



РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ им. А. М. 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 № 3 2024**

**VOL. 5 No. 3 2024**



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/10.33910/2687-1270-2024-5-3>

2024. Том 5, № 3

2024. Vol. 5, no. 3

# 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)

### Editorial Team

Editor-in-chief

Ekaterina A. Nikitina (St Petersburg, Russia)

Deputy Editor-in-chief

Olga A. Lyubashina (St Petersburg, Russia)

### 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)

### 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)

### Редакционная коллегия

В. Г. Александров (Санкт-Петербург, Россия)

Н. М. Бажан (Новосибирск, Россия)

Б. Боназ (Гренобль, Франция)

А. Б. Буравкова (Москва, Россия)

Т. Д. Власов (Санкт-Петербург, Россия)

Дж. Вуд (Колумбус, США)

Н. В. Гуляева (Москва, Россия)

Д. Джезова (Братислава, Словакия)

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

Д. Зелена (Печ, Венгрия)

В. А. Кашкин (Санкт-Петербург, Россия)

Б. Мачадо (Сан-Паулу, Бразилия)

Е. Н. Михайлов (Санкт-Петербург, Россия)

М. П. Мошкин (Новосибирск, Россия)

П. Е. Мусиенко (Санкт-Петербург, Россия)

М. Покорский (Варшава, Польша)

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

Ш. Сабо (Ирвайн, США)

С. В. Саранцева (Санкт-Петербург, Россия)

К. Такеучи (Киото, Япония)

И. Таше (Лос-Анджелес, США)

П. Фердинанди (Сегед, Венгрия)

Ж. Хельешь (Печ, Венгрия)

Ю. Е. Шелепин (Санкт-Петербург, Россия)

### Editorial Board

Vyacheslav G. Aleksandrov (St Petersburg, Russia)

Nadezhda M. Bazhan (Novosibirsk, Russia)

Bruno Bonaz (Grenoble, France)

Lyudmila B. Buravkova (Moscow, Russia)

Timur D. Vlasov (St Petersburg, Russia)

Jackie Wood (Columbus, USA)

Natalia V. Gulyaeva (Moscow, Russia)

Daniela Jezova (Bratislava, Slovakia)

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)

Издательство РГПУ им. А. И. Герцена

191186, г. Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, д. 48

E-mail: [izdat@herzen.spb.ru](mailto:izdat@herzen.spb.ru)

Телефон: +7 (812) 312-17-41

Publishing house of Herzen State Pedagogical

University of Russia

48 Moika Emb., Saint Petersburg 191186, Russia

E-mail: [izdat@herzen.spb.ru](mailto:izdat@herzen.spb.ru)

Phone: +7 (812) 312-17-41

Объем 17,9 Мб

Подписано к использованию 29.11.2024

Published at 29.11.2024

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

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

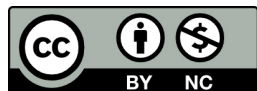
Редактор А. Г. Савельева

Корректор М. С. Огуренкова

Редактор английского текста И. А. Наговицына

Оформление обложки О. В. Рудневой

Верстка Д. В. Романовой



Санкт-Петербург, 2024

© Российский государственный

педагогический университет им. А. И. Герцена, 2024

## СОДЕРЖАНИЕ

Приветствие главного редактора .....	208
<b>Обзоры .....</b>	<b>210</b>
Никитина Е. А. Хроники физиологии: Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт .....	210
Ермолаев А. И. Как начиналась генетика в России .....	239
Москалев А. В., Апчел В. Я., Никитина Е. А. Современные аспекты организации молекул главного комплекса гистосовместимости и особенности развития иммунного ответа ....	261
Архипова Т. С., Сайфитдинова А. Ф. Методы оценки доимплантационных эмбрионов человека .....	283
<b>Экспериментальные статьи .....</b>	<b>294</b>
Щёголев Б. Ф., Илатовская Е. Ю., Никитина Е. А., Савватеева-Попова Е. В. Малые белки теплового шока способны защитить клетки млекопитающих от кофилинопатии .....	294
Сушкевич Б. М., Михалкин А. А., Любашина О. А. Эффекты колита на вовлечение серотонинергических и несеротониновых нейронов в ноцицептивную активацию ядер шва .....	307
Егорова М. А., Акимов А. Г., Хорунжий Г. Д. Проявления стимул-специфической адаптации в реакциях нейронов первичной слуховой коры бодрствующих мышей на модели последовательностей крика дискомфорта мышат .....	318
Зачепило Т. Г., Прибышина А. К. Экспрессия генов <i>mtor</i> и <i>creb1</i> в мозге медоносной пчелы при действии электромагнитного излучения 2,4 ГГц .....	325

## CONTENTS

Letter from the Editor-in-Chief .....	208
<b>Reviews .....</b>	<b>210</b>
<i>Nikitina E. A.</i> Chronicles of physiology: Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College .....	210
<i>Ermolaev A. I.</i> The origins of genetics in Russia .....	239
<i>Moskalev A. V., Apchel V. Ya., Nikitina E. A.</i> Modern aspects of the organization of molecules of the main histocompatibility complex and the development of the immune response .....	261
<i>Arkhipova T. S., Saifitdinova A. F.</i> Methods for evaluating preimplantation human embryos .....	283
<b>Experimental articles .....</b>	<b>294</b>
<i>Shchegolev B. F., Ilatovskaya E. Yu., Nikitina E. A., Savvateeva-Popova E. V.</i> Small heat shock proteins protect mammalian cells from cofilinopathy .....	294
<i>Sushkevich B. M., Mikhalkin A. A., Lyubashina O. A.</i> Effect of colitis on the involvement of serotonergic and non-serotonin neurons in the raphe nuclei nociceptive activation .....	307
<i>Egorova M. A., Akimov A. G., Khorunzhii G. D.</i> Stimulus-specific adaptation in neuronal responses in the primary auditory cortex of awake mice: A model of mouse pups wriggling call sequences .....	318
<i>Zachepilo T. G., Pribyshina A. K.</i> Expression of <i>mtor</i> and <i>creb1</i> genes in the honeybee brain under the action of electromagnetic radiation of 2.4 GHz .....	325



## Приветствие главного редактора

*Глубокоуважаемые коллеги!*

Перед Вами третий в 2024 году номер журнала «Интегративная физиология», посвященный 120-летию юбилею кафедры анатомии и физиологии человека и животных Российского государственного педагогического университета им. А. И. Герцена.

Открывает юбилейный номер обзор «Хроники физиологии: Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт» — увлекательный экскурс в историю преподавания анатомо-физиологических дисциплин в женских образовательных учреждениях — предшественниках РГПУ им. А. И. Герцена. Николаевский сиротский институт являлся активным проводником физиологических и гигиенических знаний в российском обществе того времени. Отдельного упоминания заслуживает история здания и непосредственно тех помещений, где сейчас располагается кафедра. Физиология на протяжении всей более чем двухвековой истории РГПУ им. А. И. Герцена всегда занимала и занимает ключевые позиции. Тем не менее, сегодня исследование физиологических процессов не мыслится без познания их молекулярных основ. В этой связи очень интересен обзор А. И. Ермолаева, посвященный зарождению генетики в России. Следующие два обзора, подготовленные профессорами В. Я. Апчелом и А. Ф. Сайфитдиновой, посвящены современным научным направлениям, развивающимся на кафедре — исследованиям в области иммунологии и эмбриологии. Блок экспериментальных статей представляет исследования, выполненные сотрудниками кафедры, а также коллегами и партнерами, с которыми нас связывает давнее плодотворное сотрудничество. Спектр этих исследований крайне широк и простирается от классической электрофизиологии до молекулярной генетики и молекулярного моделирования. Особенно отрадно, что во многие из этих исследований вовлечены студенты и выпускники кафедры.

Искренне поздравляю преподавателей, сотрудников, аспирантов и студентов кафедры анатомии и физиологии человека и животных РГПУ им. А. И. Герцена с юбилеем. Пусть юбилейный год будет годом новых достижений, смелых проектов и свершения творческих замыслов, благополучия и процветания, успехов в дальнейшем развитии и приумножении традиций университета!

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

*С уважением,  
главный редактор  
Е. А. Никитина*

## Letter from the Editor-in-Chief

*Dear Colleagues,*

We are pleased to present the third issue of *Integrative Physiology* for 2024. It marks the 120<sup>th</sup> anniversary of the Department of Human and Animal Anatomy and Physiology at Herzen State Pedagogical University of Russia.

This special anniversary issue begins with the review article, *Chronicles of Physiology: Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College*. This fascinating historical overview explores the teaching of anatomical and physiological disciplines at women's educational institutions — precursors to Herzen University. The Nikolaevsky Orphan College was instrumental in disseminating physiological and hygienic knowledge in the then Russia. The history of the building and the very premises where the department is now located, merits special attention. Throughout its two-century history, physiology has consistently played a central role at the university. However, today, the study of physiological processes cannot be fully understood without considering their molecular foundations. In this context, A. I. Ermolaev's review article delves into the origins of genetics research in Russia. Two additional reviews, contributed by Professors V. Ya. Apchel and A. F. Saifitdinova, focus on current research areas within the department — immunology and embryology — highlighting the ongoing advancements in these fields. The experimental articles in this issue showcase research conducted by the department staff, as well as our long-standing collaborators. The breadth of these studies spans from classical electrophysiology to molecular genetics and molecular modeling. It is particularly gratifying to note that many of these studies involve students and alumni of the department.

I would like to extend my heartfelt congratulations to the faculty, staff, graduate students, and students of the Department of Human and Animal Anatomy and Physiology at Herzen University on this significant anniversary. May this anniversary year be marked by new achievements, ambitious projects, the realization of creative ideas, and continued growth and success in advancing the university's traditions.

Finally, I would like to express my gratitude to all those who contributed to making this third issue of *Integrative Physiology* for 2024 a reality.

*Editor-in-Chief*  
*Ekaterina A. Nikitina*



Check for updates

Обзоры

УДК 372.857 + 612

EDN UVIYAX

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-210-238>

## Хроники физиологии: Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт

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) Хроники физиологии: Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт. *Интегративная физиология*, т. 5, № 3, с. 210–238. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-210-238>  
EDN UVIYAX

**Получена** 22 октября 2024; прошла рецензирование 15 ноября 2024; принята 16 ноября 2024.

**Финансирование:** Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт 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.** История женского образования в России начинается с организации закрытых женских учебных заведений, среди которых Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт занимал одну из ведущих позиций. Продолжая образовательно-воспитательные традиции Санкт-Петербургского Императорского воспитательного дома, Николаевский сиротский институт становится во главе многих педагогических начинаний. Физиология как фундаментальная опора педагогического образования всегда занимала здесь ключевые позиции. Особенно ярко это проявилось во второй половине XIX века, ознаменовавшейся бурным развитием естественных наук, что привело к возрастанию в обществе запроса на усиление естественнонаучной подготовки подрастающего поколения. Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт, будучи нацелен на обучение домашних учительниц и наставниц, не мог не отреагировать на изменившиеся условия, что отразилось в углублении изучения естествознания в целом и физиологии в частности. Организация образовательного процесса осуществлялась с обязательным учетом психофизиологических особенностей воспитанниц и принципов возрастной физиологии. Именно этим обусловлено создание Малолетнего отделения. Воспитательный процесс ставил своей целью развитие нравственной всесторонне развитой личности, большое внимание уделялось физическому и гигиеническому воспитанию. В стенах Николаевского сиротского института впервые в России зарождается профессия учительницы физкультуры. Существовала отлаженная система санитарно-гигиенического контроля и медицинского обеспечения, регулярных профилактических осмотров и проведения коррекционных мероприятий, включая лечебную физкультуру и санаторное лечение. Николаевский сиротский институт становится активным проводником физиологических и гигиенических знаний в российском обществе того времени.

**Ключевые слова:** Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт, история физиологии, преподавание физиологии, возрастная физиология, гигиеническое воспитание, женское образование

# Chronicles of physiology: Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College

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

**For citation:** Nikitina, E. A. (2024) Chronicles of physiology: Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 3, pp. 210–238. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-210-238> EDN UVIYAX

**Received** 22 October 2024; reviewed 15 November 2024; accepted 16 November 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.** The history of women's education in Russia is closely linked to the establishment of specialized institutions, with the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College playing a pivotal role. Building upon the educational traditions of the Saint Petersburg Imperial Educational House, the Orphan College led numerous pedagogical initiatives. Physiology, as a foundational element of teacher education, consistently held a central position within the institution. This was particularly evident in the second half of the 19<sup>th</sup> century, a period marked by significant advancements in natural sciences. These developments heightened societal demand for strengthening the natural science curriculum for future young professionals. In response, the Orphan College, which trained home teachers, adapted its curriculum to emphasize natural sciences and physiology. The educational approach was grounded in an understanding of the psychophysiological characteristics of students and the principles of age-related physiology, which contributed to the establishment of the Infants Department. In addition to fostering the development of a well-rounded moral character, significant attention was devoted to physical education and hygiene. Thus, the Orphan College saw the emergence of the profession of a physical education teacher. The institution also implemented a comprehensive system of sanitary oversight, medical support, and regular preventive health assessments, including physiotherapy exercises and sanatorium treatments. Thus, the Orphan College became a key promoter of physiological and hygienic knowledge in the then Russia.

**Keywords:** Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College, history of physiology, teaching physiology, age-related physiology, hygiene education, women's education

Усердие все преодолагает.  
Николай I

## Введение

Основание Санкт-Петербургского Императорского воспитательного дома — одна из ключевых вех в становлении российской системы образования и воспитания. Базовые принципы педагогического образования, осуществляемого в Воспитательном доме, были заложены в годы управления императрицы Марии Федоровны (1759–1828), удивительно сочетавшей рациональный подход и чуткое трепетное отношение к делу благотворительности и образования. В 1828 г., незадолго до смерти, она с трогательной нежностью обращалась к своим учрежде-

ниям: «Благодарю всех тех господ, которые находились под моим начальством, как в Петербурге, так и в Москве, за оказанные ими усердие и ревность. Они, конечно, всегда будут приводить себе на память, что я им столь часто повторяла — что мы должны быть единственно одушевлены желанием исполнять наши обязанности во всех отношениях, соблюдая точный и неременный ход, предписанный нашими уставами, имея попечение о сохранении привилегий Дома, соединяя все наши старания к сохранению детей, к возбуждению, по мере возможности, чувств материнских, к поданию помощи вдов и сирот, облегчению страждущей



нищеты: тогда только мы будем оказывать истинную любовь к ближнему, по великому примеру, данному нам Спасителем; тогда только мы постигнем истинный смысл правил, на коих сие заведение основано: *Дом основан на благодетели*; тогда также никакой труд не будет для нас обременительным» (Менгден 1872, 9).

После смерти Марии Федоровны император Николай I (1796–1855) принял Московский и Санкт-Петербургский воспитательные дома со всеми подведомственными им заведениями под свое покровительство. Высочайшим указом от 26 октября 1828 г. личная канцелярия императрицы была преобразована в IV Отделение Собственной Его Императорского Величества канцелярии (Полное собрание законов Российской империи... 1828, 949). С 1854 г. IV Отделение стало официально именоваться «Ведомством учреждений императрицы Марии». Согласно духовному завещанию Марии Федоровны Николай I указом от 6 декабря 1828 г. вверил надзор за воспитательными домами своей супруге императрице Александре Федоровне (1798–1860) (рис. 1) (Полное собрание законов Российской империи... 1828, 1089).

Императрица Александра Федоровна проявляла особенный интерес к деятельности женских учебных заведений, удостоивала все доклады статс-секретарей «внимательными резолюциями», часто посещала женские институты, лично присутствовала на экзаменах. В Санкт-Петербургском Императорском воспитательном доме Александра Федоровна следила за работой созданных Марией Федоровной Французских классов. Ее разрешение после 1828 г. требовалось на распределение выпускниц по разрядам (от разряда зависело жалование) (Фруменкова 2013b).

Первое время деятельность Санкт-Петербургского Императорского воспитательного дома осуществлялась в рамках заведенного Марией Федоровной порядка. Но в 1834 г. начинается реорганизация: «видя из опыта, сколь вредно для нравственного воспитания питомцев смежное расположение мужского и женского отделений Воспитательного дома и сколь необходимо отделить один пол от другого» (Тимофеев 1887, 13) в Петербурге оставлены для воспитания только девочки, мальчиков же переводят в Гатчину. В том же 1834 г. 3 марта Высочайшим повелением при обоих Воспитательных домах, Санкт-Петербургском и Московском, были устроены Сиротские отделения для 50 осиротевших обер-офицер-



Рис. 1. Портрет великой княгини Александры Федоровны с детьми — великим князем Александром Николаевичем и великой княжной Марией Николаевной. Джордж Доу, 1821–1823 гг. Собрание Государственного Эрмитажа (Источник: [https://artchive.ru/artists/714~Dzhordzh\\_Dou/works/25530~Portret\\_velikoj\\_knjagini\\_Aleksandry\\_Fedorovny\\_s\\_det'mi](https://artchive.ru/artists/714~Dzhordzh_Dou/works/25530~Portret_velikoj_knjagini_Aleksandry_Fedorovny_s_det'mi))

Fig. 1. Portrait of Grand Duchess Alexandra Feodorovna with children Grand Duke Alexander Nikolaevich and Grand Duchess Maria Nikolaevna, by George Dawe, 1821–1823. Source: Collection of the State Hermitage Museum (URL: [https://artchive.ru/artists/714~Dzhordzh\\_Dou/works/25530~Portret\\_velikoj\\_knjagini\\_Aleksandry\\_Fedorovny\\_s\\_det'mi](https://artchive.ru/artists/714~Dzhordzh_Dou/works/25530~Portret_velikoj_knjagini_Aleksandry_Fedorovny_s_det'mi))

ских детей и учреждены правила их приема (Полное собрание законов Российской империи... 1834).

Большое внимание, уделяемое образованию и медицинскому обеспечению воспитанников, а также их дальнейшему трудоустройству, привело к значительному увеличению приема детей в Воспитательный дом. Многие родители приносили своих законных детей под видом незаконнорожденных, имея в виду, что они будут содержаться на казенный счет и получают образование. Эти обстоятельства побудили Николая I к проведению реформ, направленных на уменьшение возросшего притока детей.

### Учреждение Санкт-Петербургского сиротского института

Указом от 25 июня 1837 г. было повелено впредь питомцев обоего пола воспитывать исключительно в деревнях, в крестьянских семьях, отдавать их в ученье на Александровскую мануфактуру и на казенные и частные фабрики, питомцев мужского пола, по достижении 17-летнего возраста, приписывать к казенным селениям, причисляя к крестьянским семействам, воспитанниц же оставлять в деревнях до выхода замуж или до совершеннолетия и тогда увольнять из ведомства Воспитательного дома (Менгден 1872). Комплект учебных классов был определен в количестве 500 воспитанниц в Санкт-Петербурге и 500 воспитанников в Гатчине. По мере появления свободных мест принимать в Воспитательный дом только «осиротевших обоего пола детей военных обер-офицеров и гражданской службы чиновников до 9 класса включительно, преимущественно круглых сирот, отца и матери лишившихся» (Полное собрание законов Российской империи... 1837, 595). По окончании воспитания сиротам предписывалось: мальчикам продолжать в течение шести лет службу по назначению начальства, девочкам посвящать себя званию классных дам, наставниц, воспитательниц или учительниц в учебных заведениях и частных домах также на протяжении шести лет. Сверх комплекта дозволялось принимать законнорожденных детей обоего пола чиновников военных и гражданских не старше 13 лет со взносом ежегодного платежа.

Указом от 22 ноября 1837 г. были даны уточнения относительно приема детей в Воспитательный дом, в том числе о представлении при приеме списка о службе отца сироты, свидетельства о рождении и крещении сироты, свидетельства о бедном состоянии овдовевших отца или матери либо круглой сироты, выданного гражданским губернатором, а также «свидетельства врача о состоянии здоровья сироты с означением, имел ли он естественную или прививную оспу» (Полное собрание законов Российской империи... 1837, 914). Обоего пола грудных или младше четырех лет детей помещали в грудные отделения Санкт-Петербургского воспитательного дома. Мальчиков от четырех до шести лет помещали в учрежденную при Гатчинском воспитательном доме школу малолетних детей, а девочек — в малолетнее отделение Санкт-Петербургского воспитательного дома, где они оставались до достижения 8-летнего возраста, а затем их

переводили в классы. При приеме от круглых сирот не требовали предварительных познаний, сироты же, имеющие отца или мать и достигшие 11 лет, должны были уметь читать и писать по-русски и знать четыре правила арифметики. Назначалось 25 вакансий для пансионеров обоего пола по просьбам в Опекунский совет от родственников или опекунов. Содержание воспитанника в Гатчинском воспитательном доме обходилось в 800 рублей в год, а воспитанницы в Санкт-Петербургском воспитательном доме — в 600 рублей в год. Половину платы за пансионеров (400 и 300 рублей, соответственно) вносили родственники или опекуны, половину расходов брал на себя Воспитательный дом. Пансионеры освобождались от обязанности воспитанников, находившихся на иждивении Воспитательного дома, прослужить после выпуска шесть лет. Этим же указом устанавливалось, чтобы эти учреждаемые при Воспитательном доме учебные заведения именовались Императорского Санкт-Петербургского или Гатчинского воспитательного дома Сиротский институт. По Высочайшему повелению Императора Александра II 13 марта 1855 г. эти институты получили наименование Николаевских (Полное собрание законов Российской империи... 1855).

Непосредственное управление Санкт-Петербургским сиротским институтом возлагалось на почетного опекуна, первым из которых с 1832 по 1856 г. был граф Михаил Юрьевич Виельгорский (1788–1856) (рис. 2). Сиротский институт с малолетним отделением со дня основания, а Александринский сиротский институт с 1843 по 1855 г. состояли в ведении Хозяйственной экспедиции Санкт-Петербургского воспитательного дома. В конце 1854 г. эти заведения были отделены под управление особого от Воспитательного дома почетного опекуна, 25 декабря того же года были утверждены штаты Сиротского института, согласно которым под начальством почетного опекуна находилось Управление из начальницы, инспектора классов и директора хозяйственной части. В 1869 г. Александринский сиротский институт отделен от Николаевского в части обучения и воспитания, хозяйственное же управление оставалось общим (Тимофеев 1887).

После кончины Александры Федоровны император Александр II (1818–1881) поручил попечение над воспитательными домами своей супруге императрице Марии Александровне (1824–1880) (рис. 3) (Полное собрание законов Российской империи... 1860, 202–203).



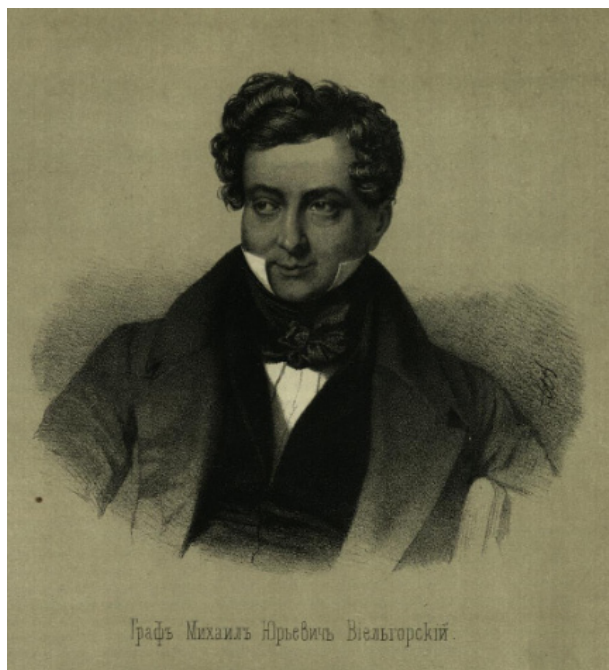


Рис. 2. Граф Михаил Юрьевич Виельгорский. Василий Федорович Тимм, тоновая литография. Русский художественный листок, 1852, №10. (Источник: [https://viewer.rusneb.ru/ru/000200\\_000018\\_RU\\_NLR\\_BIBL\\_A\\_012156464?page=3&rotate=0&theme=white](https://viewer.rusneb.ru/ru/000200_000018_RU_NLR_BIBL_A_012156464?page=3&rotate=0&theme=white))

Fig. 2. Count Mikhail Yuryevich Vielgorsky, by Vasily F. Timm, tone lithography. Source: *Russky Khudozhestvenny Listok* (Russian Art Bulletin), 1852, No. 10 (URL: [https://viewer.rusneb.ru/ru/000200\\_000018\\_RU\\_NLR\\_BIBL\\_A\\_012156464?page=3&rotate=0&theme=white](https://viewer.rusneb.ru/ru/000200_000018_RU_NLR_BIBL_A_012156464?page=3&rotate=0&theme=white))

### Расположение

Первоначальный комплект Санкт-Петербургского сиротского института был ограничен 500 воспитанницами, однако он постоянно увеличивался за счет пансионеров Императора, Императрицы, особ Императорского двора, различных ведомств и частных лиц. К 1 января 1855 г. число воспитанниц достигло 880. Это потребовало расширения помещений Сиротского института, первоначально располагавшегося в комплексе зданий Воспитательного дома на набережной реки Мойки (д. 48–50) в бывшем дворце графа Кирилла Григорьевича Разумовского. В 1851 г. был построен четырехэтажный каменный учебно-хозяйственный комплекс. На территории, занимаемой Сирот-



Рис. 3. Портрет императрицы Марии Александровны, жены Александра II. Иван Кузьмич Макаров, 1866 г. Собрание Государственного Русского музея, Михайловский замок (Источник: [https://rusmuseumvrm.ru/data/collections/painting/19\\_20/makarov\\_ik\\_portret\\_imperatricii\\_marii\\_aleksandrovni\\_1866\\_zh\\_2593/](https://rusmuseumvrm.ru/data/collections/painting/19_20/makarov_ik_portret_imperatricii_marii_aleksandrovni_1866_zh_2593/))

Fig. 3. Portrait of Empress Maria Alexandrovna, wife of Alexander II, by Ivan K. Makarov, 1866. Source: Collection of the State Russian Museum, Mikhailovsky Castle (URL: [https://rusmuseumvrm.ru/data/collections/painting/19\\_20/makarov\\_ik\\_portret\\_imperatricii\\_marii\\_aleksandrovni\\_1866\\_zh\\_2593/](https://rusmuseumvrm.ru/data/collections/painting/19_20/makarov_ik_portret_imperatricii_marii_aleksandrovni_1866_zh_2593/))

ским институтом, сложилась единая инфраструктура (рис. 4).

В 1855 г. Сиротский институт переходит под отдельное управление. С этого момента за Николаевским сиротским институтом оставлены следующие помещения. 1) Главный трехэтажный каменный корпус (рис. 5, 6), выходящий фасадом на Мойку, где располагались квартира начальницы, залы, учебные классы, спальни воспитанниц. В 1838–1839 гг. это здание было соединено с бывшим домом графа Бобринского, где впоследствии располагался Александринский сиротский дом. В 1817 г. двор перед главным корпусом был отделен от набережной Мойки железной решеткой. 2) Прилегающие перпендикулярно к главному зданию с обеих сторон два двухэтажных флигеля — Дамский и Аптекарский,

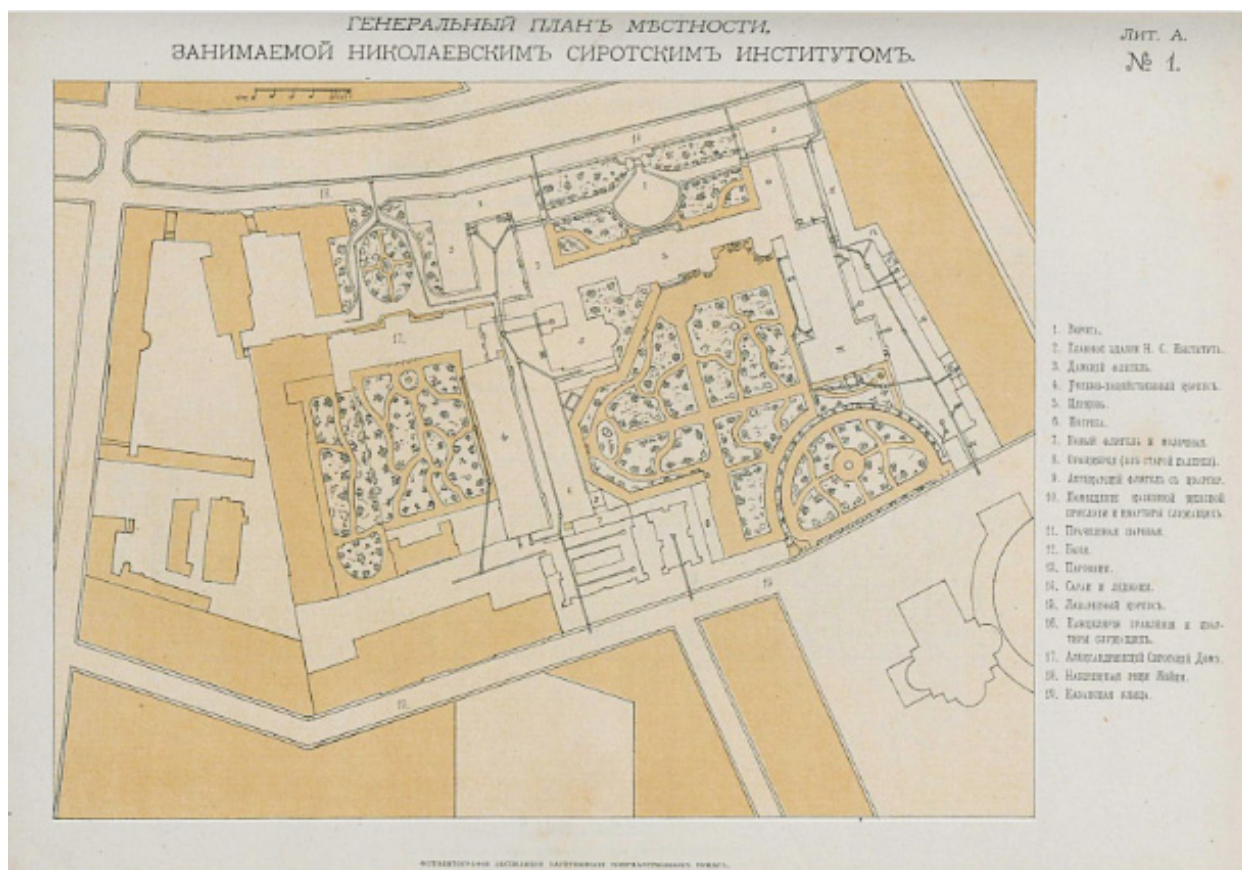


Рис. 4. План местности, занимаемой Санкт-Петербургским Николаевским сиротским институтом (Тимофеев 1887)

Fig. 4. Map of the campus of the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College (Timofeev 1887)

где помещались служащие и аптека. 3) Трехэтажный каменный лазаретный корпус слева от главного корпуса, где помещались лазарет, спальни воспитанниц и отделение французского класса. 4) Четырехэтажный каменный учебно-хозяйственный корпус (1850–1856 гг. постройки) справа от главного здания, где помещались учебные классы, столовая, кухня, пекарня и кладовые (рис. 7, 8). В 1868 г. на четвертом этаже были устроены музыкальные классы, а теперь располагается кафедра анатомии и физиологии человека и животных. 5) Трехэтажный каменный флигель, выходивший фасадом на Казанскую площадь, где помещались квартиры служащих. 6) Церковь во имя Покрова Пресвятой Богородицы (архитектор Квадри) (рис. 9) позади главного корпуса. 7) Каменные сараи на лазаретном дворе. 8) Сад позади главного здания с каменной галереей для прогулок (рис. 10), в 1877 г. перестроенной в двухэтажное здание с магазинами на первом этаже и гимнастическим залом на втором. 9) Трехэтажный каменный церковно-служительский флигель, выходивший фасадом на Казанскую площадь, на месте которого

в 1875–1877 гг. был возведен четырехэтажный доходный дом. 10) Прилежавшие к церковнослужительскому флигелю сараи (Тимофеев 1887).

В 1867 г. квартиры должностных лиц Воспитательного дома, находившиеся на территории Сиротского института, были перемещены в другое место во исполнение воли императрицы Марии Александровны о полном разграничении строений Воспитательного дома и Сиротского института (Селезнев 1878).

