS* и *w<sup>1118</sup>*) демонстрируют способность к обучению и формированию среднесрочной памяти. При этом ТШ на разных стадиях онтогенеза не влияет на обучение и формирование памяти у исследуемых линий, что для мутанта *w<sup>1118</sup>* показано впервые.

## Обсуждение

Нарушения памяти могут быть вызваны не только функциональными, но и структурными повреждениями мозга. Возникает вопрос: с какими структурами мозга может быть связано нарушение когнитивных процессов у дрозофилы? Реализация различных форм поведения у дрозофилы зависит главным образом от работы центральных структур мозга, к наиболее значимым из которых относят грибовидные тела (ГТ) и центральный комплекс (ЦК). ГТ являются важнейшей структурой, вовлеченной в осуществление разных типов обучения и памяти, главным образом ольфакторной (Heisenberg et al. 1985), а также вкусовой (Masek, Keene 2016). При дисфункции ГТ обучение нарушается у мутантов обоих полов, как у личинок, так у и имаго. Китайскими исследователями показана роль ГТ в обеспечении социального поведения дрозофилы (Sun et al. 2020). В ГТ происходит интеграция сигналов голода и сытости

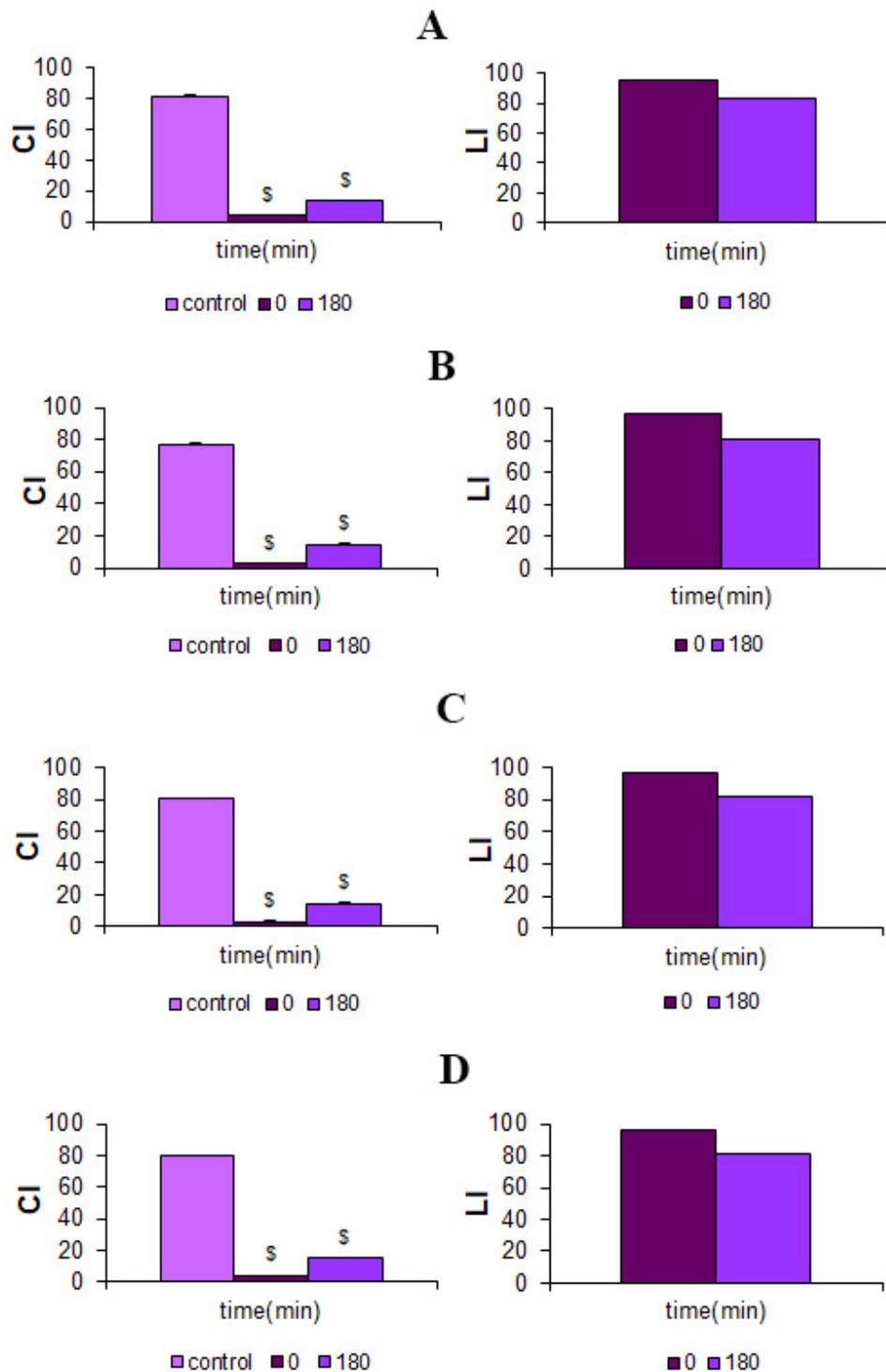


Рис. 2. Динамика сохранения условно-рефлекторного подавления ухаживания при тестировании среднесрочной памяти у самцов линии дикого типа *Canton S Drosophila melanogaster*. А — интактный контроль, В — воздействие ТШ на стадии имаго, С — воздействие ТШ на стадии личинки I возраста, D — воздействие ТШ на стадии предкуколки. По оси абсцисс: время после завершения тренировки (мин); по оси ординат: CI — индекс ухаживания (courtship index), %; LI — индекс обучения (learning index), у. е. \$ — CI в отсроченном тесте достоверно ниже, чем в тесте сразу после тренировки (двусторонний тест рандомизации,  $\alpha_r < 0,05$ )

Fig. 2. Dynamics of learning acquisition and medium-term memory retention of conditioned courtship suppression in the wild type strain *Canton S* of *D. melanogaster* males. A — intact control, B — HS treatment of adult males, C — HS treatment of first-instar larvae, D — HS treatment of prepupae. Abscissa: time after training (min); ordinate: CI — courtship index, %; LI — learning index, standard units. \$ — CI in the delayed test significantly lower than immediately following training (two-sided randomization test,  $\alpha_r < 0.05$ )

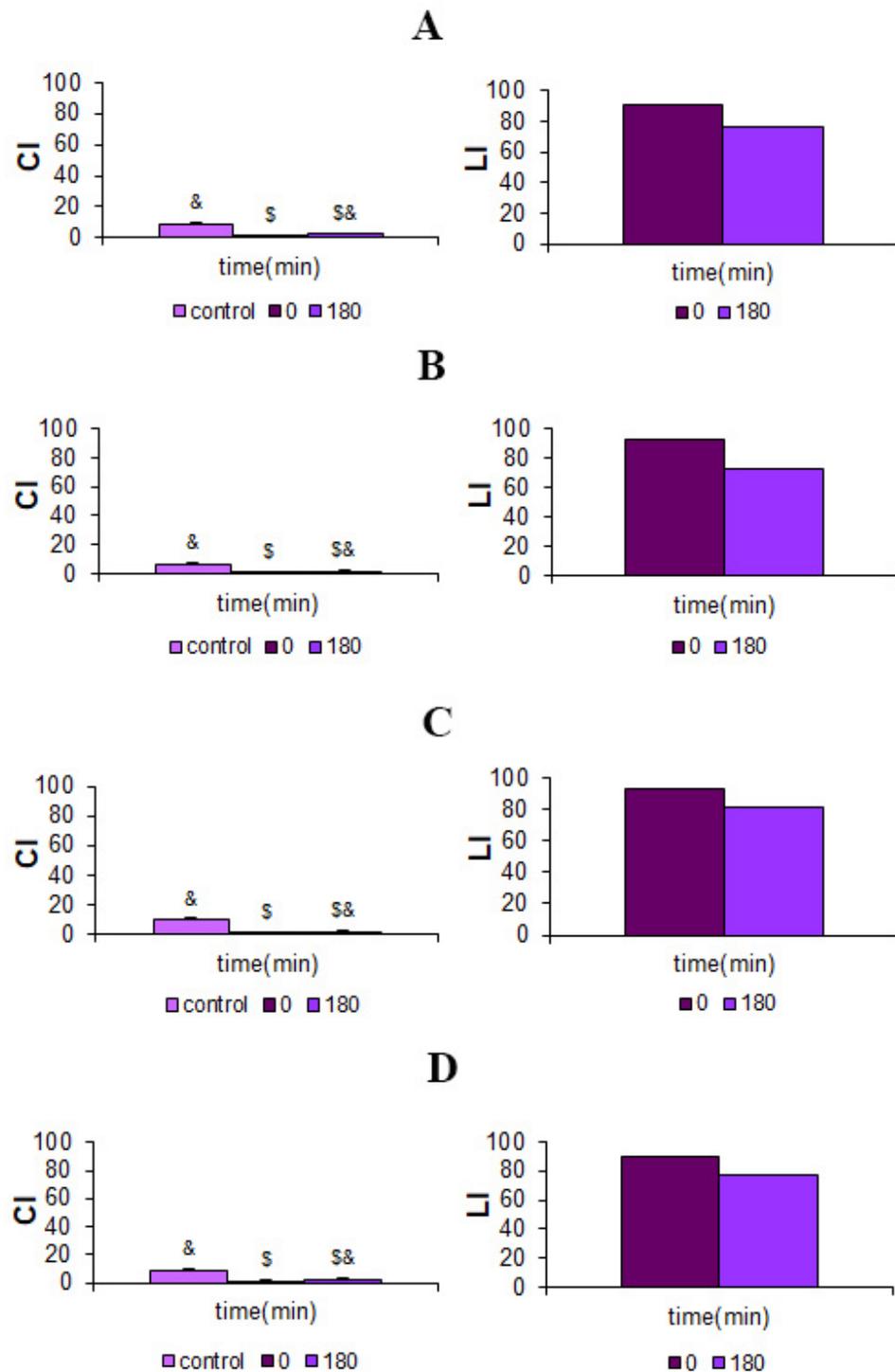


Рис. 3. Динамика сохранения условно-рефлекторного подавления ухаживания при тестировании среднесрочной памяти у мутанта *white<sup>1118</sup>* *Drosophila melanogaster*. А — интактный контроль, В — воздействие ТШ на стадии имаго, С — воздействие ТШ на стадии личинки I возраста, D — воздействие ТШ на стадии предкуколки. По оси абсцисс: время после завершения тренировки (мин); по оси ординат: CI — индекс ухаживания (courtship index), %; LI — индекс обучения (learning index), у. е. \$ — CI в отсроченном тесте достоверно ниже, чем в тесте сразу после тренировки; & — CI достоверно ниже, чем у линии дикого типа *Canton S* в аналогичных условиях (двусторонний тест рандомизации,  $\alpha_r < 0,05$ )

Fig. 3. Dynamics of learning acquisition and medium-term memory retention of conditioned courtship suppression in *white<sup>1118</sup>* mutant of *D. melanogaster* males. A — intact control, B — HS treatment of adult males, C — HS treatment of first-instar larvae, D — HS treatment of prepupae. Abscissa: time after training (min); ordinate: CI — courtship index, %; LI — learning index, standard units. \$ — CI in the delayed test significantly lower than immediately following training; & — CI significantly lower than in the wild type strain *Canton S* under similar conditions (two-sided randomization test,  $\alpha_r < 0,05$ )

для контроля поведения при поиске пищи (Tsao et al. 2018). Грибовидные тела контролируют поведение температурного предпочтения у дрозофилы (Bang et al. 2011). Для реализации процессов обучения и памяти крайне важен сон, в обеспечение которого также вовлечены ГТ (Weiss, Donlea 2021).

Пространственная ориентация, зрительное и моторное обучение у дрозофилы связаны с другой интегрирующей структурой — центральным комплексом мозга (Wolf et al. 1998). ЦК контролирует поддержание мотивации; координацию между скоростью и направлением движений; быстрое переключение с одной поведенческой программы на другую в зависимости от меняющихся внешних условий; целенаправленную локомоцию (Strauss, Heisenberg 1993; Warren et al. 2019). Центральный комплекс и грибовидные тела опосредуют новизну поведения выбора у дрозофилы (Solanki et al. 2015). Также наряду с ГТ ЦК вовлечен в обеспечение моторного поведения температурного предпочтения (Buhl et al. 2021). Что касается полового поведения, ГТ и ЦК опосредуют разные его аспекты: ГТ задействованы в реагировании на женские специфические половые феромоны, стимулирующие инициацию мужского поведения ухаживания, тогда как ЦК участвует в поддержании мужского ухаживания независимо от природы стимулирующих сигналов (Sakai, Kitamoto 2006).

Температурные воздействия в разные периоды развития дрозофилы могут не только модифицировать продукты мутантных аллелей (Nikitina et al. 2003a), но и служить инструментом для направленного разрушения структур мозга при их развитии. ГТ формируются из четырех нейробластов, делящихся в конце эмбриональной — начале личиночной стадий. Воздействие химическими агентами на этой стадии развития приводит к развитию мух, лишенных ГТ и неспособных к классическому павловскому ольфакторному обучению (Lee et al. 1999). ЦК формируется из личиночной межполушарной комиссуры мозга на стадии предкуколки (Napesch et al. 1989). Обе эти стадии развития характеризуются максимальной температурной чувствительностью, и действие ТШ может повлечь за собой нарушение развития этих двух структур мозга, причастных к формированию памяти. Так, ранее нами было показано нарушение ССП у мутанта *l(1)ts403* при температурном воздействии на стадии формирования ГТ (Nikitina et al. 2003b).

Согласно крайне немногочисленным литературным данным, нарушение развития ГТ у мутанта *w<sup>1118</sup>* при действии бисфенола А влечет

за собой дефекты локомоторного поведения, а при действии бисфенола С — дефекты социальных взаимодействий (Wang et al. 2023). Относительно ЦК и вовсе достоверных данных нет. Нам также не удалось выявить роль нарушений этих структур мозга у мутанта *w<sup>1118</sup>* при стадийно-специфичных температурных воздействиях в изменениях процессов обучения и памяти.

Сопоставляя результаты нашей недавней работы, посвященной оценке способности к обучению и формированию среднесрочной и долгосрочной памяти у мутанта *w<sup>1118</sup>* в интактном контроле и при действии ТШ на имаго, а также настоящей работы, направленной на рассмотрение влияния стадийно-специфичных температурных воздействий на процессы обучения и памяти, мы вынуждены заключить следующее. Процессы обучения и формирования памяти у мутанта *w<sup>1118</sup>* как в интактном контроле, так и при действии ТШ на различных стадиях онтогенеза, сохранены. Однако это справедливо только для исследований с использованием парадигмы УРПУ, основанной в основном на ольфакторных стимулах. Использование методик пространственного обучения, базирующихся прежде всего на зрительных стимулах, демонстрирует совершенно иную картину. Разными группами исследователей выявлено нарушение оперантного пространственного обучения и памяти у мутанта *w<sup>1118</sup>* (Diegelmann et al. 2006; Sitaraman et al. 2008). Это вполне ожидаемо с учетом серьезных нарушений зрения у данного мутанта. Эти противоречия рельефно подчеркивают необходимость скрупулезно подбирать методики исследования в соответствии с особенностями изучаемых линий. В наивысшей мере это относится к мутанту *w<sup>1118</sup>*, широко используемому при конструировании трансгенных линий дрозофилы благодаря наличию легко и однозначно определяемых генетических маркеров.

## Заключение

Ген *white* характеризуется плеiotропным действием (Hersh 2016), затрагивающим не только зрение, но и другие важные аспекты жизнедеятельности, включая поведение ухаживания (Anaka et al. 2008; Kostenko 2017; Krstic et al. 2013; van Swinderen, Andretic 2011; Xiao et al. 2017), устойчивость к анестезии (Campbell, Nash 2001; Zalucki et al. 2015), продолжительность сна (Zimmerman et al. 2012), локомоторное поведение (Kostenko, Vorob'eva 2012; Xiao, Robertson 2016; Xiao, Qiu 2020), агрессивное поведение (Hoyer et al. 2008), пространственное обучение (Diegelmann et al. 2006; Sitaraman et al. 2008),

гиперчувствительность к этанолу (Chan et al. 2014) и к определенным тактильным стимулам (Titlow et al. 2014). Несмотря на обширные знания о многочисленных проявлениях мутации *white*, этих мутантов очень часто используют в качестве контрольной линии даже в исследованиях, моделирующих заболевания человека (Haddadi et al. 2016; Snijder et al. 2015; West et al. 2015). В этой связи необходимо подчеркнуть, что при интерпретации таких результатов следует соблюдать осторожность. Не менее важно при планировании поведенческих экспериментов с привлечением трансгенных линий на ге-

нетическом фоне *white* тщательнейшим образом продумывать методические подходы, отдавая предпочтение методикам, основанным на естественных для дрозофилы стимулах.

### 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)
- Bang, S., Hyun, S., Hong, S. T. et al. (2011) Dopamine signalling in mushroom bodies regulates temperature-preference behaviour in *Drosophila*. *PLoS Genetics*, vol. 7, no. 3, article e1001346. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001346> (In English)
- Borycz, J., Borycz, J. A., Kubow, 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)
- Buhl, E., Kottler, B., Hodge, J. J. L., Hirth, F. (2021) Thermo-responsive motor behavior is mediated by ring neuron circuits in the central complex of *Drosophila*. *Scientific Reports*, vol. 11, no. 1, article 155. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80103-9> (In English)
- Campbell, J. L., Nash, H. A. (2001) Volatile general anesthetics reveal a neurobiological role for the *white* and *brown* genes of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Neurobiology*, vol. 49, no. 4, pp. 339–349. <https://doi.org/10.1002/neu.10009> (In English)
- Chan, R. F., Lewellyn, L., DeLoth, J. M. et al. (2014) Contrasting influences of *Drosophila white/mini-white* on ethanol sensitivity in two different behavioural assays. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, vol. 38, no. 6, pp. 1582–1593. <https://doi.org/10.1111/acer.12421> (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)
- Ferreiro, M. J., Pérez, C., Marchesano, M. (2018) *Drosophila melanogaster white* mutant *w<sup>1118</sup>* undergo retinal degeneration. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 11, article 732. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00732> (In English)
- Johnston, D. St. (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)
- Haddadi, M., Nongthomba, U., Jahromi, S. R., Ramesh, S. R. (2016) Transgenic *Drosophila* model to study apolipoprotein E4-induced neurodegeneration. *Behavioural Brain Research*, vol. 301, pp. 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.12.022> (In English)
- Hanesch, U., Fischbach, K.-F., Heisenberg, M. (1989) Neuronal architecture of the central complex in *Drosophila melanogaster*. *Cell and Tissue Research*, vol. 257, no. 2, pp. 343–366. <https://doi.org/10.1007/BF00261838> (In English)
- Heisenberg, M., Borst, A., Wagner, S., Byers, D. (1985) *Drosophila* mushroom body mutants are deficient in olfactory learning. *Journal of Neurogenetics*, vol. 2, no. 1, pp. 1–30. <https://doi.org/10.3109/01677068509100140> (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)
- 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'niy 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*, vol. 159, no. 2. pp. 293–305. (In Russian)
- Kostenko, V. V., Vorob'eva, L. I. (2012) Vliyanie allelej lokusa *white* i geneticheskogo fona na lokomotornuyu 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 imeni V. N. Karazina, Seriya: Biologiya*, vol. 16, no. 1035. pp. 90–96. (In Russian)
- Krstic, D., Boll, W., Noll, M. (2013) Influence of the *white* locus on the courtship behavior of *Drosophila* males. *PLoS One*, vol. 8, no. 10, article e77904. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077904> (In English)
- Lee, T., Lee, A., Luo, L. (1999) Development of the *Drosophila* mushroom bodies: Sequential generation of three distinct types of neurons from a neuroblast. *Development*, vol. 126, no. 18, pp. 4065–4076. <https://doi.org/10.1242/dev.126.18.4065> (In English)
- Masek, P., Keene, A. C. (2016) Gustatory processing and taste memory in *Drosophila*. *Journal of Neurogenetics*, vol. 30, no. 2, pp. 112–121. <https://doi.org/10.1080/01677063.2016.1185104> (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, article 12967. <https://doi.org/10.3390/ijms22312967> (In English)
- Nikitina, E. A. (2023) Obuchenie i pamyat' u drozofily: Rol' mutatsii *white* [Learning and memory in *Drosophila*: role of *white* mutation]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 4, no. 1, pp. 91–102. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-1-91-102> (In Russian)
- 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., Komarova, A. V., Golubkova, E. V. et al. (2003a) Semidominant effects of the *l(1)ts403* (*sbr<sup>10</sup>*) mutation at the disjunction of sex chromosome nondisjunctions in meiosis in *Drosophila melanogaster* females exposed to heat after heat shock. *Russian Journal of Genetics*, vol. 39, no. 3, pp. 269–275. <https://doi.org/10.1023/A:1023208725228> (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., Savvateeva-Popova, E. V. (2003b) 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., Savvateeva-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)
- Rubin, G. M., Spradling, A. C. (1982) Genetic transformation of *Drosophila* with transposable element vectors. *Science*, vol. 218, no. 4570, pp. 348–353. <https://doi.org/10.1126/science.6289436> (In English)
- Sakai, T., Kitamoto, T. (2006) Differential roles of two major brain structures, mushroom bodies and central complex, for *Drosophila* male courtship behavior. *Journal of Neurobiology*, vol. 66, no. 8, pp. 821–834. <https://doi.org/10.1002/neu.20262> (In English)
- Savvateeva-Popova, E. V., Popov, A. V., Grossman, A. I. 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. <https://doi.org/10.1379/csc-222r.1> (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)
- 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)
- Snijder, P. M., Baratashvili, M., Grzeschik, N. A. et al. (2015) Overexpression of cystathionine  $\gamma$ -lyase suppresses detrimental effects of spinocerebellar ataxia type 3. *Molecular Medicine*, vol. 21, no. 1, pp. 758–768. <https://doi.org/10.2119/molmed.2015.00221> (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 p. (In English)
- Solanki, N., Wolf, R., Heisenberg, M. (2015) Central complex and mushroom bodies mediate novelty choice behavior in *Drosophila*. *Journal of Neurogenetics*, vol. 29, no. 1, pp. 30–37. <https://doi.org/10.3109/01677063.2014.1002661> (In English)

- Strauss, R., Heisenberg, M. (1993) A higher control center of locomotor behavior in the *Drosophila* brain. *Journal of Neuroscience*, vol. 13, no. 5, pp. 1852–1861. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.13-05-01852.1993> (In English)
- Sturtevant, A. H. (1915) Experiments on sex recognition and the problem of sexual selection in *Drosophila*. *Journal of Animal Behavior*, vol. 5, pp. 351–366. <https://doi.org/10.1037/h0074109> (In English)
- Sun, Y., Qiu, R., Li, X. et al. (2020) Social attraction in *Drosophila* is regulated by the mushroom body and serotonergic system. *Nature Communications*, vol. 11, no. 1, article 5350. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19102-3> (In English)
- Titlow, J. S., Rice, J., Majeed, Z. R. et al. (2014). Anatomical and genotype-specific mechanosensory responses in *Drosophila melanogaster* larvae. *Neuroscience Research*, vol. 83, pp. 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2014.04.003> (In English)
- Tsao, C.-H., Chen, C.-C., Lin, C.-H. et al. (2018) *Drosophila* mushroom bodies integrate hunger and satiety signals to control innate food-seeking behavior. *eLife*, vol. 7, article e35264. <https://doi.org/10.7554/eLife.35264> (In English)
- Van Swinderen, B., Andretic, R. (2011) Dopamine in *Drosophila*: Setting arousal thresholds in a miniature brain. *Proceedings of the Royal Society B. Biological Sciences*, vol. 278, no. 1707, pp. 906–913. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.2564> (In English)
- Wang, J., Wu, C., Zhang, X. et al. (2023) Developmental neurotoxic effects of bisphenol A and its derivatives in *Drosophila melanogaster*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 260, article 115098. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115098> (In English)
- Warren, T. L., Giraldo, Y. M., Dickinson, M. H. (2019) Celestial navigation in *Drosophila*. *Journal of Experimental Biology*, vol. 222, no. 1, article jeb186148. <https://doi.org/10.1242/jeb.186148> (In English)
- Weiss, J. T., Donlea, J. M. (2021) Sleep deprivation results in diverse patterns of synaptic scaling across the *Drosophila* mushroom bodies. *Current Biology*, vol. 31, no. 15, pp. 3248–3261. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.05.018> (In English)
- West, R. J., Elliott, C. J., Wade, A. R. (2015). Classification of Parkinson's disease genotypes in *Drosophila* using spatiotemporal profiling of vision. *Scientific Reports*, vol. 5, article 16933. <https://doi.org/10.1038/srep16933> (In English)
- Wolf, R., Wittig, T., Liu L. et al. (1998) *Drosophila* mushroom bodies are dispensable for visual, tactile, and motor learning. *Learning & Memory*, vol. 5, no. 1–2, pp. 166–178. PMID: [10454381](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10454381/) (In English)
- Xiao, C., Qiu, S. (2020) 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)
- 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)
- Zalucki, O., Day, R., Kottler, B. et al. (2015) Behavioral and electrophysiological analysis of general anesthesia in 3 background strains of *Drosophila melanogaster*. *Fly*, vol. 9, no. 1, pp. 7–15. <https://doi.org/10.1080/19336934.2015.1072663> (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)
- 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., 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://dx.doi.org/10.5665/sleep.1744> (In English)



УДК 612.133:616-008

EDN CEVQID

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-83-93>

## Функциональное состояние артерий и сосудов микроциркуляторного русла на ранней стадии метаболического синдрома у самцов и самок крыс

И. А. Царева <sup>✉1, 2</sup>, Г. Т. Иванова <sup>1</sup>, Г. И. Лобов <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> Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, 194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6

### Сведения об авторах

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

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

Геннадий Иванович Лобов, SPIN-код: 6436-1404, Scopus AuthorID: 7003862926, ResearcherID: S-8862-2016, ORCID: 0000-0003-3088-4647, e-mail: [lobovgi@infran.ru](mailto:lobovgi@infran.ru)

**Для цитирования:** Царева, И. А., Иванова, Г. Т., Лобов, Г. И. (2024) Функциональное состояние артерий и сосудов микроциркуляторного русла на ранней стадии метаболического синдрома у самцов и самок крыс. *Интегративная физиология*, т. 5, № 1, с. 83–93. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-83-93> EDN CEVQID

**Получена** 18 января 2024; прошла рецензирование 13 февраля 2024; принята 14 февраля 2024.

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

**Права:** © И. А. Царева, Г. Т. Иванова, Г. И. Лобов (2024). 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.** Изучены механизмы дилатации артерий и сосудов микроциркуляторного русла молодых самцов и самок крыс линии Вистар при раннем моделировании метаболического синдрома (МС) фруктозной нагрузкой (FrDR — fructose diet rat). Потребление крысами раствора фруктозы сопровождалось изменениями биохимического состава плазмы крови: гипергликемией, повышением концентрации триглицеридов, снижением уровня ХС-ЛПВП и увеличением концентрации мочевой кислоты. Кровоток в микроциркуляторном русле (МЦР) кожи крыс FrDR был снижен (у самцов — на 11%, у самок — на 8%, у овариогистерэктомированных самок — на 24%), повышены нейрогенный и эндотелийзависимый тонусы сосудов МЦР. В брыжеечных артериях крыс, получавших фруктозу, сократительная реакция на фенилэфрин была повышена, а ацетилхолин- и нитропруссид-индуцированные дилатации были ослаблены: максимальные изменения были обнаружены у овариогистерэктомированных самок и у самцов. Ингибирование продукции NO сопровождалось значительным уменьшением амплитуды дилатации артерий, при этом величина остаточной дилатации артерий самцов и самок крыс FrDR была достоверно больше по сравнению с крысами контрольных групп. Таким образом, потребление фруктозы крысами в раннем возрасте довольно быстро приводит к развитию признаков МС, в т. ч. к артериальной гипертензии (АГ). Изменения биохимического состава крови и АГ были более выражены у самцов крыс и овариогистерэктомированных самок. У крыс FrDR ослаблена NO-опосредованная дилатация брыжеечных артерий, при этом увеличилась амплитуда EDH-опосредованной дилатации.

**Ключевые слова:** метаболический синдром, артерии, микроциркуляторное русло, эндотелий, лазерная доплеровская флоуметрия, фруктозная диета

# Functional state of arteries and microvasculature at the early stage of metabolic syndrome in male and female rats

I. A. Tsareva <sup>1,2</sup>, G. T. Ivanova<sup>1</sup>, G. I. Lobov<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Military Medical Academy named after S. M. Kirov, 6 Akademika Lebedeva Str., Saint Petersburg 194044, Russia

## Authors

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

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

Gennady I. Lobov, SPIN: 6436-1404, Scopus AuthorID: 7003862926, ResearcherID: S-8862-2016, ORCID: 0000-0003-3088-4647, e-mail: [lobovgi@infran.ru](mailto:lobovgi@infran.ru)

**For citation:** Tsareva, I. A., Ivanova, G. T., Lobov, G. I. (2024) Functional state of arteries and microvasculature at the early stage of metabolic syndrome in male and female rats. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 1, pp. 83–93. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-83-93> EDN CEVQID

**Received** 18 January 2024; reviewed 13 February 2024; accepted 14 February 2024.

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

**Copyright:** © I. A. Tsareva, G. T. Ivanova, G. I. Lobov (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

**Abstract.** We studied the mechanisms of artery and vessel dilatation in the microvasculature of young male and female Wistar rats during early modeling of the metabolic syndrome (MS) with fructose load (FrDR, fructose diet rat). Consumption of a fructose solution by rats was accompanied by changes in the biochemical composition of blood plasma: hyperglycemia, increased triglyceride concentrations, decreased HDL-C levels and increased uric acid concentrations. Blood flow in the skin MCR was reduced by 11% in males, 8% in females and 24% in ovariectomized females, and the neurogenic and endothelium-dependent vascular tone of the MCR was increased. Endothelium-dependent and endothelium-independent regulation of microcirculatory blood flow was impaired. In the mesenteric arteries of fructose-fed rats, the contractile response to phenylephrine was increased, and acetylcholine- and nitroprusside-induced dilatations were attenuated: the biggest changes were found in ovariectomized females and males. NO production inhibition was accompanied by a significant decrease in the amplitude of artery dilatation, and the value of residual artery dilatation in male and female FrDRs was reliably higher compared to rats in the control groups. Our conclusion is that fructose consumption by rats in an early age quite quickly leads to the development of MS signs, including to arterial hypertension (AH). Negative changes in the biochemical composition of blood and hypertension were more pronounced in male rats and ovariectomized females. FrDRs showed a reduced NO-mediated dilatation of mesenteric arteries but a bigger amplitude of EDH-mediated dilatation.