Малолетнее отделение первоначально размещалось на территории Санкт-Петербургского сиротского института. В 1848 г. получило статус отдельного учреждения и переехало на бывшую дачу князя Куракина на 12 версте Шлиссельбургского тракта (ныне пр. Обуховской обороны) (рис. 11). Куракина дача в 1801 г. была приобретена для Александровской мануфактуры для развития Воспитательного дома. В 1813 г. каменное здание дачи было передано Санкт-Петербургскому воспитательному дому для летнего размещения воспитанников, воспитанницы же летом размещались в деревянном здании. В 1834 г. воспитанники были перемещены





Рис. 5. Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт. Главный корпус (Тимофеев 1887)

Fig. 5. Main building of the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College. Main building (Timofeev 1887)



Рис. 6. Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт. Парадный вход (Источник: [https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/photos/lo000000288\\_1\\_m.jpg](https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/photos/lo000000288_1_m.jpg))

Fig. 6. Main entrance to the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College (URL: [https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/photos/lo000000288\\_1\\_m.jpg](https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/photos/lo000000288_1_m.jpg))

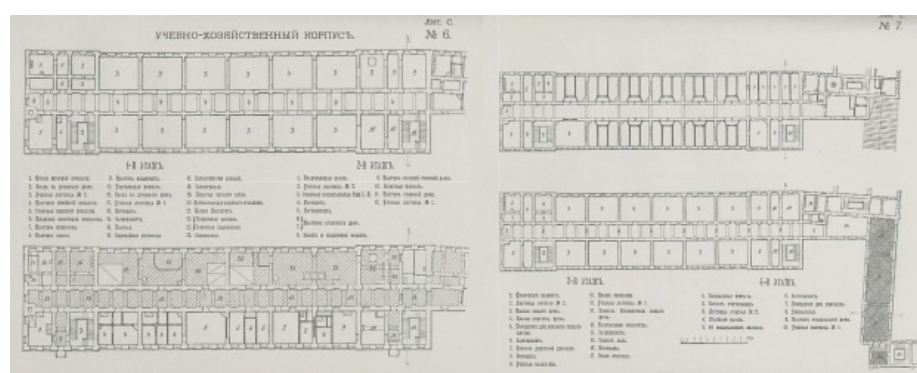


Рис. 7. Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт. Учебно-хозяйственный корпус (Тимофеев 1887)

Fig. 7. Utility building of the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College (Timofeev 1887)

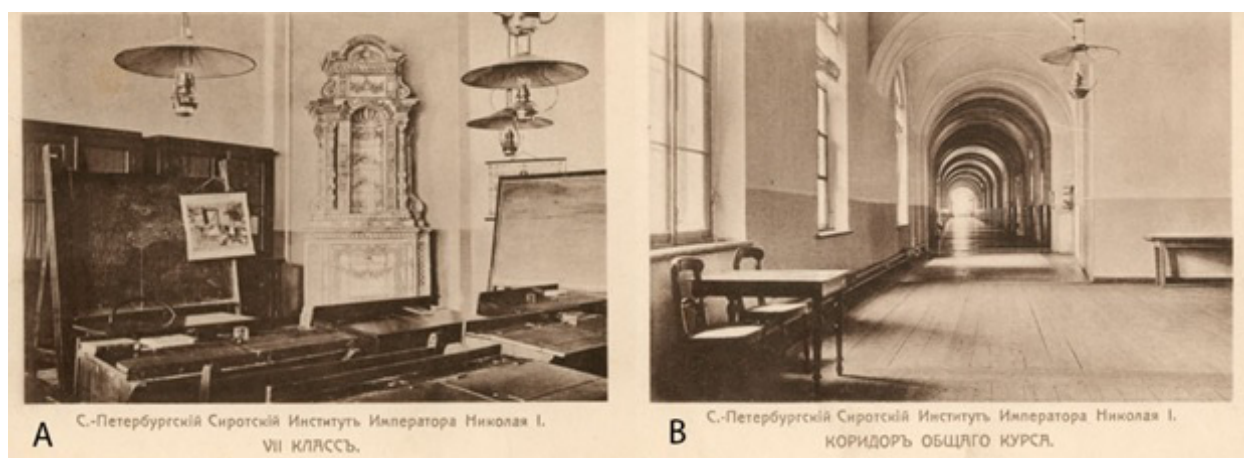


Рис. 8. Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт. А — учебный класс, В — учебно-хозяйственный корпус, коридор (Источник: <https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/arterii/2.htm>)

Fig. 8. Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College. А — classroom, В — utility building corridor (URL: <https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/arterii/2.htm>)



Рис. 9. Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт. Церковь во имя Покрова Пресвятой Богородицы (Тимофеев 1887)

Fig. 9. Chapel of the Intercession of the Most Holy Theotokos at the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College. (Timofeev 1887)





Рис. 10. Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт. А — сад, В — галерея  
(Источник: <https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/arterii/2.htm>)

Fig. 10. Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College. А — garden, В — gallery  
(URL: <https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/arterii/2.htm>)

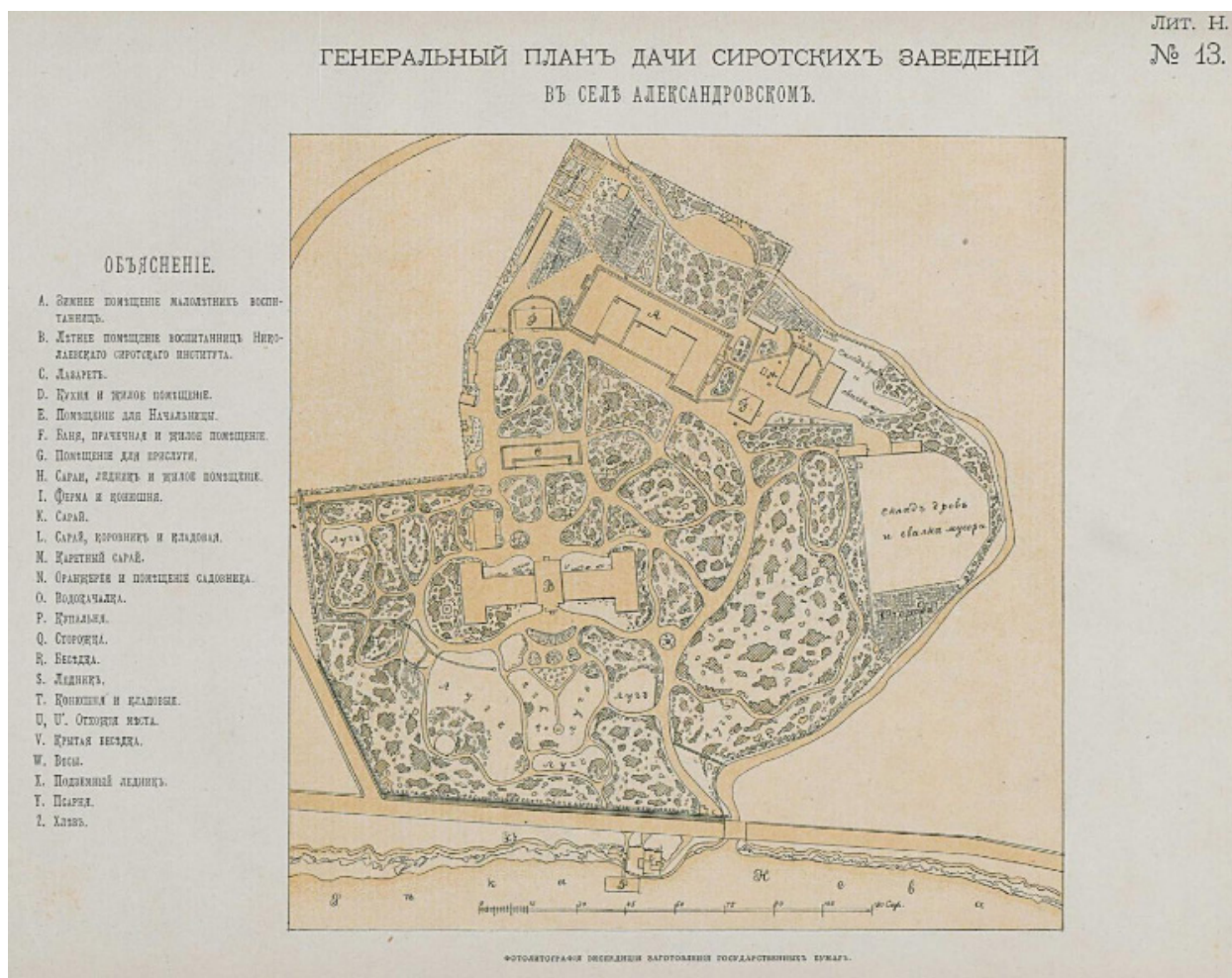


Рис. 11. План дачи сиротских заведений (Тимофеев 1887)

Fig. 11. Map of summer houses for orphans (Timofeev 1887)

в Гатчину, а воспитанницы продолжали пользоваться дачей. В 1848 г. в каменном здании было устроено помещение для Малолетнего отделения, а деревянное здание осталось для летнего пребывания воспитанниц Сиротского института (рис. 12).

В 1867 г. Малолетнее отделение было перемещено в здание Александровской мануфактуры, а на Куракиной даче устроена временная городская больница. В 1868 г. Император Александр II, осмотрев Александровскую мануфактуру, пришел к выводу о ее непригодности в силу ветхости для размещения учебных заведений. В 1869–1870 гг. Куракина дача была перестроена и расширена для размещения Малолетнего отделения и летнего пребывания воспитанниц Сиротского института. В 1869 г. Куракина дача переименована в Александровскую.

### Образование

История Санкт-Петербургского сиротского института представляет три рельефно выделяемых периода: 1) от основания Института в 1837 г. до 1852 г. — система обучения и воспитания строго придерживалась начал, начертанных императрицей Марией Федоровной; 2) 1852–1869 гг. — изменившиеся общественные условия привели к необходимости учебной реформы; 3) 1869 г. — конец XIX века — было организовано Малолетнее отделение, а также Реальное отделение под названием Николаевского женского училища (1866), организован отдельный класс учительниц французского языка, разрабо-

тан точный план педагогических курсов, вследствие чего Сиротский институт стал специальным учебно-воспитательным заведением.

Сиротский институт возник на базе Французских классов, учрежденных при Санкт-Петербургском воспитательном доме в 1808 г., и в первом периоде своего существования обучение в Институте проходило по установленному в них плану. В 1808 г. основан первый французский класс, в 1811 г. — второй, обучение в каждом длилось три года. В 1817 г. два трехлетних класса были преобразованы в три двухлетних с прибавлением еще одного года для практического преподавания. С 1817 по 1855 г. выпуск воспитанниц происходил каждые два года в апреле месяце, учебный год длился от Пасхи до Пасхи. В 1855 г. сроки выпуска воспитанниц были перенесены с апреля на январь, так они были очень востребованы в качестве наставниц и домашних учительниц среди дворян, которые зачастую приезжали в столицу только на зиму. Но эта мера просуществовала лишь до 1865 г. — после отмены крепостного права многие помещики перестали зимой посещать столицу — выпуск был перенесен на июнь, перед летними каникулами.

Составленный Марией Федоровной в 1817 г. план обучения и послужил прототипом учебного плана, просуществовавшего в Сиротском институте до 1851 г. Воспитанницы обучались Закону Божию, русскому, немецкому и французскому языкам, арифметике, чистописанию и рисованию, истории, географии, музыке, танцам и женским рукоделиям; в третьем классе



Рис. 12. Здания Санкт-Петербургского сиротского института на Александровской даче.

А — Малолетнее отделение, В — здание для летнего пребывания воспитанниц Сиротского института (Тимофеев 1887)

Fig. 12. Buildings of the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College at Aleksandrovskaya Dacha (summer house). A — Infants Department, B — the building for the summer residence of pupils of the Orphan College (Timofeev 1887)



добавлялись логика, риторика, естественная история и физика. В 1834 г. была изменена нумерация классов. Младшие классы, переведенные из Гатчинского воспитательного дома, сохранили нумерацию — 1-й и 2-й ланкастерские и 1-й и 2-й французские. 1-й, 2-й и 3-й французские классы Санкт-Петербургского воспитательного дома стали именоваться 3-й, 4-й и 5-й французские. Всего получилось семь последовательных классов — два ланкастерских и пять французских, обучение в каждом длилось по два года. Кроме того, существовал еще приготовительный класс и Малолетнее отделение, куда поступали дети 5–7 лет, состоявшее из двух классов с годичным обучением. Таким образом, весь курс обучения составлял 17 лет.

Число воспитанниц Малолетнего отделения составляло от 50 до 60. В нем было устроено два класса: младший и старший. Из старшего детей по достижении десяти лет переводили в Сиротский институт. Обучение ограничивалось элементарными сведениями, необходимыми для поступления в приготовительные классы и включало Закон Божий, чтение и письмо на русском, немецком и французском языках, арифметику, чистописание, танцы и рукоделие.

С 1837 г. классы Сиротского института были разделены на четыре последовательных отделения: приготовительный класс, младший (1-й и 2-й ланкастерский и 1-й французский), средний (2-й и 3-й французские) и старший (4-й и 5-й французские). В 1838 г. был учрежден класс для образования надзирательниц малолетних детей до семилетнего возраста, где помимо существовавших предметов преподавали практические основы обхождения с малолетними детьми. В 1843 г. были приняты меры к сокращению срока обучения, ставшего 13-летним. Был сокращен курс естественной истории и усилено преподавание французского и немецкого языков. В 1847 г. впервые установлен публичный выпускной экзамен по следующим предметам: Закон Веры, педагогика и дидактика, словесность русская, словесность французская, словесность немецкая и обзор искусств (рисование, музыка, танцы, вышивание). Таким образом, в первом периоде существования Сиротского института упор в обучении делался на изучение языков как приоритетное знание при поступлении выпускницами на службу в качестве гувернанток (причем история, география и естественная история также преподавались на иностранных языках) (рис. 13).

В 1844 г. при IV Отделении Собственной Его Императорского Величества канцелярии создан Комитет для пересмотра уставов женских учеб-

ных заведений, постановивший эти заведения разделить на разряды. Для каждого разряда было решено составить особую программу учебного курса и определить число учебных часов в соответствии с особым назначением воспитывающихся девиц. Санкт-Петербургский сиротский институт был отнесен к IV разряду специальных заведений, и признано полезным программы для него составлять сообразно специальности, но допускалось и применение программы I разряда на том основании, что наставница должна иметь высшее образование. Также отмечалось, что в учебные программы должны быть введены нужнейшие сведения из естественной истории и физики. Было рекомендовано использовать в обучении новейшие сочинения, полезные для воспитанниц. Составление таких подробных программ было поручено Учебному комитету. Относительно физического воспитания было признано полезным ввести гимнастические упражнения, свойственные женскому полу и девическому возрасту (Селезнев 1878).

В 1851 г. произошли коренные преобразования обучения (Тарапыгин 1878). В устройстве нового учебного порядка были приняты следующие основания. Весь курс обучения и воспитания был разделен на четыре отдела: малолетний (дети младше 10 лет), приготовительный, общий и специальный (педагогический). Приготовительный курс состоял из четырех классов. Общий и специальный курс делились на два отделения: низшее и высшее. Низшее отделение включало три общих класса и один специальный практический, высшее — четыре общих класса и два специальных (теоретический и практический). Обучение в каждом классе продолжалось один год. Таким образом, в высшем отделении полный курс составлял десять лет, а в низшем — восемь. Такое различие было установлено с целью учета способностей воспитанниц — наиболее способных определяли в высшее отделение, и они по окончании именовались кандидатками. Менее же даровитые обучались на низшем отделении, где проходили те же предметы, но в меньшем объеме и по окончании именовались домашними учительницами. Это распределение воспитанниц проводилось при переводе из приготовительного курса в общий, причем в общем курсе каждый год в результате экзаменов они могли быть переведены из низшего отделения в высшее, и наоборот. Если же по окончании приготовительного курса воспитанницы оказывались неспособны к обучению в институте, то таковых переводили в Александринский сиротский институт либо в классы

УЧЕБНАЯ ТАБЕЛЬ																			
Высочайше утвержденная 21 Октября 1842 г. для Сиротскаго Института въ классѣхъ кандидатокъ, отдѣленіяхъ старшаго, средняго, младшаго, въ музыкальномъ классѣ, а также въ классахъ надзирательницъ и рукодѣльницъ.																			
ПРЕДМЕТЫ ПРЕПОДАВАНІЯ.	Кандидатки.	Классы для образованія наставницъ.													Музыкальн.	Надзирател.	Рукодѣльн.		
		Старшій.		Средній.					Младшій.										
		I	II	I	IV	II	III	I	II	III	VI	IV	V						
<b>A. Науки.</b>																			
Законъ Вѣри . . . . .	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1½	1½	3	3	7		
Русская словесн. и грам.	2	3	3	3	3	4½	4½	4½	4½	7½	7½	9	9	6	12	12			
Франц. словесн. и грам.	6	6	6	7½	7½	7½	7½	7½	7½	9	9	12	18	10	—	—			
Нѣмецк. словесн. и грам.	3	4½	4½	4½	4½	6	6	6	6	9	9	9	12	—	4½	—			
Арифметика. . . . .	—	13	13	3	3	3	3	3	3	3	3	—	3	3	3	6			
Всѣобщая географія . .	—	3	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
Россійск. геогр. и статист.	—	13	13	3	3	3	3	3	3	—	—	—	—	3	—	—			
Исторія { Всѣобщая . . . . .	—	3	3	3	3	3	3	13	13	—	—	—	—	3	—	—			
{ Россійская . . . . .	—	13	13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
Физика и естеств. исторія	—	—	—	2	2	13	13	13	13	—	—	—	—	—	—	—			
Педагогика . . . . .	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
Энциклоп. обзоръ наукъ	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
<b>B. Искусства.</b>																			
Декламация на 3 языкахъ	4	4½	4½	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	13	—	—			
Каллиграфія . . . . .	—	—	—	2	2	2	2	3½	3½	4½	4½	4½	—	3	4½	6			
Рисованіе общее . . . . .	2	3	3	3	3	13	13	13	13	—	—	—	—	—	3	—			
Рисованіе цвѣтовъ . . . .	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
Музыка . . . . .	10	10	10	3	3	3	3	6	6	6	6	6	6	30	—	—			
Танцованіе . . . . .	—	2	2	2	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—			
Вышиваніе . . . . .	13	13	13	13	13	13	13	13	13	—	—	—	—	—	—	—			

Примечанія: 1) Каждый урокъ утренній продолжается 1½ ч., а вечерній не менѣе отъ 2 — 4 ч. — два часа (на таблѣхъ обозначено число часовъ, а не уроковъ). Утренній урокъ былъ 3: 7½—9, 9—10½, а отъ 10½—12.

2) Для иностранекъ Законъ Божій, математикѣ и логикѣ преподавался 4 часа въ недѣлю.

3) Воспитанницамъ изъ разныхъ классовъ обучалось перемѣному явию 8 часовъ.

18\*

Рис. 13. Учебный табель Санкт-Петербургскаго сиротскаго института 1842 г. (Тимофеев 1887)  
 Fig. 13. Educational report card of the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College, 1842 (Timofeev 1887)

образования надзирательницъ за малолетними детьми (учреждены в 1838 г.), либо в классы рукоделия (учреждены в 1810 г. в Воспитательном домѣ). Эти классы были причислены к Александринскому сиротскому институту в 1844 г. В 1861 г. класс надзирательницъ был обратно присоединен к Николаевскому институту, а в 1862 г. упразднен (Тимофеев 1887). На его место в том же году к Николаевскому инсти-

титу был присоединен рукодельный класс, так зародилась профессія учителя труда.

Сверх того, неспособных к наукам воспитанницъ переводили в организованный в 1853 г. класс гимнастики и танцев (каллистеники), так зарождается профессія учителя физкультуры. Главный советъ женскихъ учебныхъ заведеній поручил инспектору классовъ Сиротскаго института составить руководство для занятій гимнастикой.



Он же ограничился лишь представлением общих правил, указав на руководство по гимнастике Клиаса как соответствующее требованиям женского физического воспитания (Селезнев 1878). Принц Петр Георгиевич Ольденбургский (1812–1881) (рис. 14) признал нужным представленные инспектором классов правила исправить и дополнить, указав «Воспитание, по составу человека из души и тела, должно выражаться в равномерном развитии как сил душевных, так и телесных, ибо при перевесе одних перед другими последствия бывают неминуемо вредными» (Селезнев 1878, 158), а также «Для учительницы каллистении, кроме нравственных качеств, потребных для каждого преподавателя, необходимо знание анатомии и организма человеческого тела» (Селезнев 1878, 160). В классе гимнастики первоначально был установлен трехлетний курс обучения, однако в 1856 г. был увеличен до четырехлетнего. Кроме того, было введено преподавание анатомии и физиологии как необходимых основ гимнастики. Однако в 1862 г. преподавание анатомии и физиологии, а также теории гимнастики было прекращено как предметов «по сущности недоступных» (Тимофеев 1887, 83).



Рис. 14. Петр Георгиевич Ольденбургский (Тимофеев 1887)

Fig. 14. Duke Constantine Frederick Peter of Oldenburg (Timofeev 1887)

Тут стоит упомянуть Федора Федоровича Клевезаля (1812–1875), врача, доктора медицины, одного из основателей физической культуры как учебной дисциплины, бывшего главным наблюдателем за гимнастическими упражнениями в петербургских заведениях ведомства императрицы Марии. В 1859 г. Клевезаль предложил проект организации врачебной гимнастики для женских институтов, основанный на физиологических принципах. Все воспитанницы должны быть разделены на группы по состоянию здоровья, и каждой группе назначались соответствующие упражнения. Этот проект был реализован в Сиротском институте в 1868 г. (Селезнев 1878). В 1869 г. им был написан первый отечественный учебник по физкультуре для женских учебных заведений «Гимнастика для девиц в применении к различным возрастам для общественного и домашнего воспитания», применявшийся в петербургских заведениях Ведомства императрицы Марии. Клевезаль подчеркивал важность регулярных физических упражнений (Клевезаль 1869), а также правильной осанки (Клевезаль 1874).

Согласно новому порядку инспектору Александру Григорьевичу Ободовскому (1796–1852) было поручено разработать новые учебные планы (рис. 15). Это поручение было неслучайно. Ободовский — автор первого русского учебника по педагогике. По его инициативе в Гатчинском сиротском институте были устроены натуральный, технологический и сельскохозяйственный кабинеты и применялись различные системы обучения (звуковая, наглядная). Помимо исполнения инспекторских обязанностей Ободовский лично преподавал дидактику, педагогику, основы физики, медицинских наук (Гурьев 1854). Дисциплины анатомо-физиологического цикла входили в состав курса естествоведения.

Несмотря на видимую целесообразность разделения воспитанниц на кандидаток, домашних учительниц и надзирательниц за малолетними детьми, это имело и видимые недостатки. Домашние учительницы в силу меньших способностей не могли основательно пройти тот же курс, что и кандидатки, хоть и в сокращенном объеме. Возможность выйти из закрытого заведения двумя годами ранее побуждала лень у кандидаток. Неравенство в объеме дисциплин затрудняло перевод между высшим и низшим отделением. Разделение происходило прежде формирования психофизиологических особенностей воспитанниц. Эти соображения побудили в 1857 г. установить для обоих отделений десятилетний курс обучения, прибавив

УЧЕБНАЯ ТАБЕЛЬ																			
Высочайше утвержденная 24 Июни 1852 г. для Малолѣтняго Отдѣленія Николаевскаго Сиротскаго Института, и для приготовительнаго, общаго и спеціальнаго отдѣленій I-го высшаго съ 10-ти лѣтнихъ курсомъ и II-го низшаго съ 8 лѣтнимъ курсомъ, и для класса вѣнственій по Высочайше утвержденному о семъ классѣ положенію отъ 28 Апрѣля 1853 года.																			
ПРЕДМЕТЫ ПРЕПОДАВАНІЯ.	Спеціальныя классы.			Классы для приготовленія кандидатомъ и домашнихъ учителей.												Малолѣтнее отдѣленіе.		Классъ вѣнственій.	
	I.		II.	Общій курсъ.						Приготовительный курсъ.						Старшій классъ.	Младшій классъ.		
	Практическій кандидатскій.	Теоретическій кандидатскій.	Домашніе учителя.	I Отдѣленіе.			II Отдѣл.			I			II						
				IV	III	II	I	III	II	I	IV	III	II	I					
	<b>А. Научн.</b>																		
Законы Божій . . . . .	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Русскій языкъ . . . . .	—	4	—	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Французскій языкъ . . . . .	—	4	—	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Нѣмецкій языкъ . . . . .	—	4	—	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Русское чтеніе . . . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Практическія упражненія въ 3-хъ языкахъ . . . . .	—	4	—	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	—	—	—	—
Исторія . . . . .	—	4	—	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	—	—	4	4
Географія . . . . .	—	4	—	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	—	—	4	4
Естествознаніе . . . . .	—	4	—	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	—	—	—	—
Арифметика . . . . .	—	4	—	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	—	—	4	4
Педагогика . . . . .	4	4	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—
<b>Б. Искусства.</b>																			
Чистописаніе . . . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Рисованіе . . . . .	—	4	—	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	—	—	4	—
Музыка . . . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Танцы . . . . .	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Примечанія: 1. Каждый урокъ продолжается 1½ часа. 2. Хотя на рисованіе назначалось по 2 урока, но каждый классъ дѣлился на 2 помѣщенія для этихъ занятій, следовательно преподавалось по 1 уроку. 3. Занятія музыкой по табели 1842 года. 4. Гимнастика для вѣнственій 10 уроковъ въ недѣлю. 5. Пѣніе хоромъ по табели 1842 г. 6. Законы Божій для вѣнственій по той же табели.																			

Рис. 15. Учебный табель Санкт-Петербургского сиротского института 1852 г. (Тимофеев 1887)

Fig. 15. Educational report card of the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College, 1852 (Timofeev 1887)

к общему курсу домашнихъ учительницъ 4-й классъ и к спеціальному курсу — теоретическій классъ (какъ и было установлено на высшемъ отдѣленіи). Кроме того, классы подготовки надзирательницъ были причислены къ Николаевскому сиротскому институту.

В 1869 г. по предложенію почетнаго опекуна Александра Григорьевича Тройницкаго (1807-1871) учебный порядокъ былъ приведенъ

въ соответствии съ Уставомъ женскихъ учебныхъ заведеній Вѣдомства учреждений императрицы Маріи 1855 г., гдѣ определялись учебныя занятія въ семи классахъ общаго курса (Уставъ женскихъ учебныхъ заведеній 1884). Все воспитанницы были распределены на два курса: общій изъ семи классовъ (нумеровались отъ 1-го до 7-го) и спеціальнѣй (педагогическій) изъ двухъ классовъ (1-й старшій и 2-й младшій). Затемъ было



составлено расписание преподавания предметов (рис. 16). Программа обучения общего курса включала Закон Божий, русский язык, французский и немецкий языки, педагогику, историю, географию, математику, естествоведение (включавшее ботанику, зоологию, минералогию, химию, физику, анатомию и физиологию человека и животных) (рис. 17). Программа обучения специальных классов включала Закон Божий, русский язык, французский и немецкий языки, педагогику, историю, географию, естествоведение, математику (Тимофеев 1887). Предписывалось использование иллюстрированных пособий по анатомии и физиологии, в том числе «Начальных оснований анатомии человека» А. Н. Петунникова, а также новейших достижений физиологической науки того времени, в частности, трудов И. М. Сеченова, находившихся в фондах библиотеки Сиротского института. Кроме того, широко применялись наглядные пособия, включавшие анатомические таблицы, атласы и модели (рис. 18). Обеспечение образовательного

процесса учебными пособиями входило в обязанности инспектора классов.

В Николаевском сиротском институте применялась балльная система — до 1852 г. 60-балльная, а затем была введена 12-балльная. Однако единого подхода не существовало, каждый преподаватель выдвигал свои требования. В 1866 г. А. Г. Тройницкий поручил обсудить этот вопрос на педагогической конференции и прописать требования к баллам. Именно конференция утверждала критерии оценок в баллах и определяла сумму баллов, необходимую для перевода в следующий класс. Чтобы попасть в специальный педагогический класс, первоначально требовалось набрать 9 баллов. На конференции было принято решение учитывать при переводе не только оценки в баллах по предметам, но и поведение воспитанниц, так как воспитание нравственных качеств было определяющим. Тут стоит отметить большую роль в совершенствовании образовательного процесса педагогических конференций,

Нормальная табель учебных часов, ныне установленная в Николаевском Сиротском Институте.

А. ОБЩИЙ КУРСЪ.

КЛАССЫ.	Законъ Божій.	Русскій языкъ и словосочет.	Франц. языкъ.	Немецкій языкъ.	Исторія.	Географія.	Естествознаніе.	Математика.	Педагогика.	Число часовъ.	Рисованіе.	Рукодѣліе.	Общее число уроковъ.	Общее число часовъ по учебн. и зан.
VII.	2	3	3	3	—	2	2	2	—	1	1	2	21	17
VI.	2	4	4	3	—	2	1	3	—	2	1	2	24	19
V.	2	3	4	4	2	2	1	3	—	2	1	2	26	21
IV.	2	3	3	4	2	2	2	3	—	1	2	1	25	21
III.	2	3	3	4	2	2	2	3	—	—	2	1	24	21
II.	2	3	3	3	3	2	3	2	—	—	2	1	24	21
I.	2	3	4	3	3	2	2	2	—	—	2	1	24	21
Всего. . .	14	22	24	24	12	14	13	18	—	6	11	10	168	141

Примечанія: 1) Законъ Божій для воспитанницъ проводится въ рекреаціонное время; катаніемъ 2 часа въ интервалъ 3 часа въ недѣлю.  
 2) Музыка проводится въ классныхъ кадрахъ и преподаютъ воспитанницы всѣхъ классовъ по 1 часу въ недѣлю въ 2-хъ урокахъ по ½ часу каждый. Воспитанницы музыкальнаго класса занимаются долѣе (см. выше о преподаваніи музыки).  
 3) Гимнастика: а) общая гимнастика для трехъ младшихъ классовъ (VII-го VI-го и V-го) по 2 часа; для остальныхъ классовъ по 1 часу въ недѣлю; б) — гимнастика для всѣхъ принадлежащихъ къ ней воспитанницъ (безъ разлѣка классовъ) по 3 часа въ недѣлю.  
 4) На танцы: черноее воспитанницъ I общаго класса (по выбору танцевать) 4 часа въ недѣлю (2 урока по 2 часа каждый); б) гимнастика для солистокъ (изъ I общаго класса) тоже 4 часа (4 урока по 1 часу каждый).  
 5) Танцы для всѣхъ классовъ по 1 часу въ недѣлю.

Рис. 16. Учебный табель Санкт-Петербургского Николаевского сиротского института 1886 г. (Тимофеев 1887)

Fig. 16. Educational report card of the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College, 1886 (Timofeev 1887)

<p align="center"><b>Естественнѣдѣніе.</b></p> <p align="center"><b>VII классъ (2 урока).</b></p> <p><i>Примечаніе.</i> Въ этотъ классъ съ учениками занимаются кандидаты, причѣмъ 1 урокъ изъ двухъ въ недѣлю дается въ присутствіи преподавателя.</p> <p>Знакомство съ представителями животнаго, растительнаго и неживаго царства. Краткое повѣдѣ объ устройствѣ человѣческаго тѣла.</p> <p align="center"><b>VI классъ (1 урокъ).</b></p> <p>По зоологіи: Представители каждого класса животнаго царства.</p> <p>По минералогіи: Почва, составъ ея. Горныя породы. Минералы, металлы.</p> <p>Фиг. 5) Ботаническія бесѣды—Роскошера. 6) Ботаника—Льбена. 7) Дерево Шахта и 8) Исторія земной коры—Куртчи.</p> <p>Пособія для воспитанницъ: 1) Planches mirailles d'histoire naturelle par Achille Comte; 2) Систематическій атласъ къ Естественной исторіи Бромке и 3) Атласъ Шуберта.</p> <p align="center"><b>V классъ.</b></p> <p>Пособіе для преподавателей: Почему и Почему (Вопросы и отвѣты по наиболее важнымъ отраслямъ естественныхъ наукъ). Составилъ докторъ Уэлъ.</p> <p align="center"><b>IV классъ (2 урока).</b></p> <p>Система растительнаго и животнаго царства.</p> <p>Руководства: 1) Руководство къ естественной исторіи составилъ по Вулану Степановъ. 2) Зоологія Михайлова и 3) Три царства природы. Составилъ Гутгоревъ.</p> <p align="center"><b>III классъ (3 урока).</b></p> <p>1) Свѣдѣнія изъ химіи, насколько это необходимо для объясненія важнѣйшихъ физиологическихъ и физическихъ явленій. 2) Физиологія растений и животныхъ. 3) Изъ физики: общія свойства тѣлъ, равновѣсіе жидкостей и газообразныхъ тѣлъ.</p> <p>Руководства: 1) Физика Краевича и 2) Физика Гаво (перевелъ Павленковъ).</p> <p align="center"><b>II классъ (3 урока).</b></p> <p>Магнетизмъ, Гальванизмъ, Свѣтъ, Тѣплота и Звукъ.</p> <p>Руководства: 1) Физика Краевича и 2) Физика Гаво (перевелъ Павленковъ).</p> <p align="center"><b>I классъ (2 урока).</b></p> <p>Физическая и математическая географія. Повтореніе наиболее важныхъ отдѣловъ изъ общаго курса естествознанія.</p> <p>Руководства: 1) Математическая географія Аргейва. 2) Физическая географія Лепца и 3) Краткій курсъ физической географіи Павлова.</p>		<p>Руководства: Зоологія С. Изера. Литографированныя записки, составленныя по руководству: Миръ Божій—Гердъ и Минералогія—Варапи.</p> <p>Пособія: картины и модели; коллекція насекомыхъ и минераловъ.</p> <p align="center"><b>IV классъ (1 урокъ).</b></p> <p>1) По ботаникѣ: Описаніе органовъ растений. Внутреннее строеніе и жизнь растений. Характеристика растительности каждаго пояса.</p> <p>Руководства: Литографированныя записки, составленныя по руководству: Краткій обзоръ растительнаго царства—Кайгородова.</p> <p>Пособія: Стѣнной атласъ—Жайтовскаго.</p> <p>2) По физиологіи: Строеніе человѣческаго тѣла.</p> <p>Руководства: Литографированныя записки, составленныя по сочиненіямъ: 1) Начальныя основанія анатоміи челоѣка—Петушикова. 2) Человѣческое тѣло. Д-ра Бокъ.</p> <p>Пособія: Картины и коллекція моделей органовъ челоѣка.</p> <p align="center"><b>IV классъ (2 урока).</b></p> <p>1) По зоологіи: Обзоръ животнаго царства въ системѣ.</p> <p>2) По ботаникѣ: Обзоръ растительнаго царства въ системѣ.</p> <p>Руководства: 1) Зоологія Михайлова. 2) Литографированныя записки, составленныя по учебникамъ.—а) Начальныя основанія ботаники Диниеля и б) Краткій обзоръ растительнаго царства—Кайгородова.</p> <p>Пособія: Ботаническій и зоологическій атласы Шуберта.</p> <p align="center"><b>III классъ (2 урока).</b></p> <p>1) Свѣдѣнія изъ химіи, согласно нормальной программѣ, проходитъ въ объектъ, необходимъ для объясненія важнѣйшихъ физиологическихъ и физическихъ явленій. 2) Физиологія растений и животныхъ не проходитъ. 3) Изъ физики, какъ въ нормальной программѣ, общія свойства тѣлъ, равновѣсіе жидкостей и газообразныхъ тѣлъ. Кромѣ того: Магнетизмъ и электричество.</p> <p>Руководства: Физика Краевича.</p> <p align="center"><b>II классъ (3 урока).</b></p> <p>По Физикѣ: Гальванизмъ, Свѣтъ, Тѣплота, Звукъ и Динамика.</p> <p>Руководства: Физика Гаво.</p> <p align="center"><b>I классъ (2 урока).</b></p> <p>1) Повтореніе Физики. 2) Математическая географія. 3) Физиологія челоѣка.</p> <p>Руководства: 1) Математическая географія Аргейва. 2) Физиологія челоѣка Бокъ.</p>
--	--	---

Рис. 17. Ведомость программы общаго курса Санкт-Петербургскаго Николаевскаго сиротскаго института 1874 г. (Тимофеев 1887)

Fig. 17. Outline of the general course program of the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College, 1874 (Timofeev 1887)

<p>33. Утка чирокъ. 1 экз.</p> <p>34. Утка шилохвостька. 1 экз.</p> <p>35. Утенокъ. 1 экз.</p> <p>36. Чайка трехпалая. 1 экз.</p> <p align="center"><b>Спиртовые препараты.</b></p> <p>1. Землеройка малютка. 2 экз.</p> <p>2. Хамалеонъ. 1 экз.</p> <p>3. Гадюка. 3 экз.</p> <p>4. Камбала. 2 экз.</p> <p>5. Игла-рыба. 1 экз.</p> <p>6. Минюга. 2 экз.</p> <p>7. Коллекція головастиковъ. 1 экз.</p> <p>8. Коллекція жуковъ. 1 экз.</p> <p>9. Медвѣдка. 1 экз.</p> <p>10. Саранча. 1 экз.</p> <p>11. Коллекція гусеницъ. 1 экз.</p> <p>12. Коллекція пауковъ. 1 экз.</p> <p>13. Крабъ. 2 экз.</p> <p>14. Коллекція креветокъ. 1 экз.</p> <p>15. Многоножка. 1 экз.</p> <p>16. Коллекція рыжешекъ. 1 экз.</p> <p>17. Медицинская вивька. 2 экз.</p> <p>18. Коллекція острлицъ. 1 экз.</p> <p>19. Аскарида. 2 экз.</p> <p>20. Солитеръ. 1 экз.</p> <p>21. Лентецъ или широкотѣлъ. 2 экз.</p> <p align="center"><b>Засушенные животныя.</b></p> <p>22. лягушка. 1 экз.</p>	<p>23. Ящерица обыкновен. 1 экз.</p> <p>24. Саламандра. 1 экз.</p> <p>25. Морская звѣзда. 1 экз.</p> <p>26. Игла-рыба. 1 экз.</p> <p align="center"><b>Коллекціи.</b></p> <p>1. Яицъ. 1 экземпляръ.</p> <p>2. Птичьихъ ногъ. 1 экз.</p> <p>3. Рогъ. 1 экз.</p> <p>4. Насѣкомыхъ. 1 экз.</p> <p>5. Раковинъ. 1 экз.</p> <p align="center"><b>Атласы.</b></p> <p>1. Таблицы Вольно-Экономическаго общества для преподаванія естественной исторіи. 2 экземпляра.</p> <p>2. Рупрехта (стѣнной атласъ). 1 экз.</p> <p>3. Шуберта. 3 экз.</p> <p align="center"><b>По Ботаникѣ.</b></p> <p>1. Жайтовскаго (стѣнной атласъ). 1 экз.</p> <p>2. Шуберта. 4 экз.</p> <p>3. Cryptogamum Herbarium. Wagner (1 тетрадь). 1 экз.</p> <p>4. Гербарій. 1 экз.</p> <p>5. Коллекція сѣмянъ. 1 экз.</p>	<p align="center"><b>По Минералогіи.</b></p> <p>1. Коллекція минераловъ и горныхъ породъ. 1 экземпляръ.</p> <p>2. Коллекція моделей извѣстныхъ брилліантовъ. 1 экз.</p> <p>3. Кристаллическ. формы (изъ дерева). 1 экз.</p> <p>4. Роговые вѣси для опредѣленія относительнаго вѣса съ гириками французскаго вѣса. 1 экз.</p> <p>5. Стогранная мензурка для той же цѣли. 1 экз.</p> <p align="center"><b>Нъ очерку строенія и отправленій челоѣческаго тѣла.</b></p> <p>1. Черепъ. 1 экземпляръ.</p> <p>2. Челоѣка. 1 экз.</p> <p>3. Мозга. 1 экз.</p> <p>4. Сердца. 1 экз.</p> <p>5. Уха. 1 экз.</p> <p>6. Глаза. 1 экз.</p> <p>7. Лѣваго легкаго. 1 экз.</p> <p>8. Анатомическая стѣнная таблица Фидлера. 1 экз.</p> <p>9. Анатомическ. атласъ Экардта. 1 экз.</p>
---	--	---

Рис. 18. Каталог наглядныхъ пособій Санкт-Петербургскаго Николаевскаго сиротскаго института (Тимофеев 1887)

Fig. 18. Catalog of visual aids of the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College (Timofeev 1887)



проходивших дважды в год: перед Рождеством и в начале июня. На первой конференции обсуждались общие педагогические вопросы об учебных курсах 1-го полугодия, содержании учебных программ, на второй (по окончании экзаменов) — присуждались награды (Колосова 2008).

В 1873 г. член Учебного комитета инспектор классов Михаил Борисович Чистяков (1809–1885), сообразуясь с потребностями современного общества для поднятия уровня нравственного, умственного и эстетического образования воспитанниц, представил проект преобразований специальных классов. Согласно проекту, воспитанниц необходимо приучать к строгому анализу мыслей, их отчетливому устному и письменному выражению. Для достижения чего во 2-м низшем специальном классе воспитанницы повторяют пройденное в общем курсе

и проходят теорию и практику педагогики; в 1-м высшем специальном классе изучают методы обучения. В 1-м высшем классе воспитанницы под руководством преподавателей обучали учениц малолетнего отделения Закону Божьему, языкам, арифметике, географии, естествоведению, чистописанию, рисованию. Также каждая воспитанница по своему выбору преподавала в 7-м классе тот или иной предмет. Самостоятельные занятия состояли из разработок одного из разделов программы курса наук, ознакомления с методами преподавания, приготовления конспектов уроков.

По окончании специальных классов воспитанницы получали аттестат (рис. 19), дававший право в зависимости от успешности обучения поступать в частные дома на должность надзирательниц малолетних детей, в которой они были обязаны прослужить не менее трех лет;

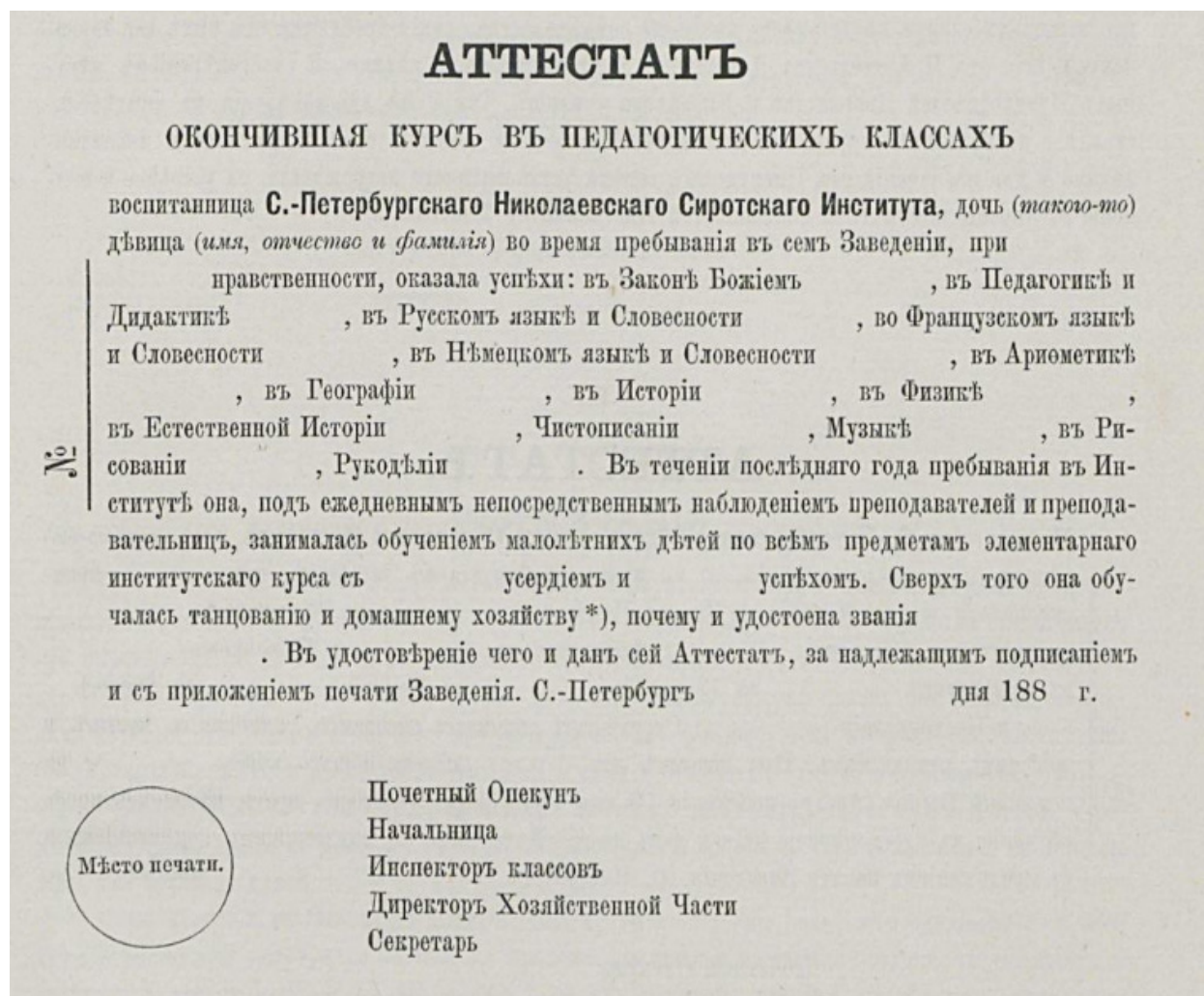


Рис. 19. Аттестат выпускницы Санкт-Петербургского Николаевского сиротского института (Тимофеев 1887)

Fig. 19. Certificate of a graduate of the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College (Timofeev 1887)

либо на должность наставниц, в которой они были обязаны прослужить не менее шести лет. В течение этого обязательного срока службы выпускницы пользовались покровительством Воспитательного дома. Воспитанницы Сиротского института, прослужившие в частных домах с усердием не менее 20 лет, имели право на установление пенсии от Правительства как домашние учительницы, либо могли поступить в Дом призрения девиц благородного звания на казенное содержание (Тимофеев 1887).

Реформы коснулись и Малолетнего отделения. Чистяков после подробного ознакомления с зарубежным опытом устройства детских садов и первоначальных женских школ в Германии, Бельгии, Франции, Швейцарии, а также сообщаясь с национальными российскими условиями, в 1867 г. предложил проект переустройства Малолетнего отделения. Мотивировка необходимости реформы основывалась на необходимости учета возрастных и психофизиологических особенностей детей. «Известно, что в ребенке семи лет, а иногда и раньше, обозначаются уже положительные наклонности, определенный склад ума, те или другие симпатии и антипатии, даже свои приемы речи. <...> было бы чрезвычайно полезно, если бы в Малолетнее отделение поступали дети как можно раньше» (Тимофеев 1887, 92–93). «Детская природа по причине тонкости стихий только что слагающейся жизни, доступна лишь непрерывному и самому зоркому, можно сказать микроскопическому наблюдению. <...> дети должны быть разделены на группы не более десяти в каждой» (Тимофеев 1887, 93). «Удобнее наблюдать и вести воспитание, когда дети близки между собою по возрасту: у них одни и те же физические, умственные и нравственные потребности, но так как развитие зависит не от одних лет, а от весьма многих условий, то можно допустить группирование детей и различного возраста <...> Эта разность может быть допускаема особенно между детьми около десятилетнего возраста» (Тимофеев 1887, 93). Также отдельно подчеркивалась необходимость педагогического образования, в том числе знакомства с методами наглядного обучения, у воспитательниц Малолетнего отделения. Учебно-воспитательный курс Малолетнего отделения теперь должен был продолжаться до 12-летнего возраста включительно. Группы делились по возрасту детей на три категории: младшая (6–8 лет), средняя (8–10 лет) и старшая (10–12 лет). Хорошая подготовка детей позволяла расширить институтские программы по всем предметам.

В 1871 г. для улучшения преподавания языков в губернских учебных заведениях по предложению Главноуправляющего IV Отделением принца Петра Георгиевича Ольденбургского (1812–1881) был открыт класс учительниц французского языка в виде особого отделения при педагогическом курсе Николаевского сиротского института, куда принимали «отличнейших по успехам и благонравию воспитанниц, <...> преимущественно из губернских институтов» (Тимофеев 1887, 121). В программу двухлетнего обучения входили французский язык, история французской литературы, всеобщая литература, история искусств, декламация и методика преподавания. Выпускницы должны были прослужить в течение шести лет учительницами французского языка в губернских институтах. Следует выделить значительную роль принца П. Г. Ольденбургского в развитии женского образования в России. В период, когда он возглавлял Ведомство императрицы Марии, была реформирована учебно-воспитательная часть женских институтов, устранены наиболее архаичные черты институтского воспитания и обучения, усовершенствованы учебно-воспитательные программы (Соколов, Зимин 2015).

В 1895–1896 гг. прошла еще одна реформа обучения в специальных классах. Педагогику стали преподавать на родном языке, вместе с тем было увеличено количество часов на преподавание французского и немецкого языков. Программы обучения менялись, дополнялись по мере выявления недочетов системы обучения. В учебном процессе зачастую использовали пособия, учебники, составленные самими учителями (Колосова 2008).

Учебные пособия в Сиротском институте первое время были очень скудны, что объяснялось нехваткой в то время педагогической литературы. В 1830–1840 гг. не было достойной библиотеки, физического кабинета, атласов, моделей и карт, что не способствовало повышению уровня образования. Для исправления ситуации в 1840 г. было выделено 1500 рублей на укомплектование библиотеки (покупку научной, исторической, детской и педагогической литературы) (рис. 20), а также открыта своя литография, чтобы избавить воспитанниц от потери времени на переписывание тетрадей. В 1854 г. для нужд библиотеки было выделено уже 9520 рублей, отдельно выделялись средства на приборы и пособия, необходимые для обучения физике и естествоведению (Тимофеев 1887).





Рис. 20. Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт. Читальный зал  
(Источник: [https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/photos/lo000000290\\_1\\_m.jpg](https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/photos/lo000000290_1_m.jpg))

Fig. 20. Reading hall of the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College  
(URL: [https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/photos/lo000000290\\_1\\_m.jpg](https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/photos/lo000000290_1_m.jpg))

### Физическое и гигиеническое воспитание

При построении учебного процесса сохраняются принципы возрастной физиологии, заложенные еще Иваном Ивановичем Бецким (1707–1795). Большое внимание по-прежнему уделяется основам гигиенического и физического воспитания. Так, согласно Высочайше утвержденной 29 ноября 1851 г. дополнительной инструкции начальнице Сиротского института (независимо от общей инструкции 1847 г. для всех начальниц женских учебных заведений), ей «вверяется власть распорядительная по части нравственного и физического воспитания сирот и наблюдение за учебной и хозяйственной частями, дабы все они, находясь между собой в связи, стройно содействовали общей цели воспитания» (Тимофеев 1887, 32). Она была обязана неусыпно заботиться обо всем, что укрепляет физические силы воспитанниц, содействует здоровью, предотвращает болезни и смертность, ибо без здоровья не может быть успехов и в умственном развитии (Селезнев 1878). Подчеркивалась необходимость для достижения целей физического воспитания опираться на общий уровень культуры общества, а также те условия и среду, в которой действуют педагоги. Особо обращалось внимание на учет последних

достижений физиологии и гигиены, что является отражением научного подхода к организации учебно-воспитательного процесса.

Наглядным подтверждением этому служит распорядок дня воспитанниц, согласованный с Медицинским советом. Подъем был в 6.30 утра (по праздникам в 7.00). Воспитанницы должны были откидывать одеяло и верхнюю простыню к ножке кровати, чтобы постельное белье могло проветриться. Затем причесывались, умывались, чистили зубы (чистить зубы полагалось дважды в день) и ногти, заправляли постель и одевались. После чего все классы отправлялись на молитву. Далее шли в столовую пить чай, а затем в рекреационный зал, где оставались до 8.30, после чего переходили в учебные классы. С 9.00 до 12.20 длились первые три урока с двумя перерывами по 10 минут (на втором перерыве давали хлеб с солью), во время которых открывали форточки для проветривания. С 12.30 до 14.00 воспитанницы завтракали и отправлялись на прогулку, одеваясь согласно утреннему бюллетеню инспектрисы. Воспитанницы, не надевавшие теплую одежду, подвергались взысканию. С 14.00 до 16.15 снова проходили уроки с 10-минутным перерывом на проветривание. В 16.30 — обед, после чего девочки отдыхали в рекреационном зале до 17.30. С 17.30 готовились к учебным



занятиям, с 18.00 до 20.00 готовили домашние задания. С 20.00 до 20.30 — активный отдых, во время которого можно было танцевать или кататься с горки. В 20.30 шли в столовую к вечернему чаю, после чего на молитву. С 21.30 все обязаны быть в постели. На ночь все платья должны быть вывернуты на левую сторону и повешены на вешалку. В праздники уроков нет, бывает прием родных. Также воспитанниц отпускали к родным на рождественские и пасхальные праздники. Выяснилось, что полуторачасовые уроки крайне утомительны, поэтому с 1869 г. продолжительность уроков была установлена 1 час 15 минут, а с 1874 г. сокращена до 1 часа (Тимофеев 1887).

Как можно видеть, распорядок дня составлен с учетом гигиенических требований, что служит как для целей воспитания гигиенических навыков, так и для соблюдения санитарных норм. Кроме того, построение учебного процесса также учитывало физиологические особенности детей. Классные дамы рассаживали воспитанниц в классе так, чтобы девочки маленького роста, близорукие или плохо слышащие сидели впереди. Первого числа каждого месяца все сидящие у окон пересаживались с правой стороны класса на левую, чтобы у окон сидели не одни и те же воспитанницы. Во время уроков и приготовления домашних заданий все должны быть без пелерин, чтобы не простужаться, выходя в коридор в той же одежде, в которой были в классах; после бани же пелерины не снимали. Ученицы младших классов, когда не заняты работой, должны держать руки, сложив за спину, как предписано доктором для развития грудной полости. Прогулки также были регламентированы согласно гигиеническим нормам. Зимой дети гуляли один раз в день после завтрака попарно по галерее и деревянным мосткам в саду, при  $-10^{\circ}\text{C}$  делали по саду три тура, при  $-15^{\circ}\text{C}$  оставались в зале. Весной же и осенью гуляли несколько раз в день в зависимости от погоды, расходясь свободно по саду (Тимофеев 1887).

Устав женских учебных заведений предписывал необходимость физического воспитания (Устав женских учебных заведений 1884). В Николаевском сиротском институте большое внимание уделялось занятиям физкультурой и профилактическим процедурам. Занятия гимнастикой проводились дважды в неделю по полчаса. Два раза в год, в начале и конце учебного года, наблюдатель за врачебной гимнастикой в присутствии классных дам и учительницы гимнастики осматривал всех воспитанниц и отмечал тех, кто должен приходить к нему дважды в неделю, и тех, кто должен делать

особенную гимнастику трижды в неделю по часу. Согласно специальному наставлению о гимнастических занятиях, в гимнастическом зале имелись все приспособления для врачебной гимнастики (Тимофеев 1887). В 1856 г. инспектор по медицинской части петербургских учреждений Мариинского ведомства лейб-медик Николай Федорович Арендт представил мнение своего помощника доктора медицины Ивана Ивановича Персона о том, что для золотушных детей необходимо, кроме педагогической гимнастики, ввести и ортопедическую. А для обеспечения этого преподаватель анатомии в классе учительниц гимнастики доктор Беляев в 1857 г. был командирован в Стокгольм, Берлин и Вену, где учреждены были специальные заведения (Селезнев 1878).

Воспитанницам прививали гигиенические навыки. Еще в начале XIX века императрица Мария Федоровна неустанно повторяла: «Чистота и опрятность есть первейший предмет наблюдения как в доме, так и на воспитанницах, у которых ни малейшее нерадение об одежде и чистоте быть не может. <...> также чтобы к ночи переменяли они рубашки и не носили днем той, в которой спали. Воспитанницы должны ходить в баню по мере надобности, и каждую неделю по два раза дается им чистое белье, а постельное — по два раза в месяц» (Модзалевский 1894, 18). Воспитанниц приучали к ежедневным тщательным умываниям в холодной воде. При этом классные дамы отвечали за их внешний вид (Пономарева 2013).

Согласно Уставу женских учебных заведений Ведомства учреждений императрицы Марии, в учебных зданиях должна соблюдаться чистота и необходимая температура воздуха. В Николаевском сиротском институте большое внимание уделялось соблюдению санитарно-гигиенических норм, предъявляемых к учебным помещениям (рис. 21).

### Медицинское обеспечение

Стоит отметить наличие в Сиротском институте продуманной и отлаженной системы медицинского обеспечения.

Для оказания медицинской помощи воспитанницам при Сиротском институте существовал лазарет, куда классные дамы отводили их в случае нездоровья. Лазарет состоял из двух отделений: общего для незаразных больных и отделения прилипчивых болезней (корь, скарлатина, краснуха, дифтерит и т. п.). При этом учитывался характер инфекционных заболеваний, это отделение могло быть при необходимости

## А ВЪДОМОСТЬ

о квадратных и кубических содержаниях въ каждомъ отдѣльномъ классѣ, во всѣхъ дортуарахъ, въ каждой лазаретной палатѣ, и въ столовой, съ показаніемъ числа воспитанниковъ, находящихся въ каждомъ классѣ, въ дортуарахъ, равно съ обозначеніемъ сколько пространства и объема воздуха въ сѣхъ помѣщеніяхъ приходится на каждую воспитанницу.

Въ С.-Петербургскомъ Николаевскомъ Сиротскомъ Институтѣ и классѣ учительницъ Французскаго языка.

Наименованіе помѣщеній.	Длина. Ширина.		Пространство.	Высота.	Объемъ воздуха.		Сколько приходится на каждую воспитанницу.
	Пог. саж.	Кв. саж.	Пог. саж.	Куб. саж.	Пог. саж.	Куб. саж.	Кв. саж. Куб. саж.
<b>Классы</b>							
Рисовальн. . . . .	4,54	3,54	16,07	2,41	38,73	—	—
I — 1 нр. . . . .	4,54	3,96	18,29	2,41	56,26	32	0,72 1,76
II — 1 нр. . . . .	4,54	3,96	18,29	2,41	40,05	35	0,52 1,21
III — 1 нр. . . . .	4,54	3,96	18,29	2,41	40,05	25	0,66 1,60
IV — 1 нр. . . . .	4,54	3,96	18,29	2,41	40,05	28	0,59 1,43
V — 1 нр. . . . .	4,54	3,96	18,29	2,41	40,05	35	0,45 1,14
VI — 1 нр. . . . .	4,54	3,96	18,29	2,41	40,05	31	0,54 1,28
Прогр. II. . . . .	2,88	3,96	8,8	2,41	25,6	9	1,88 2,60
Прогр. I. . . . .	2,88	3,96	8,8	2,41	25,6	9	1,77 2,61
I — 2 нр. . . . .	4,54	3,96	18,29	2,41	40,05	35	0,52 1,21
II — 2 нр. . . . .	4,54	3,96	18,29	2,41	40,05	36	0,54 1,28
III — 2 нр. . . . .	4,54	3,96	18,29	2,41	40,05	31	0,54 1,28
IV — 2 нр. . . . .	4,54	3,96	18,29	2,41	40,05	28	0,49 1,43
V — 2 нр. . . . .	4,54	3,96	18,29	2,41	40,05	36	0,45 1,11
VI — 2 нр. . . . .	4,54	3,96	18,29	2,41	40,05	30	0,45 1,23
Физик. кабинетъ. . . . .	4,54	3,96	18,29	2,41	40,05	—	—
I — 1 Отд. . . . .	5,16	4,33	22,34	2,41	54,56	14	1,40 2,96
II — 1 Отд. . . . .	5,16	4,33	22,34	2,41	54,56	21	1,19 2,65
III — 1 Отд. . . . .	5,16	4,33	22,34	2,41	54,56	22	0,90 2,17
IV — 1 Отд. . . . .	5,16	4,33	22,34	2,41	54,56	21	1,06 2,56
V — 1 Отд. . . . .	5,16	4,33	22,34	2,41	54,56	18	1,06 2,56
VI — 1 Отд. . . . .	5,16	4,33	22,34	2,41	54,56	21	0,93 1,92
ИТОГО . . . . .	—	—	388,33	—	927,17	168	0,76 1,83
<b>Дортуары</b>							
I . . . . .	34	4	136	2,29	311,4	—	—
II . . . . .	16,4	4	65,6	2,29	150,7	—	—
III . . . . .	4,06	5,1	20,7	1,96	82,4	—	—
IV . . . . .	10,4	2,47	25,8	2,16	55,4	—	—
V . . . . .	5,25	4	21	1,96	82,9	—	—
VI . . . . .	5,43	4	21,7	1,96	86	—	—
VII . . . . .	5,31	4	21,2	1,96	85,2	—	—
VIII . . . . .	5,25	4	21	1,96	82,9	—	—
IX . . . . .	10,47	5,58	58,42	1,96	116,9	—	—
X . . . . .	10,33	9,43	97,4	1,76	171,4	—	—
XI . . . . .	11,66	3,68	41,7	2,18	91	—	—
XII . . . . .	6,74	4,53	30,5	1,96	59,7	—	—

Наименованіе помѣщеній.	Длина. Ширина.		Пространство.	Высота.	Объемъ воздуха.		Сколько приходится на каждую воспитанницу.
	Пог. саж.	Кв. саж.	Пог. саж.	Куб. саж.	Пог. саж.	Куб. саж.	Кв. саж. Куб. саж.
<b>Лазаретъ.</b>							
I — 1 палата . . . . .	5,74	4,53	26,0	1,66	28,1	—	—
II — 1 палата . . . . .	5,74	4,53	26,0	1,66	28,1	—	—
ИТОГО . . . . .	—	—	612,5	—	1282,1	508	1,30 2,50
<b>Классъ учительницъ Французскаго языка.</b>							
I (или записки) . . . . .	3,22	5,78	12,17	2,29	27,87	10	0,76 1,98
II (или уроки) . . . . .	3,22	5,78	12,17	2,29	27,87	10	0,76 1,98
Спальня . . . . .	5,47	3,78	20,71	2,29	47,44	10	1,5 2,9

Наименованіе помѣщеній.	Длина. Ширина.		Пространство.	Высота.	Объемъ воздуха.		Сколько приходится на каждую воспитанницу.
	Пог. саж.	Кв. саж.	Пог. саж.	Куб. саж.	Пог. саж.	Куб. саж.	Кв. саж. Куб. саж.
<b>Лазаретъ.</b>							
1-я палата (8 кроватей) . . . . .	—	—	4	3,78	15,12	2,66	40,2
2-я " 7 " . . . . .	—	—	3,9	3,78	14,74	2,66	39,2
3-я " 10 " . . . . .	—	—	4,14	3,78	15,65	2,66	41,7
4-я " 13 " . . . . .	—	—	8,53	3,78	31,49	2,66	83,76
5-я " 13 " . . . . .	—	—	5,53	3,78	21	2,66	55,6
6-я " 7 " . . . . .	—	—	5,2	3,78	12,09	2,66	32,18
<b>Длины помѣщеній прилежательныя койки:</b>							
1-я палата (20 кроватей) . . . . .	—	—	5,47	3,78	20,68	2,66	55
2-я " 6 " . . . . .	—	—	3,22	3,78	12,17	2,66	32,37
3-я " 20 " . . . . .	—	—	5,50	3,78	21	2,66	55,6
ИТОГО . . . . .	—	—	—	—	164,13	—	427,7
Столовая Никол. Сер. Института . . . . .	—	—	49,06	3,65	182,8	2,66	376,6
" Классъ Франц. Училища . . . . .	—	—	6	12	72	2,29	37,5
<b>Примечаніе.</b> Число воспитанницъ въ каждомъ классѣ составляетъ 40, а въ каждой палатѣ 20 и 40. Младшіе классы почти являются исключительно старшими, а потому, принимая за среднее число 30 воспитанницъ, можно сказать что пѣлины пространства и объема воздуха на каждую воспитанницу . . . . .							
—	—	—	—	—	0,5	—	1,1
—	—	—	—	—	1,8	—	3,2

## В ВЪДОМОСТЬ

о квадратных и кубическихъ содержанияхъ въ каждомъ отдѣльномъ классѣ, въ каждомъ дортуарѣ, въ каждой лазаретной палатѣ и въ столовой, съ показаніемъ числа воспитанницъ, находящихся въ каждомъ классѣ и въ каждомъ дортуарѣ, равно съ обозначеніемъ сколько пространства и объема воздуха въ сѣхъ помѣщеніяхъ приходится на каждую воспитанницу.

Въ Малолѣтнемъ отдѣленіи С.-Петербургскаго Николаевскаго Сиротскаго Института.

Наименованіе помѣщеній.	Длина. Ширина.		Пространство.	Высота.	Объемъ воздуха.	Число воспитанницъ.	Сколько приходится на каждую воспитанницу.	
	Пог. саж.	Кв. саж.					Пог. саж.	Куб. саж.
Классы.								
Группа I . . . . .	3,71	2,66	9,87	1,63	16,09	—	0,52	1,34
II . . . . .	3,03	2,29	6,93	—	12,77	—	0,70	1,14
III . . . . .	2,90	2,26	6,59	—	11,39	—	0,58	0,94
IV . . . . .	2,95	2,88	8,52	—	15,90	—	0,71	1,15
V . . . . .	2,92	2,84	8,29	—	15,52	—	0,69	1,12
VI . . . . .	3,00	3,71	14,47	—	22,58	—	1,20	1,98
VII . . . . .	2,95	2,79	8,25	—	13,46	12	0,68	1,11
VIII . . . . .	2,71	3,40	9,59	—	16,60	—	0,54	0,88
IX . . . . .	3	2,42	7,26	—	11,83	—	0,60	0,98
X . . . . .	2,94	2,84	8,35	—	15,81	—	0,69	1,13
XI . . . . .	2,94	2,86	8,49	—	15,71	—	0,70	1,14
XII . . . . .	2,95	2,84	8,49	—	15,70	—	0,70	1,14
XIII . . . . .	2,90	3,12	12,99	—	21,17	—	1,06	1,76
ИТОГО . . . . .	—	—	116,75	1,63	190,33	156	0,75	1,23
Дортуары.								
Группа I . . . . .	3,92	3,50	13,81	1,63	22,83	12	1,06	1,74
II . . . . .	2,94	3,71	14,02	—	23,83	12	1,31	1,90
III . . . . .	3,55	3	10,65	—	17,36	12	0,88	1,44
IV . . . . .	4,56	2,92	13,57	—	21,90	12	1,11	1,81
V . . . . .	4,01	2,92	11,66	—	19,94	12	1,12	1,92
VI . . . . .	3,03	3,53	10,03	—	17,25	12	1,06	1,77
VII . . . . .	4,75	2,96	14	—	22,52	14	1,41	1,83
VIII . . . . .	3,40	2,43	8,23	—	15,41	10	0,82	1,34
IX . . . . .	3,66	3,62	10,91	—	17,82	12	0,90	1,46
X . . . . .	4,56	2,92	13,33	—	21,70	12	1,11	1,80
XI . . . . .	4,92	2,96	14,56	—	25,74	12	1,21	1,97
XII . . . . .	4,60	2,96	13,88	—	22,60	12	1,15	1,88
XIII . . . . .	3,95	2,64	9,11	—	14,95	12	0,70	1,23
ИТОГО . . . . .	—	—	141,85	—	232,82	156	1,04	1,89

Наименованіе помѣщеній.	Длина. Ширина.		Пространство.	Высота.	Объемъ воздуха.		Сколько приходится на каждую воспитанницу.
	Пог. саж.	Кв. саж.	Пог. саж.	Куб. саж.	Пог. саж.	Куб. саж.	Кв. саж. Куб. саж.
<b>Лазаретъ.</b>							
1-я палата . . . . .	—	—	8,69	2,73	10,07	1,63	16,42
2-я " . . . . .	—	—	3,69	2,91	8,52	—	13,89
3-я " . . . . .	—	—	7,66	3,75	28,72	—	45,82
4-я " . . . . .	—	—	—	—	—	—	—
5-я " . . . . .	—	—	—	—	—	—	—
<b>Длины помѣщеній прилежательныя койки:</b>							
1-я палата . . . . .	—	—	2,61	2,66	6,42	1,63	10,66
2-я " . . . . .	—	—	3,33	2,96	8,96	—	14,70
3-я " . . . . .	—	—	4,53	3,83	14,42	—	23,94
4-я " . . . . .	—	—	—	—	—	—	—
5-я " . . . . .	—	—	—	—	—	—	—
ИТОГО . . . . .	—	—	—	—	77,02	—	128,45
Спальня . . . . .	—	—	13,64	5	68,30	1,63	111,33

Рис. 21. Ведомость о содержании пространства и объема воздуха в помещениях Николаевского сиротского института (А) и Малолетнего отделения Николаевского сиротского института (В) (Тимофеев 1887)

Fig. 21. Statement on the space and air volume in the premises of the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College (A) and the Infants Department (B) (Timofeev 1887)



разделено на два особых помещения с различными входами. Общий лазарет состоял из шести палат (8, 7, 10, 15, 13 и 7 кроватей), инфекционное отделение — из трех (20, 6 и 20 кроватей). Всего лазарет насчитывал 106 кроватей, что при необходимости могло быть увеличено до 120. Еще была седьмая палата для выпускниц Института, нуждавшихся в длительном медицинском наблюдении. Для больных в институтской столовой готовили отдельно по предписанию врача. На Александровской даче, где находилось Малолетнее отделение, имелось два лазарета: посто-

янный — для малолетних воспитанниц и летний — для воспитанниц Института, переводимых летом на дачу. На даче ослабленных воспитанниц осматривали, назначали молоко, солевые ванны (Тимофеев 1887).