**Keywords:** metabolic syndrome, arteries, microcirculatory vessels, endothelium, laser Doppler flowmetry (LDF), fructose load

## Введение

Метаболический синдром (МС) характеризуется развитием гипергликемии, инсулинорезистентности, артериальной гипертензии (АГ), абдоминального ожирения и дислипидемии (Gonzalez-Chávez et al. 2018). МС в настоящее время выявлен более чем у миллиарда человек в мире (Saklayen et al. 2018). Распространенность МС растет не только среди взрослого населения, но и среди детей и подростков (Lee et al. 2016). По разным данным, МС выявляет-

ся у 6–12% подростков, а у подростков с избыточным весом и ожирением частота встречаемости МС составляет до 28% (Crespo et al. 2007). Клиническая значимость МС связана в первую очередь с его ролью в развитии сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и сахарного диабета 2-го типа (СД2) (Silveira et al. 2022).

Данные о гендерных различиях МС довольно скудны и противоречивы. Согласно данным нескольких мета-анализов, в Европе и США сердечно-сосудистый риск, связанный с МС, выше у женщин по сравнению с мужчинами

(Santilli et al. 2017). Отмечается также изменение частоты встречаемости МС у представителей разных полов в зависимости от возраста. В США распространенность МС у подростков в 2001–2010 годах составляла 13,0% у мальчиков и 6,4% у девочек, но с возрастом МС чаще встречался у женщин (Miller et al. 2014). Отмечается также, что распространенность МС среди мужчин и женщин изменяется со временем: в США за период с 1994 по 2006 год относительное увеличение распространенности МС среди женщин составило 22,8%, а среди мужчин — 11,2% (Mozumdar, Liguori 2011). Есть много возможных причин, объясняющих различную распространенность МС среди мужчин и женщин (Santilli et al. 2017). Это и особенности распределения жировой ткани, и гормональный статус. Метаболизм глюкозы и липидов напрямую регулируется эстрогеном и тестостероном, при этом недостаток эстрогена или относительное повышение тестостерона вызывает резистентность к инсулину и формирование проатерогенного липидного профиля.

При МС обычно обнаруживаются признаки эндотелиальной дисфункции. Все компоненты МС оказывают неблагоприятное воздействие на эндотелий. Эндотелиальная дисфункция значительно повышает риск неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (Zhang et al. 2022).

Влияние пола на развитие МС недостаточно изучено. Учитывая противоречивую информацию о распространенности и ранних проявлениях МС у мужчин и женщин, а также растущую заболеваемость МС детей и подростков, целью нашего исследования было изучение различий реактивности артерий при моделировании МС у молодых самцов и самок крыс.

## Материал и методы

Крысы были получены из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем». 25 самцов и 40 самок крыс линии Вистар в возрасте 4 недель были разделены на группы: 15 самцов и 15 самок получали 20%-ный раствор фруктозы в питьевой воде на протяжении 16 недель (группы FrDR, fructose diet rat); 10 самцов — контрольная группа и 15 самок — контрольная группа (CG, control group) получали питьевую воду. 10 самкам в возрасте 8 недель была выполнена овариогистерэктомия, используя следующую методику: крыс наркотизировали раствором Золетил 100 (Virbac, Франция) из расчета 20 мг/кг веса крысы, с предваритель-

ной премедикацией раствором Рометара (Bioveta, Чешская Республика) из расчета 5 мг ксилазина на 1 кг веса крысы; с последующим удалением яичников и матки. На протяжении 16 недель они получали 20%-ную фруктозную нагрузку в питьевой воде (группа OhFrDR, ovariohysterectomy fructose diet rat). Крысы имели свободный доступ к пище и воде (раствору фруктозы).

Крыс содержали по пять животных в стандартной клетке при температуре 20–22°C и световом режиме 12 ч свет / 12 ч темнота. Один раз в месяц измеряли уровень глюкозы в плазме натошак. На 16-й неделе проводили тесты на толерантность к глюкозе (ГТТ) и инсулинорезистентность (ИР). Артериальное давление (АД) у бодрствующих крыс измеряли манжеточным методом на хвосте, используя систему «Систола» («Нейроботикс», РФ). Предварительно с целью адаптации крыс на протяжении пяти дней на 15 минут помещали в камеру для измерения АД. Для каждой крысы выполняли три замера АД и рассчитывали среднее значение.

В конце 16-й недели измеряли кровоток в микроциркуляторном русле (МЦР) кожи методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с помощью анализатора «ЛАКК-ОП» (НПП «Лазма», Россия). Датчик помещали на предварительно побритую кожу спины наркотизированных крыс (20 мг/кг золетил (Золетил 100, Virbac Sante Animale, Франция)). ЛДФ регистрировали в исходном состоянии и после электрофореза ацетилхолина (АХ) 1% (Sigma-Aldrich, США), нитропруссиды натрия (НП) 1% (ICN Biomedicals, США) и L-NAME 1% (Sigma-Aldrich, США), а также после нанесения на кожу нимесулида в виде геля 1% (АО «Биохимик», Россия).

Реактивность брыжеечных артерий у крыс оценивали *in vivo*. Исследование проводили на установке, включающей подогреваемый столик, подогреваемую камеру, микроскоп (МСП-2, ЛОМО, Россия) и видеокамеру (Basler, Germany). Обработку результатов проводили в программе MultiMedia Catalog (ММС, Россия). У наркотизированной крысы через разрез брюшной стенки выводили петлю тонкой кишки и помещали ее в специальный желоб с протекающим физиологическим солевым раствором (PSS) следующего состава (ммоль/л): NaCl – 120,4; KCl – 5,9; CaCl<sub>2</sub> – 2,5; MgCl<sub>2</sub> – 1,2; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,2; NaHCO<sub>3</sub> – 15,5; глюкоза – 11,5. PSS сатураировали газовой смесью, состоящей из 95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>. Температуру в камере поддерживали на уровне +38 ± 0,1°C. Исходный диаметр артерий, выбранных для исследования, составлял

160–230 мкм (третий порядок ветвления верхней брыжеечной артерии).

Измеряли исходный диаметр артерий, затем осуществляли предконтрактирование посредством введения в раствор фенилэфрина (ФЭ)  $1 \times 10^{-6}$  М (Sigma-Aldrich, США). К концу второй минуты воздействия ФЭ приводил к максимальной вазоконстрикции, вновь измеряли диаметр артерий и затем в камеру добавляли раствор АХ ( $1 \times 10^6$  М), НП ( $1 \times 10^{-6}$  М) или нимесулида ( $1 \times 10^5$  М) (ООО «Промомедрус», Россия). В части опытов брыжеечные артерии инкубировали в течение 30 мин с блокатором NO-синтаз L-NAME ( $1 \times 10^4$  М) (Merck Life Science, LLC), после чего вводили ФЭ и АХ, как описано выше.

По завершении исследования осуществляли забор крови для определения липидного профиля плазмы и уровня мочевой кислоты. Биохимический анализ был выполнен на анализаторе ARCHITECT c8000 (США). При окончании исследования у крыс выделяли висцеральный жир, взвешивали и рассчитывали индекс массы висцерального жира (ИМВЖ) по формуле: ИМВЖ = масса жира/масса крысы, мг/г.

При статистической обработке результатов использовали программу Statistica v.12. Полученные данные представлены в виде среднего значения плюс-минус стандартная ошибка среднего. Для сравнения двух выборок с нормальным распределением использовали t-критерий Стьюдента. В случае распределения вариантов в выборке, отличном от нормального, при исследовании реактивности сосудов брыжейки при сравнении двух независимых групп применяли U-критерий Манна — Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Самцы и самки FrDR по массе не имели достоверных различий от самцов и самок CG (табл. 1). У крыс групп FrDR зарегистрировано достоверное повышение систолического и диастолического АД по сравнению с группами CG, при этом у самок FrDR АД было меньше по сравнению с самцами FrDR. У самок OhFrDR АД повышалось примерно на такую же величину, как и у самцов FrDR.

Табл. 1. Физиологические и биохимические показатели у крыс, получавших фруктозу

Показатель	Самцы CG (n = 10)	Самцы FrDR (n = 15)	Самки CG (n = 15)	Самки FrDR (n = 15)	Самки OhFrDR (n = 10)
Масса, г	413 ± 14	398 ± 13	282 ± 12 <sup>#</sup>	286 ± 19 <sup>&amp;</sup>	294 ± 16 <sup>&amp;</sup>
Глюкоза, тест на ИР, ммоль/л	5,6 ± 0,5	7,6 ± 0,4 <sup>#</sup>	5,2 ± 0,1	6,9 ± 0,2 <sup>*&amp;</sup>	7,3 ± 0,3 <sup>*</sup>
Глюкоза, ГТТ, ммоль/л	5,6 ± 0,1	7,0 ± 0,4 <sup>#</sup>	5,2 ± 0,2	7,1 ± 0,1 <sup>*</sup>	7,6 ± 0,3 <sup>*</sup>
ТГ, ммоль/л	0,6 ± 0,2	1,2 ± 0,2 <sup>##</sup>	0,8 ± 0,3	1,8 ± 0,1 <sup>*&amp;</sup>	1,9 ± 0,08 <sup>&amp;</sup>
ХС-ЛПВП, ммоль/л	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,9 ± 0,03 <sup>#</sup>	0,8 ± 0,04 <sup>&amp;</sup>	0,8 ± 0,06 <sup>&amp;</sup>
ХС-ЛПНП, ммоль/л	0,6 ± 0,1	1,0 ± 0,1 <sup>#</sup>	0,7 ± 0,2 <sup>#</sup>	1,1 ± 0,2 <sup>*&amp;</sup>	1,0 ± 0,2 <sup>&amp;</sup>
ХС, ммоль/л	1,3 ± 0,1	1,5 ± 0,1 <sup>#</sup>	2,4 ± 0,1 <sup>#</sup>	1,8 ± 0,1 <sup>*&amp;</sup>	1,9 ± 0,2 <sup>&amp;</sup>
Мочевая кислота, мкмоль/л	68 ± 4,1	92,2 ± 4,6 <sup>#</sup>	60,4 ± 4,2	71,2 ± 5,4 <sup>*&amp;</sup>	79,3 ± 4,8 <sup>*&amp;</sup>
ИМВЖ, мг/г	17 ± 1,1	26,3 ± 2,7 <sup>#</sup>	31,6 ± 1,7 <sup>#</sup>	45,7 ± 3,2 <sup>&amp;</sup>	38,6 ± 2,1 <sup>*Δ</sup>
САД мм рт. ст.	129 ± 4	156 ± 7 <sup>#</sup>	128 ± 5	137 ± 5 <sup>*&amp;</sup>	152 ± 6 <sup>*Δ</sup>
ДАД мм рт. ст.	77 ± 5	112 ± 6 <sup>#</sup>	79 ± 4	92 ± 4 <sup>*&amp;</sup>	106 ± 5 <sup>*</sup>

Примечание: Глюкоза, тест на ИР — финальный уровень глюкозы в крови при тесте на инсулинорезистентность, Глюкоза, ГТТ — финальный уровень глюкозы в крови при глюкозо-толерантном тесте, ТГ — триглицериды, ХС-ЛПВП — холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС-ЛПНП — холестерин липопротеинов низкой плотности, ИМВЖ — индекс массы висцерального жира, САД — систолическое и ДАД — диастолическое артериальное давление. CG — контрольная группа, FrDR — группа, получавшая 20% фруктозы в питьевой воде, OhFrDR — группа крыс, подвергнутая овариогистерэктомии, получавшая 20% фруктозы в питьевой воде. Данные представлены в виде среднее ± стандартная ошибка. Различия достоверны: \* —  $p < 0,05$  — по сравнению с самками CG-группы, # —  $p < 0,05$  — по сравнению с самцами CG группы, & —  $p < 0,05$  по сравнению с самцами FrDR-группы, Δ —  $p < 0,05$  по сравнению с самками FrDR-группы.

Table 1. Physiological and biochemical parameters in fructose-fed rats

Indices	Males CG (n = 10)	Males FrDR (n = 15)	Females CG (n = 15)	Females FrDR (n = 15)	Females OhFrDR (n = 10)
Weight, g	413 ± 14	398 ± 13	282 ± 12 <sup>†</sup>	286 ± 19 <sup>‡</sup>	294 ± 16 <sup>‡</sup>
Final blood glucose level during IR test, mmol/L	5.6 ± 0.5	7.6 ± 0.4 <sup>†</sup>	5.2 ± 0.1	6.9 ± 0.2 <sup>‡*</sup>	7.3 ± 0.3 <sup>*</sup>
Final blood glucose level during GTT, mmol/L	5.6 ± 0.1	7.0 ± 0.4 <sup>†</sup>	5.2 ± 0.2	7.1 ± 0.1 <sup>*</sup>	7.6 ± 0.3 <sup>*</sup>
TG, mmol/L	0.6 ± 0.2	1.2 ± 0.2 <sup>##</sup>	0.8 ± 0.3	1.8 ± 0.1 <sup>**‡</sup>	1.9 ± 0.08 <sup>‡</sup>
HDL-C, mmol/L	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.9 ± 0.03 <sup>†</sup>	0.8 ± 0.04 <sup>‡</sup>	0.8 ± 0.06 <sup>‡</sup>
LDL-C, mmol/L	0.6 ± 0.1	1.0 ± 0.1 <sup>†</sup>	0.7 ± 0.2 <sup>†</sup>	1.1 ± 0.2 <sup>‡*</sup>	1.0 ± 0.2 <sup>‡</sup>
TC, mmol/L	1.3 ± 0.1	1.5 ± 0.1 <sup>†</sup>	2.4 ± 0.1 <sup>†</sup>	1.8 ± 0.1 <sup>‡*</sup>	1.9 ± 0.2 <sup>‡</sup>
Uric acid, μmol/L	68 ± 4.1	92.2 ± 4.6 <sup>†</sup>	60.4 ± 4.2	71.2 ± 5.4 <sup>‡*</sup>	79.3 ± 4.8 <sup>‡*</sup>
Visceral fat mass index, mg/g	17 ± 1.1	26.3 ± 2.7 <sup>†</sup>	31.6 ± 1.7 <sup>†</sup>	45.7 ± 3.2 <sup>‡</sup>	38.6 ± 2.1 <sup>*Δ</sup>
SBP, mmHg	129 ± 4	156 ± 7 <sup>†</sup>	128 ± 5	137 ± 5 <sup>‡*</sup>	152 ± 6 <sup>*Δ</sup>
DBP, mm Hg	77 ± 5	112 ± 6 <sup>†</sup>	79 ± 4	92 ± 4 <sup>‡*</sup>	106 ± 5 <sup>*</sup>

Note: Data presented characterize the final level of glucose in the blood of rats during the insulin resistance test and the glucose tolerance test. GTT — glucose tolerance test, IR — insulin resistance, BP — blood pressure, TG — triglycerides, HDL — high density lipoprotein cholesterol, LDL cholesterol — low density lipoprotein cholesterol. SBP and DBP — systolic and diastolic blood pressure. CG = control group, FrDR = group receiving 20% fructose in drinking water, OhFrDR = group of ovariectomized rats receiving 20% fructose in drinking water. Data are presented as mean ± standard error. The differences compared to the control are significant: \* — p < 0.05 — compared to females CG, † — p < 0.05 — compared to males CG, ‡ — p < 0.05 compared to females FrDR.