Первый медицинский отчет Ведомства учреждений императрицы Марии был составлен лейб-медиком Михаилом Антоновичем Маркусом в 1859 г. (Селезнев 1878). С 1891 г. Ведомство ежегодно публиковало подробные медицинские отчеты, где размещались результаты обследований (рис. 22). Медицинские отчеты отражали

Таблица А. Состояние здоровья воспитанниц.	Число воспитанниц.	Малокровных.	Золотушных.	% слабых и золотушных.	Съесть артемизию и другие препараты.	Носить очки.	Съесть слабительное.	Съесть слабительное и другие препараты.	Число воспитанниц, нуждающихся в лечении.
<b>Классы и отд.</b>									
I спец. кл. 1-е отд.	22	12	1	59,0	11	7	—	6	12
I „ „ 2-е „	20	10	1	55,0	9	5	1	9	12
II „ „ 1-е „	25	11	3	56,0	11	8	—	10	16
II „ „ 2-е „	25	9	2	44,0	9	8	1	6	12
I класс 1-е „	22	9	4	59,0	8	5	1	8	15
I „ „ 2-е „	21	10	3	61,9	9	6	—	6	12
II „ „ 1-е „	26	12	5	65,3	12	9	1	9	15
II „ „ 2-е „	27	8	7	55,5	8	5	1	11	14
III „ „ 1-е „	27	8	8	59,2	9	4	1	12	19
III „ „ 2-е „	24	6	7	54,2	11	9	2	8	13
IV „ „ 1-е „	28	7	9	57,1	9	4	2	9	16
IV „ „ 2-е „	27	8	7	55,5	9	6	1	10	18
V „ „ 1-е „	41	11	15	63,4	10	8	1	14	31
V „ „ 2-е „	37	10	14	64,8	7	5	1	12	25
VI „ „ 1-е „	30	7	12	63,3	8	6	1	9	24
VI „ „ 2-е „	32	8	14	63,7	7	5	1	11	24
VII спец. кл. 1-е „	22	7	8	68,1	3	2	—	8	18
VII „ „ 2-е „	20	6	7	65,0	6	3	1	5	14
Пригот. „ 1-е „	30	8	11	63,3	5	4	1	11	24
„ „ 2-е „	14	3	7	71,4	3	1	—	4	10
<b>Итого . . .</b>	<b>520</b>	<b>170</b>	<b>145</b>	<b>60,6</b>	<b>164</b>	<b>110</b>	<b>17</b>	<b>178</b>	<b>344</b>
					(31,5%)	(21,1%)	(3,3%)	(34,2%)	(66,1%)

Рис. 22. Отчет о состоянии здоровья воспитанниц Санкт-Петербургского сиротского института императора Николая I (Медицинский отчет 1906)

Fig. 22. Report on the health of pupils at the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College (Medical Report 1906)



не только сугубо медицинские аспекты, но и гигиенические — состояние зданий, санитарно-гигиеническое состояние учебных помещений, распорядок дня и т. д. Так, согласно Медицинскому отчету за 1903–1904 гг. в Сиротском институте проведен ремонт и исправлены печи, но в классах и дортуарах отсутствует правильная вентиляция, в классах общего курса душно из-за горения керосиновых ламп, отсутствуют баки для хранения воды для умывания. Ее получают прямо из водопроводных труб и зимой она холодна (Медицинский отчет 1906).

Общая программа медицинских отчетов была утверждена Главным управляющим собственной Его Императорского Величества канцелярии по учреждениям императрицы Марии графом Николаем Алексеевичем Протасовым-Бахметевым (1834–1907) 29 января 1892 г. До этого врачи поступали по собственному усмотрению, приведение же отчетов к единообразию и особенно их открытая публикация были крайне важны для привлечения внимания к медико-санитарным проблемам и способствовали их решению (Пономарева 2014).

Проводили систематические измерения воспитанниц, собирали сведения от родственников о состоянии здоровья девочек при поступлении в Институт, о перенесенных заболеваниях и особенностях организма. Всех воспитанниц регулярно взвешивали, следя за их развитием (Пономарева 2014). Систематическое обследование питомцев давало обширный материал для научных физиологических исследований.

Все вновь поступающие в Сиротский институт проходили медицинский осмотр, результаты которого записывались в специальную шнуровую книгу, а затем на протяжении всего обучения история болезни каждой воспитанницы заносилась в так называемые скорбные листы. Так, согласно Медицинскому отчету за 1903–1904 гг. в 1903 г. в Сиротский институт принята 61 воспитанница, из них хорошего телосложения — 14, среднего — 26, слабого — 21, с начальным сколиозом — 5. Всего среди воспитанниц выявлено 107 человек с нарушением осанки, среди них сутуловатых — 29, с начальным сколиозом — 38, рахитическим сколиозом — 3 (Медицинский отчет 1906). Основным способом лечения сколиоза являлась лечебная гимнастика, а также применение ортопедической обуви. В январе и мае главный доктор производил плановые осмотры воспитанниц, занимавшихся лечебной гимнастикой, для определения результатов лечения и корректировки программы упражнений, слабым назначали молоко, солевые ванны. Таким образом, существовала

отлаженная система регулярных врачебных осмотров и проведения профилактических и коррекционных мероприятий, включая лечебную физкультуру.

При тяжелых заболеваниях старший врач Института приглашал консультантов: для внутренних болезней — тайный советник Карл Максимович Линген, для глазных болезней — действительный статский советник граф Иван Христофорович Магавли, для хирургических болезней — действительный статский советник Карл Карлович Рейер, для ушных болезней — действительный статский советник Роберт Робертович Вреден. Кроме того, при лазарете состоял зубной врач титулярный советник Карл Леопольдович Вагенгейм. Согласно Медицинскому отчету за 1903–1904 гг. в данном учебном году от различных болезней в лазарете лечились 342 воспитанницы, зубным врачом было осмотрено 520 учениц (Медицинский отчет 1906).

Уделялось большое внимание зрению воспитанниц. Так, согласно Медицинскому отчету, среди принятых в 1903 г. в Сиротский институт 61 воспитанницы зрение менее половины нормального отмечено у 10 (Медицинский отчет 1906). Для сохранения зрения были введены санитарные нормы для учебных помещений (освещенность, размещение окон, расстановка парт).

В конце XIX века инфекционные заболевания все еще представляли серьезную проблему. В 1903–1904 гг. в Сиротском институте хворали инфекционными заболеваниями (гриппом, дифтерией, скарлатиной, ветряной оспой, брюшным тифом) 128 (24,6%) воспитанниц. В течение двух эндемий дифтерии было произведено 397 бактериологических исследований, а также приняты меры изоляции и дезинфекции одежды и помещений, что свидетельствует о развитии системы медицинского обеспечения. Для предотвращения эпидемий всем поступающим обязательно делали прививки от оспы. На первом месте по смертности после эпидемий в конце XIX века находился туберкулез, называемый тогда бугорчаткой или чахоткой. Среди принятых в 1903 г. в Сиротский институт воспитанниц наследственная расположенность к бугорчатке выявлена у 34,4% (Медицинский отчет 1906).

Малокровных воспитанниц на все лето отправляли в Липецк, являвшийся традиционным русским курортом (Тимофеев 1887). К его основным достоинствам относятся умеренный климат, богатая растительность и главное — железистые воды. Однако устройство санатория — дело весьма затратное. И тут подоспела помощь благодетелей — сначала липецкая Городская

дума в 1885 г. приняла решение предоставить слабым воспитанницам учреждений Ведомства императрицы Марии бесплатное пользование местными минеральными водами и кумысом. А затем тайный советник Поляков подарил Ведомству свой дом с прилежащими строениями и садом для устройства лечебной станции (Пономарева 2014). Это позволило на регулярной основе отсылать на Липецкую лечебную станцию малокровных питомиц Николаевского сиротского института. Так, в 1904 г. там проходили лечение восемь воспитанниц, получавших молоко, кумыс, железистую воду, мышьяк, йодистое железо и принимавших лечебные ванны. Примечательно, что для переезда из Санкт-Петербурга в Липецк и обратно им были предоставлены два отдельных вагона (Медицинский отчет 1906).

### Организация питания

Во второй половине XIX века в свете новейших достижений естественных наук начинает складываться представление о рациональном питании. Если ранее основная задача сводилась к тому, чтобы накормить ребенка, то теперь приходит понимание, что питание играет огромную роль в развитии организма ребенка. Администрации Сиротского института необходимо было соблюсти баланс между организацией здорового рационального питания и ограниченными финансовыми возможностями. Несмотря на объективные трудности была проведена серьезная работа по составлению сбалансированного рациона воспитанниц с обоснованием необходимого числа калорий, норм потребления белков, жиров и углеводов (Пономарева 2016).

Согласно Уставу женских учебных заведений Ведомства учреждений императрицы Марии, пища воспитанниц должна быть свежая, простая и в достаточном количестве. На обед предусмотрено приготовление двух-трех, а на завтрак и ужин — не более двух блюд. Утром и вечером воспитанницы должны получать чай или молоко (Устав женских учебных заведений 1884). Как можно судить, предписания Устава носили самый общий характер. На практике к качеству и режиму питания предъявлялись возможно строгие требования. Детям не позволялось покупать съестное во избежание отравлений и для соблюдения режима. Лакомства разрешались только по воскресеньям и праздникам. Утром (7.40) дети получали кружку чая, молоко и булку. В 12.30 в будни и 11.30 в праздники подавали завтрак из одного блюда, в 16.30 в будни и 16.00 в праздники — обед из трех блюд. В 20.30 — чай с булкой, как и утром (Тимофеев 1887).

В обязанности классным дамам вменялось объяснение воспитанницам, что «принятие пищи есть важнейшая обязанность самосохранения и питание подчинено определенным законам, нарушение коих влечет за собою расстройство здоровья. <...> человеку постоянно нужна пища твердая и жидкая, животная и растительная, исключительное же употребление того или другого ее вида сопряжено с явным вредом» (Материалы для инструкции классным дамам 1857, 22).

Предпринимались меры по организации строгого регулярного контроля за качеством пищи. С 17 ноября 1861 г. по личному распоряжению Александра II почетные опекуны должны были обращать на пищу особое внимание. Меню составляли на неделю вперед, его утверждал медицинский инспектор, а готовые блюда осматривал врач (Селезнев 1878). Меню вывешивали в столовой (рис. 23) на всеобщее обозрение. Были рассчитаны нормы припасов для приготовления блюд (рис. 24).

В Сиротский институт поступало много девочек, страдавших заболеваниями, связанными с нарушением питания. В этой связи организация рационального питания имела не только профилактический характер, но и способствовала сохранению и укреплению здоровья воспитанниц. Для слабых здоровьем воспитанниц предусматривалось усиленное питание, включавшее рыбий жир, молоко, мышьяк, железо, пепсин (Медицинский отчет 1906). Существовал и особый лазаретный стол, которым могли пользоваться не только больные в лазаретах, но ослабленные воспитанницы.

### Упразднение

С 1866 г. был предпринят ряд мер по сокращению числа воспитанниц Николаевского сиротского института. 31 декабря 1866 г. по Высочайшему соизволению было учреждено Реальное женское училище. Николаевское женское реальное училище было нацелено на подготовку учительниц сельских школ, нянь и фельдшерниц, в обучении которых дисциплины анатомо-физиологического цикла занимали ключевые позиции, в связи с чем его описание заслуживает отдельного обзора.

В 1897 г. Институт получил наименование «Санкт-Петербургский сиротский институт императора Николая I». Последним почетным опекуном Института был генерал-лейтенант граф Николай Федорович Гейден (1856–1919), начальницей — Н. В. Булацель, настоятелем храма — протоиерей Павел Иоаннович Докучаев.



Рис. 23. Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт. Столовая  
(Источник: [https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/photos/lo000000348\\_1\\_m.jpg](https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/photos/lo000000348_1_m.jpg))

Fig. 23. Dining room at the Saint Petersburg Nikolaevsky Orphan College (Medical Report 1906)  
(URL: [https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/photos/lo000000348\\_1\\_m.jpg](https://nlr.ru/petersburg/spbpcards/photos/lo000000348_1_m.jpg))

С падением монархии рухнула и старая система управления Ведомства учреждений императрицы Марии. Особая острота возникших перед Мариинскими учреждениями, в том числе Сиротским институтом, проблем была обусловлена, прежде всего, их принадлежностью к Мариинскому ведомству, тесно связанному с императорской фамилией (Фруменкова 2013а). Постановлением Временного правительства от 12 (26) мая 1917 г. Ведомство учреждений императрицы Марии было включено в состав Министерства государственного призрения (Журнал входящих документов... 1917). Осенью 1917 г. Институт, в отличие от многих других учебных заведений, не был эвакуирован из Петрограда, сюда поместили сирот младшего возраста из выезжавших институтов города. С декабря 1917 г. находился в ведении Народного комиссариата государственного призрения. Закрыт приказом Комиссариата от 31 января 1918 г. (Дело о переводе в институт... 1918).

### Заключение

Физиология являлась фундаментальной опорой педагогического образования, осуществляемого в Воспитательном доме, бывшем на рубеже XVIII–XIX веков одним из центров становления возрастной физиологии и педиатрии в России (Никитина 2022). Заложенные тради-

ции получили дальнейшее достойное развитие в XIX веке. В первой половине XIX века в рамках Санкт-Петербургского Императорского воспитательного дома стала складываться уникальная многоступенчатая система учреждений педагогического образования. В первой половине XIX века в обиход науки вошло предложенное Иммануилом Кантом понятие «антропология». Стала более четко обособляться особая область науки, связанная с исследованием сущности человека. Преобразование жизнедеятельности Санкт-Петербургского Императорского воспитательного дома в середине XIX века связано с новой ситуацией общественного развития, характеризующейся глубоким реформированием всех сторон общественной жизни. Намечались тенденции критического осмысления имеющихся знаний о человеке, накопленных в западноевропейской и отечественной науке, и поиска путей создания концепции человека на основе интеграции знаний (Расчетина 2007). Все это нашло отражение в деятельности Санкт-Петербургского Николаевского сиротского института, учрежденного Высочайшим повелением в 1837 г.

В первом периоде своего существования (1837–1852) обучение в Санкт-Петербургском сиротском институте проходило по установленному императрицей Марией Федоровной плану Французских классов, учрежденных при Санкт-Петербургском воспитательном доме,



The image shows a historical document with two facing pages of a table. The table is titled 'Нормы припасов для приготовления блюд на 100 воспитанниц (Селезнев 1878)' and 'Supply norms for preparing meals for 100 pupils (Seleznev 1878)'. The table is organized into several columns, likely representing different food items and their corresponding norms. The text is in Russian and the document appears to be a historical record or a manual from 1878.

Рис. 24. Нормы припасов для приготовления блюд на 100 воспитанниц (Селезнев 1878)

Fig. 24. Supply norms for preparing meals for 100 pupils (Seleznev 1878)

носившему преимущественно гуманитарный характер, где дисциплины анатомио-физиологического цикла не нашли достойного отражения. Середина и вторая половина XIX века — период значимых реформ в Российской империи, затронувших и сферу образования. В этот период в Санкт-Петербургском Николаевском сиротском институте улучшена постановка гуманитарного и педагогического образования, расширены возможности подготовки воспитанниц к самостоятельной жизни, курс обучения из 13-летнего становится 10-летним, преодолен закрытый характер системы воспитания и образования подопечных. Это время характеризуется резким ростом естественнонаучных открытий, что привело к повышению интереса общества к естествознанию в целом и физиологии в частности. Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт, готовивший домашних учительниц и наставниц, не мог остаться в стороне от изменившихся запросов общества. Это закономерно привело к усилению естественнонаучной подготовки воспитанниц. В этом контексте следует отметить, что около трети выпускниц Николаевского сиротского института посвятили всю свою жизнь педагогическому служению, неся в том числе и естественнонаучные знания.

Принципы возрастной физиологии, заложенные еще И. И. Бецким, лежат в основе организации образовательного процесса в Санкт-Петербургском Николаевском сиротском

институте, где традиционно гигиеническое и физическое воспитание были неотрывны от обучения. Кроме того, в Сиротском институте с самого начала его существования было принято за правило соотносить курс наук со способностями воспитанниц. Следует подчеркнуть вневременность этого подхода, являющегося базовым в педагогике.

Санкт-Петербургский Николаевский сиротский институт был закрытым учебным заведением, поэтому приходилось решать, помимо учебных, множество проблем хозяйственного, санитарно-гигиенического, медицинского характера. Во второй половине XIX века усиливается значимость естественнонаучных знаний, общество все глубже осознает взаимосвязь гигиены и здоровья. И Николаевский сиротский институт становится активным проводником физиологических и гигиенических знаний, выполняя очень важную социальную роль в российском обществе того времени.

### Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

### Conflict of Interest

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

### Литература

- Гурьев, П. С. (1854) *Очерк истории Императорского Гатчинского сиротского института*. СПб.: Типография Опекунского совета, 183 с.
- Дело о переводе в институт воспитанниц из Николаевского сиротского института в связи с его упразднением. (1797–1918) *ЦГТА СПб*. Ф. 414. Оп. 3. Д. 1403.
- Журнал входящих документов Петроградского сиротского института. (1837–1917) *ЦГТА СПб*. Ф. 10. Оп. 1. Д. 7057.
- Клевезаль, Ф. Ф. (1869) *Гимнастика для девиц в применении к различным возрастам для общественного и домашнего воспитания*. СПб.: Печатня В. Головина, 128 с.
- Клевезаль, Ф. Ф. (1874) *Об устранении неправильного держания тела при занятиях в школе*. СПб.: типография П. Меркульева, 12 с.
- Колосова, Е. М. (2008) Образовательные инновации Герценовского университета в XIX веке. *Universum: Вестник Герценовского университета*, № 9 (59), с. 66–69.
- Материалы для инструкции классным дамам*. (1857) СПб.: Типография Императорской Академии наук, 142 с.
- Медицинский отчет по Ведомству учреждений императрицы Марии за 1903–1904 гг.* (1906) СПб.: типография И. Н. Скороходова, 374 с.
- Менгден, В. М. (1872) *Исторический очерк Санкт-Петербургского воспитательного дома, читанный 6 сентября 1872 года в день празднования юбилея столетнего его существования директором этого заведения*. СПб.: Типография Второго отделения Собственной Его Императорского Величества канцелярии, 16 с.
- Модзалевский, А. Н. (1894) *Императрица Мария Феодоровна и ее первый женский институт*. СПб.: Типография Училища глухонемых, 37 с.
- Никитина, Е. А. (2022) Хроники физиологии: Санкт-Петербургский Императорский воспитательный дом. *Интегративная физиология*, т. 3, № 2, с. 123–139. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-2-123-139>
- Полное собрание законов Российской империи (1825–1881). Т. III. (1828)* СПб.: Типография Второго отделения Собственной Его Императорского Величества канцелярии, 1246 с.

- Полное собрание законов Российской империи (1825–1881). Т. IX.* (1834) СПб.: Типография Второго отделения Собственной Его Императорского Величества канцелярии, 1195 с.
- Полное собрание законов Российской империи (1825–1881). Т. XII.* (1837) СПб.: Типография Второго отделения Собственной Его Императорского Величества канцелярии, 1067 с.
- Полное собрание законов Российской империи (1825–1881). Т. XXX.* (1855) СПб.: Типография Второго отделения Собственной Его Императорского Величества канцелярии, 778 с.
- Полное собрание законов Российской империи (1825–1881). Т. XXXV.* (1860) СПб.: типография Второго отделения Собственной Его Императорского Величества канцелярии, 634 с.
- Пономарева, В. В. (2013) Роль закрытых женских институтов Мариинского ведомства в установлении новых норм повседневной гигиены (вторая половина XIX — начало XX века). *Вестник Московского университета. Серия 23: Антропология*, № 2, с. 124–136.
- Пономарева, В. В. (2014) Медико-социальные условия повседневной жизни закрытых институтов Мариинского ведомства (вторая половина XIX — начало XX века). *Вестник Московского университета. Серия 23: Антропология*, № 1, с. 17–29.
- Пономарева, В. В. (2016) Как в «Институтах благородных девиц» решали проблему «пищевого довольствия» (вторая половина XIX — начало XX века). *Вестник Московского университета. Серия 23: Антропология*, № 3, с. 125–134.
- Расчетина, С. А. (2007) От Санкт-Петербургского императорского воспитательного дома к Российскому государственному педагогическому университету им. А. И. Герцена: история становления педагогического образования. *Вестник Герценовского университета*, № 5 (43), с. 8–17.
- Селезнев, И. Я. (1878) *Пятидесятилетие IV отделения Собственной его Императорского Величества канцелярии 1828–1878.* СПб.: Типография В. Демакова, 872 с.
- Соколов, А. Р., Зимин, И. В. (2015) *Благотворительность семьи Романовых. XIX — начало XX в. Повседневная жизнь Российского императорского двора.* М.: Центрполиграф, 680 с.
- Тарапыгин, Ф. А. (1878) *Материалы для истории С.-Петербургского воспитательного дома.* СПб.: Типография Р. Голике, 79 с.
- Тимофеев, В. П. (1887) *Пятидесятилетие С.-Петербургского Николаевского сиротского института. 1837–1887. Исторический очерк.* СПб.: Экспедиция заготовления государственных бумаг, 294 с.
- Устав женских учебных заведений Ведомства учреждений императрицы Марии, высочайше утвержденный 30 августа 1855 года.* (1884) СПб.: Типография К. Штримера, 346 с.
- Фруменкова, Т. Г. (2013a) Изменение системы управления Мариинским ведомством и Петроградским воспитательным домом в марте-октябре 1917 года. *Universum: Вестник Герценовского университета*, № 2, с. 158–164.
- Фруменкова, Т. Г. (2013b) Императрица Александра Федоровна (1798–1860) как покровительница благотворительных и воспитательных учреждений. *Universum: Вестник Герценовского университета*, № 1, с. 160–164.

## References

- Delo o perevode v institut vospitannits iz Nikolaevskogo sirotskogo instituta v svyazi s ego uprazhneniem [The case of transfer to the institute of pupils from the Nikolay's orphanage institute in connection with its abolition]. (1797–1918) *TsGLA SPb [Central State Historical Archive of Saint Petersburg]*. Fund 414. Inventory no. 3. Archival unit 1403. (In Russian)
- Frumentova, T. G. (2013a) *Izmenenie sistemy upravleniya Mariinskim vedomstvom i Petrogradskim vospitatelnym domom v marte-oktybre 1917 goda* [Change in the management system of the Mariinsky Department and the Petrograd Educational House in March-October 1917]. *Universum: Vestnik Gerzenovskogo universiteta*, no. 2, pp. 158–164. (In Russian)
- Frumentova, T. G. (2013b) *Imperatritsa Aleksandra Fedorovna (1798–1860) kak pokrovitel'nitsa blagotvoritelnykh i vospitatelnykh uchrezhdeniy* [Empress Alexandra Feodorovna (1798–1860) as patron of charitable and educational institutions]. *Universum: Vestnik Gerzenovskogo universiteta*, no. 1, pp. 160–164. (In Russian)
- Gur'ev, P. S. (1854) *Ocherk istorii Imperatorskogo Gatchinskogo sirotskogo instituta* [Essay on the history of the Imperial Gatchina Orphanage Institute]. Saint Petersburg: The Board of Trustees Publ., 183 p. (In Russian)
- Klevezal, F. F. (1869) *Gimnastika dlya devits v primenenii k razlichnym vozrastam dlya obschestvennogo i domashnego vospitaniya* [Gymnastics for girls applied to different ages for social and home education]. Saint Petersburg: V. Golovin's Publ., 128 p. (In Russian)
- Klevezal, F. F. (1874) *Ob ustranении nepravilnogo derzhaniya tela pri zanyatiyakh v shkole* [On eliminating improper body holding during school]. Saint Petersburg: P. Merkul'ev's Publ., 12 p. (In Russian)
- Kolosova, E. M. (2008) *Obrazovatelnye innovatsii Gerzenovskogo universiteta v XIX veke* [Educational innovations of Herzen University in the XIX century]. *Universum: Vestnik Gerzenovskogo universiteta — Universum: Bulletin of the Herzen University*, no. 9 (59), pp. 66–69. (In Russian)
- Materialy dlya instruktsii klassnym damam* [Materials for instructing class mentors]. (1857) Saint Petersburg: The Imperial Academy of Sciences Publ., 142 p. (In Russian)



- Meditsinskiy otchet po Vedomstvu uchrezhdeniy imperatritsy Marii za 1903–1904 gg.* [Medical report on the Office of the Institutions of Empress Maria for 1903–1904.]. (1906) Saint Petersburg: I. N. Skorokhodov' Publ., 374 p. (In Russian)
- Mengden, V. M. (1872) *Istoricheskij ocherk S.-Petersburgskogo vospitatel'nogo doma, chitannij 6 sentyabrya 1872 goda v den prazdnovaniya yubileya stoletnego ego suschestvovaniya direktorom etogo zavedeniya* [Historical essay of the St. Petersburg Educational House, read on September 6, 1872 on the day of the celebration of the anniversary of its centenary existence by the director of this institution]. Saint Petersburg: The Second Branch of His Imperial Majesty's Own Chancellery Publ., 16 p. (In Russian)
- Modzalevskiy, L. N. (1894) *Imperatritsa Mariya Feodorovna i ee pervij zhenskij institut* [Empress Maria Feodorovna and her first female institute]. Saint Petersburg: The School of deaf-mutes' Publ., 37 p. (In Russian)
- Nikitina, E. A. (2022) Khroniki fiziologii: Sankt-Peterburgskij Imperatorskij vospitatelnij dom [Chronicles of physiology: Saint Petersburg Imperial founding hospital]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 3, no. 2, pp. 123–139. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-2-123-139> (In Russian)
- Polnoe sobranie zakonov Rossiyskoj imperii (1825–1881). T. III* [Full collection of laws of the Russian Empire (1825–1881). Vol. III]. (1828) Saint Petersburg: Second Branch of His Imperial Majesty's Own Chancellery Publ., 1246 p. (In Russian)
- Polnoe sobranie zakonov Rossiyskoj imperii (1825–1881). T. IX* [Full collection of laws of the Russian Empire (1825–1881). Vol. IX]. (1834) Saint Petersburg: Second Branch of His Imperial Majesty's Own Chancellery Publ., 1195 p. (In Russian)
- Polnoe sobranie zakonov Rossijskoj imperii (1825–1881). T. XII* [Full collection of laws of the Russian Empire (1825–1881). Vol. XII]. (1837) Saint Petersburg: Second Branch of His Imperial Majesty's Own Chancellery Publ., 1067 p. (In Russian)
- Polnoe sobranie zakonov Rossijskoj imperii (1825–1881). T. XXX* [Full collection of laws of the Russian Empire (1825–1881). Vol. XXX]. (1855) Saint Petersburg: Second Branch of His Imperial Majesty's Own Chancellery Publ., 778 p. (In Russian)
- Polnoe sobranie zakonov Rossijskoj imperii (1825–1881). T. XXXV* [Full collection of laws of the Russian Empire (1825–1881). Vol. XXXV]. (1855) Saint Petersburg: Second Branch of His Imperial Majesty's Own Chancellery Publ., 634 p. (In Russian)
- Ponomareva, V. V. (2013) Rol' zakrytykh zhenskikh institutov Mariinskogo vedomstva v ustanovlenii novykh norm povsednevnoj gigieny (vtoraya polovina XIX — nachalo XX veka) [The role Mariinsky's girls' boarding colleges played in the establishment of new norms of daily hygiene (from the second half of nineteenth century to the beginning of twentieth)]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 23: Antropologiya — Moscow University Anthropology Bulletin*, no. 2, pp. 124–136. (In Russian)
- Ponomareva, V. V. (2014) Mediko-sotsial'nye usloviya povsednevnoj zhizni zakrytykh institutov Mariinskogo vedomstva (vtoraya polovina XIX — nachalo XX veka) [Medical and social conditions of daily life in colleges of the mariinskyestablishment (second half of 19<sup>th</sup> — beginning of 20<sup>th</sup> century)]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 23: Antropologiya — Moscow University Anthropology Bulletin*, no. 1, pp. 17–29. (In Russian)
- Ponomareva, V. V. (2016) Kak v "Institutakh blagorodnykh devits" reshali problem "pishchevogo dovol'stviya" (vtoraya polovina XIX — nachalo XX veka) [How the issue of "food allowances" Was being resolved in "girls' boarding schools" (second half of 19<sup>th</sup> — beginning of 20<sup>th</sup> century)]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 23: Antropologiya — Moscow University Anthropology Bulletin*, no. 3, pp. 125–134. (In Russian)
- Raschetina, S. A. (2007) Ot Sankt-Peterburgskogo imperatorskogo vospitatel'nogo doma k Rossijskomu gosudarstvennomu pedagogicheskomu universitetu im A. I. Gertsena: istoriya stanovleniya pedagogicheskogo obrazovaniya [From the St. Petersburg Imperial Educational House to the Russian State Pedagogical University named after A. I. Herzen: The history of the formation of pedagogical education]. *Universum: Vestnik Gerzenovskogo universiteta — Universum: Bulletin of the Herzen University*, no. 5 (43), pp. 8–17. (In Russian)
- Seleznev, I. Ya. (1878) *Pyatidesyatiletie IV Otdeleniya Sobstvennoj ego Imperatorskogo Velichestva kantselyarii 1828–1878* [Fiftieth anniversary of the IV section of his imperial majesty's chancellery: 1828–1878]. Saint Petersburg: V. Demakova's Publ., 872 p. (In Russian)
- Sokolov, A. R., Zimin, I. V. (2015) *Blagotvoritelnost' sem'i Romanovykh. XIX — nachalo XX v. Povsednevnyaya zhizn' Rossijskogo imperatorskogo dvora* [Charity of the Romanov family. XIX — beginning of XX century. Everyday life of the Russian Imperial Court]. Moscow: Tsentrpoligraf Publ., 680 p. (In Russian)
- Tarapugin, F. A. (1878) *Materialy dlya istorii Sankt-Peterburgskogo vospitatelnogo doma* [Materials for the history of Saint Petersburg educational house]. Saint Petersburg: R. Golike's Publ., 79 p. (In Russian)
- Timofeev, V. P. (1887) *Pyatidesyatiletie S.-Peterburgskogo Nikolaevskogo sirotskogo instituta. 1837–1887. Istoricheskij ocherk* [Fiftieth anniversary of the St. Petersburg Nikolaev Orphanage Institute. 1837–1887. Historical essay]. Saint Petersburg: Expedition to procure government papers Publ., 294 p. (In Russian)
- Ustav zhenskikh uchebnykh zavedenij Vedomstva uchrezhdenij imperatritsy Marii, vysochayshe utverzhdennij 30 avgusta 1855 goda* [Charter of women's educational institutions of the Office of the Empress Maria, highly approved on August 30, 1855]. (1884) Saint Petersburg: K. Stremer's Publ., 346 p. (In Russian)
- Zhurnal vkhodyashchikh dokumentov Petrogradskogo sirotskogo instituta* [Journal of incoming documents of the Petrograd Orphanage Institute]. (1837–1917) *TsGLA SPb* [Central State Historical Archive of Saint Petersburg]. Fund 10. Inventory no. 1. Archival unit 7057. (In Russian)



Check for updates

Обзоры

УДК 575

EDN AXQPNP

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-239-260>

## Как начиналась генетика в России

А. И. Ермолаев <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский филиал Института истории естествознания и техники им. С. И. Вавилова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 5Б

### Сведения об авторе

Андрей Игоревич Ермолаев, SPIN-код: 2220-2359, Scopus AuthorID: 57192095032, ResearcherID: K-8090-2012, ORCID: 0000-0001-8654-1147, e-mail: [yamamura@yandex.ru](mailto:yamamura@yandex.ru)

**Для цитирования:** Ермолаев, А. И. (2024) Как начиналась генетика в России. *Интегративная физиология*, т. 5, № 3, с. 239–260. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-239-260> EDN AXQPNP

**Получена** 6 сентября 2024; прошла рецензирование 7 октября 2024; принята 29 октября 2024.

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

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

**Аннотация.** Ставится вопрос, когда генетическая наука начала развиваться в России? Подвергаются сомнению обе существующие точки зрения, как та, момент рождения которой одинаков с международным в 1900 г., так и та, что отсчет нужно вести с момента образования первой кафедры генетики в 1919 г. Для этого рассматриваются все значимые события в период 1900–1918 гг. Показано отсутствие серьезного интереса к законам Менделя в первое десятилетие XX в., это связывается с существовавшим тогда исключительно «физиологическим» взглядом на наследственность, противоположным раннему менделизму. Но во второе десятилетие ситуация меняется. С 1910 г. пристальное внимание к генетике проявляет Бюро по прикладной ботанике при Ученом Комитете Главного управления землеустройства и земледелия Российской империи; с 1912 г. начинается преподавание генетики в Одесском университете А. А. Сапегиным; а с 1913 г. — в Санкт-Петербургском университете Ю. А. Филипченко; в эти же годы Н. К. Кольцов включает генетические темы в программу своего коллоквиума в Московском городском народном университете им. А. А. Шанявского. В результате делается вывод, что отечественная генетика возникла не в 1919 г., а на несколько лет раньше — где-то между 1912 и 1914 гг., и предлагается принять точкой возникновения 1913 г.

**Ключевые слова:** история генетики, наука в Российской империи, Е. А. Богданов, Н. И. Вавилов, Н. К. Кольцов, Р. Э. Регель, А. А. Сапегин, Ю. А. Филипченко

# The origins of genetics in Russia

A. I. Ermolaev ✉<sup>1</sup>

<sup>1</sup> S. I. Vavilov Institute for the History of Science and Technology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg Branch, 5B Universitetskaya Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

## Author

Andrey I. Ermolaev, SPIN: [2220-2359](#), Scopus AuthorID: [57192095032](#), ResearcherID: [K-8090-2012](#), ORCID: [0000-0001-8654-1147](#), e-mail: [yamamura@yandex.ru](mailto:yamamura@yandex.ru)

**For citation:** Ermolaev, A. I. (2024) The origins of genetics in Russia. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 3, pp. 239–260. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-239-260> EDN [AXQPNP](#)

**Received** 6 September 2024; reviewed 7 October 2024; accepted 29 October 2024.

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

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

**Abstract.** The article examines the origins of genetic science in Russia. The author critiques two prevailing perspectives: one that asserts its inception coincided with global developments in 1900, and another that marks the establishment of the first genetics department in 1919 as the beginning. To address this, the article considers all significant events from 1900 to 1918. It demonstrates a lack of substantial interest in, highlighting the limited initial engagement with Mendelian laws of genetics during the first decade of the early 20th century. This early indifference is attributed to the prevailing 'physiological' perspective on heredity, which was at odds with Mendel's principles. However, the landscape began to shift in the second decade of the century. Since 1910, the Bureau of Applied Botany under the Scientific Committee of the Main Directorate of Land Management and Agriculture of the Russian Empire closely followed advancements in genetics. In 1912, A. A. Sapegin began teaching genetics at Odessa University, and in 1913, Yu. A. Filipchenko introduced the subject at St. Petersburg University. Around the same time, N. K. Koltsov integrated genetic topics into his colloquium at the Shanyavsky Moscow City People's University. As a result, the article concludes that it was not in 1919 that genetics began in Russia. In fact, it happened several years earlier, between 1912 and 1914, with 1913 marking the emergence of genetics as a field of knowledge in Russia.

**Keywords:** history of genetics, science in the Russian Empire, E. A. Bogdanov, N. I. Vavilov, N. K. Koltsov, R. E. Regel, A. A. Sapegin, Yu. A. Filipchenko

## Введение

Как всем прекрасно известно, генетика родилась не в 1865 г., когда Грегор Мендель сделал свой революционный доклад на двух последовательных заседаниях Общества естествоиспытателей города Брно, а на 35 лет позже, после переоткрытия в 1900 г. установленных Менделем закономерностей тремя учеными независимо друг от друга — Гуго де Фризом в Голландии, Карлом Корренсом в Германии и Эрихом Чермаком в Австрии. История рождения генетики как отдельной дисциплины детально исследована и подробно описана (Гайсинович 1988; Инге-Вечтомов 2015; Schwartz 2008).

Что же касается начала генетики в России, то этот вопрос не так прост. Существуют две основные точки зрения. Одни исследователи считают само собой разумеющимся, что генетика во всем мире началась одновременно — в 1900 г. (Фандо 2005; Фролов 1988). Другие за точку отсчета принимают 1919 г. — организацию

первой в нашей стране кафедры генетики в Петрограде (Захаров 2024; Инге-Вечтомов 2015). По мнению А. Е. Гайсиновича, «генетика как самостоятельная наука стала развиваться у нас в стране только в советский период. До 1917 г. лишь единичные ученые в своих работах исследовали проблемы наследственности» (Гайсинович 1988, 280). Этот взгляд более близок к реальному положению вещей, но возникает закономерный вопрос — если до 1919 г. отечественной генетики не существовало, то каким образом уже в 1920-е гг. здесь было сделано несколько важнейших открытий, а российская генетическая школа стала уважаемой во всем мире? Предметом настоящей статьи является как раз изучение основных событий в российской биологии, имеющих отношение к генетике, на протяжении 18 лет — с 1900 до 1918 г.

Но сначала придется напомнить, что вопросы наследственности интересовали ученых всегда, начиная с Эмпедокла и Аристотеля в Древней Греции и Гарвея в Новое время (Барabanщиков,



Ермолаев 1988; Гаврилов-Зимин, Сергеев 2024; Гайсинович 1988; Пименова 2022). Во второй половине XIX в. большинство биологов относили эти вопросы к области физиологии. Например, зоолог Н. П. Вагнер (1829–1907)<sup>1</sup> изучение вопросов наследственности считал одной из неприменных задач биологии. Не могу не привести несколько характерных цитат из его статьи «Куда идет зоология?» (Вагнер 1871):

«Классификация — в смысле дарвинизма — это группировка всех фазисов развития, которые проходил весь мир животных с первых времен его появления. Понятно, что для работ в этом смысле необходимо непосредственное и сильное участие физиологии, биологии, эмбриологии, сравнительной анатомии, палеонтологии, физической географии — одним словом, всех тех наук, которых участие прежде считалось мало-важным, или почти вовсе отвергалось» (Вагнер 1871, 721–722).

Рассуждая о том, что ни один организм в течение жизни не может ни чрезмерно увеличить массу своего тела, ни изменить его молекулярного строения, Вагнер практически ставит знак равенства между основами физиологических процессов и наследственностью: «Здесь мы прямо встречаемся с той силой, которую мы можем назвать силой организующей, пластической, **силой физиологической, силой наследственности** <...>. В сущности, эта сила до сих пор представляется совершенно загадочною, а поэтому и проявления ее для нас еще темны и не могут быть поставлены в категорию верно разграниченных» (Вагнер 1871, 732) (выделение мое — А. Е.).

В конце XIX в. Ф. Гальтоном был предложен биометрический подход к явлениям наследственности, разработаны методы корреляционного и регрессионного анализа. Основанный в 1901 г. журнал «Биометрия», редактируемый К. Пирсоном, стал трибуной школы биометриков (Инге-Вечтомов 2015, 94–100). Изучение количественных признаков привело их к представлению, что основным видом наследственности является т. н. «промежуточная», альтернативная по отношению к менделирующей наследственности и заключающаяся в том, что гибриды первого поколения имеют среднее значение признака относительно родительских, и этот «средний тип» сохраняется далее в последующих поколениях<sup>2</sup>. Только работы шведского генети-

ка Германа Нильссона-Эле в 1909–1911 гг. показали, что к количественным признакам также приложим менделистический анализ.

Ранее, описывая историю с переоткрытием «законов Менделя» (Ермолаев 2019; 2022), мы предположили, что, хотя закономерности комбинирования признаков непременно были бы установлены кем-нибудь из ученых на рубеже XIX и XX столетий, но именно сопровождавшая эти события полемика о роли Менделя и некоторая скандальность произвели такое огромное впечатление на современников, что на ближайшие несколько десятков лет гибридологический метод стал основным в исследовании наследственности, временно отодвинув на второй план изучение связанных с этим физиологических вопросов. Иначе история биологии в двадцатом веке могла бы пойти по несколько иному пути.

### Первые отклики

Итак, возвращаемся в XX в. Первым из российских ученых на менделизм откликнулся знаменитый ботаник, академик Иван Парфентьевич Бородин (1847–1930), руководивший в тот момент «Бюро по прикладной ботанике» (о котором ниже). В 1903 г. в трех номерах журнала «Мир Божий» он опубликовал «Очерки по вопросам оплодотворения» (рис. 1), в том же году изданные отдельным изданием (Бородин 1903a; 1903b; 1903c; 1903d). Третий очерк был полностью посвящен менделизму. Однако научные журналы эту тему тогда проигнорировали.

В 1907 г. появилось второе изложение основных результатов Менделя на русском языке в сборнике «Сельскохозяйственное животноводство». Составитель этого сборника, один из основоположников русской зоотехнической науки Павел Николаевич Кулешов (1854–1936) на трех страничках изложил законы Менделя для практиков-животноводов. Он пишет: «...до 1900 года наблюдения Менделя оставались неизвестными не только скотоводам, но даже и ученым. Эти наблюдения Менделя обратили теперь на себя серьезное внимание, а потому мы сообщим здесь те из его наблюдений, которые могут иметь практическое значение и для животноводства» (Кулешов 1907, 1).

Кулешов имел звание профессора Петровской сельскохозяйственной академии. Эта академия была закрыта в 1894 г. и на ее базе основан Московский сельскохозяйственный институт (МСХИ), ныне это Сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева. В этом институте учились упомянутые ниже С. И. Жегалов,

<sup>1</sup> О Николае Петровиче Вагнере, профессоре сначала Казанского, а затем Санкт-Петербургского университетов подробнее см.: (Фокин 2024).

<sup>2</sup> Объем статьи не позволит коснуться ни биометрических исследований, ни истории евгеники, также восходящей к Гальтону. Ограничимся менделизмом.

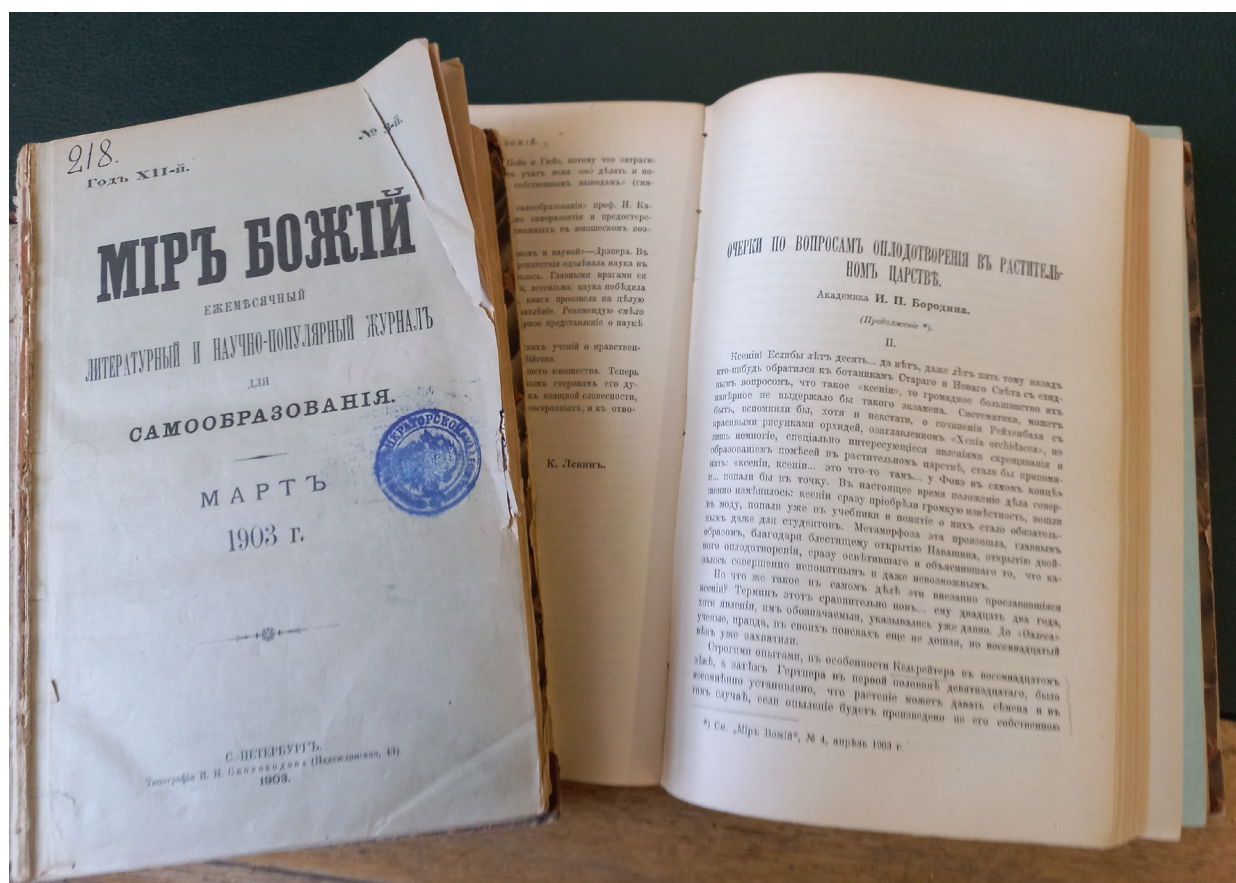


Рис. 1. Журнал «Мир Божий» со статьей И. П. Бородина. Фото А. И. Ермолаева, 2024

Fig. 1. *The World of God* magazine with an article by I. P. Borodin. Photo by A. I. Ermolaev, 2024

Н. И. Вавилов, А. П. Бреславец, Г. Д. Карпеченко и многие другие.

Но в 1907 г. генетика еще не овладела умами сотрудников института. Например, профессор Н. М. Кулагин в 1907–1918 гг. читал для студентов МСХИ курс зоологии (Кулагин 1908). Начиная свои лекции с изложения общих тем, в том числе взглядов на наследственность. Им описаны воззрения К. Негели<sup>3</sup> и А. Вейсмана, но законы Менделя в лекциях совершенно отсутствовали, и его имя там не упоминалось: «Переходя к вопросу о наследственности, мы остановимся на теории Негели и Вейсмана, а теорию Дарвина (пангенезис) оставим в стороне» (Кулагин 1908, 52). Заключает эти несколько страниц Кулагин такими словами:

«Вообще надо сказать, что вопросы наследственности в настоящее время являются одними из самых темных в биологии и мы не только не знаем причин и путей передачи признаков, но не имеем даже достаточных фактических

оснований, чтобы с уверенностью сказать, какие из признаков вообще передаются по наследственности» (Кулагин 1908, 53). Как видим, Кулагин в 1907 г. говорит примерно то же самое, что говорил Н. П. Вагнер 40 лет назад.

Некоторые авторы (например, Гайсинович 1988, 244) указывают, что в вышедшей тогда же монографии профессора Императорского Санкт-Петербургского университета (ИСПБУ) В. М. Шимкевича «Биологические основы зоологии» (Шимкевич 1907) содержалась, в отличие от учебника Кулагина, пропаганда менделизма. На деле ситуация сложнее и интереснее. Книгу Шимкевича завершает девятая глава под названием «Трансформизм и наследственность» на 77 страницах, но места для изложения теории Менделя там не нашлось. Результаты Менделя изложены в главе, посвященной способам размножения (Шимкевич 1907, 308–313), наряду с телегонией и партеногенезом, как некие особые случаи. Из брошюры «Помеси и убудки» (Шимкевич 1906) становится окончательно ясно, что Шимкевич рассматривал теорию наследственности исключительно с физиологических позиций и относил к ней взгляды Негели, Дарвина

<sup>3</sup> Напомним, что немецкий ботаник Карл-Вильгельм Негели (1817–1891) предложил умозрительную «гипотезу идиоплазмы» — особой внутриклеточной субстанции, которая играет роль носительницы наследственных свойств.



и Вейсмана, но никак не Менделя. Мендель для него интересен только тем, что вытекающим из его закономерностей выщеплением рецессивных форм при гибридизации можно, как кажется Шимкевичу, объяснить случаи атактизма. То, что суть теории Менделя оставила профессора равнодушной, видно из статьи с ярким заглавием «Новое в вопросах о наследственности» (Шимкевич 1912), где автор рассматривает только опыты Вейсмана и Каммерера<sup>4</sup>, и вообще не упоминает ни Менделя, ни его последователей, к тому времени на Западе уже весьма многочисленных.

В учебнике зоологии Н. М. Книповича законы Менделя наконец-то были упомянуты в главе «Явления наследственности», которая имела в своем составе небольшой раздел «Правила Менделя» (Книпович 1909, 363–369). Автор при этом проявляет некоторый скептицизм: «Менделевские явления редко встречаются при скрещивании разных видов, по большей части они наблюдаются лишь при скрещивании рас и разновидностей, но и тут вовсе не являются правилом» (Книпович 1909, 367).

Таким образом, можно заключить, что в 1907–1908 гг. российской генетики еще не существовало, а были лишь отдельные ученые, проявлявшие умеренный интерес к менделизму, и лишь к концу нулевых годов ситуация начинает меняться.

### Ситуация к началу 1910-х гг.

Всплеск интереса к генетике наблюдается в конце нулевых — начале десятых годов двадцатого века. Частично этому способствовал выход из печати русского перевода монографии Томаса Морган «Экспериментальная биология» (Морган 1909), немалая часть которой была посвящена менделизму (хотя работы самого Морган по генетике появятся несколько позже). Стоит отметить, что Морган с 1904 г. работал в лаборатории Эдмунда Вильсона, признанного главы американских цитологов, опубликовавшего в 1902 г. гипотезу о связи генов с хромосомами (Музрукова 2002). Перевод книги самого Вильсона «Роль клетки в развитии и наследственности» вышел ранее, хотя там, естественно, наследственность еще разбиралась исходя

<sup>4</sup> В лаборатории венского зоолога Пауля Каммерера (1880–1926) были получены результаты о наследственном увеличении у жабы-повитухи так называемой «брачной мозоли» (представляющей собой четкое пигментированное пятно), что трактовалось как аргумент в пользу наследования приобретенных признаков. Позже выяснилось, что кто-то из лаборантов фальсифицировал препараты. Не пережив позора, Каммерер покончил с собой.

из теории зародышевой плазмы Вейсмана, а не по Менделю (Вильсон 1900). Про книгу Вильсона Н. И. Вавилов писал: «Этот классический труд показывает наглядно всю громаду фактов, которая уже была точно установлена для обоснования так называемой ядерной теории наследственности» (Вавилов 2012, 68). Потом появился и перевод лекций самого Вейсмана (Вейсман 1905; 1918).

Вышедшая в двух переводах небольшая книга немецкого зоолога Эрнста Густава Тейхмана «Наследственность» также разбирала это явление в первую очередь с точки зрения зародышевой плазмы (Тейхман 1909; 1911). Однако Менделю уже было уделено достаточное количество страниц, автор называет его результаты «сыгравшими в учении о наследственности решающую роль» (Тейхман 1911, 65).

Широкий общественный резонанс в этот период имела полемика Климента Аркадьевича Тимирязева (1843–1920), профессора ботаники Московского университета, с менделистами («мендельянами» в его терминологии). Поначалу Тимирязев, будучи активным пропагандистом дарвинизма, оценил работу Менделя положительно: «...самым важным результатом в этом смысле является, конечно, тот факт, что признаки не сливаются, не складываются и не делятся, не стремятся стусеваться, а сохраняются неизменными, распределяясь между различными потомками. Кошмар Дженкинса, испортивший столько крови Дарвину, рассеивается без следа» (цит. по: Тимирязев 1939, 234).

Однако вскоре генетика и дарвинизм пришли в противоречие. Многие генетики предполагали, что эволюцией управляют мутации, в частности мутации со скачкообразным фенотипическим проявлением, тогда как естественному отбору отводилась в лучшем случае негативная роль. Другая часть генетиков абсолютизировала комбинативную изменчивость. Тон здесь задал лидер первого периода развития генетики и инициатор введения самого термина «генетика» Уильям Бэтсон. На основании своей теории «присутствия–отсутствия» Бэтсон разработал теорию эволюции путем постепенного «развертывания» генотипа за счет гомозиготизации и потери генов (Барабанщиков, Ермолаев 1988, 60–63). Его не смутило, что в этом случае предковые формы всегда генетически сложнее потомков. Эта теория, естественно, подверглась яростным обвинениям со стороны К. А. Тимирязева.

В статье «Отбой мендельянцев» (1913), к приему, он несправедливо заявил: «Как бы там



ни было, упрощая или усложняя задачу, разрешает ее физиология, а не мендельянство со своими словесными гипотезами. <...> Для этого искусственно раздутого, почти фанатического превознесения труда Менделя не было подходящей почвы. Эту почву создал расцвет <...> немецкого шовинизма и общеевропейского клерикализма» (Тимирязев 1939, 482–484).

Борьба Тимирязева с генетикой подробно описана в широко известной книге А. Е. Гайсиновича (1988). Замечу лишь, что Абба Евсеевич почти все события в российской генетике до 1917 г. рассматривает исключительно с точки зрения этой полемики. Но на самом деле сложность ситуации вовсе не ограничивалась мнимым (как впоследствии выяснилось) противостоянием генетиков и дарвинистов.

Намного большее значение имело, на наш взгляд (Ермолаев 2022), то противоречие между ранним менделизмом и существовавшим в XIX в. «физиологическим» подходом к вопросам наследственности, о котором мы сказали в начале статьи. Использованная Менделем методология стала определяющей для генетики первой трети XX в. и поставила во главу угла гибридологический метод и изучение комбинации генов при скрещивании, резко умалив значение всех остальных (в т. ч. физиологических) подходов в изучении наследственности.

Иллюстрацией упомянутого противопоставления может служить рецензия в журнале «Природа» (Шульц 1912), в которой некий Е. А. Шульц откликнулся на выход в Германии в 1911 г. трех книг по генетике, написанных соответственно Р. Гольдшмидтом, В. Геккером и Э. Бауром. Приведем отрывки из нее:

«...Если сравнить эти сочинения с теми, которые появлялись лет 10 назад, то разница существенна и громадна. Вместо нескончаемых споров о преформизме и эпигенезе, вместо тонко выстроенных гипотез о носителях наследственности <...> вновь открытый закон Менделя о скрещиваниях и разработка его выясняет условия и численность случаев передачи по наследству какого-нибудь признака. <...>

Знакомясь с сочинениями трех названных авторов, я думаю, читатель все-таки будет испытывать некоторое неудовлетворение, в чем конечно виноваты не авторы упомянутых книг, а все направление новейших исследований. Мы видим везде искание причин формы в частях яйцевой клетки, в т. н. хромосомах, а потом изложение конечных результатов скрещивания. О том, каким образом такой “носитель наследственности” активизирует свои потенциальности, каким образом достигается гармония цельного

организма — мы не только не слышим ни слова, не только не сообщается ни одного опыта, но и не находим ни одной догадки. <...> Но это недостаток всего направления, за который не ответственны вышеупомянутые авторы...» (Шульц 1912).

Огорчения Шульца и подобных ему многочисленных критиков, конечно, не имели большого значения для генетиков, с головой окунувшихся в открывшийся им восхитительный мир наследственных задатков, которые В. Иоганнсен в 1909 г. назвал «генами». С помощью гибридологического метода они делали одно открытие за другим, отложив на неопределенное время изучение «физиологических механизмов» наследственности, оставив, можно сказать, все эти проблемы будущему поколению исследователей. Будущее поколение занялось этими проблемами, но подошло к началу своих экспериментов уже вооруженное четким пониманием материальности генов, знанием того, как они взаимодействуют, где они находятся, — всем тем, что дал науке классический период развития генетики.

### Пропаганда генетики и деятельность Бюро по прикладной ботанике

Начало 1910-х гг. в плане генетических знаний в России разительно отличается от прошлого десятилетия. Огромное значение имело то, что Бюро по прикладной ботанике, созданное в 1894 г. при Ученом Комитете Главного управления землеустройства и земледелия Российской империи, оценило значение теории Менделя для селекционного дела и начало внедрять эти знания среди растениеводов. В 1904 г. Бюро возглавил, сменив на этом посту И. П. Бородину, Роберт Эдуардович Регель (1867–1920), который считал выделение наследственных и ненаследственных признаков краеугольным камнем изучения культурной флоры (Гончаров 2009; 2020). В 1907 г. в Бюро появился новый штатный сотрудник — ботаник Константин Андреевич Фляксбергер (1880–1942), занявшийся изучением генофонда русских пшениц. О своем наставнике Регеле он писал, что тот «приступил к изучению возделываемых растений как ботаник и как садовод, но не как агроном и дал совершенно новое направление изучению возделываемых растений. До этого возделываемые растения изучались исключительно с агрономической точки зрения» (Гончаров 2020, 22).

Именно Фляксбергером был выполнен первый русский перевод «Опытов» Менделя (рис. 2, 3), под его публикацию был полностью

отдан один из выпусков «Трудов Бюро по прикладной ботанике» за 1910 г. (Мендель 1910). Актуальность была обозначена так: «...при все возрастающем значении скрещивания в сельскохозяйственной практике, знакомство если не с подлинником труда Менделя, то во всяком случае с его по возможности точным переводом, должно принести свою долю пользы, что и побудило меня перевести означенный труд» (Мендель 1910, 482). В приложении к этому же номеру «Трудов» была опубликована переводная статья члена Американского ботанического общества Дж. Шуля о том, как сделать изложение законов Менделя для учащихся более наглядным<sup>5</sup> (Шуль 1910).

Через два года вышел новый перевод работы Менделя (рис. 4), сделанный С. Егуновой по инициативе Биологической лаборатории

<sup>5</sup> Как генетик я оцениваю предложенный Шулем способ изложения крайне невысоко (А. Е.)

П. Ф. Лесгафта (Мендель 1912), а также перевод книги де Фриза, посвященной мутационной теории (Де-Фрис 1912). Параллельно в сельскохозяйственных журналах появляются статьи, пропагандирующие менделизм, преподавателя Московского сельскохозяйственного института С. И. Жегалова (Жегалов 1911; 1912). Наиболее серьезной была статья Р. Э. Регеля «Селекция с научной точки зрения» (Регель 1912). В этой больше похожей на монографию работе Регель писал: «В современной селекции действительно новым является только метод получения совершенно константной особи, совмещающей в себе новую комбинацию признаков, свойственную двум различным расам; этот метод основан на данных, вытекающих из закона Менделя. Сюда же относится предлагаемый нами и вытекающий из умозаключений на основании того же закона Менделя метод закрепления желательной комбинации признаков» (Регель 1912, 538).

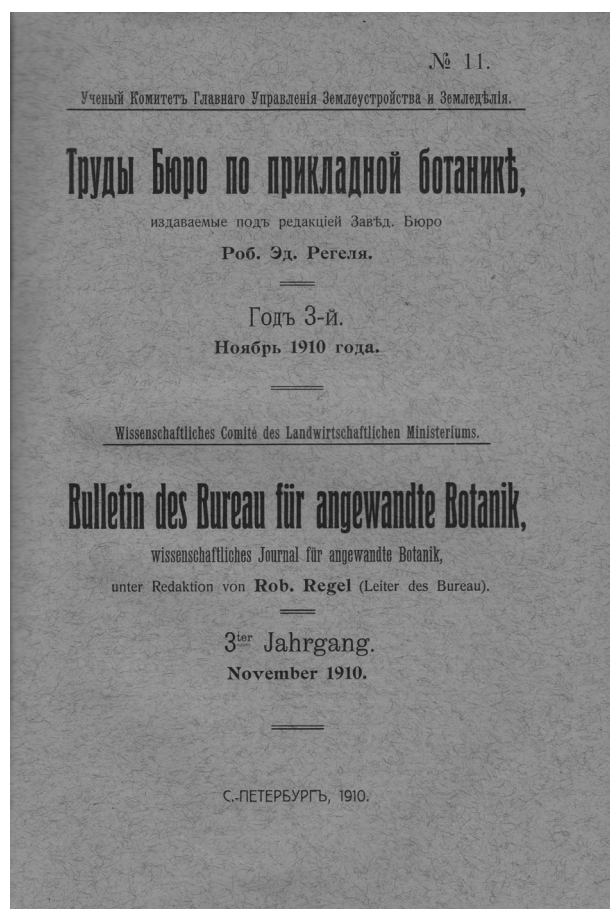


Рис. 2. Обложка «Трудов Бюро по прикладной ботанике». Фото А. И. Ермолаева, 2024

Fig. 2. Cover of the *Proceedings of the Bureau of Applied Botany*. Photo by A. I. Ermolaev, 2024

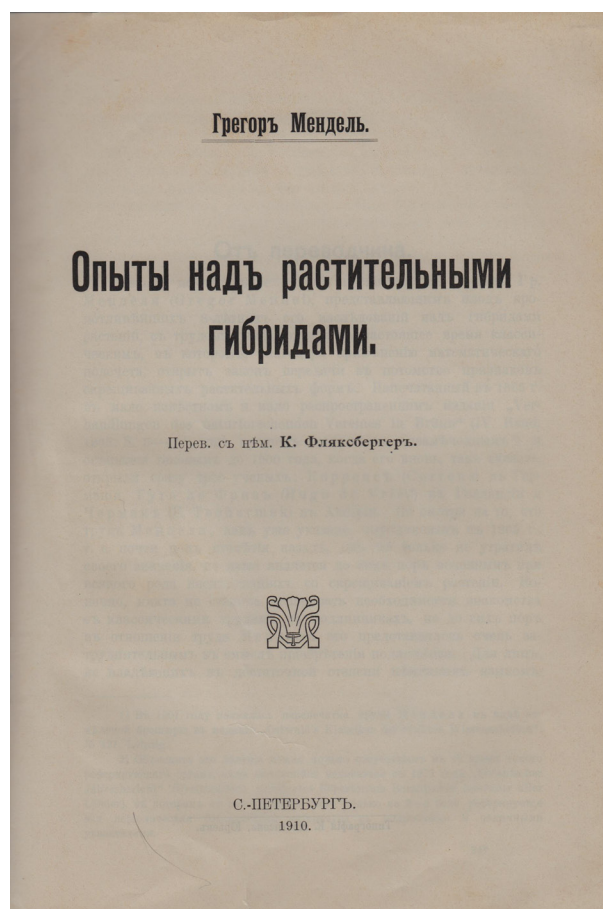


Рис. 3. Первый русский перевод труда Г. Менделя (Мендель 1910)

Fig. 3. The first Russian translation of G. Mendel's work



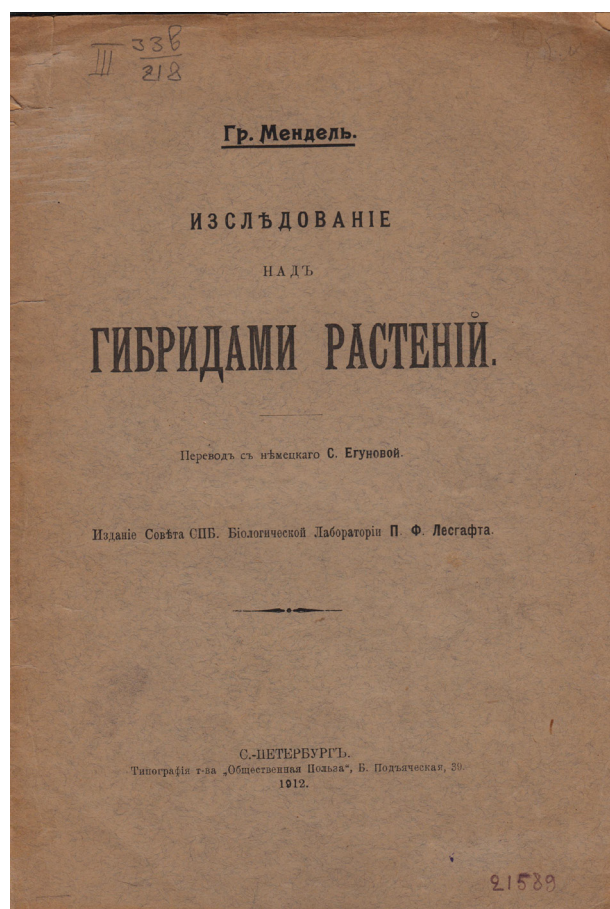


Рис. 4. Издание труда Менделя в переводе С. Егуновой (Мендель 1912)

Fig. 4. Edition of Mendel's work translated by S. Egunova

В 1911 г. начал свою научную деятельность Николай Иванович Вавилов (1887–1943), окончивший МСХИ и оставленный на кафедре частного земледелия, которой руководил профессор Д. Н. Прянишников. В 1911–1912 гг. Вавилов преподавал на Голицынских женских высших сельскохозяйственных курсах в Москве, а позже был командирован в Англию, Францию и Германию для завершения образования. Большую часть командировки Вавилов провел в Англии у Уильяма Бэтсона, которого позже называл своим учителем, и в других генетических лабораториях, в частности у известного генетика Р. Пеннета. Вернувшись в Москву, Вавилов продолжил работу по иммунитету растений на селекционной станции МСХИ (Колчинский и др. 2012).

Но нас в первую очередь должны интересовать лекции Вавилова в 1911–1912 гг. Из отчета курсов за этот учебный год мы можем видеть, что Вавилов преподавал частное земледелие и в конце курса изложил основы селекции и менделизм: «Частное земледелие (Н. И. Вави-

лов). Летние занятия (с половины мая по 28 июня) велись с двумя группами II и III курсов и состояли в ряде бесед по систематике хлебных <...> и кормовых злаков <...> В двух заключительных общих беседах были изложены теоретические основы селекции. Понятие селекции; типы, варьации: флуктуации, мутации; методы отбора. **Гибридизация** (с демонстрацией приемов). **Менделизм**; теория факторов» (Отчет Голицынских женских сельскохозяйственных курсов... 1912, 48) (выделение мое — А. Е.).

В той же брошюре опубликована статья Вавилова «Генетика и ее отношение к агрономии». В ней он писал: «В числе новых, входящих в употребление в биологических науках, выражений за последнее десятилетие, внимание агронома задерживается на слове **“генетика”**. Внешним поводом к привлечению внимания служит уже один тот факт, что в большинстве работ, печатающихся под рубрикой “генетика”, объектом исследования чаще всего фигурируют близкие агроному сельско-хозяйственное растение и животное» (Вавилов 1912а, 77) (выделение мое — А. Е.). По предложению Д. Н. Прянишникова с одноименным сообщением Вавилов выступил на годичном акте Голицынских курсов 2 октября 1912 г. (Авруцкая 2021, 3; Вавилов 1912б).

Видимо, что это первый случай, когда на русском языке прозвучало слово «генетика». Хотя термин «генетика» ввел в употребление Бэтсон еще в 1906 г., но в русском сегменте до 1912 г. использовалось исключительно слово «менделизм». Впрочем, и позже генетику часто называли менделизмом.

Сам Николай Иванович в примечании к тексту своих лекций 1938 г. по истории генетики отметил: «В нашей стране, если не ошибаюсь, впервые понятие генетики было популяризовано в нашей речи на акте Голицынских сельскохозяйственных курсов в 1911 г., опубликованной в 1912 г. под заглавием “Генетика и агрономия”» (Вавилов 2012, 30). Вавилов запомнил год произнесения речи, но прекрасно помнил обстоятельства ее произнесения. В одном из писем, относящихся к июню 1912 г., он писал: «К акту подготовим что-либо а la генетика и ее роль в агрономии. Только не разрешают такого названия. Слово-де непонятное» (цит. по: Есаков 2008, 76).

В 1912 г. слово «генетика» употребил еще один человек, стоявший у истоков генетической науки в России. Это Андрей Афанасьевич Сапегин (1883–1946). В 1907 г. он окончил Новороссийский университет в Одессе, а с 1910 г. работал там же. Будучи ботаником по образованию,



специалистом по мхам, Сапегин стал генетиком во время зарубежной командировки в научные лаборатории Берлина и Праги в 1911 г. Одним из его учителей был известный берлинский генетик Эрвин Баур (1875–1933).

В 1912 г. Сапегин опубликовал конспект книги Баура «Законы наследственности как основа селекции сельскохозяйственных растений» (Сапегин 1912) (рис. 5). В предисловии он писал: «Работа селекционера может быть производительной только в том случае, если он оперирует вполне сознательно, т. е. глубоко понимает законы наследственности. <...> В течение 1911 года вышло из печати несколько посвященных интересующим нас вопросам сводных книг, среди которых первенство должно быть отдано книге Baur'a. <...> так как эта книга дает наилучшую по полноте и характеру изложения сводку всех важнейших результатов экспериментального изучения наследственности и должна поэтому оказать значительное влияние на выработку методики селекционной работы и в России, то редакция "Записок" Имп. Общ. сельск. хоз. южной России решила в соответствии с располагаемыми ею средствами напечатать труд Baur'a в сокращенном переводе<sup>6</sup>...» (Сапегин 1912, 1). Баур в этом же предисловии Сапегин охарактеризовал как «одного из крупнейших исследователей в области генетики», употребив это слово практически одновременно с Вавиловым.

Весной 1912 г. вернувшийся из заграницы приват-доцент Сапегин был назначен руководителем селекционного отдела «Одесского опытного поля» и заложил первые эксперименты по выведению новых сортов зерновых. На этом небольшом поле в течение следующего десятилетия были выведены такие сорта пшеницы, как Кооператорка, Степнячка и др. (Сапегин 1918). В 1918 г. отдел Сапегина стал называться Одесской селекционной станцией, а позже превратился в широко известный в СССР Всесоюзный селекционно-генетический институт, получивший, к сожалению, имя не Сапегина, а Т. Д. Лысенко. Сам же Сапегин поссорился с Лысенко после того как уличил последнего в приписках. Когда в 1933 г. возник Институт генетики АН СССР, его директор Н. И. Вавилов предложил Сапегину должность своего заместителя, тот это приглашение принял и уехал из Одессы. На этом сапегинский период одесской генетики закончился (Урсу 2012).