Результаты тестов на ИР и ГТТ у самцов и самок FrDR достоверно отличались от аналогичных показателей в группах CG (табл. 1). У крыс FrDR была выявлена выраженная дислипидемия: значительно повысилась концентрация триглицеридов в крови, при этом максимальные изменения были выявлены в группе самок OhFrDR (прирост составил 138%). У крыс FrDR достоверное повышение концентрации мочевой кислоты в плазме крови, максимальные изменения были зарегистрированы в группах самцов FrDR и самок OhFrDR (табл. 1).

По истечении 16 недель эксперимента было проведено исследование кровотока в коже (табл. 2). Различия величин показателя микроциркуляции (ПМ) у самцов и самок CG и групп

FrDR были небольшими, но достоверными. Средний ПМ в коже самок OhFrDR был существенно снижен. Ионофорез АХ сопровождался выраженным увеличением кожного кровотока, прирост ПМ у самцов CG составил 67,5%, у самок — 45,0%, у самцов и у самок FrDR прирост составил 24,3% и 23,4%, соответственно. В группе самок OhFrDR увеличение кровотока составило 26,9%. Прирост ПМ после ионофореза НП также был максимальным в группах крыс CG и уменьшался у крыс групп FrDR. Воздействие на кожу нимесулида также сопровождалось достоверными изменениями кожного кровотока у крыс всех групп, но эти изменения были намного меньшими по сравнению с эффектами АХ и НП.

Табл. 2. Показатель микроциркуляции в коже крыс после ионофореза ацетилхолина, нитропрусида натрия, нимесулида

Показатель микроциркуляции, п. е.	Самцы CG (n = 10)	Самцы FrDR (n = 15)	Самки CG (n = 15)	Самки, FrDR (n = 15)	Самки OhFrDR (n = 10)
Исходный	7,9 ± 0,3	7,0 ± 0,3 <sup>†</sup>	10,2 ± 0,3 <sup>†</sup>	9,4 ± 0,2 <sup>‡*</sup>	7,8 ± 0,4 <sup>‡*</sup>
После ионофореза АХ	12,1 ± 0,5	8,7 ± 0,4 <sup>†</sup>	14,8 ± 0,4 <sup>†</sup>	11,3 ± 0,4 <sup>‡*</sup>	9,9 ± 0,3 <sup>‡*</sup>
После ионофореза НП	11,6 ± 0,4	10,1 ± 0,4 <sup>†</sup>	13,8 ± 0,4 <sup>†</sup>	12,9 ± 0,4 <sup>‡</sup>	11,8 ± 0,4 <sup>‡*</sup>
После нимесулида	7,8 ± 0,4	7,9 ± 0,5	10,4 ± 0,5 <sup>†</sup>	10,1 ± 0,4 <sup>‡</sup>	8,5 ± 0,4 <sup>*</sup>

Примечание: CG — контрольная группа крыс, FrDR — группа, получавшая 20% фруктозы в питьевой воде, OhFrDR — группа крыс, подвергнутая овариогистерэктомии, получавшая 20% фруктозы в питьевой воде. АХ — ацетилхолин, НП — нитропруssid натрия. Данные представлены в виде: среднее ± стандартная ошибка. Различия достоверны: \* — p < 0,05 — по сравнению с самками CG-группы, † — p < 0,05 — по сравнению с самцами CG-группы, ‡ — p < 0,05 по сравнению с самцами FrDR-группы, Δ — p < 0,05 по сравнению с самками FrDR-группы.

Table 2. Skin microcirculation index (SMI) in rats after the iontophoresis of acetylcholine (ACh), sodium nitroprusside (NP) and nimesulid

Indices	Males CG (n=10)	Males FrDR (n = 15)	Females CG (n = 15)	Females FrDR (n = 15)	Females OhFrDR (n = 10)
Initial SMI, p. u.	7.9 ± 0.3	7.0 ± 0.3 <sup>#</sup>	10.2 ± 0.3 <sup>#</sup>	9.4 ± 0.2 <sup>*&amp;</sup>	7.8 ± 0.4 <sup>*&amp;</sup>
SMI after ACh iontophoresis, p. u.	12.1 ± 0.5	8.7 ± 0.4 <sup>#</sup>	14.8 ± 0.4 <sup>#</sup>	11.3 ± 0.4 <sup>*&amp;</sup>	9.9 ± 0.3 <sup>*&amp;</sup>
SMI after NP iontophoresis, p. u.	11.6 ± 0.4	10.1 ± 0.4 <sup>#</sup>	13.8 ± 0.4 <sup>#</sup>	12.9 ± 0.4 <sup>&amp;</sup>	11.8 ± 0.4 <sup>*&amp;</sup>
SMI after nimesulid iontophoresis, p. u.	7.8 ± 0.4	7.9 ± 0.5	10.4 ± 0.5 <sup>#</sup>	10.1 ± 0.4 <sup>&amp;</sup>	8.5 ± 0.4 <sup>*</sup>

Note: CG = control group, FrDR = group receiving 20% fructose in drinking water, OhFrDR = group of ovariohysterectomized rats receiving 20% fructose in drinking water. Data are presented as: mean ± standard error. The differences compared to the control are significant: \* — p < 0.05 — compared to females CG, <sup>#</sup> — p < 0.05 — compared to males CG, <sup>&</sup> — p < 0.05 compared to females FrDR. p. u. — perfusion units. ACh — acetylcholine, NP — sodium nitroprusside.

В процессе обработки данных ЛДФ были рассчитаны значения эндотелиального тонуса (ЭТ), нейрогенного тонуса (НТ) и миогенного тонуса (МТ) сосудов МЦР кожи крыс (табл. 3). Анализ показывает, что минимальный уровень ЭТ был у самок CG, в группе FrDR он возрастал, но еще больше повышался в группах самок OhFrDR. НТ и МТ также претерпевали значительные изменения.

На следующем этапе исследовали дилатацию брыжеечных артерий крыс в ответ на применение АХ, НП и нимесулида после их предвари-

тельной констрикции фенилэфрином. Было установлено, что уменьшение диаметра было максимальным при концентрации ФЭ 1 мкМ. Для оценки сократительной функции артерий использовали концентрацию ФЭ 0,3 мкМ, вызывающую сократительную реакцию артерий крыс контрольной группы 50% от максимальной. При этой концентрации сокращение брыжеечных артерий самцов FrDR составило 114% (за 100% принято сокращение артерий крыс контрольной группы), артерий самок FrDR — 108%, артерий самок OhFrDR — 113% (рис. 1).

Табл. 3. Компоненты сосудистого тонуса в микроциркуляторном русле кожи крыс

	Самцы CG (n = 10)	Самцы FrDR (n = 15)	Самки CG (n = 15)	Самки FrDR (n = 15)	Самки OhFrDR (n = 10)
ЭТ (y. e.)	84,2 ± 5,4	97,1 ± 4,7 <sup>#</sup>	64,0 ± 4,0 <sup>#</sup>	73,1 ± 2,7 <sup>*</sup>	90,2 ± 3,7 <sup>*&amp;</sup>
НТ (y. e.)	78,4 ± 4,5	84,3 ± 5,2 <sup>#</sup>	73,7 ± 4,0	82,0 ± 3,6 <sup>*</sup>	88,2 ± 3,8 <sup>*Δ</sup>
МТ (y. e.)	67,4 ± 3,7	81,6 ± 3,1 <sup>#</sup>	53,9 ± 4,3 <sup>#</sup>	61,4 ± 4,0 <sup>&amp;</sup>	66,2 ± 2,9 <sup>&amp;</sup>

Примечание: ЭТ — эндотелийзависимый тонус, НТ — нейрогенный тонус, МТ — миогенный тонус. Величины сосудистого тонуса представлены в условных единицах (y. e.). CG — контрольная группа, FrDR — группа, получавшая 20% фруктозы в питьевой воде, OhFrDR — группа крыс, подвергнутая овариогистерэктомии, получавшая 20% фруктозы в питьевой воде. Данные представлены в виде: среднее ± стандартная ошибка. Различия достоверны: \* — p < 0,05 — по сравнению с самками CG-группы, <sup>#</sup> — p < 0,05 — по сравнению с самцами CG-группы, <sup>&</sup> — p < 0,05 по сравнению с самцами FrDR-группы, <sup>Δ</sup> — p < 0,05 по сравнению с самками FrDR-группы

Table 3. Vascular tone components in the rat skin microcirculatory bed

	Males CG (n = 10)	Males FrDR (n = 15)	Females CG (n = 15)	Females FrDR (n = 15)	Females OhFrDR (n = 10)
ET (c. u.)	84.2 ± 5.4	97.1 ± 4.7 <sup>#</sup>	64.0 ± 4.0 <sup>#</sup>	73.1 ± 2.7 <sup>*</sup>	90.2 ± 3.7 <sup>*&amp;</sup>
NT (c. u.)	78.4 ± 4.5	84.3 ± 5.2 <sup>#</sup>	73.7 ± 4.0	82.0 ± 3.6 <sup>*</sup>	88.2 ± 3.8 <sup>*Δ</sup>
MT (c. u.)	67.4 ± 3.7	81.6 ± 3.1 <sup>#</sup>	53.9 ± 4.3 <sup>#</sup>	61.4 ± 4.0 <sup>&amp;</sup>	66.2 ± 2.9 <sup>&amp;</sup>

Note: CG = control group, FrDR = group receiving 20% fructose in drinking water, OhFrDR = group of ovariohysterectomized rats receiving 20% fructose in drinking water. Data are presented as mean ± standard error. The differences compared to the control are significant: \* — p < 0.05 — compared to females CG, <sup>#</sup> — p < 0.05 — compared to males CG, <sup>&</sup> — p < 0.05 compared to females FrDR. ET — endothelium-dependent tone, NT — neurogenic tone, MT — myogenic tone. The vascular tone values are presented in conventional units — c. u.

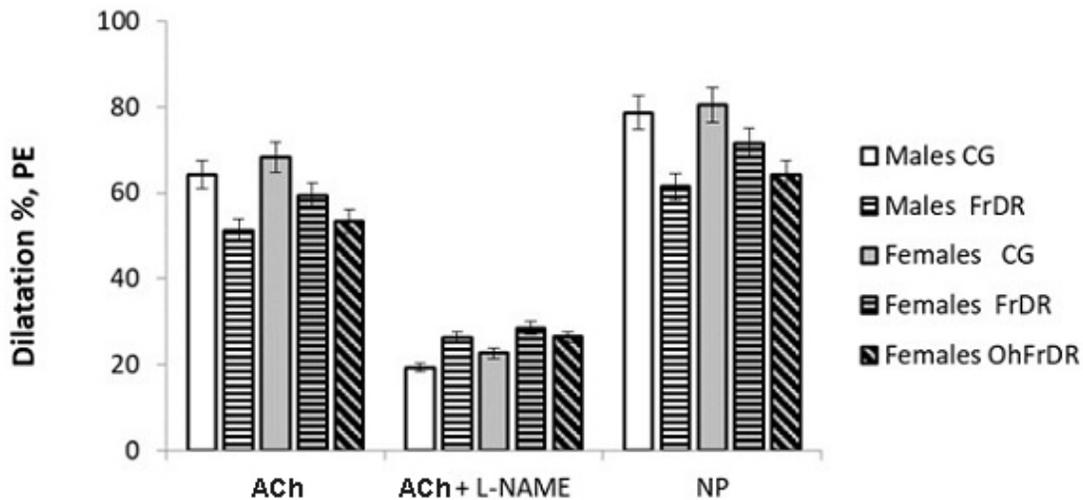


Рис. 1. Дилатация брыжеечных артерий крыс при действии ацетилхолина (ACh), ацетилхолина в присутствии L-NAME (ACh + L-NAME) и нитропруссид натрия (NP). CG — контрольная группа, FrDR — группа, получавшая 20% фруктозы в питьевой воде, OhFrDR — группа крыс, подвергнутая овариогистерэктомии, получавшая 20% фруктозы в питьевой воде. Данные представлены в % от величины фенилэфрин-индуцированного сокращения (0,3 мкМ) в виде: среднее ± стандартная ошибка

Fig. 1. Dilation of rat mesenteric arteries under acetylcholine (ACh), acetylcholine in the presence of L-NAME (ACh + L-NAME) and sodium nitroprusside (NP). CG — control group, FrDR — group receiving 20% fructose in drinking water, OhFrDR — group of rats subjected to ovariogysterectomy receiving 20% fructose in drinking water. Data presented as % of the value of PE-induced reduction (0.3 μM) as: mean ± standard error

Дилатация артерий самцов и самок FrDR на АХ была достоверно меньше по сравнению с крысами CG, у самок FrDR была больше по сравнению с самцами FrDR и достоверно уменьшалась у самок OhFrDR. Предварительное введение в раствор L-NAME резко ослабляло АХ-индуцированную дилатацию артерий всех групп животных.

Сравнение амплитуд НП-индуцированных дилатаций брыжеечных артерий самцов и самок контрольных групп показало отсутствие различий. В группах FrDR амплитуда НП-индуцированных дилатаций артерий у самцов и самок достоверно снижались по сравнению с крысами CG, при этом дилатация артерий у самок FrDR была достоверно больше по сравнению с самцами FrDR. Овариогистерэктомия сопровождалась достоверным ослаблением дилатации артерий на НП по сравнению с самками FrDR. Нимесулид в контрольных группах животных приводил к небольшой дилатации предконтрактированных ФЭ артерий у самцов и самок от (4,7 до 5,6%). В группах самцов и самок FrDR нимесулид вызывал достоверный прирост амплитуды дилатации артерий (от 9,1 до 12,4%).