Можно видеть, что в 1912 г. генетика уже не является для русских биологов *Terra incognita*,

<sup>6</sup> Через год эту книгу издадут уже в полном объеме, но об этом позже (А. Е.).

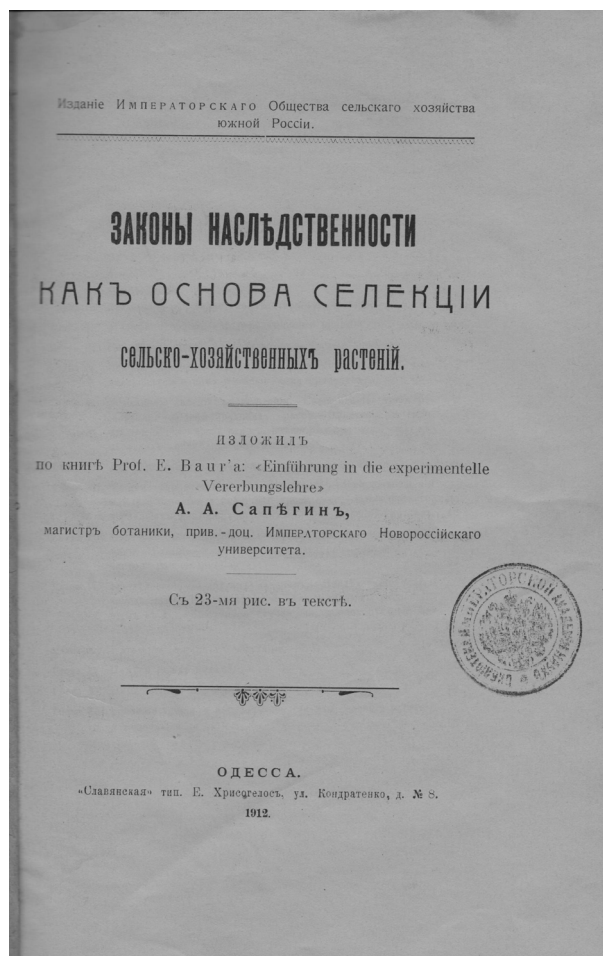


Рис. 5. Книга Э. Баура в сокращенном переложении А. А. Сапегина (Сапегин 1912)

Fig. 5. E. Baur's book in an abridged translation by A. A. Sapegin

в отличие от того, что было пятью годами ранее. О внимании широких кругов российского общества к менделизму свидетельствуют воспоминания известного революционера Федора Раскольникова (Ильина) об учебе в Политехническом институте, относящиеся как раз к 1912 г.: «Из столовой я возвратился в главное здание и пошел на практические занятия в семинарий по уголовному праву. Профессор Чубинский, манерно выпячивая губы, пригласил желающих высказаться по заслушанному на прошлом занятии докладу Мемешкина о стерилизации уголовных преступников. <...> Профессор Н. И. Люблинский<sup>7</sup> напечатал об этом статью в одном

<sup>7</sup> Видимо, опечатка в инициалах. Скорее всего, имеется в виду профессор уголовного судопроизводства и судопроизводства Высших Бестужевских курсов в Санкт-Петербурге Павел Исакович Люблинский (1882–1938). Следует сказать, что вопросы наследственных девиаций в психиатрии и криминалистике тогда активно обсуждались в литературе (хотя, обычно, не с генетических позиций), но это тема для отдельной статьи, и сейчас мы не будем ее затрагивать.

из толстых журналов, и тема вызвала острую дискуссию. Я взял слово и произнес длинную речь о наследственности. Я опирался на опыты Менделя, на теорию Дарвина. Но когда, наконец, в пылу увлечения я дошел до скрещивания черно-бурой курицы с андалузским петухом, профессор Чубинский не выдержал и перебил меня:

— Господин Ильин, нельзя ли не забираться в такие дебри? Ведь здесь не естественно-исторический факультет» (Косаковский 1989, 36–37).

То, что произошло в следующем, 1913 г. иначе, чем бумом издания переводных книг по генетике, охарактеризовать трудно. В первую очередь следует назвать полный перевод упомянутой выше книги Эрвина Баура «Введение в экспериментальное изучение наследственности» (Баур 1913). Это очень солидная монография на трех с половиной сотнях страниц, ею потом долго пользовались как справочным пособием русские биологи (рис. 6). Книга эта была издана по инициативе Бюро по прикладной ботанике как приложение к его журналу, предисловие к ней написал руководитель Бюро

Р. Э. Регель, а переводчиком выступил его помощник, впоследствии директор Тифлисского ботанического сада Павел Иванович Мищенко (1869–1938).

Помимо книги Баура в Петербурге было издано толстое руководство немецкого генетика Рихарда Гольдшмидта «Основы учения о наследственности в двадцати лекциях для естествоиспытателей, медиков и сельских хозяев» (Гольдшмидт 1913). Его с разрешения автора перевел приват-доцент ИСПБУ ихтиолог Петр Юльевич Шмидт (1872–1949).

В Москве же в серии «Bios» вышли сразу три книги классиков генетики — Карла Корренса, одного из первооткрывателей законов Менделя (Корренс 1913); Реджинальда Пеннета, автора всем известной «решетки Пеннета» (Пеннетт 1913) и Леонарда Донкастера (Донкастер 1913). Редактором всех трех книг был приват-доцент Московского университета В. С. Елпатьевский.

### Генетика и университеты

В следующем, 1914 г. появился первый оригинальный русский учебник по менделизму (рис. 7) — «Менделизм или теория скрещивания (Новое направление в изучении наследственности и изменчивости)» (Богданов 1914). Он был основан на лекциях, которые читал для студентов Московского сельскохозяйственного института профессор-зоолог Еллий Анатольевич Богданов (1872–1931). Это один из основоположников зоотехнии в России и СССР, исследователь кормления и разведения сельскохозяйственных животных. В МСХИ он работал с 1908 г., осенью 1910 г. был определен адъюнкт-профессором по кафедре общей зоотехнии; с января 1913 г. — профессор и заведующий этой кафедрой.

В зоотехнических журналах начинают выходить экспериментальные статьи по интересующему нас вопросу. Например, в журнале «Вестник животноводства» опубликована небольшая статья «Наследование масти у свиней» (Завадовский Н. 1914). В ней нет имени Менделя, но слово «генетика» присутствует.

Но намного важнее то, что генетика перестает быть предметом, которым интересуются преимущественно зоотехники и растениеводы, а проникает в университетское образование. Уже упомянутый нами приват-доцент Новороссийского университета А. А. Сапегин осенью 1912 г. начал читать студентам новаторский курс лекций на тему «Законы наследственности и методика отбора сельскохозяйственных растений» (Обозрение преподавания... 1912; Урсу

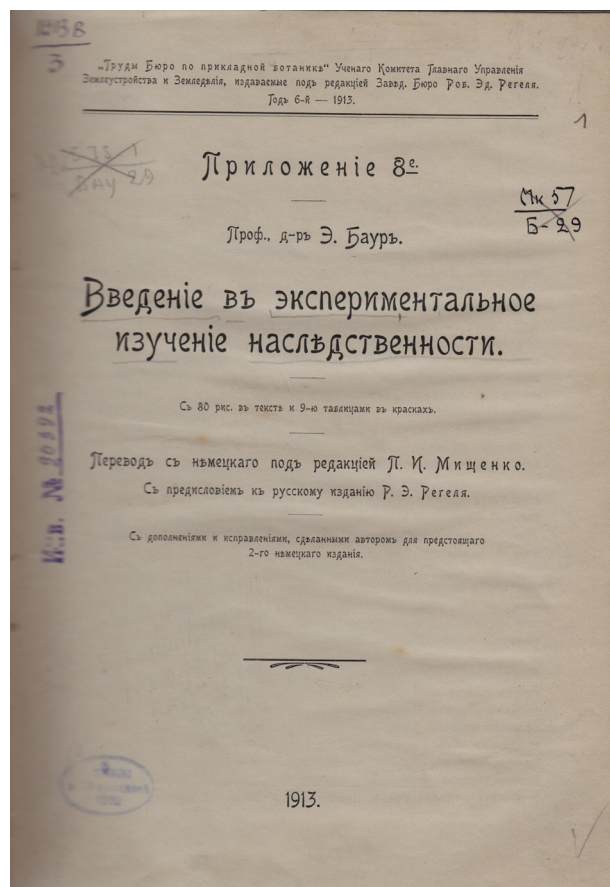


Рис. 6. Полный перевод книги Э. Баура, изданный Бюро по прикладной ботанике (Баур 1913)

Fig. 6. Complete translation of E. Baur's book, published by the Bureau of Applied Botany



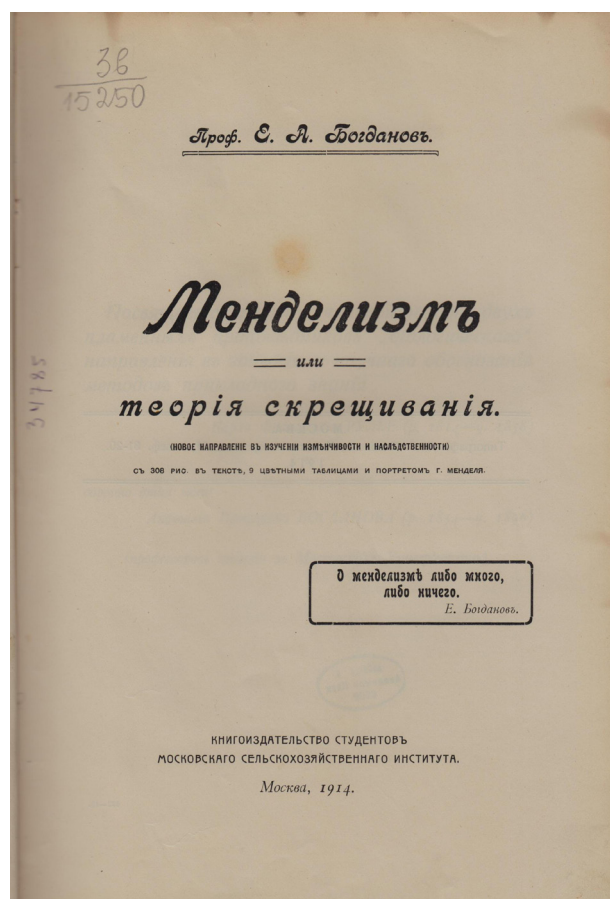


Рис. 7. Первый русский учебник по менделизму (Богданов 1914)

Fig. 7. The first Russian textbook on Mendelism by E. A. Bogdanov

2012). Его старший коллега, профессор кафедры ботаники Новороссийского университета в 1909–1915 гг. Валериан Викторович Половцов (1862–1918) издал чуть позже брошюру «Проблема наследственности, как научная схема» (Половцов 1915).

Осенью 1913 г. началось чтение курса «Учение о наследственности и эволюции» в Санкт-Петербургском университете. Но еще за полгода до этого, в марте ректор получил уведомление от попечителя учебного округа «Уведомляю Вас, Милостивый Государь, для надлежащего распоряжения, что сверхштатного хранителя зоотомического кабинета ИМПЕРАТОРСКОГО С. Петербургскаго университета, магистра зоологии Ю. А. Филипченко я допускаю к чтению лекций, в качестве приват-доцента, в названном университете, по кафедре зоологии (курс генетики), с зачислением его в состав приват-доцентов С. Петербургскаго университета с начала 1913/14 учебного года» (цит. по: Инге-Вечтомов 2015, 180). Впрочем, о Филипченко и его деятельности скажем ниже.

Естественно, что вопросы генетики волновали преподавателей не только в Петербурге и Одессе. Например, в апреле 1913 г. лаборант Ботанической лаборатории Казанского университета В. И. Смирнов (1879–1942), проходя испытания на звание приват-доцента, выбрал генетическую тему для своей лекции. Факультет удовлетворил эту просьбу:

«...Валентин Иванович Смирнов <...> прочитал две пробные лекции: одну 4 апреля сего года на тему по собственному избору «Новейшие законы наследственности», а другую 25 того же апреля на предложенную Физико-Математическим Факультетом тему «Об анатомическом строении ксерофитов», каковые признаны Факультетом прочтенными удовлетворительно.

Поэтому <...> выдано свидетельство <...> г-ну Смирнову на право преподавания по кафедре ботаники в звании приват-доцента» (цит. по: Ермолаев 2017, 180).

Еще одним центром генетического образования стал Московский городской народный университет им. А. Л. Шанявского (см. о нем: Фандо 2017). Специального курса там не читалось, но был коллоквиум, на котором периодически затрагивались проблемы генетики. Организатором этого семинара стал зоолог Николай Константинович Кольцов (1872–1940). В 1894 г. он окончил естественное отделение Московского университета и был оставлен при нем для подготовки к профессорскому званию, несколько лет стажировался в европейских университетах и работал на зарубежных зоологических станциях (Неаполь, Виллафранка и другие), где, в частности, подружился с будущим генетиком Р. Гольдшмидтом (Захаров 2024, 81); позже читал в университете курс зоологии беспозвоночных. В 1909 г. был вынужден оставить университет и начал читать лекции на Московских высших женских курсах и в Народном университете Шанявского. Из плана занятий на 1914–1915 гг. видно, что для слушателей отделения естественно-исторических наук Кольцов читал общий курс зоологии (совместно с Н. М. Кулагиным и Д. Ф. Синецыным) и вел по этому курсу часть практических занятий (Московский Городской... 1914, 17–18). В 1912 г. он организовал там лабораторию экспериментальной биологии, аналогов которой не было ни в одном российском университете (Фандо 2017).

Кольцов — создатель научной школы экспериментальной биологии в нашей стране, в которую генетика входила как необходимая часть. Он считал, что «...для физиологии развития очень важно связать свою научную область



с генетикой, цитологией и биохимией» (Кольцов 1935, 753). Соответственно этому Кольцов и строил деятельность своей лаборатории и коллоквиума при нем. В первом томе «Научных бюллетеней» университета Шанявского, начавших выходить в 1914 г., секретарь коллоквиума М. М. Завадовский отчитался: «Коллоквиий, организованный при биологической лаборатории университета Шанявского, находящийся в ведении проф. Н. К. Кольцова, функционирует 2 ½ года. За истекший срок состоялось 37 собраний, на которых было прочитано 98 докладов и рефератов. Ядро коллоквиия составляют: работающие в специальной биологической лаборатории (11 человек, среди которых большинство закончивших высшее образование), лица, проходящие большой зоологический практикум (5 человек), преподаватели университета Шанявского (биологи) и преподаватели (биологи) Высших женских Курсов. Собрания происходили еженедельно в традиционные четверги» (Завадовский М. 1914, 158). Большинство докладов, естественно, не касались генетики. Завадовский перечисляет только четыре доклада, посвященных вопросам наследственности (видимо, в том порядке, как они производились, не указывая годов и дат):

Л. М. Кречетович «Работа Нильсона над происхождением мутантов *Oenothera lamarckiana*»;

Н. К. Кольцов «Связь между ядром и наследственностью»;

Б. Н. Шапошников «Передача по наследству приобретенных признаков у саламандры (работы Камарера<sup>8</sup>)»;

Л. П. Кравец «Законы Менделя в их применении к человеку».

Через «биологический коллоквиий» Кольцова прошло огромное количество слушателей, многие из которых стали позже крупными учеными, заведующими кафедрами и научными учреждениями. Из числа тех, кто в первый же год работы Кольцова в университете Шанявского пришел туда вслед за ним из студентов Московского университета, следует назвать Александра Сергеевича Серебровского (1892–1948), создателя кафедры генетики в Московском университете в 1930 г. В университете Шанявского у Кольцова в 1916–1917 гг. учился Николай Владимирович Тимофеев-Ресовский (1900–1981). Не учеником, но младшим коллегой Кольцова был энтомолог Сергей Сергеевич Четвериков (1880–1959), которого Кольцов в 1909 г. при-

гласил на работу в качестве лаборанта в зоологическую лабораторию Московских высших женских курсов, а в 1921 г. поставил во главе генетической лаборатории Института экспериментальной биологии, созданного Кольцовым четырьмя годами ранее (о Н. К. Кольцове, его учениках и соратниках см.: Бабков 1985; Озернюк 2012; Фандо 2005).

Таким образом, начало генетического образования в России относится не к 1919 г., а имело место намного раньше — в 1912–1913 гг.

### Работы Ю. А. Филипченко

1913 г. важен и потому, что с него началась кипучая преподавательская и исследовательская деятельность в Петербургском университете Юрия Александровича Филипченко (1882–1930), роль которого в зарождении отечественной генетики колоссальна. В 1906 г. он окончил естественное отделение ИСПБУ и был принят в лабораторию В. Т. Шевякова для специализации по зоологии беспозвоночных. В 1911 г., работая во время заграничной командировки в лаборатории Р. Гертвига в Мюнхене, Филипченко подружился с немецким генетиком Р. Гольдшмидтом. Это привело к тому, что и Филипченко занялся генетикой (Конашев 1998, 52).

В 1913 г. Филипченко был утвержден в должности приват-доцента ИСПБУ и начал читать курс генетики, как об этом уже сказано выше. В 1913–1914 гг. Филипченко публикует свои первые генетические статьи (Филипченко 1913a; 1913b; 1914a; 1914b). Одна из них опубликована в сборнике, специально посвященном генетическим проблемам и составленном Юрием Александровичем, о чем можно узнать из редакционного предисловия.

«Последнее десятилетие в биологии более всего характеризуется быстрым развитием учения о наследственности, успевшего за это время даже выделиться в особую дисциплину, уже получившую название генетики. Чрезвычайно большое значение разрабатываемых ею проблем в областях, не только чисто теоретической, но и прикладной, побуждают нас посвятить настоящий сборник “Новых идей в биологии” именно вопросам наследственности. <...>

Предлагаемый вниманию читателей сборник составлен при ближайшем участии приват-доцента С.П.Б. Университета Ю. А. Филипченко» (Новые идеи в биологии... 1914, 3–4).

Опубликованная в этом сборнике статья «О видовых гибридах» (Филипченко 1914a) посвящена актуальному в те годы вопросу:

<sup>8</sup> Неверное написание имени Пауля Каммерера (см. сноску № 4).

является ли наследование количественных признаков совершенно другим типом наследственности, альтернативным менделевскому, или же это лишь более сложный случай наследования по законам Менделя? Автор не только суммировал литературные данные, но и вел собственную экспериментальную работу: «По-видимому, нечто подобное имеет место и у гибридов между бизоном, зубром и коровой (наша совместная с И. И. Ивановым работа об этих гибридах должна в ближайшем будущем появиться в печати). У этих в высшей степени интересных помесей между довольно далекими друг от друга видами наблюдается скорее промежуточная наследственность. Однако, по отношению к некоторым признакам (форма рогов, длина хвоста, развитие волосяного покрова передней части тела) во втором поколении происходит, по-видимому, расщепление» (Филипченко 1914а, 141–142).

Более подробно результаты их совместной с Ильей Ивановичем Ивановым работы по скрещиванию бизона, зубра и домашнего скота (с многочисленными фотографиями, рис. 8) были изложены в статье, опубликованной в следующем году (Иванов, Филипченко 1915). Часть работы, касавшейся наследования формы черепа у гибридов, Филипченко проделал в одиночку (Филипченко 1916а; 1916б) и позже защитил в качестве докторской диссертации.

В эти годы Филипченко уже полностью сосредоточивается на генетических работах, среди которых есть публикации как обзорного (Филипченко 1915), так и экспериментального характера (Филипченко 1917а). Но особо надо остановиться на учебнике «Наследственность» (Филипченко 1917б). Он был издан в 1917 г., но написан в 1915-м, что видно из предисловия, подписанного двумя датами:

«Настоящая книга составилась из лекций по генетике, читаемых мною уже третий год в Петроградском университете, но сильно переработанных для настоящего издания. <...> (Январь 1916 г.)

Печатание книги благодаря обстоятельствам военного времени несколько затянулось. <...> (Январь 1917 г.)»

Таким образом, учебник составлен на основе лекций, которые Филипченко читал в Петроградском университете в 1913, 1914 и 1915 гг. В 1917 г. Филипченко защитил первую в России докторскую диссертацию по генетике и был удостоен степени доктора зоологии и сравнительной анатомии. В 1918 г. он организовал в Петроградском университете Лабораторию генетики и экспериментальной зоологии, кото-

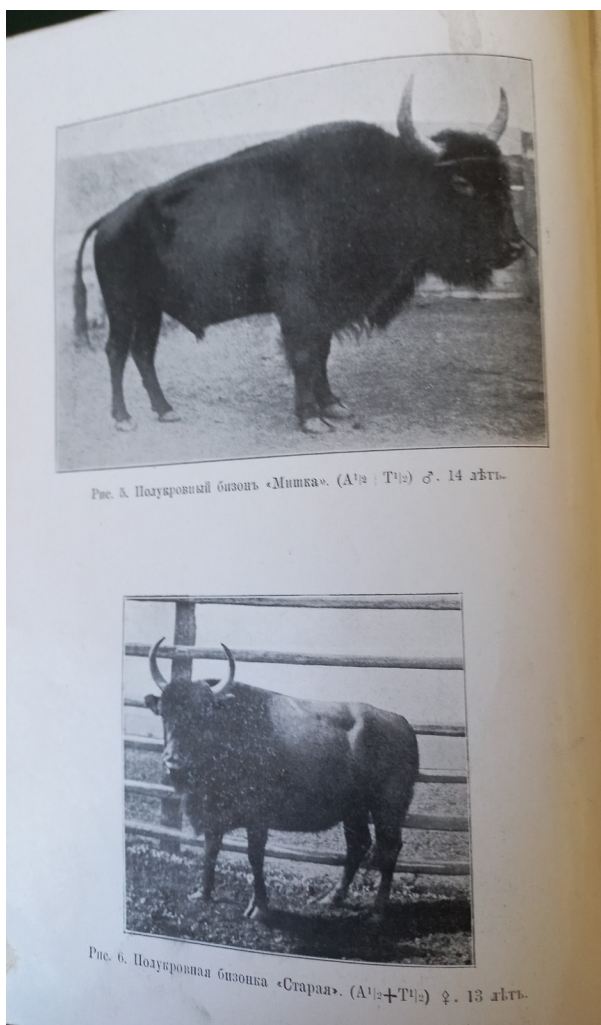


Рис. 8. Фотографии гибридов из статьи (Иванов, Филипченко 1915)

Fig. 8. Photos of hybrids from an article by (Ivanov, Filipchenko 1915)

рая годом позже была реорганизована в кафедру генетики и экспериментальной зоологии (подробнее о Филипченко см.: Захаров 2024; Инге-Вечтомов 2015; 2019; Медведев 2006; Фокин, Захаров-Гезехус 2019).

Вокруг Филипченко постепенно формировался круг людей, составивших впоследствии ленинградскую генетическую школу. Одним из первых преподавателей кафедры генетики стал Виталий Михайлович Исаев (1888–1924). Он учился на естественном отделении ИСПбУ в 1907–1911 гг. и специализировался в зоотомическом кабинете, где уже работал Ю. А. Филипченко. После окончания он некоторое время работал там же, до этого год прослужив по призыву в армии, а позже (в 1914–1917 гг.) был на фронте. В 1918–1919 гг. Исаев сдал экзамены на степень магистра зоологии, стал преподавать генетику в Женском пединституте, а в октябре 1919 г. был избран ассистентом



кафедры генетики в университете (Фокин, Захаров-Гезехус 2019, 144–146).

Другим таким человеком стал Дмитрий Михайлович Дьяконов (1893–1923). За время своего пребывания студентом университета (1911–1916) он слушал лекции Ю. А. Филипченко и других известных ученых-биологов. После окончания Дьяконов получил назначение сверхштатным ассистентом в только что образованное Пермское отделение Петроградского университета и работал там до 1921 г. Все это время он поддерживал связь с Филипченко, обменивался с ним письмами, а летом 1921 г. вернулся в Петроград и стал третьим штатным ассистентом кафедры генетики (Фокин, Захаров-Гезехус 2019, 167–180). К сожалению, ранняя смерть не позволила Дьяконову реализовать большинство из задуманных им генетических работ.

В 1923 г. кафедру генетики окончили первые выпускники, которые поступали в университет, когда кафедры еще не существовало, среди них Я. Я. Лус и Т. К. Лепин, будущие верные соратники Филипченко.

### Интенсификация исследований по генетике в конце 1910-х гг.

Бюро по прикладной ботанике во второй половине 1910-х гг. все шире стремилось использовать гибридизацию и генетический анализ в своей работе. В отчете «Деятельность Бюро по прикладной ботанике с 27 окт. 1914 по 1 июля 1917 г.» Регель сообщал: «Помимо непосредственного исследования возделываемых у нас растений, выделения отдельных рас и сравнительного испытания их для выбора наиболее пригодных для нас, Бюро вступило теперь на путь также и искусственного скрещивания их для получения новых сочетаний наследственных признаков. Таково скрещивание иммунного против подсолнечной моли и заразики панцирного подсолнечника <...> с декоративным серебролистным, иммунным против подсолнечной ржавчины, для последующего выделения константной формы, иммунной против всех трех вредителей <...>. Таково скрещивание табаков на опытном поле Екатеринодарской лаборатории табаководства <...> Наконец на Удычской селекционной станции <...> член Бюро Э. Костенецкий счел себя вынужденным прибегнуть к скрещиванию местных озимых пшениц с западноевропейскими для получения искомой комбинации признаков и свойств» (Федотова, Гончаров 2014, 87–88).

Данные из монографии Э. Баура, изданной по инициативе Бюро в 1913 г., постепенно овладевали умами отечественных селекционеров. Некоторое время с Бюро сотрудничала ученица Баура Лидия Петровна Бреславец (1882–1967), видная фигура в истории отечественной цитогенетики. Окончив в 1910 г. МСХИ, она провела год в заграничной командировке, а вернувшись в 1912 г. в Россию, работала как в Ботаническом саду, так и на Московских высших женских курсах и в Московском университете (Птушенко 2024). К рассматриваемому периоду относится ее статья «О числе хромосом и величине ядер у некоторых форм *Antirrhinum*», изданная как в «Трудах Бюро», так и отдельным оттиском (Бреславец 1916).

В 1917 г. Бюро было преобразовано в Отдел прикладной ботаники и селекции, помощником заведующего которого 19 октября был избран Н. И. Вавилов (подробнее см.: Есаков 2008, 92–102). Именно он после смерти Р. Э. Регеля сменил его на посту руководителя Отдела, превратив это учреждение в 1930 г. в знаменитый ВИР (Всесоюзный институт растениеводства).

В Москве Н. К. Кольцов в 1916 г. приступил к организации Института экспериментальной биологии, очень необычного для того времени учреждения — тогда в России не было биологических лабораторий, не связанных с университетами, если не считать Зоологическую лабораторию Академии наук. Институт, поначалу с тремя штатными сотрудниками и многочисленными «добровольцами», открылся в середине 1917 г. (Бабков 1985, 12). Основу института составили в первую очередь ученики Н. К. Кольцова и его соратники по лаборатории в Университете Шанявского. В 1921 г. в институте был сформирован Отдел генетики под руководством С. С. Четверикова, а двумя годами ранее по инициативе Кольцова в Подмосковье была организована Центральная станция по генетике сельскохозяйственных животных, на которой начал свои работы А. С. Серебровский.

В 1915 г. врач-рентгенолог Михаил Исаевич Немёнов (1880–1950) обратился в Медицинский совет Министерства внутренних дел с предложением создать научно-исследовательский институт для работ в области рентгенологии и радиологии, но создание института задержалось. 29 сентября 1918 г. нарком просвещения А. В. Луначарский подписал Постановление об учреждении Государственного рентгенологического и радиологического института. В его медико-биологическом отделе, который возглавил Немёнов, изучалось действие радиоактивного



излучения на биологические объекты. Заведующим микробиологической лабораторией стал профессор-ботаник Георгий Адамович Надсон (1867–1939). Именно в этой лаборатории Г. А. Надсоном и его учеником Г. С. Филипповым в 1925 г. было доказано мутагенное действие радиации на плесневые грибы, хотя это далеко не единственное достижение в области генетики, сделанное там.

Будущий известный цитогенетик растений Михаил Сергеевич Навашин в 1915 г., еще будучи студентом Киевского университета, опубликовал свою первую работу по этой теме (Навашин 1915).

Возвращаясь к цитате из монографии А. Е. Гайсиновича, с которой мы начали данную статью, следует заключить, что он был неправ, говоря, что «генетика как самостоятельная наука стала развиваться у нас в стране только в советский период» (Гайсинович 1988, 280). Первый этап развития отечественной генетики был уже пройден к 1918 г. Другое дело, что на рубеже десятых и двадцатых годов начался новый этап развития, знаменательным событием которого стала организация первой полноценной кафедры генетики.

В августе 1919 г. в Петрограде произошло объединение Петроградского университета и бывших Высших женских курсов (которые к тому времени считались «Третьим университетом»). Так как курсы генетики в Первом университете и экспериментальной зоологии в Третьем университете читались одним лицом — Ю. А. Филипченко, то Физико-математический факультет объединенного университета постановил организовать кафедру генетики и экспериментальной зоологии, отведя в качестве лаборатории под нее помещение Зоологического кабинета на бывших Высших женских курсах. Личный состав вновь образовавшейся кафедры поначалу состоял всего из четырех человек: заведующий профессор Ю. А. Филипченко, ассистенты В. М. Исаев и К. А. Андриянова-Фермор, а также препаратор И. Ф. Бордзю (Фокин, Захаров-Гезехус 2019, 174). Дальнейшая история кафедры хорошо исследована (например: Захаров 2024; Инге-Вечтомов 2015; 2019; Конашев 2011).

По инициативе Филипченко в России появилось и первое академическое учреждение генетической направленности. В феврале 1921 г. КЕПС (Комиссия по исследованию естественно-производительных сил России при Академии наук) приняла решение организовать при Академии «Бюро по евгенике» под руководством

Ю. А. Филипченко, превратившееся впоследствии в Лабораторию генетики АН СССР, а позже в Институт генетики АН СССР, переехавший в Москву, как и большинство академических учреждений (Колчинский 2011, 264).

## Заключение

Осталось сказать, что в 1920-е гг. советскими учеными были сделаны несколько эпохальных открытий. В 1920 г. Н. И. Вавилов сформулировал закон гомологических рядов в наследственной изменчивости; в 1926 г. вышла из печати основополагающая работа С. С. Четверикова «О некоторых моментах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики популяций»; в 1927 г. опубликована работа Г. Д. Карпеченко по получению капустно-редечных гибридов методами искусственной полиплоидии. В современной сводке И. А. Захарова эти работы перечислены не в разделе отечественных достижений, а как приоритетные открытия мирового уровня (Захаров 2024, 126), помимо них этой чести удостоился только И. А. Рапопорт за открытие химических супермутагенов в 1946 г.

Суммируя сказанное, можно сделать вывод, что отечественная генетика возникла не в 1919 г., а на несколько лет раньше — где-то между 1912 и 1914 гг. Правильнее всего было бы принять точкой ее возникновения 1913 г., когда Ю. А. Филипченко начал читать курс генетики для студентов Санкт-Петербургского университета, и вокруг него постепенно стала формироваться будущая ленинградская генетическая школа, а в Москве заработала созданная годом раньше лаборатория Н. К. Кольцова в Университете Шанявского, ставшая основой для будущей московской генетической школы. Начинаясь в 1918–1919 гг. новый период можно назвать этапом институализации генетических исследований в России.

## Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

## Conflict of Interest

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

## Литература

- Авруцкая, Т. Б. (2021) *Н. И. Вавилов в Англии. 1913–1914 гг. Новые источники*. М.: Акварель, 20 с.
- Бабков, В. В. (1985) *Московская школа эволюционной генетики*. М.: Наука, 216 с.
- Барабанщиков, Б. И., Ермолаев, А. И. (1988) *Хрестоматия по генетике*. Казань: Изд-во Казанского университета, 186 с.
- Баур, Э. (1913) *Введение в экспериментальное изучение наследственности. С предисловием к русскому изданию Р. Э. Регеля*. Юрьев: Тип. К. Маттисена, 342 с. («Труды Бюро по прикладной ботанике» Ученого Комитета Главного управления землеустройства и земледелия. Т. 6. Приложение 8е).
- Богданов, Е. А. (1914) *Менделизм или теория скрещивания. Новое направление в изучении наследственности и изменчивости*. М.: Книгоиздательство студентов Московского сельскохозяйственного института, 625 с.
- Бородин, И. П. (1903a) Очерки по вопросам оплодотворения в растительном царстве. *Мир божий*, № 4, с. 257–272.
- Бородин, И. П. (1903b) Очерки по вопросам оплодотворения в растительном царстве (Продолжение). *Мир божий*, № 11, с. 199–210.
- Бородин, И. П. (1903c) Очерки по вопросам оплодотворения в растительном царстве (Окончание). *Мир божий*, № 12, с. 255–274.
- Бородин, И. П. (1903d) *Очерки по вопросам оплодотворения в растительном царстве*. СПб.: Типография И. Н. Скороходова, 48 с.
- Бреславец, А. П. (1916) *О числе хромосом и величине ядер у некоторых форм Antirrhinum*. Петроград: Типография К. Маттисена в Юрьеве, 13 с.
- Вавилов, Н. И. (1912a) Генетика и ее отношение к агрономии. В кн.: *Отчет Голицинских женских сельскохозяйственных курсов за 1911 год по хозяйственной и за 1991/12 учебный год по учебной части*. М.: Типо-литография В. Рихтер, с. 77–87.
- Вавилов, Н. И. (1912b) *Генетика и ее отношение к агрономии*. Сообщение, сделанное на годичном акте Голицинских Высших Сельскохозяйственных курсов 2 октября 1912 г. М.: Типо-литография В. Рихтер, 13 с.
- Вавилов, Н. И. (2012) *Этюды по истории генетики*. М.: Новый Хронограф, 159 с.
- Вагнер, Н. П. (1871) Куда идет зоология? *Вестник Европы*, т. 6, № 11, с. 717–737.
- Вейсман, А. (1905) *Лекции по эволюционной теории*. Ч. 1. М.: М. и С. Сабашниковы, 505 с.
- Вейсман, А. (1918) *Лекции по эволюционной*. Петроград: Изд-во А. Ф. Девриена, 360 с.
- Вильсон, Э. (1900) *Роль клетки в развитии и наследственности*. М.: Типо-литография В. Рихтер, 460 с.
- Гаврилов-Зимин, И. А., Сергеев, М. А. (2024) Аристотель и Гарвей как предтечи эволюционной эмбриологии. *Историко-биологические исследования*, т. 16, № 3, с. 96–112. <https://doi.org/10.24412/2076-8176-2024-3-96-112>
- Гайсинович, А. Е. (1988) *Зарождение и развитие генетики*. М.: Наука, 424 с.
- Гольдшмидт, Р. (1913) *Основы учения о наследственности в двадцати лекциях для естественников, медиков и сельских хозяев*. СПб.: Изд-во А. Ф. Девриена, 428 с.
- Гончаров, Н. П. (2009) *Первые заведующие Бюро по прикладной ботанике и организаторы Госсортсети*. Новосибирск: Гео, 211 с.
- Гончаров, Н. П. (2020) «Не притащенная» наука: институционализация прикладной ботаники в России. *Историко-биологические исследования*, т. 12, № 3, с. 13–31. <https://doi.org/10.24411/2076-8176-2020-13002>
- Де-Фрис, Г. (1912) *Мутации и периоды мутаций при происхождении видов*. СПб.: Изд. М. И. Семенова, 45 с.
- Донкастер, А. (1913) *Наследственность в свете новейших исследований*. М.: Тип. П. П. Рябушинского, 150 с.
- Ермолаев, А. И. (2017) Этапы становления и развития генетики в Казанском университете. *Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки*, т. 159, № 2, с. 179–205.
- Ермолаев, А. И. (2019) Если бы Менделя не было... Как изменилась бы судьба генетики в XX веке? В кн.: *Институт истории естествознания и техники им. С. И. Вавилова. Годичная научная конференция, 2019*. Саратов: Амирит, с. 181–184.
- Ермолаев, А. И. (2022) О роли Менделя в истории биологии (к 200-летию Грегора Менделя). *Историко-биологические исследования*, т. 14, № 4, с. 176–186. <https://doi.org/10.24412/2076-8176-2022-4-176-186>
- Есаков, В. Д. (2008) *Николай Иванович Вавилов: страницы биографии*. М.: Наука, 288 с.
- Жегалов, С. И. (1911) Менделизм в современном освещении. *Сельское хозяйство и лесоводство*, № 12, с. 545–567.
- Жегалов, С. И. (1912) Значение селекции в современной агрономии. *В помощь хозяину*, № 2, с. 8–9.
- Завадовский, М. М. (1914) Биологический коллоквиум Н. К. Кольцова. В кн.: *Научные бюллетени. Общество содействия изданию научных трудов слушателей Московского Городского Университета имени А. Л. Шанявского. Вып. 1*. М.: Типография товарищества Рябушинских, с. 153–172.