У самок OhFrDR наблюдалась большая дилатация артерий в ответ на применение нимесулида по сравнению с самками FrDR (fructose diet rat).

## Обсуждение

Половые гормоны участвуют в регуляции обмена веществ и по-разному делают женщин и мужчин восприимчивыми к развитию некоторых патологических состояний (Colafella, Denton 2018). МС в этом отношении не является исключением. Так, если у молодых женщин с МС обычно обнаруживается ожирение при небольшом увеличении АД, то у молодых мужчин часто выявляется АГ (Pradhan 2014). МС как кластер факторов, приводящих к развитию ССЗ и СД2, интенсивно изучается, при этом работ по исследованию развития и значимости МС среди детей и подростков разного пола немного. В нашем исследовании моделирование МС проведено на молодых крысах обоих полов и внимание было сконцентрировано преимущественно на изменениях в ССС, в основном — на изменениях функциональных характеристик артерий мышечного типа и сосудов МЦР.

Первое, что необходимо отметить при анализе полученных данных, это развитие у всех крыс опытных групп признаков МС: увеличение концентрации триглицеридов, ХС-ЛПНП и глюкозы при проведении тестов на ИР и ГТТ, а также значительное увеличение систолического и диастолического АД. Индекс массы висцерального жира в опытных группах самцов

и самок был достоверно выше по сравнению с контрольными группами. Как известно, накопление висцерального жира является маркером дисметаболического состояния и причиной развития МС (Després et al. 2008).

Необходимо отметить также негативную динамику содержания в плазме крови мочевой кислоты при длительном потреблении крысами фруктозы. У самцов FrDR концентрация мочевой кислоты возросла на 35%, у самок FrDR на — 18%, у самок OhFrDR — на 32%. Известно, что в высоких концентрациях мочевая кислота выступает в роли прооксидантного агента и способствует окислительному стрессу. Имеющиеся данные свидетельствуют о связи между повышенным уровнем мочевой кислоты и традиционными сердечно-сосудистыми факторами риска, МС, резистентностью к инсулину и ожирением (Ndrepera 2018).

Важнейшим механизмом регуляции тонуса кровеносных сосудов является эндотелийзависимый механизм (Hall 2012). Оценка функций эндотелия в микроциркуляторном русле может дать важную информацию о состоянии сердечно-сосудистой системы. Мы исследовали микрокровоток в коже спины крыс, поскольку в этой области преобладает нутритивный кровоток (Rendell et al. 1998). Базальный кровоток в коже самок контрольной группы (CG — control group) был значительно больше по сравнению с самцами. В коже крыс FrDR (самцов и самок) базальный кровоток был несколько ниже по сравнению с крысами CG. Овариогистерэктомия приводила к дополнительному снижению базального кровотока в коже крыс. Учитывая особенности регуляции микрокровотока в этой области, мы предположили, что МС оказывает негативное влияние прежде всего на эндотелиальный механизм регуляции. Применение АХ приводило к значительному увеличению кровотока у самцов и самок контрольных групп (на 53% и 43%, соответственно). В группах, получавших фруктозную нагрузку (FrDR), ионофорез АХ также сопровождался возрастанием ПМ, но прирост кровотока был меньшим (45% и 32%, соответственно), в группе самок, подвергшихся овариогистерэктомии и получавших фруктозную нагрузку (OhFrDR), — 27%. Сравнение полученных данных показывает, что МС приводит к достоверному уменьшению базального микрокровотока в коже крыс и значительному ослаблению реакции на ионофорез АХ, по-видимому за счет нарушения продукции (биодоступности) NO (судя по данным, полученным при исследовании брыжечных артерий). Абсолютная величина АХ-индуцированного кожного микро-

кровотока у самок была значительно выше по сравнению с самцами, т. е. половые различия у крыс проявлялись не только в величинах базального кровотока, но и в величинах АХ-индуцированного прироста кровотока. У крыс OhFrDR отсутствие эстрогенов привело к ослаблению базального и АХ-индуцированного кровотока (по сравнению с показателями самок FrDR).

Действие НП во всех группах крыс сопровождалось увеличением кожного кровотока. Зарегистрированная величина НП-индуцированного кровотока в коже самцов и самок контрольных групп была несколько ниже по сравнению с АХ-индуцированным кровотоком. Мы полагаем, это вызвано тем, что АХ-индуцированная дилатация микрососудов в коже крыс реализуется не только активацией сигнального пути  $NO \rightarrow sGC \rightarrow cGMP$ , но осуществляется с участием и других сигнальных молекул (простагландинов и продуцируемых эндотелием гиперполяризующих факторов). В группах самцов и самок FrDR НП-индуцированная гиперемия также была достоверно меньшей по сравнению с АХ-индуцированным возрастанием кровотока в коже. Увеличение разницы между АХ- и НП-индуцированным ПМ у крыс FrDR по сравнению с крысами CG позволяет предположить, что у них при развитии МС активируется механизм эндотелиальной гиперполяризации (Liu et al. 2020). В группах самок OhFrDR прирост кровотока при ионофорезе НП был несколько меньше по сравнению с самками FrDR, что может свидетельствовать об ингибировании сигнальной цепочки  $NO \rightarrow sGC \rightarrow cGMP$  в гладкомышечных клетках сосудов МЦР у самок OhFrDR из-за отсутствия эстрогенов.

В заключительной части экспериментов по исследованию влияния МС на кожный кровоток у крыс мы оценили возможный вклад простагландинов в регуляцию сосудов МЦР в коже крыс. Небольшое увеличение ПМ в коже самцов и самок FrDR при действии нимесулида (ингибитора COX-2), по нашему мнению, может быть объяснено возрастанием производства у крыс с МС простагландинов, обладающих вазоконстрикторным эффектом, как это было показано при артериальной гипертензии и диабете (Matsumoto et al. 2015).

Анализируя величины тонуса микрососудов кожи, следует отметить, что нейрогенный тонус (НТ) сосудов МЦР кожи оказался слабо выраженным и претерпевал небольшие изменения у всех крыс, получавших фруктозу. Это может быть связано с тем, что в области спины артериолы, регулирующие кровоток через нутритивные

капилляры, имеют невысокую плотность симпатической иннервации и контролируются преимущественно местными (не нервными) факторами. В то же время эндотелийзависимый компонент тонуса (ЭТ) сосудов МЦР кожи в процессе развития МС у крыс претерпевал значительно большие изменения. В физиологических условиях эндотелий играет решающую роль в модуляции функции и структуры сосудов разного калибра, главным образом за счет выработки NO, который обеспечивает вазодилатацию и защищает сосуды от развития атеросклероза и тромбоза (Czacowski et al. 2020). ЭТ у самок FrDR повышался в значительно меньшей степени по сравнению с самцами FrDR. У крыс OhFrDR ЭТ был выше по сравнению с группой FrDR. Различия данных в группах самцов и самок FrDR и в группах самок FrDR и OhFrDR позволяют сделать заключение, что эстрогены оказывают определенный протективный эффект на эндотелий микрососудов в коже крыс в процессе развития МС, а их отсутствие способствует усилению негативного влияния МС на состояние эндотелия сосудов микроциркуляторного русла. Ранее уже было показано благотворное влияние эстрогенов на эндотелий сосудов в отношении продукции им NO (Kauser, Rubanyi 1994).

Миогенный тонус (МТ) сосудов МЦР в контрольной группе самок был достоверно ниже по сравнению с самцами. Вызванный фруктозой диетой прирост МТ составил у самцов 21%, у самок — 14%, у самок OhFrDR — 24%. Причиной повышения МТ у крыс FrDR в наших опытах является, по-видимому, развивающаяся при МС дислипидемия (Krentz et al. 2009). Ранее было установлено, что дислипидемия увеличивает приток жирных кислот в гладкомышечные клетки сосудов, что приводит к активации протеинкиназы С и фосфорилированию белков, регулирующих процесс взаимодействия актина и миозина (Serné et al. 2006).

Мы также оценили функциональное состояние артерий мышечного типа (ветви верхней брыжеечной артерии третьего порядка) у крыс, получавших фруктозу. Первое, что необходимо отметить, это достоверное увеличение сократительной реакции артерий на ФЭ. Подобное увеличение сократительного ответа на ФЭ характерно и для спонтанно гипертензивных крыс. Показано, что такая реакция опосредована активными формами кислорода (АФК), генерируемыми НАД(Ф)Н-оксидазой (Cruzado et al. 2005). Поскольку крысы, потреблявшие фруктозу, имели повышенное АД, мы полагаем, что у этих животных реализуется такой же механизм активации ГМК артерий.

Введение в раствор с ФЭ АХ приводило к дилатации исследуемых артерий. Максимальная амплитуда АХ-индуцированной дилатации была зарегистрирована в артериях самцов и самок CG. У самцов FrDR дилатация была менее выраженной по сравнению с самками FrDR. Овариогистерэктомия приводила к уменьшению амплитуды дилатации, вызванной АХ. При исследовании АХ-индуцированной дилатации артерий на фоне L-NAME было установлено, что ингибирование NO-синтаз не полностью устраняет дилататорный эффект АХ. На фоне L-NAME амплитуда дилатации составляла от 19 до 28% от величины PE-индуцированного сокращения. Минимальная остаточная дилатация регистрировалась в брыжеечных артериях самцов CG. У крыс групп FrDR (самцов и самок) дилатация была достоверно большей по сравнению с контрольными группами. В группе OhFrDR дилатация артерий несколько снижалась по сравнению с крысами группы FrDR. Мы полагаем, что эти данные подтверждают, что в артериях крыс мышечного типа эндотелийзависимая дилатация опосредуется не только NO, но и посредством активации механизма эндотелиальной гиперполяризации. При развитии МС роль этого механизма дилатации в брыжеечных артериях крыс возрастает. Ранее сходные данные были получены при исследовании почечных артерий крыс, страдающих диабетом (Yin et al. 2017).

Исследование роли простагланинов (PGs) в формировании тонуса артерий у крыс, получавших фруктозу, показало достоверное увеличение дилатации артерий у самцов FrDR и самок OhFrDR на фоне нимесулида. Нимесулид является селективным ингибитором COX2 (Cyclooxygenase-2), поэтому минимальные изменения диаметра артерий крыс CG позволяют заключить, что у здоровых животных COX2 не играет значимой роли в регуляции АД. Потребление фруктозы приводило к возрастанию эффекта нимесулида, что свидетельствует об экспрессии COX2 в стенке артерий. Повышенная активность COX2 сопровождалась, по нашему мнению, синтезом PGs, обладающих вазоконстрикторными свойствами. Дилатирующий эффект нимесулида на артерии крыс FrDR можно объяснить ингибированием синтеза этих PGs (Matsumoto et al. 2015).

Таким образом, МС, развивающийся у молодых крыс обоих полов, потреблявших фруктозу, оказывает негативное влияние на эндотелийзависимую дилатацию сосудов МЦР и артерий, что является одним из факторов, способствующих развитию АГ. Сравнение амплитуд

АХ-индуцированной дилатации брыжеечных артерий в контрольных группах и группах FrDR и данные, полученные при ингибировании NO-синтазы, позволяют сделать заключение, что при развитии МС ослабление АХ-индуцированной дилатации брыжеечных артерий крыс связано преимущественно с уменьшением продукции NO эндотелиоцитами артерий. При этом возрастает роль эндотелиальной гиперполяризации в АХ-индуцированной дилатации артерий. Роль простагландинов в нарушении эндотелийзависимой дилатации брыжеечных артерий при МС незначительна.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

### Conflict of Interest

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

### Соответствие принципам этики

Все манипуляции с животными соответствовали этическим стандартам, утвержденными актами РФ, принципами Базельской декларации. Протокол исследования одобрен этической комиссией Института физиологии им. И. П. Павлова, РАН по контролю над содержанием и использованием лабораторных животных № 03/13 от 13 марта 2023 года.

### Ethics Approval

All the animal manipulations complied with the ethical standards approved by the regulations of the Russian Federation and the principles of the Basel Declaration. The study protocol was approved by the ethics commission of the Pavlov Institute of Physiology, RAS, for monitoring the keeping and use of laboratory animals No. 03/13 dated March 13, 2023.

### Вклад авторов

а. Царева Инна Анатольевна — обзор литературы, проведение экспериментов, исследование, анализ, написание рукописи;

б. Иванова Галина Тажимовна — обзор литературы, проведение экспериментов, исследование, анализ, написание рукописи;

в. Лобов Геннадий Иванович — идея работы и планирование эксперимента, редактирование.

### Author Contributions

a. Inna A. Tsareva — literature review, conducting the experiments, study, analysis, drafting the manuscript;

b. Galina T. Ivanova — literature review, conducting the experiments, study, analysis, drafting the manuscript;

c. Gennady I. Lobov — concept, planning the experiment, editing.

### References

- Colafella, K. M. M., Denton, K. M. (2018) Sex-specific differences in hypertension and associated cardiovascular disease. *Nature Reviews Nephrology*, vol. 14, no. 3, pp. 185–201. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2017.189> (In English)
- Cracowski, J. L., Roustit, M. (2020) Human skin microcirculation. *Comprehensive Physiology*, vol. 10, no. 3, pp. 1105–1154. <https://doi.org/10.1002/cphy.c190008> <https://doi.org/10.1002/cphy.c190008> (In English)
- Crespo, P. S., Prieto Perera, J. A., Lodeiro, F. A., Azuara, L. A. (2007) Metabolic syndrome in childhood. *Public Health Nutrition*, vol. 10, no. 10A, pp. 1121–1125. <https://doi.org/10.1017/s1368980007000596> <https://doi.org/10.1017/S1368980007000596> (In English)
- Cruzado, M. C., Risler, N. R., Miatello, R. M. et al. (2005) Vascular smooth muscle cell NAD(P)H oxidase activity during the development of hypertension: Effect of angiotensin II and role of insulin like growth factor-1 receptor transactivation. *American Journal of Hypertension*, vol. 18, pp. 81–87. <https://doi.org/10.1016/j.amjhyper.2004.09.001> (In English)
- Després, J. P., Lemieux, I., Bergeron, J. et al. (2008) Abdominal obesity and the metabolic syndrome: Contribution to global cardiometabolic risk. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 28, no. 6, pp. 1039–1049. <https://doi.org/10.1161/atvbaha.107.159228> (In English)
- Gonzalez-Chávez, A., Chávez-Fernández, J. A., Elizondo-Argueta, S. (2018) Metabolic syndrome and cardiovascular disease: A health challenge. *Archives of Medical Research*, vol. 49, no. 8, pp. 516–521. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2018.10.003> (In English)
- Hall, J. E. (2012) *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. 12 ed. Philadelphia: Saunders, 1120 p. (In English)

- Kauser, K., Rubanyi, G. M. (1994) Gender difference in bioassayable endothelium-derived nitric oxide from isolated rat aortae. *American Journal of Physiology*, vol. 267, no. 6, pp. 2311–2317. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1994.267.6.h2311> (In English)
- Krentz, A. J., Clough, G., Byrne, C. D. (2009) Vascular disease in the metabolic syndrome: Do we need to target the microcirculation to treat large vessel disease? *Journal of Vascular Research*, vol. 46, no. 6, pp. 515–526. <https://doi.org/10.1159/000226220> (In English)
- Lee, A. M., Gurka, M. J., DeBoer, M. D. (2016) Trends in metabolic syndrome severity and lifestyle factors among adolescents. *Pediatrics*, vol. 137, no. 3, article e20153177. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-3177> (In English)
- Liu, Y., Kabakov, A. Y., Xie, A. (2020) Metabolic regulation of endothelial SK channels and human coronary microvascular function. *International Journal of Cardiology*, vol. 312, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2020.03.028> (In English)
- Matsumoto, T., Goulopoulou, S., Taguchi, K. et al. (2015) Constrictor prostanoids and uridine adenosine tetraphosphate: Vascular mediators and therapeutic targets in hypertension and diabetes. *British Journal of Pharmacology*, vol. 172, no. 16, pp. 3980–4001. <https://doi.org/10.1111/bph.13205> (In English)
- Miller, J. M., Kaylor, M. B., Johannsson, M. et al. (2014) Prevalence of metabolic syndrome and individual criterion in US adolescents: 2001–2010 National Health and Nutrition Examination Survey. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, vol. 12, no. 10, pp. 527–532. <https://doi.org/10.1089/met.2014.0055> (In English)
- Mozumdar, A., Liguori, G. (2011) Persistent increase of prevalence of metabolic syndrome among U.S. adults: NHANES III to NHANES 1999–2006. *Diabetes Care*, vol. 34, no. 1, pp. 216–219. <https://doi.org/10.2337/dc10-0879> (In English)
- Ndrepepa, G. (2018) Uric acid and cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta*, vol. 484, pp. 150–163. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.05.046> (In English)
- Pradhan, A. D. (2014) Sex differences in the metabolic syndrome: Implications for cardiovascular health in women. *Clinical Chemistry*, vol. 60, no. 1, pp. 44–52. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2013.202549> (In English)
- Rendell, M. S., Finnegan, M. F., Healy, J. C. et al. (1998) The relationship of laser-Doppler skin blood flow measurements to the cutaneous microvascular anatomy. *Microvascular Research*, vol. 55, no. 1, pp. 3–13. <https://doi.org/10.1006/mvre.1997.2049> (In English)
- Saklayen, M. G. (2018) The global epidemic of the metabolic syndrome. *Current Hypertension Reports*, vol. 20, no. 2, article 12. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z> (In English)
- Santilli, F., D'Ardes, D., Guagnano, M. T., Davi, G. (2017) Metabolic syndrome: Sex-related cardiovascular risk and therapeutic approach. *Current Medicinal Chemistry*, vol. 24, no. 24, pp. 2602–2627. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170710121145> (In English)
- Serné, E. H., de Jongh, R. T., Eringa, E. C. et al. (2006) Microvascular dysfunction: Causative role in the association between hypertension, insulin resistance and the metabolic syndrome? *Essays in Biochemistry*, no. 42, pp. 163–176. <https://doi.org/10.1042/bse0420163> (In English)
- Silveira Rossi, J. L., Barbalho, S. M., Reverete de Araujo, R. et al. (2022) Metabolic syndrome and cardiovascular diseases: Going beyond traditional risk factors. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, vol. 38, no. 3, article e3502. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3502> (In English)
- Yin, D. D., Wang, Q. C., Zhou, X., Li, Y. (2017) Endothelial dysfunction in renal arcuate arteries of obese Zucker rats: The roles of nitric oxide, endothelium-derived hyperpolarizing factors, and calcium-activated K<sup>+</sup> channels. *PLoS One*, vol. 127, no. 812, article e0183124. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183124> (In English)
- Zhang, H., Sun, T., Cheng, Y. et al. (2022) Impact of metabolic syndrome and systemic inflammation on endothelial function in postmenopausal women. *Turk Kardiyol Dern Ars*, vol. 50, no. 1, pp. 57–65. <https://doi.org/10.5543/tkda.2022.47443> (In English)



УДК 612.1/.8

EDN AXQCKZ

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-94-103>

## Устойчивые сочетания поведенческих актов у высокоэнтропийных и низкоэнтропийных крыс в процессе адаптации к условиям «открытого поля»

И. В. Червова <sup>✉1</sup>, И. И. Шахматов <sup>1</sup>, Л. Е. Обухова <sup>1</sup>, Ю. А. Бондарчук <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Алтайский государственный медицинский университет, 656038, Россия, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 40

### Сведения об авторах

Ирина Васильевна Червова, SPIN-код: 8384-9056, ResearcherID: ICD-4772-2023, ORCID: 0000-0002-0075-2777, e-mail: [i021172@yandex.ru](mailto:i021172@yandex.ru)

Игорь Ильич Шахматов, SPIN-код: 1574-4980, Scopus AuthorID: 6506703217, ResearcherID: B-4688-2019, ORCID: 0000-0002-0979-8560, e-mail: [iish59@yandex.ru](mailto:iish59@yandex.ru)

Лариса Евстигнеевна Обухова, SPIN-код: 1391-7675, Scopus AuthorID: 57191927675, ResearcherID: JCN-6285-2023, ORCID: 0000-0001-7569-7656, e-mail: [lirisse@yandex.ru](mailto:lirisse@yandex.ru)

Юлия Алексеевна Бондарчук, SPIN-код: 2332-4170, Scopus AuthorID: 57191927675, ResearcherID: JCO-1270-2023, ORCID: 0000-0002-2661-5965, e-mail: [bondarchuk2606@yandex.ru](mailto:bondarchuk2606@yandex.ru)

**Для цитирования:** Червова, И. В., Шахматов, И. И., Обухова, Л. Е., Бондарчук, Ю. А. (2024) Устойчивые сочетания поведенческих актов у высокоэнтропийных и низкоэнтропийных крыс в процессе адаптации к условиям «открытого поля». *Интегративная физиология*, т. 5, № 1, с. 94–103. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-94-103>  
EDN AXQCKZ

**Получена** 4 сентября 2023; прошла рецензирование 2 февраля 2024; принята 10 февраля 2024.

**Финансирование:** Исследование осуществлено при финансовой поддержке ООО фирмы «Технология-Стандарт» (г. Барнаул).

**Права:** © И. В. Червова, И. И. Шахматов, Л. Е. Обухова, Ю. А. Бондарчук (2024). 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.** Работа посвящена изучению процессов поведенческой адаптации животных как элементу копинг-стратегии. Исследовательское поведение имеет определенную структуру, предполагающую наиболее эффективный сценарий адаптации животного к стрессогенной ситуации, создаваемой в искусственных условиях эксперимента (открытое поле). Энтропия поведения как мера упорядоченности или неупорядоченности поведения в «открытом поле» предполагает различные варианты присутствия и чередования поведенческих актов. Поведенческие акты «локомоция» и «неподвижность» имеют специфический характер динамики включения в поведенческий сценарий у низкоэнтропийных и высокоэнтропийных животных. Учет отдельно взятых поведенческих актов не является достаточным критерием для определения особенностей существующих в конкретно заданной популяции животных определенных копинг-стратегий. Для этого необходимо учитывать конкретные сочетания поведенческих актов в ходе экспериментальных серий. Такой устойчивой вариативной группой является сочетание некоторых поведенческих актов относительно друг друга. Вариации между поведенческими актами «груминг» и «обнюхивание» с другими актами, включенными в анализ поведения в соответствии с методикой И. Ю. Забродина, приобретают различный вид у животных, включенных в группы, различающиеся по показателю энтропии. Исследование вероятностного присутствия тех или иных поведенческих актов у крыс, отличающихся по показателю энтропии поведения, показывает наличие поведенческих диад, маркеров, характерных для высокоэнтропийных или низкоэнтропийных животных.

**Ключевые слова:** открытое поле, поведенческая адаптация, паттерны поведения, крысы, энтропия поведения, копинг-стратегии

# Stable combinations of behavioral acts in high- and low-entropy rats during adaptation to the 'open field'

I. V. Chervova <sup>✉1</sup>, I. I. Shakhmatov <sup>1</sup>, L. E. Obukhova <sup>1</sup>, Yu. A. Bondarchuk <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Altai State Medical University, 40 Lenin Ave., Barnaul 656038, Russia

## Authors

Irina V. Chervova, SPIN: 8384-9056, ResearcherID: JCD-4772-2023, ORCID: 0000-0002-0075-2777, e-mail: [i021172@yandex.ru](mailto:i021172@yandex.ru)

Igor I. Shakhmatov, SPIN: 1574-4980, Scopus AuthorID: 6506703217, ResearcherID: B-4688-2019, ORCID: 0000-0002-0979-8560, e-mail: [iish59@yandex.ru](mailto:iish59@yandex.ru)

Larisa E. Obukhova, SPIN: 1391-7675, Scopus AuthorID: 57191927675, ResearcherID: JCN-6285-2023, ORCID: 0000-0001-7569-7656, e-mail: [lirisise@yandex.ru](mailto:lirisise@yandex.ru)

Yulia A. Bondarchuk, SPIN: 2332-4170, Scopus AuthorID: 57216651382, ResearcherID: JCO-1270-2023, ORCID: 0000-0002-2661-5965, e-mail: [bondarchuk2606@yandex.ru](mailto:bondarchuk2606@yandex.ru)

**For citation:** Chervova, I. V., Shakhmatov, I. I., Obukhova, L. E., Bondarchuk, Yu. A. (2024) Stable combinations of behavioral acts in high- and low-entropy rats during adaptation to the 'open field'. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 1, pp. 94–103. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-1-94-103> EDN AXQCKZ

**Received** 4 September 2023; reviewed 2 February 2024; accepted 10 February 2024.

**Funding:** The study was carried out with the financial support of LLC firm *Technologiya-Standart* (Barnaul).

**Copyright:** © I. V. Chervova, I. I. Shakhmatov, L. E. Obukhova, Yu. A. Bondarchuk (2024). 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 work is devoted to the study of behavioral adaptation in animals as an element of the coping strategy. Our research followed a certain pattern which involved the most effective scenario for the animal's adaptation to stress artificially generated in experimental conditions ('open field'). The entropy of behavior, as a measure of the order or disorder of behavior in the 'open field', implies various options of the presence and alternation of behavioral acts. In particular, 'locomotion' and 'immobility' have specific dynamics of inclusion in the behavioral scenario in low- and high-entropy animals. Considering individual behavioral acts is not sufficient to determine the characteristics of specific coping strategies in a given animal population. To do this, we should factor in specific combinations of behavioral acts during experimental series. Such a stable variable group is a relative combination of a number of behavioral acts. Variations between such behavioral acts as 'grooming' and 'sniffing' along with other acts included in the analysis of behavior in accordance with I. Y. Zaborodin's methodology look different in animals included in groups that vary in entropy. The study of the probabilistic presence of certain behavioral acts in rats that differ in the entropy of behavior shows the presence of behavioral dyads — markers typical of high- or low-entropy animals.

**Keywords:** open field, behavioral adaptation, behavioral patterns, rats, entropy of behavior, coping strategies

## Введение

Изучение процессов высшей нервной деятельности филогенетически развитых позвоночных животных сопряжено с наличием объективных затруднений в интерпретации результатов и необходимости соблюдения множества условий в организации эксперимента. Если человек, при всей сложности организации его мозга, может быть изучен комплексно, включая определение психологического, нейрофизиологического статуса текущих состояний и индивидуально-типологических особенностей, то интерпретация сведений и данных об особенностях функционирования центральной нервной системы (ЦНС) и высшей нервной деятельности (ВНД) животных исходит из детального анализа поведения. По И. П. Павлову (Гиппенрей-

тер 1988; Юдицкий и др. 2014), особенности ВНД животных могут быть определены с помощью демонстрируемых в ходе эксперимента вариаций проявляемых поведенческих актов. Ряд авторов соотносит характеристики ВНД со скоростью выработки условных рефлексов (Забродин и др. 1983), с характером протекающих вегетативных реакций (Маркель 1981). Поведение рассматривается как динамичная и генетически детерминированная система, целью которой является достижение адаптации к стресс-факторам среды (Беяков и др. 2022; Бережной и др. 2015; Кожемякина и др. 2016).

Вместе с тем можно отметить наличие методологических проблем изучения особенностей ВНД животных. Так, Р. Хайнд (Хайнд 1975) полагает, что для описания поведения на практике применяются два основных подхода: учет

силы, амплитуды, организации физиологических реакций, систем организма и описание так называемого поискового поведения. Метод поискового поведения предполагает нахождение животного в стрессовой ситуации, в замкнутом пространстве с ярким освещением и необходимостью поиска выхода из круга (квадрата) (Калуев 2002). Это позволяет исследователю зафиксировать определенные типологически очерченные комплексы характеристик поведения животного.

Точное определение особенностей ВНД, проявляемых в ходе поведенческой адаптации, остается достаточно проблематичным, поскольку один и тот же поведенческий акт интерпретируется диаметрально противоположными эмоциональными и вегетативными состояниями субъекта (Забродин и др. 1983; Шекунова и др. 2013).

Важно понимать, что сам факт проявления двигательной активности — это общебиологическая особенность животных, связанная с необходимостью добывать пищу, проявление поисковой активности (копинг-стратегии), поэтому в отношении таких мелких млекопитающих, как крысы или мыши, эта двигательная детерминанта может быть связана и с высоким уровнем энергообмена. В связи с вышеизложенным интерпретировать «локомоцию», включая ее как аргумент в обоснование «высокоактивного» поведения, не имеет смысла без подкрепления сведениями, характеризующими работу других систем организма в ситуации стресса у изучаемого биологического вида. Акт «сидение» может, на первый взгляд, означать отсутствие каких-либо реакций и событий, но при детальном рассмотрении неподвижность — это реакция переключения от одного поведенческого акта к другому и вполне может быть активно проявлена у так называемых высокоактивных животных. Сидение может сопровождаться интенсивным вегетативным напряжением, поэтому Ю. А. Александровский трактует эту «пассивность» как диаметрально различные

состояния — от своеобразной защиты до депрессивноподобного состояния (Вальдман, Александровский 1987). Анализ включения в поведение животного тех или иных поведенческих актов, их частоты и вероятности сочетаний друг с другом — это следование фундаментальности в представлениях о поведении. Н. А. Бернштейн (Бернштейн 1990) определяет чередование актов как необходимость сочетания «локомоции» и афферентного синтеза.

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение поведенческих паттернов, являющихся маркерами индивидуально-типологических особенностей ВНД, исходя из результатов определения энтропии поведения крыс по методике И. Ю. Забродина в тесте «открытого поля».