- Завадовский, Н. (1914) Наследование масти у свиней. *Вестник животноводства*, № 8–9, с. 686–687.
- Захаров, И. А. (2024) *Генетика в XX веке. Очерки по истории генетики*. 2-е изд., доп. М.: Ваш формат, 140 с.
- Иванов, И. И., Филипченко, Ю. А. (1915) Описание гибридов между бизоном, зубром и рогатым скотом в зоопарке «Аскания Нова» Ф. Э. Фальц-Фейна. *Архив ветеринарных наук*, № 2, с. 1–33.
- Инге-Вечтомов, С. Г. (2015) *Ретроспектива генетики*. СПб.: Н-Л, 336 с.
- Инге-Вечтомов, С. Г. (2019) Ю. А. Филипченко (1882–1930) и первая кафедра генетики в СССР. В кн.: *Генетика вчера и сегодня*. СПб.: Эко-Вектор Ай-Пи, с. 10–31.
- Книпович, Н. М. (1909) *Курс общей зоологии для высших учебных заведений и самообразования*. СПб.: Изд. А. Ф. Девриена, 596 с.
- Колчинский, Э. И. (ред.). (2011) *Биология в Санкт-Петербурге. 1703–2008*. СПб.: Нестор-История, 568 с.
- Колчинский, Э. И., Манойленко, К. В., Ермолаев, А. И. (2012) Н. И. Вавилов как протагонист широкого эволюционного синтеза. В кн.: Э. И. Колчинский (ред.). *Создатели современного эволюционного синтеза*. СПб.: Нестор-История, с. 165–202.
- Кольцов, Н. К. (1935) Роль гена в физиологии развития. *Биологический журнал*, т. 4, № 5, с. 753–774.
- Конашев, М. Б. (1998) Редкое сочетание мужества, таланта и беззаветного служения науке и родине. Юрий Александрович Филипченко (1882–1930). В кн.: Э. И. Колчинский (ред.). *Выдающиеся отечественные биологи. Вып. 2*. СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского филиала института истории естествознания и техники им С. И. Вавилова РАН, с. 51–62.
- Конашев, М. Б. (2011) *Школа генетиков Ю. А. Филипченко*. СПб.: Санкт-Петербургский союз ученых, 38 с.
- Корренс, К. Ф. И. Э. (1913) *Новые законы наследственности*. М.: Тип. П. П. Рябушинского, 118 с.
- Косаковский, И. П. (сост.). (1989) *Федор Раскольников о времени и о себе: Воспоминания. Письма. Документы*. Л.: Лениздат, 575 с.
- Кулагин, Н. М. (1908) *Зоология беспозвоночных. Курс лекций, читанный в Московском С.-Х. Институте в 1907/8 учебном году проф. Н. М. Кулагиным*. М.: Издание Студенческой Кассы Взаимопомощи при Московском сельскохозяйственном институте, 149 с.
- Кулешов, П. Н. (сост.). (1907) Теория Менделя о наследственности. В кн.: *Сельскохозяйственное животноводство. Сборник статей и сведений*. М. [б. и], с. 1–3.
- Медведев, Н. Н. (2006) *Юрий Александрович Филипченко. 1882–1930*. 2-е изд., испр. и доп. М.: Наука, 230 с.
- Мендель, Г. (1910) Опыты над растительными гибридами. *Труды Бюро по прикладной ботанике*, т. 3, № 11, с. 479–529.
- Мендель, Г. (1912) *Исследование над гибридами растений*. СПб.: Типография товарищества «Общественная Польза», 42 с.
- Морган, Т. Г. (1909) *Экспериментальная зоология*. М.: ТД Мошкина и Ге, 430 с.
- Московский Городской Народный Университет имени А. Л. Шанявского. 1914–1915 академический год*. (1914) 2-е изд. М.: Городская типография, 47 с.
- Музрукова, Е. Б. (2002) *Т. Х. Морган и генетика. Научная программа школы Т. Х. Моргана в контексте развития биологии XX столетия*. М.: Грааль, 310 с.
- Навашин, М. С. (1915) Гаплоидное, диплоидное и триплоидное ядра у *Crepis virens* Vill. *Записки Киевского общества естествоиспытателей*, т. 25, вып. 1, с. 139–152.
- Новые идеи в биологии. Сб. № 4. Наследственность. Вып. 1*. (1914) СПб.: Изд-во «Образование», 150 с.
- Обозрение преподавания в Новороссийском университете по Физико-математическому факультету в 1912–1913 академическом году*. (1912) Одесса: [б. и.], 50 с.
- Озернюк, Н. Д. (2012) *Научная школа Н. К. Кольцова. Ученики и соратники*. М.: Товарищество научных изданий КМК, 357 с.
- Отчет Голицынских женских сельскохозяйственных курсов за 1911 год по хозяйственной и за 1911/12 учебный год по учебной части* (1912) М.: Типо-литография В. Рихтер, 87 с.
- Пённетт, Р. К. (1913) *Менделизм*. М.: Тип. П. П. Рябушинского, 192 с.
- Пименова, А. А. (2022) Истоки эмбриологии: Эмбедокл о бесплодии мулов. *Историко-биологические исследования*, т. 14, № 4, с. 46–57. <https://doi.org/10.24412/2076-8176-2022-4-46-57>
- Половцов, В. В. (1915) *Проблема наследственности, как научная схема*. Петроград: Изд. А. С. Панафидиной, 31 с.
- Птушенко, В. В. (2024) Лидия Петровна Бреславец, ученица Эрвина Баура. *Историко-биологические исследования*, т. 16, № 1, с. 203–210. <https://doi.org/10.24412/2076-8176-2024-1-203-210>
- Регель, Р. (1912) Селекция с научной точки зрения. *Труды Бюро по прикладной ботанике*, т. 5, № 11, с. 425–623.
- Сапегин, А. А. (1912) *Законы наследственности как основа селекции сельскохозяйственных растений*. Изложил по кн. Prof. E. Baur'a «Einführung in die experimentelle Vererbungslehre» А. А. Сапегин, магистр ботаники, прив.-доц. Имп. Новорос. ун-та. Одесса: Типография Е. Хрисогелос, 105 с.
- Сапегин, А. А. (1918) *Одесская сельскохозяйственная селекционная станция (Для чего учреждена, как работает, чего достигла)*. [Одесса:] Комиссия по распространению сельхоз. знаний при Обществе сельских хозяйств Южной России, 14 с.



- Тейхман, Э. (1909) *Наследственность как сохраняющая сила в процессе органической жизни*. Харьков; М.: Изд-во П. А. Брейтигама, 98 с.
- Тейхман, Э. (1911) *Наследственность*. М.: Т-во «Мир», 128 с.
- Тимирязев, К. А. (1939) *Сочинения*. Т. 7. М.: Сельхозгиз, 676 с.
- Урсу, Д. (2012) Генетика в Одессе: сто лет борьбы, побед и поражений. В кн.: *Південний захід. Одесика. Історико-краєзнавчий науковий альманах. Вип. 14*. Одесса: [б. и.], с. 210–257.
- Фандо, Р. А. (2005) *Формирование научных школ в отечественной генетике в 1930–1940-е гг.* М.: Издательский дом И. И. Шумиловой, 148 с.
- Фандо, Р. А. (2017) Московский городской народный университет имени А. А. Шанявского: у истоков экспериментальной биологии. *Историко-биологические исследования*, т. 9, № 4, с. 57–78.
- Федотова, А. А., Гончаров, Н. П. (2014) *Бюро по прикладной ботанике в годы Первой мировой войны: сборник документов*. СПб.: Нестор-История, 268 с.
- Филипченко, Ю. А. (1913a) Очерки по вопросам эволюции и наследственности. *Русское богатство*, № 1, с. 113–133.
- Филипченко, Ю. А. (1913b) Очерки по вопросам эволюции и наследственности. *Русское богатство*, № 2, с. 109–126.
- Филипченко, Ю. А. (1914a) О видовых гибридах. В кн.: *Новые идеи в биологии. Сб. № 4*. СПб.: Образование, с. 124–149.
- Филипченко, Ю. А. (1914b) Наследование окраски домашних животных. *Природа*, № 9, с. 1039–1056.
- Филипченко, Ю. А. (1915) *Изменчивость и эволюция*. Петроград; М.: Книгоиздательство А. С. Панафидина, 91 с.
- Филипченко, Ю. А. (1916a) Изменчивость и наследственность черепа у млекопитающих. Ч. 1. *Русский Архив анатомии, гистологии и эмбриологии*, т. 1, № 2, с. 311–404.
- Филипченко, Ю. А. (1916b) О черепах некоторых видовых гибридов между дикими и домашними формами. *Архив ветеринарных наук*, № 9, с. 1–27.
- Филипченко, Ю. А. (1917a) Наследование и происхождение мастей у лошади. *Материалы по вопросам рысистого коннозаводства*, № 3, с. 3–19.
- Филипченко, Ю. А. (1917b) *Наследственность*. М.: Природа, 302 с.
- Фокин, С. И. (2024) Николай Петрович Вагнер — жизнь и ипостаси талантливого человека. Ч. I. Путь в науку и в науке. *Историко-биологические исследования*, т. 16, № 1, с. 10–60. <https://doi.org/10.24412/2076-8176-2024-1-10-60>
- Фокин, С. И., Захаров-Гезехус, И. А. (2019) *Юрий Александрович Филипченко и его окружение. К 100-летию основания кафедры генетики и экспериментальной зоологии в Петроградском университете*. СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 336 с.
- Фролов, И. Т. (1988) *История и философия генетики. Поиски и дискуссии*. М.: Наука, 414 с.
- Шимкевич, В. М. (1906) *Помеси и ублюдки*. СПб.; М.: Издание Товарищества М. О. Вольф, 40 с.
- Шимкевич, В. М. (1907) *Биологические основы зоологии*. 3-е пересмотр. и доп. изд. СПб.; М.: Издание Товарищества М. О. Вольф, 512 с.
- Шимкевич, В. М. (1912) Новое в вопросах о наследственности. *Естествознание и география*, № 5, с. 1–12.
- Шуль, Дж. Т. (1910) Простой химический способ иллюстрировать закон Менделя о наследственности. *Труды Бюро по прикладной ботанике*, т. 3, № 11, прил. 4е, с. 1–12.
- Шульц, Е. (1912) [Рецензия на кн.:] Goldschmidt K. Tinführung in die Vererbungswissenschaft (Leipzig. Verl. v. W. Engelmann, 1911); Haecker V. Allgemeine Vererbungslehre (Leipzig, 1911); Baur E. Einfürung in die experimentelle Vererbungswissenschaft (1911). *Природа*, № 3, с. 28.
- Schwartz, J. (2008) *In pursuit of the gene. From Darwin to DNA*. Cambridge: Harvard University Press, 384 p.

## References

- Avrutskaya, T. B. (2021) *N. I. Vavilov v Anglii. 1913–1914 gg. Novye istochniki [N. I. Vavilov in England. 1913–1914. New Sources]*. Moscow: Akvarel' Publ., 20 p. (In Russian)
- Babkov, V. V. (1985) *Moskovskaya shkola evolyutsionnoy genetiki [Moscow school of evolutionary genetics]*. Moscow: Nauka Publ., 216 p. (In Russian)
- Barabanshchikov, B. I., Ermolaev, A. I. (1988) *Khrestomatiya po genetike [Textbook on genetics]*. Kazan: Kazan University Publ., 186 p. (In Russian)
- Baur, E. (1913) *Vvedenie v eksperimental'noe izuchenie nasledstvennosti. S predisloviem k russkomu izdaniyu R. E. Regelya. [Introduction to the experimental study of heredity. With a preface to the Russian edition by R. E. Regel.]* Yuriev: K. Mattisen's Publ., 342 p. ("Proceedings of the Bureau of Applied Botany" of the Scientific Committee of the Main Directorate of Land Management and Agriculture. Vol. 6. Appendix 8e). (In Russian)
- Bogdanov, E. A. (1914) *Mendelizm ili teoriya skreshchivaniya (Novoe napravlenie v izuchenii nasledstvennosti i izmenchivosti) [Mendelism or crossing theory (A new direction in the study of heredity and variability)]*. Moscow: "Knigoizdatel'stvo studentov Moskovskogo sel'skokhozyajstvennogo instituta" Publ., 625 p. (In Russian)

- Borodin, I. P. (1903a) Ocherki po voprosam oplodotvoreniya v rastitel'nom tsarstve [Essays on fertilization in the plant kingdom]. *Mir bozhij*, no. 4, pp. 257–272. (In Russian)
- Borodin, I. P. (1903b) Ocherki po voprosam oplodotvoreniya v rastitel'nom tsarstve [Essays on fertilization in the plant kingdom]. *Mir bozhij*, no. 11, pp. 199–210. (In Russian)
- Borodin, I. P. (1903c) Ocherki po voprosam oplodotvoreniya v rastitel'nom tsarstve [Essays on fertilization in the plant kingdom]. *Mir bozhij*, no. 12, pp. 255–274. (In Russian)
- Borodin, I. P. (1903d) *Ocherki po voprosam oplodotvoreniya v rastitel'nom tsarstve* [Essays on fertilization in the plant kingdom]. Saint Petersburg: I. N. Skorokhodov's Publ., 48 p. (In Russian)
- Breslavets, L. P. (1916) *O chisle khromosom i velichine yader u nekotorykh form Antirrhinum* [On the number of chromosomes and the size of nuclei in some forms of *Antirrhinum*]. Petrograd: K. Mattisen in Yur'ev Publ., 13 p. (In Russian)
- De Vries, G. (1912) *Mutatsii i periody mutatsij pri proiskhozhdenii vidov* [Mutations and mutation periods at species origin]. Saint Petersburg: M. I. Semenov's Publ., 45 p. (In Russian)
- Donkaster, L. (1913) *Nasledstvennost' v svete novejsikh issledovanij* [Heredity in light of the latest research]. Moscow: P. P. Ryabushinsky's Publ., 150 p. (In Russian)
- Ermolaev, A. I. (2017) Etapy stanovleniya i razvitiya genetiki v Kazanskom universitete [The stages of formation and development of genetics at the Kazan University]. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta. Seriya: Estestvennye nauki*, vol. 159, no. 2, pp. 179–205. (In Russian)
- Ermolaev, A. I. (2019) Esli by Mendelya ne bylo... Kak izmenilas' by sud'ba genetiki v XX veke? [If Mendel hadn't been... How would the fate of genetics change in the 20<sup>th</sup> century?]. In: *Institut istorii estestvoznaniya i tekhniki im. S. I. Vavilova. Godichnaya nauchnaya konferentsiya, 2019* [Institute of the History of natural science and technology named after S. I. Vavilov. Annual scientific conference, 2019]. Saratov: Amirit Publ., pp. 181–184. (In Russian)
- Ermolaev, A. I. (2022) O roli Mendelya v istorii biologii (k 200-letiyu Gregora Mendelya) [What role did Mendel play in the history of biology (to the 200<sup>th</sup> anniversary of Gregor Mendel)]. *Istoriko-biologicheskie issledovaniya — Studies in the History of Biology*, vol. 14, no. 4, pp. 176–186. <https://doi.org/10.24412/2076-8176-2022-4-176-186> (In Russian)
- Esakov, V. D. (2008) *Nikolaj Ivanovich Vavilov: stranitsy biografii* [Nikolai Ivanovich Vavilov: Biography]. Moscow: Nauka Publ., 288 p. (In Russian)
- Fando, R. A. (2005) *Formirovanie nauchnykh shkol v otechestvennoj genetike v 1930–1940-e gg.* [The formation of scientific schools in soviet genetics during the 1930–1940s]. Moscow: I. I. Shumilova's Publ., 148 p. (In Russian)
- Fando, R. A. (2017) Moskovskij gorodskoj narodnyj universitet imeni A. L. Shanyavskogo: u istokov eksperimental'noj biologii [The A. L. Shanyavsky Moscow city people's university: At the beginning of experimental biology]. *Istoriko-biologicheskie issledovaniya — Studies in the History of Biology*, vol. 9, no. 4, pp. 57–78. (In Russian)
- Fedotova, A. A., Goncharov, N. P. (2014) *Byuro po prikladnoj botanike v gody Pervoj mirovoj vojny* [The bureau of applied botany in the years of the First World War: A collection of documents]. Saint Petersburg: Nestor-Istoriya Publ., 268 p. (In Russian)
- Filipchenko, Yu. A. (1913a) Ocherki po voprosam evolyutsii i nasledstvennosti [Essays on evolution and heredity]. *Russkoe bogatstvo*, no. 1, pp. 113–133. (In Russian)
- Filipchenko, Yu. A. (1913b) Ocherki po voprosam evolyutsii i nasledstvennosti [Essays on evolution and heredity]. *Russkoe bogatstvo*, no. 2, pp. 109–126. (In Russian)
- Filipchenko, Yu. A. (1914a) O vidovykh gibridakh [About species hybrids]. In: *Novye idei v biologii. Sb. No. 4* [New ideas in biology. Collection No. 4]. Saint Petersburg: Obrazovanie Publ., pp. 124–149. (In Russian)
- Filipchenko, Yu. A. (1914b) Nasledovanie okraski domashnikh zhivotnykh [Pet color inheritance]. *Priroda*, no. 9, pp. 1039–1056. (In Russian)
- Filipchenko, Yu. A. (1915) *Izmenchivost' i evolyutsiya* [Variability and evolution]. Petrograd; Moscow: A. S. Panafidina's Publ., 91 p. (In Russian)
- Filipchenko, Yu. A. (1916a) *Izmenchivost' i nasledstvennost' cherepa u mlekopitayushchikh. Ch. 1* [Cranial variability and heredity in mammals. Issue 1]. *Russkij Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii*, vol. 1, no. 2, pp. 311–404. (In Russian)
- Filipchenko, Yu. A. (1916b) O cherepakh nekotorykh vidovykh gibridov mezhdu dikimi i domashnimi formami [About the turtles of some species hybrids between wild and domestic forms]. *Arkhiv veterinarnykh nauk*, no. 9, pp. 1–27. (In Russian)
- Filipchenko, Yu. A. (1917a) Nasledovanie i proiskhozhdenie mastej u loshadi [Inheritance and origin of suits in a horse]. *Materialy po voprosam rysistogo konnozavodstva*, no. 3, pp. 3–19. (In Russian)
- Filipchenko, Yu. A. (1917b) *Nasledstvennost'* [Heredity]. Moscow: Priroda Publ., 302 p. (In Russian)
- Fokin, S. I. (2024) Nikolaj Petrovich Vagner — zhizn' i ipostasi talantlivogo cheloveka. Ch. I [Nikolai Petrovich Wagner: The life and hypostases of a talented person. Pt. I]. *Istoriko-biologicheskie issledovaniya — Studies in the History of Biology*, vol. 16, no. 1, pp. 10–60. <https://doi.org/10.24412/2076-8176-2024-1-10-60> (In Russian)
- Fokin, S. I., Zakharov-Gezekhus, I. A. (2019) *Yurij Aleksandrovich Filipchenko i ego okruzhenie. K 100-letiyu osnovaniya kafedry genetiki i eksperimental'noj zoologii v Petrogradskom universitete.* [Yuri Alexandrovich

- Filipchenko and his entourage. On the 100<sup>th</sup> anniversary of the founding of the Department of genetics and experimental zoology at Petrograd University]. Saint Petersburg: Saint Petersburg University Publ., 336 p. (In Russian)
- Frolov, I. T. (1988) *Istoriya i filosofiya genetiki. Poiski i diskussii* [History and philosophy of genetics. Searches and discussions]. Moscow: Nauka Publ., 414 p. (In Russian)
- Gajsinovich, A. E. (1988) *Zarozhdenie i razvitie genetiki* [Origin and development of genetics]. Moscow: Nauka Publ., 424 p. (In Russian)
- Gavrilov-Zimin, I. A., Sergeev, M. L. (2024) Aristotel' i Garvej kak predtechi evolyutsionnoj embriologii [Aristotle and Harvey as forerunners of evolutionary embryology]. *Istoriko-biologicheskie issledovaniya — Studies in the History of Biology*, vol. 16, no. 3, pp. 96–112. <https://doi.org/10.24412/2076-8176-2024-3-96-112> (In Russian)
- Gol'dshmidt, R. (1913) *Osnovy ucheniya o nasledstvennosti v dvadtsati lektsiyakh dlya estestvennikov, medikov i sel'skikh khozyaev* [Fundamentals of the doctrine of heredity in twenty lectures for naturalists, doctors and rural owners]. St. Petersburg: Publishing house A. F. Devrien, 428 p. (In Russian)
- Goncharov, N. P. (2009) *Pervye zaveduyushchie Byuro po prikladnoj botanike i organizatory Gossortseti* [Heads of the bureau of applied botany and founders of plant State tasting system]. Novosibirsk: Geo Publ., 211 p. (In Russian)
- Goncharov, N. P. (2020) “Ne pritashchennaya” nauka: institutsializatsiya prikladnoj botaniki v Rossii [The “not dragged” science: The institutionalisation of applied botany]. *Istoriko-biologicheskie issledovaniya — Studies in the History of Biology*, vol. 12, no. 3, pp. 13–31. <https://doi.org/10.24411/2076-8176-2020-13002> (In Russian)
- Inge-Vechtomov, S. G. (2015) *Retrospektiva genetiki* [Genetics in retrospect]. Saint Petersburg: N-L Publ., 336 p. (In Russian)
- Inge-Vechtomov, S. G. (2019) Yu. A. Filipchenko (1882–1930) i pervaya kafedra genetiki v SSSR [Yu. A. Filipchenko (1882–1930) and the first department of genetics in the USSR]. In: *Genetika vchera i segodnya* [Genetics yesterday and today]. Saint Petersburg: Eko-Vektor Aj-Pi Publ., pp. 10–31. (In Russian)
- Ivanov, I. I., Filipchenko, Yu. A. (1915) Opisanie gibridov mezhdru bizonom, zubrom i rogatym skotom v zooparke “Askaniya Nova” F. E. Falz-Fejna [Description of hybrids between bison, bison and cattle in the zoo “Askaniya Nova” F. E. Falz-Fein]. *Arkhiv veterinarnykh nauk*, no. 2, pp. 1–33. (In Russian)
- Knipovich, N. M. (1909) *Kurs obshchej zoologii dlya vysshikh uchebnykh zavedenij i samoobrazovaniya* [Course of general zoology for higher educational institutions and self-education]. Saint Petersburg: A. F. Devrien's Publ., 596 p. (In Russian)
- Kolchinskij, E. I. (ed.). (2011) *Biologiya v Sankt-Peterburge. 1703–2008* [Biology in St. Petersburg. 1703–2008]. Saint Petersburg: Nestor-Istoriya Publ., 568 p. (In Russian)
- Kolchinskij, E. I., Manojlenko, K. V., Ermolaev, A. I. (2012) N. I. Vavilov kak protagonist shirokogo evolyutsionnogo sinteza [N. I. Vavilov as a protagonist of a wide evolutionary synthesis]. In: E. I. Kolchinskij (ed.). *Sozdateli sovremennogo evolyutsionnogo sinteza* [The architects of modern evolutionary synthesis. A volume of essays]. Saint Petersburg: Nestor-Istoriya Publ., pp. 165–202. (In Russian)
- Kol'tsov, N. K. (1935) Rol' gena v fiziologii razvitiya [Role of the gene in developmental physiology]. *Biologicheskij zhurnal*, vol. 4, no. 5, pp. 753–774. (In Russian)
- Konashev, M. B. (1998) Redkoe sochetanie muzhestva, talanta i bezzavetnogo sluzheniya nauke i rodine. Yuriy Aleksandrovich Filipchenko (1882–1930) [A rare combination of courage, talent and selfless service to science and homeland. Yuri Alexandrovich Filipchenko (1882–1930)]. In: E. I. Kolchinskij (ed.). *Vydayushchiesya otechestvennye biologi. T. 2* [Outstanding domestic biologists. Vol. 2]. Saint Petersburg: St. Petersburg branch of the Institute of the History of Natural Science and Technology named after S. I. Vavilov RAS Publ., pp. 51–62. (In Russian)
- Konashev, M. B. (2011) *Shkola genetikov Yu. A. Filipchenko* [School of geneticists Yu. A. Filipchenko]. Saint Petersburg: St. Petersburg Union of Scientists Publ., 38 p. (In Russian)
- Korrens, K. F. I. E. (1913) *Novye zakony nasledstvennosti* [New laws of heredity]. Moscow: P. P. Ryabushinsky's Publ., 118 p. (In Russian)
- Kosakovskij, I. P. (comp.). (1989) *Fedor Raskol'nikov o vremeni i o sebe: Vospominaniya. Pis'ma. Dokumenty* [Fedor Raskolnikov about time and about himself: Memories. Letters. Documents]. Leningrad: Lenizdat Publ., 575 p. (In Russian)
- Kulagin, N. M. (1908) *Zoologiya bezpozvonochnykh. Kurs lektsij, chitannyj v Moskovskom sel'skokhozyajstvennom institute v 1907/8 uchebnom godu prof. N. M. Kulaginym* [Invertebrate zoology. A course of lectures given by Professor N. M. Kulagin at Moscow Agricultural Institute in the academic year 1907/8]. Moscow: The Student Mutual Help Fund at the Moscow Agricultural Institute Publ., 149 p. (In Russian)
- Kuleshov, P. N. (comp.). (1907) *Teoriya Mendelya o nasledstvennosti* [Mendel's theory of heredity]. In: *Sel'skokhozyajstvennoe zhivotnovodstvo. Sbornik statej i svedenij* [Agricultural livestock. Collection of articles and information]. Moscow: [s. n.], pp. 1–3. (In Russian)
- Medvedev, N. N. (2006) *Yuriy Aleksandrovich Filipchenko. 1882–1930* [Yuri Alexandrovich Filipchenko. 1882–1930]. 2<sup>nd</sup> ed., comp. Moscow: Nauka Publ., 230 p. (In Russian)
- Mendel', G. (1910) Opyty nad rastitel'nymi gibridami [Experiments on plant hybrids]. *Trudy Byuro po prikladnoj botanike — Bulletin of Applied Botany*, vol. 3, no. 11, pp. 481–529. (In Russian)



- Mendel', G. (1912) *Issledovanie nad gibridami rastenij [Exploring plant hybrids]*. Saint Petersburg: Tipografiya tovarishchestva "Obshchestvennaya Pol'za" Publ., 42 p. (In Russian)
- Morgan, T. G. (1909) *Eksperimental'naya zoologiya [Experimental zoology]*. Moscow: Moshkin and Ge's Publ., 430 p. (In Russian)
- Moskovskij Gorodskoj Narodnyj Universitet imeni A. L. Shanyavskogo. 1914–1915 akademicheskij god [Moscow City People's University named after A. L. Shanyavsky. 1914–1915 academic year]. (1914) 2<sup>nd</sup> ed. Moscow: Gorodskaya tipografiya Publ., 47 p. (In Russian)
- Muzrukova, E. B. (2002) *T. Kh. Morgan i genetika. Nauchnaya programma shkoly T. Kh. Morgana v kontekste razvitiya biologii XX stoletiya [T. H. Morgan and genetics. The scientific program of the T. H. Morgan School in the context of the development of biology of the XX century]*. Moscow: Graal' Publ, 310 p. (In Russian)
- Navashin, M. S. (1915) Gaploidnoe, diploidnoe i triploidnoe yadra u *Crepis virens* Vill [Haploid, diploid and triploid nuclei in *Crepis virens* Vill]. *Zapiski Kievskogo obshchestva estestvoispytatelej*, vol. 25, iss. 1, pp. 139–152. (In Russian)
- Novye idei v biologii. Sbornik chetvertyj. Nasledstvennost' I [New ideas in biology. 4<sup>th</sup> Collection. Heredity I]. (1914) Saint Petersburg: Obrazovanie Publ., 150 p. (In Russian)
- Obozrenie prepodavaniya v Novorossiyskom universitete po Fiziko-matematicheskomu fakul'tetu v 1912–1913 akad. godu [Review of teaching at Novorossiysk University in the Faculty of Physics and Mathematics in 1912–1913 acad. year]. (1912) Odessa: [s. n.], 50 p. (In Russian)
- Otchet Golitsinskikh zhenskikh sel'skokhozyajstvennykh kursov za 1911 god po khozyajstvennoj i za 1911/12 uchebnyj god po uchebnoj chasti [Report of the Golitsyn Women's Agricultural Courses for 1911 on the economic and for the academic year 1911/12 on the academic part]. (1912) Moscow: Tipo-litografiya V. Rikhter, 87 p. (In Russian)
- Ozernyuk, N. D. (2012) *Nauchnaya shkola N. K. Kol'tsova. Ucheniki i soratniki [Scientific school of N. K. Koltsov. Pupils and associates]*. Moscow: KMK Scientific Press, 357 p. (In Russian)
- Pennett, R. K. (1913) *Mendelizm [Mendelism]*. Moscow: P. P. Ryabushinsky's Publ., 192 p. (In Russian)
- Pimenova, A. A. (2022) Istoki embriologii: Empedokl o besplodii mulov [The origins of embryology: Empedocles on the infertility of mules]. *Istoriko-biologicheskie issledovaniya — Studies in the History of Biology*, vol. 14, no. 4, pp. 46–57. <https://doi.org/10.24412/2076-8176-2022-4-46-57> (In Russian)
- Polovtsov, V. V. (1915) *Problema nasledstvennosti, kak nauchnaya skhema [The problem of heredity as a scientific scheme]*. Petrograd: A. S. Panafidina's Publ., 31 p. (In Russian)
- Ptushenko, V. V. (2024) Lidiya Petrovna Breslavets, uchenitsa Ervina Baura [Erwin Baur was a teacher of Lidia Petrovna Breslavets]. *Istoriko-biologicheskie issledovaniya — Studies in the History of Biology*, vol. 16, no. 1, pp. 203–210. <https://doi.org/10.24412/2076-8176-2024-1-203-210> (In Russian)
- Regel', R. (1912) Seleksiya s nauchnoj tochki zreniya [Selection from a scientific point of view]. *Trudy Byuro po prikladnoj botanike — Bulletin of Applied Botany*, vol. 5, no. 11, pp. 425–623. (In Russian)
- Sapegin, A. A. (1912) *Zakony nasledstvennosti kak osnova seleksii sel'skokhozyajstvennykh rastenij. Izlozhen po kn. Prof. E. Baur'a «Einführung in die experimentelle Vererbungslehre» A. A. Sapegin, magistr botaniki, priv.-doks. Imp. Novoros. un-ta. [Heredity laws as a basis for agricultural plant breeding. Expounded from the book. Prof. E. Baur'a "Einführung in die experimentelle Vererbungslehre" A. A. Sapegin, Master of Botany, Priv.-Assoc. Imperial Novorossiysk University]*. Odessa: E. Chrysogelos's Publ., 105 p. (In Russian)
- Sapegin, A. A. (1918) *Odesskaya sel'skokhozyajstvennaya selektsionnaya stantsiya [Odessa agricultural breeding station]*. Odessa: Commission for the dissemination of agricultural knowledge under the Society of Agricultural Farms of Southern Russia Publ., 14 p. (In Russian)
- Shimkevich, V. M. (1906) *Pomesi i ublyudki [Crossbreeds and bastards]*. Saint Petersburg; Moscow: Partnership M. O. Wolf Publ., 40 p. (In Russian)
- Shimkevich, V. M. (1907) *Biologicheskie osnovy zoologii [Biological basis of zoology]*. 3<sup>rd</sup> ed. Saint Petersburg; Moscow: Partnership M. O. Wolf Publ., 512 p. (In Russian)
- Shimkevich, V. M. (1912) Novoe v voprosakh o nasledstvennosti [New in questions about heredity]. *Estestvoznaniye i geografiya*, no. 5, pp. 1–12. (In Russian)
- Shul', D. T. (1910) Prostoje khimicheskij sposob illyustrirovat' zakon Mendelya o nasledstvennosti [A simple chemical way to illustrate Mendel's law of heredity]. *Trudy Byuro po prikladnoj botanike*, vol. 3, no. 11, suppl. 4, pp. 1–12. (In Russian)
- Shul'ts, E. (1912) [Retsenziya na kn.:] Goldschmidt K. Tinführung in die Vererbungswissenschaft (Leipzig. Verl. v. W. Engelmann, 1911); Haecker V. Allgemeine Vererbungslehre (Leipzig, 1911); Baur E. Einführung in die experimentelle Vererbungslehre (1911) [Book review: Goldschmidt K. Tinführung in die Vererbungswissenschaft (Leipzig. Verl. v. W. Engelmann, 1911); Haecker V. Allgemeine Vererbungslehre (Leipzig, 1911); Baur E. Einführung in die experimentelle Vererbungslehre (1911)]. *Priroda*, no. 3, pp. 28. (In Russian)
- Schwartz, J. (2008) *In pursuit of the gene. From Darwin to DNA*. Cambridge: Harvard University Press, 384 p. (In English)
- Tejkhman, E. (1909) *Nasledstvennost' kak sokhranyayushchaya sila v protsesse organicheskoy zhizni [Heredity as a preserving force in the process of organic life]*. Kharkov; Moscow: P. A. Breitigam Publ., 98 p. (In Russian)
- Tejkhman, E. (1911) *Nasledstvennost' [Heredity]*. Moscow: Mir Publ., 128 p. (In Russian)