### Материалы и методы

Эксперимент был проведен на 30 белых крысах-самцах линии Вистар, которых содержали в стандартных условиях вивария в соответствии с правилами содержания и ухода за лабораторными животными. Сессии определения показателя энтропии поведения (на протяжении четырех суток, ежедневно в течение пяти минут) проводили в утреннее время, в освещенном «открытом поле», в условиях, исключающих влияние дополнительных звуковых или визуальных стимулов. Животные были распределены на четыре группы, отличающиеся друг от друга по показателю энтропии поведения (табл. 1). Показатель «энтропии поведения» был рассчитан по формуле:

$$H = - \sum P_i \log_2 P_i - \sum P_{ij} \log_2 P_{ij} - \sum P_{ijk} \log_2 P_{ijk}$$

где  $H$  — показатель энтропии,  $P_i$  — вероятность появления  $i$ -го поведенческого акта;  $P_{ij}$  — вероятность появления  $i$ -го поведенческого акта за  $j$ -м состоянием;  $P_{ijk}$  — вероятность следования трех поведенческих актов друг за другом.

Табл. 1. Энтропия поведения крыс в открытом поле в течение экспериментальной серии

Группы животных / количество животных в группе	1/11	2/8	3/6	4/6
Показатель энтропии (E)	1,286 ± 0,098	1,173 ± 0,062	1,019 ± 0,054	0,771 ± 0,115
p-значение при $\alpha = 0,05$	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001

Table 1. Entropy of rat behavior in an open field during the experimental series

Animal groups / number of animals in a group	1/11	2/8	3/6	4/6
Entropy index (E)	1.286 ± 0.098	1.173 ± 0.062	1.019 ± 0.054	0.771 ± 0.115
p value at $\alpha = 0.05$	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001

Исходя из вероятности проявления тех или иных поведенческих актов (локомоция (движение животного по замкнутому периметру поля), обнюхивание, вертикальная стойка, груминг, неподвижность, движение на месте, норковый рефлекс, вертикальная стойка на стенку) определялась некая поведенческая системность. Автор методики (И. Ю. Забродин) соотносит показатель энтропии с индивидуально-типологическими особенностями ВНД. По полученным результатам в «высокоэнтропийную» группу определены 11 крыс (средний показатель энтропии поведения — 1,286), в «низкоэнтропийную» — 6 (0,771).

### Результаты и обсуждение

Подробный анализ вероятностного проявления тех или иных поведенческих форм активности показал, что ряд актов имел преимущественную представленность в ходе экспериментальных серий. Так, вероятность проявления поведенческих актов «локомоция» (средние арифметические показатели представленности данного акта животных двух выделенных по показателю энтропии групп — 0,228/0,237,  $\Delta = 0,089/0,105$ ), «обнюхивание» (0,169/0,159,

$\Delta = 0,078/0,063$ ), «вертикальная стойка на стенку» (0,19/0,27,  $\Delta = 0,035886493/0,01030690$ ) существенно больше в сравнении с иными поведенческими актами, что показывает определенное их превалирование над другими формами поведения у всех групп животных. Однако показатель вероятности представленности данных поведенческих актов у низкоэнтропийных и высокоэнтропийных особей имел достоверные отличия. Предположительно это может быть связано с тем, что вероятность появления каждого элементарного поведенческого акта связана или упорядочена в соответствии с особой, свойственной каждой отдельной группе адаптивной стратегией к стрессовым условиям «открытого поля» (Забродин и др. 1983). По мнению И. Ю. Забродина, преобладание акта «локомоция» (к примеру, количество пересеченных квадратов) свидетельствует о наличии бедного поведенческого арсенала, когда животное перемещается, проявляя низкую адаптивность в заданных, стрессовых условиях. Это подтверждается полученными нами данными, поскольку и высокоэнтропийные, и низкоэнтропийные животные практически одинаково проявляли присутствие поведенческих актов «локомоция» (пересечение квадратов) и «сидение» (табл. 2).

Табл. 2. Показатели проявления актов «локомоция» и «сидение» в ходе эксперимента группами с высокой и низкой энтропией поведения

	Вероятность проявления акта «локомоция»	Вероятность проявления акта «сидение»
Группа животных с показателем высокой энтропии (H)	0,26 ± 0,006 при p < 0,05	0,056 ± 0,004 при p < 0,02
Группа животных с показателем низкой энтропии (H)	0,29 ± 0,007 при p < 0,05	0,034 ± 0,002 при p < 0,02

Table 2. Indicators of the manifestation of the acts of 'locomotion' and 'sitting' during the experiment with groups with high and low entropy of behavior

	Probability of 'locomotion'	Probability of 'sitting'
Group of animals with a high entropy index (H)	0.26 ± 0.006 at p < 0.05	0.056 ± 0.004 at p < 0.02
Group of animals with a low entropy index (H)	0.29 ± 0.007 at p < 0.05	0.034 ± 0.002 at p < 0.02

Таким образом, и «богатый», и «бедный» поведенческий арсенал включал присутствие двигательных актов, обязательных для поведенческой адаптации данного биологического вида, определявших копинг-стратегию, а не частные особенности ВНД. Первая минута поведенческой адаптации к «открытому полю» и для «высокоэнтропийных», и для «низкоэнтропийных» крыс характеризуется максимальным показателем

вероятности включения акта «локомоция» в поведенческий сценарий. Анализ гистограммы, характеризующей динамику вероятности проявления акта «локомоция» в течение пяти минут эксперимента, показывает снижение включаемости этого акта в поведенческий арсенал в ходе адаптации к «открытому полю» у «высокоэнтропийных» животных на 29,9% (рис. 1А), у «низкоэнтропийных» — на 11% (рис. 1В).

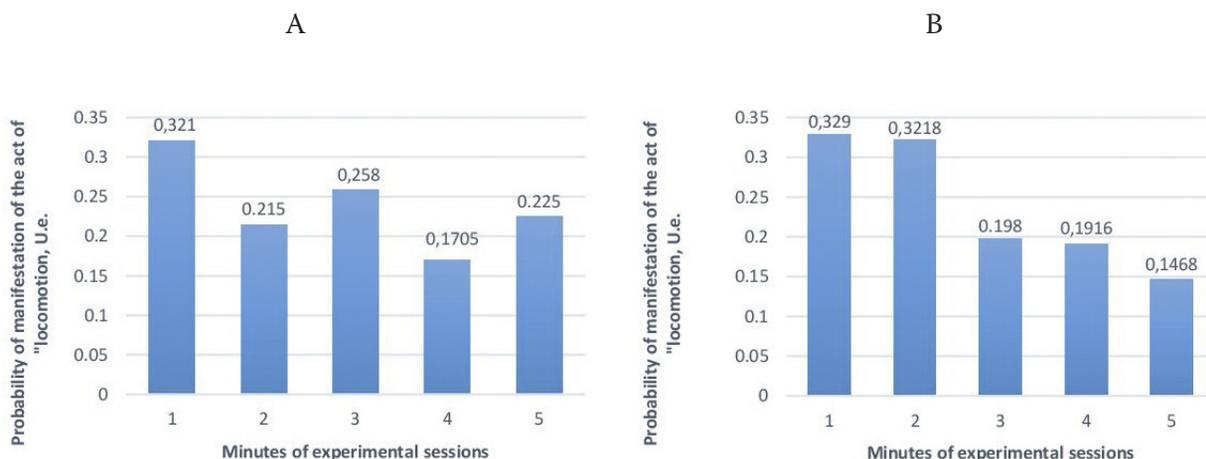


Рис. 1. Динамика вероятностного проявления поведенческого акта «локомоция» в ходе экспериментальных серий. А — крысы с высоким показателем энтропии. В — крысы с низким показателем энтропии

Fig. 1. Dynamics of probabilistic manifestation of the behavioral act of 'locomotion' during experimental series. A — rats with a high entropy score. B — rats with a low entropy score

Достаточно устойчивое нарастание присутствия акта «неподвижность» у двух групп, противоположно различающихся по показателю энтропии поведения, свидетельствует в пользу суждения о том, что показатель двигательной активности не определяется только лишь фактом проявления поведенческой пассивности в эксперименте. Очевидно, что имеет значение наличие неких паттернов поведения, которые позволяют выявить индивидуально-типологические различия в группе, разделив животных по показателю энтропии поведения. Вместе с тем, как было отмечено И. Ю. Забродиным (Забродин и др. 1983), заметные колебания вероятности тех или иных актов свойственны лишь тем формам поведения, которые не играют определяющей роли в структуре поведенческой адаптации. Учет отдельно взятых поведенческих актов не является достаточным критерием для определения особенностей ВНД, поэтому необходимо учитывать конкретные сочетания поведенческих актов в ходе экспериментальных серий. Анализ гистограммы, характеризующей динамику вероятности проявления акта «неподвижность» у «высокоэнтропийных» животных, показывает повышение включаемости этого акта в поведенческий арсенал в ходе адаптации к «открытому полю» на второй минуте по сравнению с первой на 79,2%, на третьей по сравнению со второй — на 35,6%, на четвертой по сравнению с третьей — на 30,08%, на пятой по сравнению с четвертой — на 32,1% (рис. 2А). Вместе с тем у «низкоэнтропийных»

животных в первые две минуты поведенческий акт «неподвижность» не проявляется. На четвертой минуте по сравнению с третьей показатель вероятности акта «неподвижность» снижается на 47,52%, однако с четвертой на пятую повышается на 84,4% (рис. 2В). Динамика вероятности проявления поведенческого акта «неподвижность» имеет характер нарастания в течение опытных серий, однако существенно различается у высокоэнтропийных и низкоэнтропийных крыс.

По результатам наших исследований такой устойчивой вариативной группой является следование некоторых поведенческих актов относительно друг друга. Так, частота такого поведенческого акта, как «груминг», определяет частоту проявления актов «вертикальная стойка» ( $r = 0,4705$ ), «вертикальная стойка на стенку» ( $r = 0,138$ ), «неподвижность» ( $r = 0,181$ ). В то же время «груминг» определяется проявлением актов «движение на месте» ( $r = 0,477$ ), «обнюхивание» ( $r = 0,432$ ), «локомоция» ( $0,327$ ). Иными словами, устойчивые сочетания поведенческих актов «груминг — вертикальная стойка», «груминг — вертикальная стойка на стенку», «груминг — неподвижность», «движение на месте — груминг», «обнюхивание — груминг», «локомоция — груминг» являются наиболее встречающимися «диадами», переходящими друг в друга и определяющими условный поведенческий «рисунок» конкретного животного (Юдицкий и др. 2014). Учитывая, что многие исследователи определяют «груминг»

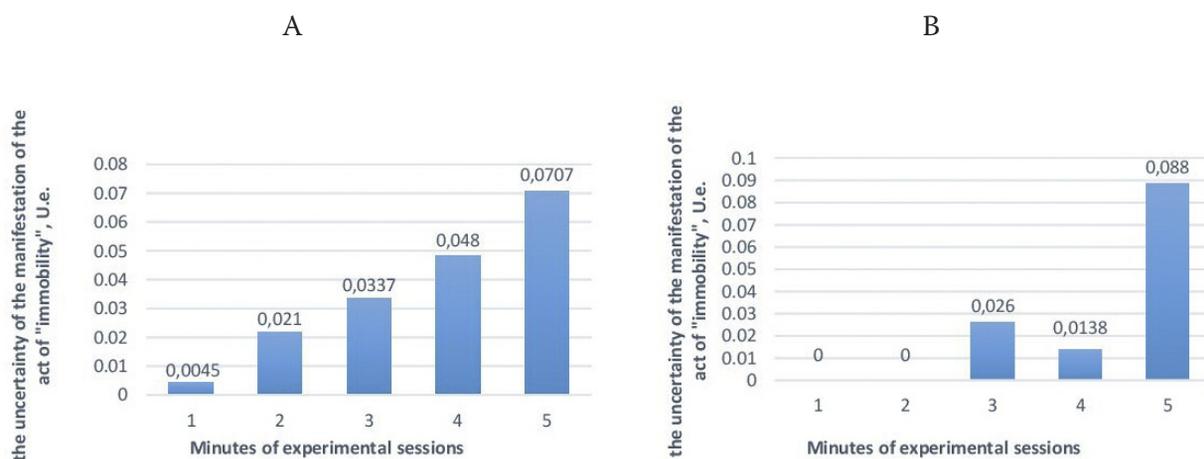


Рис. 2. Динамика вероятностного проявления поведенческого акта «неподвижность» в ходе экспериментальных серий. А — крысы с высоким показателем энтропии. В — крысы с низким показателем энтропии

Fig. 2. Dynamics of probabilistic manifestation of the behavioral act of 'immobility' during experimental series. A — rats with a high entropy score. B — rats with a low entropy score

как некое состояние, обратно пропорционально отражающее наличие уровня тревожности, как внешний маркер наличия интенсивных эмоциональных переживаний в ходе адаптации к стресс-факторам (Ахмадеев и др. 2015; Геворкян 2017; Калуев 2002) или проявление «смещенной активности» (Бережной и др. 2015), когда животное не может исключить обстановочные факторы и не имеет возможности их преодолеть, данный поведенческий акт служит некой предпосылкой для следования другого поведенческого акта, или животные заканчивают какой-либо локомоторный компонент исследования поля.

Другими поведенческими диадами являются «обнюхивание — движение на месте» ( $r = 0,343$ ), «вертикальная стойка — обнюхивание» ( $r = 0,466$ ), «вертикальная стойка на стенку — обнюхивание» ( $r = 0,458$ ), «локомоция — обнюхивание» ( $r = 0,216$ ). «Обнюхивание» можно охарактеризовать как поведенческий акт, свидетельствующий о перцептивной активности животного, которая идет на смену поисковой активности, выражаемой в виде локомоции. Это подтверждает отсутствие коррелятивных связей между актами «обнюхивание — локомоция», а также «обнюхивание — норковый рефлекс». Эти акты являются яркими маркерами поисковой активности (Апратин и др. 2021; Симонов 1987), выражаемой в движении во всех возможных плоскостях (включая «вертикальные стойки»), основой которых является изучение пространства через локомоцию. Изучение пространства

через сенсорные каналы имеет иной характер, поскольку оглядывание, обнюхивание пространства — это дистантные способы осуществить сбор сигналов об окружающей среде. Вместе с тем характер связей между поведенческими актами в диадах имеет различный вид у крыс, отличающихся по показателю энтропии поведения ( $H$ ) (табл. 3). Так, у высокоэнтропийных животных «вертикальная стойка» определяет вероятность проявления акта «обнюхивание» ( $r = -0,491$ ), вместе с тем у низкоэнтропийных животных, напротив, «обнюхивание» определяет возникновение диады «обнюхивание — вертикальная стойка» ( $r = 0,15$ ). «Движение на месте» определяется предшествующим актом «обнюхивание» ( $r = 0,411$ ) у высокоэнтропийных животных, этот же поведенческий акт предшествует «обнюхиванию» у низкоэнтропийных животных ( $r = 0,152$ ). «Обнюхивание» является или причиной, или следствием поведенческих актов так называемой поисковой активности, характеризуя состояние перехода от движения как такового (причем зачастую в вертикальной плоскости) к сенсорной перцепции сигналов извне. Однако высокая энтропия поведения предполагает большее включение акта «движения на месте» как способности оперативно переключить поведенческую стратегию с одной направленности (сенсорная перцепция) на другую («локомоция»). У низкоэнтропийных животных акт «обнюхивание» не проявляет подобной прочной связи с актом «движение на месте».

Табл. 3. Взаимозависимость проявления акта «обнюхивание» с другими поведенческими актами в ходе экспериментальных серий

Группы крыс, отличающиеся по показателю Н (энтропия поведения)	Коэффициенты корреляции между показателем вероятности проявления поведенческого акта «обнюхивание» и вероятностью появления актов			
	Неподвижность	Вертикальная стойка	Движение на месте	Вертикальная стойка на стенку
Высокоэнтропийные крысы	-0,374*	-0,491**	0,411**	-0,202
Низкоэнтропийные крысы	-0,219	0,150	-0,152	-0,525**

Примечание: \* — при  $p < 0,005$ , \*\* — при  $p < 0,001$ .

Table 3. Interdependence between the manifestation of 'sniffing' and other behavioral acts during the experimental series

Groups of rats that differ by the H indicator (entropy of behavior)	Coefficients of correlation between the probabilities of 'sniffing' and other acts			
	Immobility	Vertical stand	Movement on the spot	Vertical rack on the wall
High-entropy rats	-0.374*	-0.491**	0.411**	-0.202
Low-entropy rats	-0.219	0.150	-0.152	-0.525**

Note: \* —  $p < 0.005$ , \*\* —  $p < 0.001$ .

«Груминг» (табл. 4) у высокоэнтропийных животных является скорее «следствием», чем «причиной» следования других поведенческих актов за данным поведенческим актом. Низкоэнтропийные животные, проявляя в ряде случаев данную особенность в своей копинг-стратегии, демонстрируют значительную зависимость между вероятностью проявления поведенческого акта «груминг» и актами «неподвижность» ( $r = -0,655$ ), «вертикальная

стойка» ( $r = -0,708$ ), «движение на месте» ( $r = -0,211$ ). Данные поведенческие особенности имеют более стойкий вид у низкоэнтропийных животных и говорят в пользу версии о том, что «груминг» — это своеобразный способ сместить поисковую активность на заместительный акт, обращенный, вследствие присутствующей тревожности животного, на себя, а не на исследование пространства (Бернштейн 1990; Геворкян 2017).

Табл. 4. Взаимозависимость проявления акта «груминг» с другими поведенческими актами в ходе экспериментальных серий

Группы крыс, отличающиеся по показателю Н (энтропия поведения)	Коэффициенты корреляции между показателем вероятности проявления поведенческого акта «груминг» и вероятностью появления актов			
	Неподвижность	Вертикальная стойка	Движение на месте	Вертикальная стойка на стенку
Высокоэнтропийные крысы	-0,140	0,050	-0,604**	-0,005
Низкоэнтропийные крысы	-0,655**	-0,708**	-0,211*	0,630**

Примечание: \* — при  $p < 0,005$ , \*\* — при  $p < 0,001$ .

Table 4. Interdependence between the manifestation of 'grooming' and other behavioral acts during the experimental series

Groups of rats that differ by the H indicator (entropy of behavior)	Coefficients of correlation between the probabilities of 'grooming' and other acts			
	Immobility	Vertical stand	Movement on the spot	Vertical rack on the wall
High-entropy rats	-0.140	0.050	-0.604**	-0.005
Low-entropy rats	-0.655**	-0.708**	-0.211*	0.630**

Note: \* —  $p < 0.005$ , \*\* —  $p < 0.001$ .

## Заключение

Таким образом, исследование вероятностного присутствия тех или иных поведенческих актов у крыс, отличающихся по показателю энтропии поведения, показывает наличие поведенческих диад, маркеров, характерных для высокоэнтропийных или низкоэнтропийных животных. В частности, у животных, отличающихся по показателю энтропии поведения, проявляется различный поведенческий «рисунок». Проявление различных копинг-стратегий животными характеризуется включением конкретных сочетаний поведенческих актов (диад) животными, имеющими определенную адаптивную функцию к стрессовым факторам окружающей среды.

## 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

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым этическим комитетом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Все лица, вошедшие в исследование, подписали письменное информированное добровольное согласие.

## Ethics Approval

This study complies with the standards of the Declaration of Helsinki and has been approved

by the Independent Ethics Committee of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education ASMU of the Ministry of Health Care of the Russian Federation. All the parties involved in the study have signed a written voluntary informed consent.

## Вклад авторов

- a. Червова Ирина Васильевна — разработка концепции, проведение исследования;
- б. Шахматов Игорь Ильич — проведение исследования, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи;
- в. Обухова Лариса Евстигнеевна — разработка концепции, подготовка и редактирование текста;
- г. Бондарчук Юлия Алексеевна — проведение исследования.

## Author Contributions

- a. Irina V. Chervova — concept development, research;
- б. Igor I. Shakhmatov — conducting the research, preparing and editing the text, approving the final version of the article;
- с. Larisa E. Obukhova — concept development, text preparation and editing;
- d. Yulia A. Bondarchuk — conducting the study.

## Благодарности

Авторы выражают благодарность руководству кафедры нормальной физиологии АГМУ за существенную помощь в организации эксперимента.

## Acknowledgements

The authors express their gratitude to the leadership of the Department of Normal Physiology, ASMU, for significant assistance in organizing the experiment.

## Литература

- Апрятин, С. А., Жуков, И. С., Манасян, А. П. и др. (2021) Влияние высокофруктозной диеты на физиологические и морфологические показатели самок крыс нокаутной линии TAAR9-KO. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*, т. 107, № 10, с. 1235–1249. <https://doi.org/10.31857/S0869813921100022>
- Ахмадеев, А. В., Галиева, Л. Ф., Леушкина, Н. Ф. (2015) Половые различия грумिंगа и уровней тревожности у предпочитающих алкоголь крыс. *Современные проблемы науки и образования*, № 5. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=21495> (дата обращения 13.08.2023)
- Беляков, В. И., Громова, Д. С., Попова, Н. Р., Мякишева, Ю. В. (2022) Современные методы изучения поведения грызунов в модельных биомедицинских исследованиях (обзор проблемы). *Современные вопросы*

- биомедицины, т. 6, № 4. [Online]. URL: [https://doi.org/10.51871/2588-0500\\_2022\\_06\\_04\\_1](https://doi.org/10.51871/2588-0500_2022_06_04_1) (дата обращения 02.09.2023).
- Бережной, Д. С., Киселев, Н. А., Новоселецкая, А. В. и др. (2015) Влияние акустических воздействий высокой интенсивности на поведение крыс. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*, № 2, с. 3–7.
- Бернштейн, Н. А. (1990) *Физиология движений и активность*. М.: Наука, 495 с.
- Вальдман, А. В., Александровский, Ю. А. (1987) *Психофармакотерапия невротических расстройств*. М.: Медицина, 287 с.
- Геворкян, В. С. (2017) Исследование воздействия одних и тех же стресс-факторов на поведение крыс разных видов и линий. *Электронное научное издание Альманах Пространство и Время*, т. 15, № 1. [Электронный ресурс]. URL: [http://j-spacetime.com/actual%20content/t15v1/PDF/2227-9490e-aprovr\\_e-ast15-1.2017.15.pdf](http://j-spacetime.com/actual%20content/t15v1/PDF/2227-9490e-aprovr_e-ast15-1.2017.15.pdf) (дата обращения 02.09.2023).
- Гиппенрейтер, Ю. Б. (1988) *Введение в общую психологию*. М.: Изд-во МГУ, 412 с.
- Забродин, И. Ю., Петров, Е. С., Варганиян, Г. А. (1983) Анализ свободного поведения животных на основе его вероятностных характеристик. *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*, т. 33, № 1, с. 71–80. PMID: [6837161](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6837161/)
- Калуев, А. В. (2002) *Грумминг и стресс*. М.: Авикс, 161 с.
- Кожемякина, Р. В., Коношенко, М. Ю., Сахаров, Д. Г. и др. (2016) Сравнительный анализ поведения в тесте открытого поля диких серых крыс (*Rattus norvegicus*) и серых крыс, прошедших длительный отбор на толерантное и агрессивное поведение. *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*, т. 66, № 1, с. 92–102. <https://doi.org/10.7868/S0044467716010093>
- Маркель, А. Л. (1981) К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте открытого поля. *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*, т. 31, № 2, с. 301–307. PMID: [7269779](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7269779/)
- Симонов, П. В. (1987) *Мотивированный мозг*. М.: Наука, 105 с.
- Хайнд, Р. (1975) *Поведение животных. Синтез этологии и сравнительной психологии*. М.: Мир, 855 с.
- Шекунова, Е. В., Кашкин, В. А., Макарова, М. Н., Макаров, В. Г. (2013) Влияние условий содержания и повторности тестирования на поведение крыс линии Вистар в тесте «открытое поле». *Международный вестник ветеринарии*, № 4, с. 80–88.
- Юдицкий, А. Д., Пермяков, А. А., Елисеева, А. Е. и др. (2014) Паттерны поведения и мотивации у крыс с различной прогностической устойчивостью к стрессу. *Вестник Удмуртского университета. Биология. Науки о Земле*, № 4, с. 83–90.

## References

- Akhmadeev, A. V., Galieva, L. F., Leushkina, N. F. (2015) Polovye razlichiya gruminga i urovnej trevozhnosti u predpochitayushchikh alkogol' kryis [Sex differences in grooming and levels of anxiety in alcohol-preferring rats]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya — Modern Problems of Science and Education*, no. 5. [Online]. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=21495> (accessed 13.08.2023). (In Russian)
- Apyatin, S. A., Zhukov, I. S., Manasyan, A. P. et al. (2021) Vliyaniye vysokofruktoznoj diety na fiziologicheskie i morfologicheskie pokazateli samok kryis nokautnoj linii TAAR9-KO [Investigation of a high-fructose diet on physiological, biochemical and morphological parameters of TAAR9-KO female knockout rats]. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 107, no. 10, pp. 1235–1249. <https://doi.org/10.31857/S0869813921100022> (In Russian)
- Belyakov, V. I., Gromova, D. S., Popova, N. R., Myakisheva, Yu. V. (2022) Sovremennye metody izucheniya povedeniya gryzunov v model'nykh biomeditsinskikh issledovaniyakh (obzor problemy) [Modern methods for studying rodent behavior in model biomedical studies (problem review)]. *Sovremennye voprosy biomeditsiny — Modern Issues of Biomedicine*, vol. 6, no. 4. [Online]. Available at: [https://doi.org/10.51871/2588-0500\\_2022\\_06\\_04\\_1](https://doi.org/10.51871/2588-0500_2022_06_04_1) (accessed 02.09.2023). (In Russian)
- Berezhnoj, D. S., Kiselev, N. A., Novoseletskaaya, A. V. et al. (2015) Vliyaniye akusticheskikh vozdeystviy vysokoy intensivnosti na povedeniye kryis [The influence of high-intensity sound vibration on the rats' behavior]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya — Lomonosov Biology Journal*, no. 2, pp. 3–7. (In Russian)
- Bernstein, N. A. (1990) *Fiziologiya dvizhenij i aktivnost' [Physiology of movements and activity]*. Moscow: Nauka Publ., 495 p. (In Russian)
- Gevorkyan, V. S. (2017) Issledovaniye vozdeystviya odnih i tekhn zhe stress-faktorov na povedeniye kryis raznykh vidov i liniy [Study of impact of same stress factors on behavior of rats of different species and lines]. *Elektronnoye nauchnoye izdaniye Al'manakh Prostranstvo i Vremya — Electronic Scientific Edition Almanac Space and Time*, vol. 15, no. 1. [Online]. Available at: [http://j-spacetime.com/actual%20content/t15v1/PDF/2227-9490e-aprovr\\_e-ast15-1.2017.15.pdf](http://j-spacetime.com/actual%20content/t15v1/PDF/2227-9490e-aprovr_e-ast15-1.2017.15.pdf) (accessed 02.09.2023). (In Russian)
- Gippenrejtter, Yu. B. (1988) *Vvedeniye v obshchuyu psikhologiyu [Introduction to general psychology]*. Moscow: Moscow State University Publ., 412 p. (In Russian)
- Hinde, R. (1975) *Povedeniye zhivotnykh. Sintez etologii i sravnitel'noj psihologii [Animal behaviour: A synthesis of ethology and comparative psychology]*. Moscow: Mir Publ., 855 p. (In Russian)

- Kaluev, A. V. (2002) *Gruming i stress [Grooming and stress]*. Moscow: Aviks Publ., 161 p. (In Russian)
- Kozhemyakina, R. V., Konoshenko, M. Yu. Sakharov, D. G. et al. (2016) Sravnitel'nyj analiz povedeniya v teste otkrytogo polya dikikh serykh krysv (*Rattus norvegicus*) i serykh krysv, proshedshikh dlitel'nyj otbor na tolerantnoe i agressivnoe povedenie [Comparative analysis of behavior in the open-field test in wild grey rats (*Rattus norvegicus*) and grey rats subjected to prolonged selection for tame and aggressive behavior]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 66, no. 1, pp. 92–102. <https://doi.org/10.7868/S0044467716010093> (In Russian)
- Markel', A. L. (1981) K otsenke osnovnykh kharakteristik povedeniya krysv v teste otkrytogo polya [Evaluation of the basic characteristics of rat behavior in the “open field” test]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 31, no. 2, pp. 301–307. PMID: 7269779 (In Russian)
- Shekunova, E. V., Kashkin, V. A., Makarova, M. N., Makarov, V. G. (2013) Vliyanie uslovij soderzhaniya i povtornosti testirovaniya na povedenie krysv linii Vistar v teste “otkrytoe pole” [Influence of contents and retesting behavior Wistar rats in the test “open field”]. *Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii — International Bulletin of Veterinary Medicine*, no. 4, pp. 80–88. (In Russian)
- Simonov, P. V. (1987) *Motivirovannyj mozg [A motivated brain]*. Moscow: Nauka Publ., 105 p. (In Russian)
- Valdman, A. V., Aleksandrovskij, Yu. A. (1987) Psikhofarmakoterapiya nevroticheskikh rasstrojstv [Psychopharmacotherapy of neurotic disorders] Moscow: Meditsina Publ., 287 p. (In Russian)
- Yuditskij, A. D., Permyakov, A. A., Eliseeva, A. E. et al. (2014) Patterny povedeniya i motivatsii u krysv s razlichnoj prognosticheskoj ustojchivost'yu k stressu [Patterns of behavior and motivation for rats with various prognostic resistance to stress]. *Vestnik Udmurtskogo universiteta. Seriya Biologiya. Nauki o Zemle — Bulletin of Udmurt University. Series Biology. Earth Sciences*, no. 4, pp. 83–90. (In Russian)
- Zabrodin, I. Yu., Petrov, E. S., Vartanyan, G. A. (1983) Analiz svobodnogo povedeniya zhivotnykh na osnove ego veroyatnostnykh kharakteristik [Analysis of the free behavior of an animal based on its probabilistic characteristics]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 33, no. 1, pp. 71–80. PMID: 6837161 (In Russian)