- Timiryazev, K. A. (1939) *Sochineniya. T. 7 [Essays. Vol. 7]*. Moscow: Sel'khozgiz Publ., 676 p. (In Russian)
- Ursu, D. (2012) *Genetika v Odesse: sto let bor'by, pobed i porazhenij [Genetics in Odessa: One hundred years of struggle, victories and defeats]*. In: *Pivdennij zakhid. Odesika. Istoriko-kraeznavchij naukovej al'manakh. Iss. 14*. Odessa: [s. n.], pp. 210–257. (In Russian)
- Vagner, N. P. (1871) *Kuda idet zoologiya? [Where is zoology going?]*. *Vestnik Evropy*, vol. 6, no. 12, pp. 717–737. (In Russian)
- Vavilov, N. I (1912a) *Genetika i ee otnoshenie k agronomii [Genetics and its relationship to agronomy]*. In: *Otchet Golitsinskikh zhenskikh sel'skokhozyajstvennykh kursov za 1911 god po khozyajstvennoj i za 1911/12 uchebnyj god po uchebnoj chasti [The report of the Golitsyn women's agricultural courses for 1911 on economics and for the 1911/12 academic year on the academic part]*. Moscow: Tipo-litografiya V. Rikhter Publ., pp. 77–87. (In Russian)
- Vavilov, N. (1912b) *Genetika i ee otnoshenie k agronomii. Soobschenie, sdellanoe na godichnom akte Golitsinskikh Vysshikh Sel'skokhozyajstvennykh kursov 2 oktyabrya 1912 g. [Genetics and its relation to agronomy. Message made on the annual act of the Golitsinsky Higher Agricultural Courses on October 2, 1912]*. Moscow: Tipo-litografiya V. Rikhter Publ., 13 p. (In Russian)
- Vavilov, N. I. (2012) *Etyudy po istorii genetiki [Studies on the history of genetics]*. Moscow: Novij khronograf Publ., 159 p. (In Russian)
- Vejsman, A. (1905) *Leksii po evolyutsionnoj teorii. T. 1 [Lectures on evolutionary theory. Vol. 1]*. Moscow: M. i S. Saboshnikov's Publ., 505 p (In Russian)
- Vejsman, A. (1918) *Leksii po evolyutsionnoj teorii [Lectures on evolutionary theory]*. Petrograd: A. F. Devrien Publ., 360 p. (In Russian)
- Vil'son, E. (1900) *Rol' kletki v razvitii i nasledstvennosti [The cell in development and inheritance]*. Moscow: Tipo-litografiya V. Rikhter Publ., 460 p. (In Russian)
- Zakharov, I. A. (2024) *Genetika v XX veke. Ocherki po istorii genetiki [Genetics in the 20<sup>th</sup> century. Essays on the history of genetics]*. 2<sup>nd</sup> ed., comp. Moscow: Vash format Publ., 140 p. (In Russian)
- Zavadovskij, M. M. (1914) *Biologicheskij kollokvij N. K. Kol'tsova [Biological colloquium N. K. Koltsova]*. In: *Nauchnye byulleteni. Obschestvo sodeystviya izdaniyu nauchnykh trudov slushateley Moskovskogo Gorodskogo Universiteta imeni A. L. Shanyavskogo. T. 1 [Scientific bulletins. Society for the promotion of the publication of scientific works of students of the Moscow City University named after A. L. Shanyavsky. Vol. 1]*. Moscow: The Ryabushinsky partnership Publ., pp. 153–172. (In Russian)
- Zavadovskij, N. (1914) *Nasledovanie masti u svinej [Inheritance of suit in pigs]*. *Vestnik zhivotnovodstva*, no. 8–9, pp. 686–687. (In Russian)
- Zhegalov, S. I. (1911) *Mendelizm v sovremennom osveshchenii [Mendelism in modern lighting]*. *Sel'skoe khozyajstvo i lesovodstvo*, no. 12, pp. 545–567. (In Russian)
- Zhegalov, S. I. (1912) *Znachenie selektsii v sovremennoj agronomii [Importance of breeding in modern agronomy]*. *V pomoshch' khozyainu*, no. 2, pp. 8–9. (In Russian)



## Современные аспекты организации молекул главного комплекса гистосовместимости и особенности развития иммунного ответа

А. В. Москалев <sup>✉1</sup>, В. Я. Апчел <sup>1,2</sup>, Е. А. Никитина <sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова,  
194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6

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

<sup>3</sup> Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН,  
199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

### Сведения об авторах

Александр Витальевич Москалев, ORCID: 0000-0002-3403-3850, SPIN-код: 8227-2647, e-mail: [alexmv195223@yandex.ru](mailto:alexmv195223@yandex.ru)

Василий Яковлевич Апчел, ORCID: 0000-0001-7658-4856, SPIN-код: 4978-0785, ResearcherID: E-8190-2019,  
Scopus AuthorID: 6507529350, e-mail: [apchelvya@mail.ru](mailto:apchelvya@mail.ru)

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

**Для цитирования:** Москалев, А. В., Апчел, В. Я., Никитина, Е. А. (2024) Современные аспекты организации молекул главного комплекса гистосовместимости и особенности развития иммунного ответа. *Интегративная физиология*, т. 5, № 3, с. 261–282. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-261-282> EDN LKBYMR

**Получена** 16 октября 2024; прошла рецензирование 23 октября 2024; принята 27 октября 2024.

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

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

**Аннотация.** Рассматриваются современные данные, отражающие биологические эффекты главного комплекса гистосовместимости в распознавании чужеродных антигенов и особенностях развития адаптивного иммунного ответа. Известно, что презентация антигена молекулами главного комплекса гистосовместимости инициирует развитие адаптивного иммунного ответа. Антигены для презентации либо генерируются из белков в результате клеточных трансляционных механизмов, либо транспортируются в эндоплазматический ретикулум. Распознавание антигена Т-клеточным рецептором запускает пролиферацию Т-лимфоцитов и развитие клеточно опосредованного иммунного ответа. Пептидный репертуар представляемых антигенов во многом зависит от структурных особенностей связывающего участка каждого конкретного аллельного варианта молекул главного комплекса гистосовместимости. Кроме того, пептидные редакторы — тапасин для молекул главного комплекса гистосовместимости I класса и человеческий лейкоцитарный антиген DM для II класса — способствуют отбору антигенов и их высокоаффинному связыванию. Однако не установлено, почему определенные аллельные варианты главного комплекса гистосовместимости более восприимчивы к пептидному редактированию, чем другие. После обработки пептидный репертуар, представленный молекулами главного комплекса гистосовместимости, в значительной степени зависит от структурных особенностей антиген-связывающего сайта каждого конкретного аллельного варианта главного комплекса гистосовместимости. Антигенпрезентирующие клетки, используя механизм перекрестной презентации, отбирают образцы из внеклеточной среды и представляют их молекулам главного комплекса гистосовместимости. Поэтому идентификация сайтов загрузки пептидов во время перекрестной презентации является ключевой проблемой. Мономорфная консервативная молекула MR1, в отличие от других молекул, представляет небольшие органические молекулы. Комплексы MR1-антиген распознаются инвариантным Т-клеточным рецептором. В представлении антигенов важная роль принадлежит субпопуляциям классических дендритных клеток 1-го и 2-го типов, а также плазмцитотидных дендритных клеток,



которые функционируют под контролем множественных факторов транскрипции, экспрессируемых в уникальных комбинациях.

**Ключевые слова:** антигены, антигенпрезентирующие клетки, главный комплекс гистосовместимости, лизосомы, лимфоциты, рецепторы, фагосомы, классические дендритные клетки, плазматоидные дендритные клетки

## Modern aspects of the organization of molecules of the main histocompatibility complex and the development of the immune response

A. V. Moskalev <sup>1</sup>, V. Ya. Apchel<sup>1,2</sup>, E. A. Nikitina<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Kirov Military Medical Academy, 6 Akademika Lebedeva Str., Saint Petersburg 194044, Russia

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

<sup>3</sup> Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences,  
6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

### Authors

Alexander V. Moskalev, ORCID: 0000-0002-3403-3850, SPIN: 8227-2647, e-mail: alexmav195223@yandex.ru

Vasiliy Ya. Apchel, ORCID: 0000-0001-7658-4856, SPIN: 4978-0785, ResearcherID: E-8190-2019, Scopus AuthorID: 6507529350, e-mail: apchelvy@yandex.ru

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

**For citation:** Moskalev, A. V., Apchel, V. Ya., Nikitina, E. A. (2024) Modern aspects of the organization of molecules of the main histocompatibility complex and the development of the immune response. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 3, pp. 261–282. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-261-282> EDN LKBYMR

**Received** 16 October 2024; reviewed 23 October 2024; accepted 27 October 2024.

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

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

**Abstract.** This article reviews contemporary research on the biological functions of the major histocompatibility complex (MHC) in the recognition of foreign antigens and the development of the adaptive immune response. The presentation of antigens by MHC molecules triggers the initiation of adaptive immunity. Recognition of these antigens by T cell receptors activates T-lymphocyte proliferation and the subsequent cell-mediated immune response. The peptide repertoire of the presented antigens is largely determined by the structural characteristics of the binding region of each specific allelic variant of MHC molecules. Peptide editors, such as tapasin for MHC class I molecules and human leukocyte antigen DM for class II molecules, play crucial roles in selecting antigens and ensuring their high-affinity binding. After antigen processing, the peptide repertoire displayed by MHC molecules is significantly influenced by the structural properties of the antigen-binding site of each specific MHC allele. Antigen-presenting cells employ a cross-presentation mechanism to sample extracellular antigens and present them to MHC molecules. Identifying peptide loading sites during cross-presentation remains a key challenge in immunology. Additionally, the conserved, monomorphic MR1 molecule presents small organic molecules, which are recognized by invariant T cell receptors. The effective presentation of antigens also depends on subpopulations of classical dendritic cells (types 1 and 2) and plasmacytoid dendritic cells, whose functions are regulated by distinct transcription factors expressed in unique combinations.

**Keywords:** antigens, antigen-presenting cells, major histocompatibility complex, lysosomes, lymphocytes, receptors, phagosomes, classical dendritic cells, plasmacytoid dendritic cells

Благодаря современным иммунологическим и генетическим исследованиям появляется все больше данных об особенностях развития реакций врожденного и адаптивного иммунного ответа (ИО). Установлено, что распознавание антигенов — многогранный процесс, в котором

участвуют многие клеточные и гуморальные факторы иммунной системы (ИС). И от их функциональных особенностей зависит эффективность элиминации патогенов с различными типами паразитирования. Важнейшая роль в представлении антигена, его распознавании

и развитии последующих реакций адаптивного ИО, его эффективности принадлежит главному комплексу гистосовместимости (ГКГС), у человека система тканевой совместимости (HLA — human leukocyte antigen). Однако эффективность ГКГС, а в итоге и самого адаптивного ИО во многом зависит от сочетанного функционирования антигенпрезентирующих клеток (АПК) и факторов, обеспечивающих их активность. Поэтому представляется чрезвычайно интересным рассмотреть роль ГКГС в сложных реакциях представления различных по природе антигенов иммунокомпетентным клеткам. Установлено много особенностей распознавания антигенов субпопуляциями Т- и В-лимфоцитов. Эффективность функционирования этих клеток также зависит от распознавания ими антигенов, представленных в сайтах молекул ГКГС I и II классов.

Известно, что при инициации ИО антигены поглощаются в местах их проникновения и доставляются во вторичные (периферические) органы ИС. Поскольку общее количество лимфоцитов в организме ограничено, а ИС гене-

рирует большое количество клонов лимфоцитов, имеющих различную специфичность, в организме существует очень мало неактивированных (наивных) Т- и В-лимфоцитов, специфичных для конкретного антигена, — от  $10^5$  до  $10^6$  на 1 антиген. Эти наивные Т-лимфоциты должны обнаруживать «свой» антиген и реагировать на него. Т-лимфоциты распознают и реагируют на клеточно-ассоциированные, а не на растворимые антигены. Т-клеточные антигенные рецепторы эволюционировали, чтобы распознавать белковые внутриклеточные антигены, экспрессируемые на клеточной поверхности, что в итоге гарантирует их распознавание Т-клетками. Это резко контрастирует с В-лимфоцитами, антигенные рецепторы которых и секретируемые антитела распознают интактные микробные антигены, а также растворимые антигены. Распознавание антигенов, ассоциированных с клеткой хозяина, осуществляют  $CD4^+$  и  $CD8^+$  Т-клетки совместно со специализированными белками ГКГС, экспрессируемыми на поверхности клеток-хозяев (Rossjohn et al. 2015) (табл. 1).

Табл. 1. Особенности распознавания антигенов Т-лимфоцитами, представленных молекулами ГКГС

Особенности антигенов, распознаваемых Т-клетками	Объяснение
Большинство Т-клеток распознают белковые молекулы	Только белки связываются с молекулами ГКГС
Т-клетки распознают линейные пептиды, а не конформационные детерминанты белковых антигенов	Линейные пептиды связываются с сайтами ГКГС
Т-клетки распознают клеточно-ассоциированные и нерастворимые антигены	Большинство рецепторов Т-клеток распознают только пептид-ГКГС-комплексы, молекулы ГКГС представляют собой мембранные белки, экспрессируемые на поверхности клеток
$CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки преимущественно распознают антигены, попавшие из внеклеточной среды в везикулы и антигены, присутствующие в цитозоле	Пути сборки молекул ГКГС: молекулы ГКГС II класса представляют пептиды, протеолитически расщепляющиеся в везикулах АПК, а молекулы ГКГС I класса представляют цитозольные белки, расщепляющиеся цитозольными протеасомами

Table 1. Features of MHC-dependent antigen recognition by T-lymphocytes

Feature	Explanation
Most T cells recognize protein molecules	Only proteins can bind to MHC molecules
T cells recognize linear peptides rather than conformational determinants of protein antigens	Linear peptides bind to MHC sites
T cells recognize cell-associated and insoluble antigens	T cell receptors primarily recognize peptide-MHC complexes, with MHC molecules being membrane proteins expressed on cell surfaces
$CD4^+$ and $CD8^+$ T cells preferentially recognize antigens from the extracellular environment (in vesicles) and from the cytosol	MHC molecule assembly pathways: MHC class II molecules present peptides that are proteolytically cleaved in APC vesicles, while MHC class I molecules present cytosolic proteins cleaved by proteasomes

Молекулы ГКГС играют важнейшую роль в представлении экзогенных антигенов CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитам, а эндогенных — CD8<sup>+</sup> Т-клеткам. Выяснение интимных механизмов презентации антигена стало впечатляющим достижением иммунологии. Большинство Т-лимфоцитов распознают только короткие пептиды, в то время как В-клетки могут распознавать интактные свернутые белки, нуклеиновые кислоты, углеводы, липиды и низкомолекулярные вещества. В результате Т-клеточный ИО обычно индуцируется чужеродными белковыми антигенами, тогда как гуморальный ИО — и белковыми, и небелковыми антигенами.

Однако некоторые Т-клетки распознают мелкие молекулы химических веществ, таких как урушиол ядовитого плюща (органическая смесь токсинов с аллергенными свойствами), β-лактамы антибиотики и даже ионы металлов (никель и бериллий). Поэтому вполне вероятно, что химические молекулы могут связываться с белками макроорганизма, включая молекулы ГКГС, а Т-клетки способны распознавать эти модифицированные эндогенные белки или измененные молекулы ГКГС, а некоторые субпопуляции Т-клеток — и небелковые антигены (Petersdorf, O'hUigin 2019) (рис. 1).

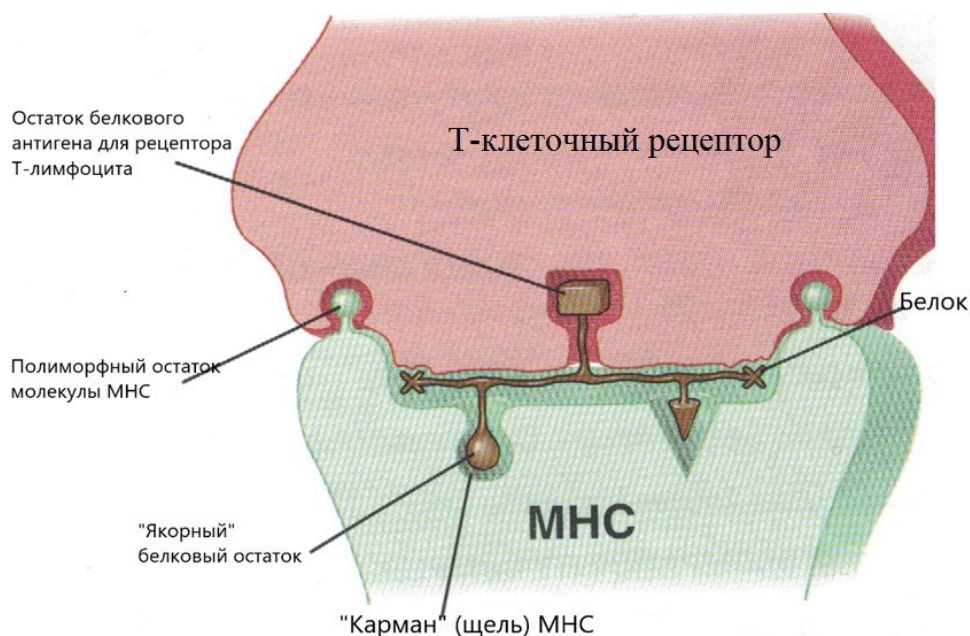


Рис. 1. Модель взаимодействия Т-клеточного рецептора с молекулами ГКГС. МНС — главный комплекс гистосовместимости (Abbas et al. 2022)

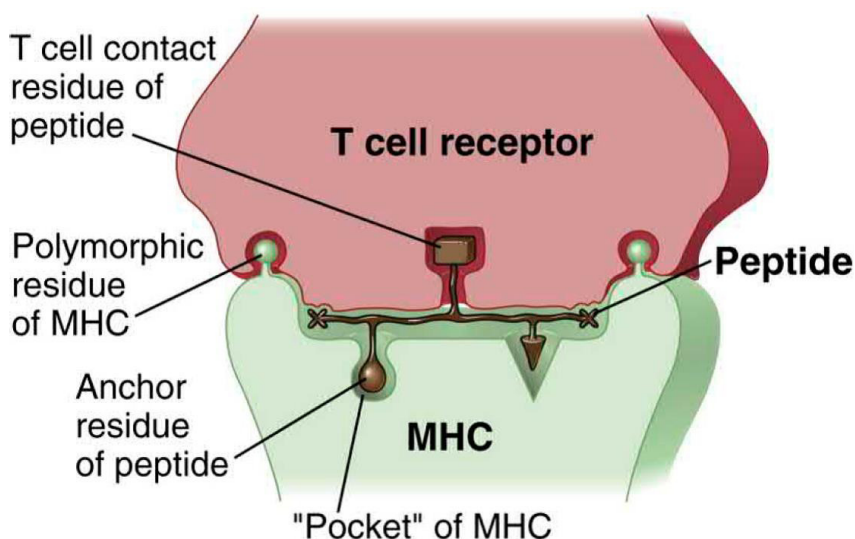


Fig. 1. A model of T cell recognition of MHC (Abbas et al. 2022)



Один фрагмент ГКГС-ассоциированного пептида закреплен в кармане молекулы ГКГС, а другой — распознается рецептором Т-клеток. Полиморфные молекулы ГКГС также распознаются Т-клеточным рецептором (ТКР). Таким образом, Т-клетки «видят» как белковые антигены, так и молекулы ГКГС, а функции молекул ГКГС заключаются в связывании и представлении антигенов для распознавания их CD8<sup>+</sup> Т-клетками. Это способствует окончательному созреванию Т-лимфоцитов и их последующему распознаванию комплекса ГКГС-пептид. Некоторые антигены транспортируются в лимфе АПК, в первую очередь дендритными клетками (ДК). Лимфа содержит образцы всех растворимых и клеточно-ассоциированных антигенов, проникающих через эпителий и присутствующих в тканях. Антигены концентрируются в лимфатических узлах, которые располагаются вдоль лимфатических сосудов и действуют как фильтры.

Различают три типа ДК, которые представляют антигены на разных стадиях ИО и при различных типах иммунных реакций. Это обычные (или классические) ДК (кДК), присутствующие в большинстве лимфоидных и нелимфоидных тканей. кДК делятся на две группы: кДК 1 типа и кДК 2 типа. кДК 1 типа эффективны при переносе антигенов из везикул в цитозоль. Это важный этап в процессе перекрестной презентации, при которой антигены представляются молекулами ГКГС I класса CD8<sup>+</sup> Т-клеткам. А кДК 2 типа представляют захваченные антигены CD4<sup>+</sup> Т-клеткам и являются наиболее важной субпопуляцией для инициирования Т-клеточного ИО. Плазмцитоподобные ДК (пДК) — основной источник интерферонов (ИФН) I типа. Кроме того, пДК могут захватывать антигены в периферической крови и транспортировать их в селезенку. Моноцитарные ДК могут развиваться из моноцитов при воспалительных процессах, но их роль в ИО пока неясна. Клетки Лангерганса связаны с тканевыми резидентными макрофагами и вероятно, их функции аналогичны функциям кДК 2 типа (Anderson et al. 2018).

Эпителиальные и тканевые ДК преимущественно захватывают белковые антигены. Тканевые резидентные кДК экспрессируют многочисленные мембранные лектиновые рецепторы С-типа, адсорбирующие микроорганизмы путем эндоцитоза, перерабатывающие их до фрагментов, которые могут быть помещены в сайты связывания молекул ГКГС. В дополнение к рецептор-опосредованному эндоцитозу и фагоцитозу, ДК могут поглощать антигены путем

пиноцитоза, который не вовлекает в процесс распознавания чужеродных антигенов специфические рецепторы, но служит для интернализации любых молекул, которые могут находиться в жидкой фазе в непосредственной близости от ДК (Vorobyeva 2023).

Одновременно с захватом антигена ДК активируются микробными продуктами, что способствует их созреванию в АПК, способные транспортировать захваченные антигены в дренирующие лимфатические узлы. Микробные антигены распознаются Т-лимфоцитами, а микробные продукты, т. е. патоген-ассоциированные молекулярные паттерны, отличные от белковых антигенов, распознаются Toll-подобными и другими рецепторами распознавания образов ДК, индуцируя механизмы врожденного ИО. Активированные ДК (зрелые ДК) теряют адгезивность к эпителиальным клеткам и начинают экспрессировать хемокиновый рецептор — CCR7, специфичный для двух хемокинов — CCL19 и CCL21, секретируемых лимфоидной тканью сосудов и в Т-клеточных зонах лимфатических узлов. Эти хемокины привлекают ДК, несущие микробные антигены, в дренирующие лимфатические сосуды и в Т-клеточные зоны регионарных лимфатических узлов. Наивные Т-клетки также экспрессируют CCR7 и именно поэтому локализуются в тех же зонах лимфатических узлов, где сосредоточены антигенсодержащие ДК. Колонизация антигенсодержащими активированными ДК и наивными Т-клетками своих зон максимизирует вероятность того, что Т-клеточные рецепторы распознают этот антиген. Кроме того, кДК могут активировать регуляторные Т-лимфоциты (Т-reg) и играют определенную роль в поддержании толерантности и предотвращении аутоиммунных заболеваний (Jurewicz, Stem 2019; Rossjohn et al. 2015).

Антигены также транспортируются к лимфоидным органам в растворимой форме. Резидентные ДК в лимфатических узлах и селезенке могут захватывать антигены, переносимые через лимфу и кровь, что способствует их созреванию. Низкомолекулярные антигены поглощаются ДК, выстилающими сосуды, а антигены, находящиеся в субкапсулярном синусе, поглощаются макрофагами, переносят их в фолликулы, а затем представляют их резидентным В-клеткам. В-клетки во вторичных лимфоидных органах также распознают и интернализируют растворимые антигены. Несмотря на то, что ДК играют решающую роль в иницировании ИО Т-клетками, другие типы клеток также являются важными АПК в различных ситуациях развития ИО (табл. 2) (Kelly, Trowsdale 2019).

Табл. 2. Свойства и функции АПК

Экспрессия			
Тип клеток	ГКГС II класса	Костимулирующие молекулы	Основные функции
Дендритные	Экспрессируются конститутивно; плотность экспрессии увеличивается с созреванием; усиливается ИФН- $\gamma$ и Т-клетками (взаимодействие CD40L-CD40)	Экспрессируются конститутивно; экспрессия увеличивается при сигналах TLR, ИФН- $\gamma$ , CD40-CD40L взаимодействиях	Презентация антигена «наивным» Т-клеткам при иницировании Т-клеточного ответа на белковые антигены (прайминг)
Макрофаги	Экспрессия низкая или отрицательная; усиливается ИФН- $\gamma$ и Т-клетками (взаимодействия CD40L-CD40)	Экспрессия увеличивается за счет TLR-сигналов, ИФН- $\gamma$ , CD40-CD40L взаимодействий	Презентация антигена эффекторным CD4 <sup>+</sup> Т-клеткам в эффекторной фазе клеточно-опосредованных иммунных реакций (Т-клетки, усиленное уничтожение фагоцитированных микробов)
В-лимфоциты	Экспрессируются конститутивно; экспрессия усиливается за счет IL-4, кросс-линкинга антигенных рецепторов и Т-клеток (взаимодействия CD40L-CD40)	Экспрессия увеличивается за счет Т-клеток (взаимодействия CD40-CD40L), кросс-линкинга антигенных рецепторов	Презентация антигена CD4 <sup>+</sup> Т-хелперам при гуморальном иммунном ответе (взаимодействие Т-хелперов и В-клеток)
Эндотелиальные клетки сосудов	Экспрессия индуцируется ИФН- $\gamma$ ; конститутивно в кровеносных сосудах человека	Уровень экспрессии низкий; может быть индуцированным	Может способствовать активации антиген-специфических Т-клеток в месте воздействия антигена и в трансплантатах
Эпителиальные клетки тимуса	Конститутивная экспрессия	Вероятность экспрессии низкая	Положительный и отрицательный отбор развивающихся CD4 <sup>+</sup> Т-клеток
Различные эпителиальные и мезенхимальные клетки	Экспрессия индуцируется ИФН- $\gamma$	Вероятность экспрессии низкая	Физиологическая функция неизвестна; возможно участие в воспалительных реакциях

Table 2. Properties and functions of antigen-presenting cells

Expression			
Cell type	MHC class II	Co-stimulatory molecules	Basic functions
Dendritic cells	Expressed constitutively; expression density increases with maturation; enhanced by IFN- $\gamma$ and T cells (CD40L-CD40 interaction)	Expressed constitutively; expression increases with TLR signals, IFN- $\gamma$ , CD40-CD40L interactions	Antigen presentation to "naïve" T cells when initiating a T cell response to protein antigens (priming)
Macrophages	Expression low or absent; enhanced by IFN- $\gamma$ and T cells (CD40L-CD40 interactions)	Expression increases with TLR signals, IFN- $\gamma$ , CD40-CD40L interactions	Antigen presentation to effector CD4 <sup>+</sup> T cells during the effector phase of cell-mediated immune responses (T cells, enhanced killing of phagocytosed microbes)
B-lymphocytes	Expressed constitutively; enhanced by IL-4, cross-linking of antigen receptors and T cells (CD40L-CD40 interaction)	Expression increases with T cells (CD40-CD40L interaction) and cross-linking of antigenic receptors	Presentation of CD4 <sup>+</sup> antigen to T helper cells during the humoral immune response (interaction of T helper cells and B cells)
Vascular endothelial cells	Expression induced by IFN- $\gamma$ ; expressed constitutively in human blood vessels	Expression level is low; inducible	May promote antigen-specific T cell activation at the site of antigen exposure and in transplants
Thymic epithelial cells	Expressed constitutively	Low probability of expression	Positive and negative selection of developing CD4 <sup>+</sup> T cells
Different epithelial and mesenchymal cells	Expression induced by IFN- $\gamma$	Low probability of expression	Physiological function is unknown; possibly involved in inflammatory reactions

Все ядродержащие клетки могут представлять цитозольные белки цитотоксическим Т-лимфоцитам (cytotoxic T-lymphocytes — CTL) — CD8<sup>+</sup>, которые распознают эти антигены и лизируют клетки, их экспрессирующие. Также они могут распознавать фагоцитированные микроорганизмы, если они или их фрагменты находятся в цитозоле, а не в фагоцитарных везикулах. Эндотелиальные, мезенхимальные и некоторые эпителиальные клетки экспрессируют молекулы ГКГС II класса и также могут представлять антигены Т-лимфоцитам. Поскольку большинство из них не экспрессируют костимулирующие молекулы, то они неэффективны в переработке белков для их вставки в антигенсвязывающие сайты молекул ГКГС. Поэтому маловероятно, что они вносят значительный вклад в развитие Т-клеточно-опосредованного ИО. Эпителиальные клетки тимуса конститутивно экспрессируют молекулы ГКГС и играют важнейшую роль в представлении комплексов ГКГС-пептид созревающим Т-клеткам в тимусе в рамках отбора

Т-клеток, формирующих свой репертуар специфичности и в механизмах позитивной/негативной селекции (Wieczorek et al. 2017).

Интересные эффекты были выявлены у вирус-специфичных CTL. При анализе функций этих CTL *in vitro* оказалось, что они распознают и лизируют инфицированные вирусом клетки только в том случае, если инфицированные клетки экспрессируют молекулы ГКГС. Таким образом, Т-клетки должны быть специфичны не только для антигена, но и для молекул ГКГС, а распознавание антигена ограничено молекулами ГКГС, с которыми контактирует Т-лимфоцит. Лocus ГКГС содержит два типа полиморфных генов ГКГС I и II классов, кодирующих две группы структурно различных, но гомологичных белков, а также другие неполиморфные гены, продукты которых участвуют в презентации антигена. У человека locus ГКГС расположен на коротком плече хромосомы 6 и занимает примерно 3500 кб. Молекулярная карта локуса ГКГС человека представлена на рисунке 2.

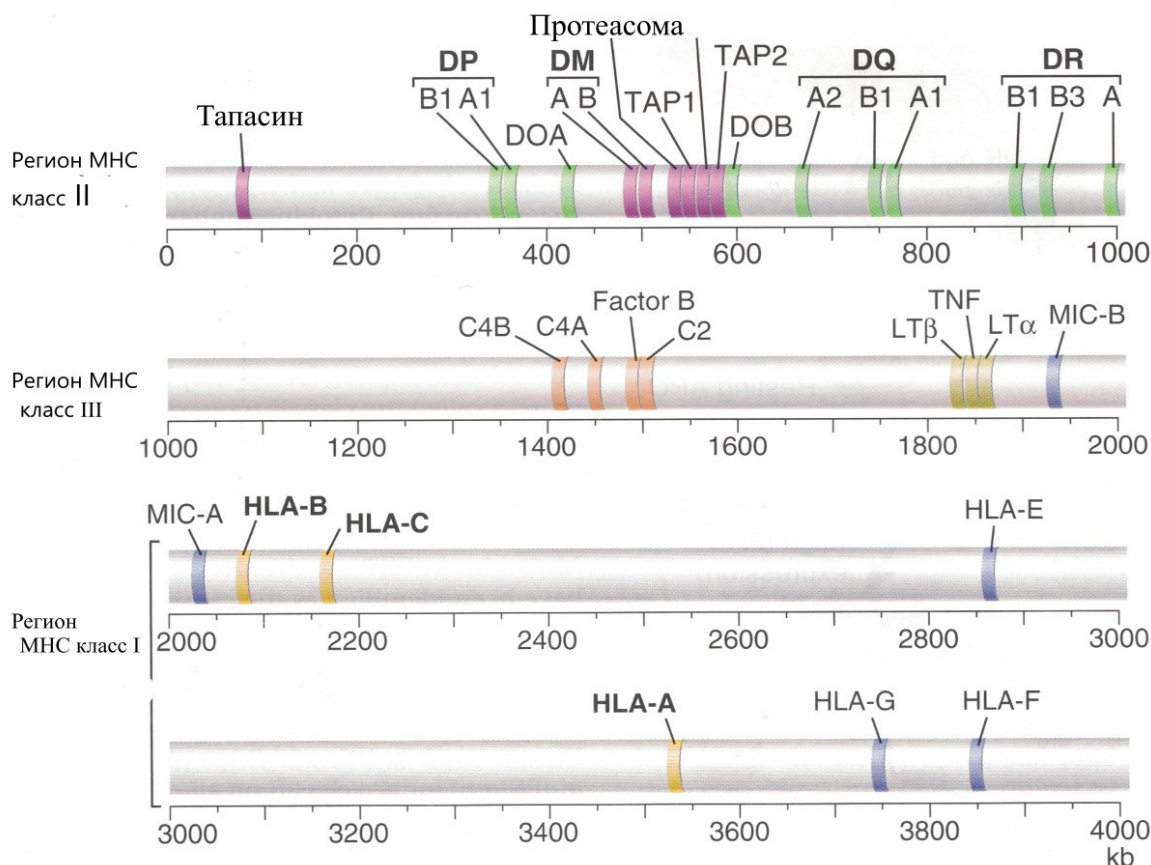


Рис. 2. Карта локуса ГКГС человека: HLA — лейкоцитарный антиген человека, LT — лимфотоксин, TAP — транспортер, ассоциированный с процессингом антигена, TNF — фактор некроза опухоли (Abbas et al. 2022)



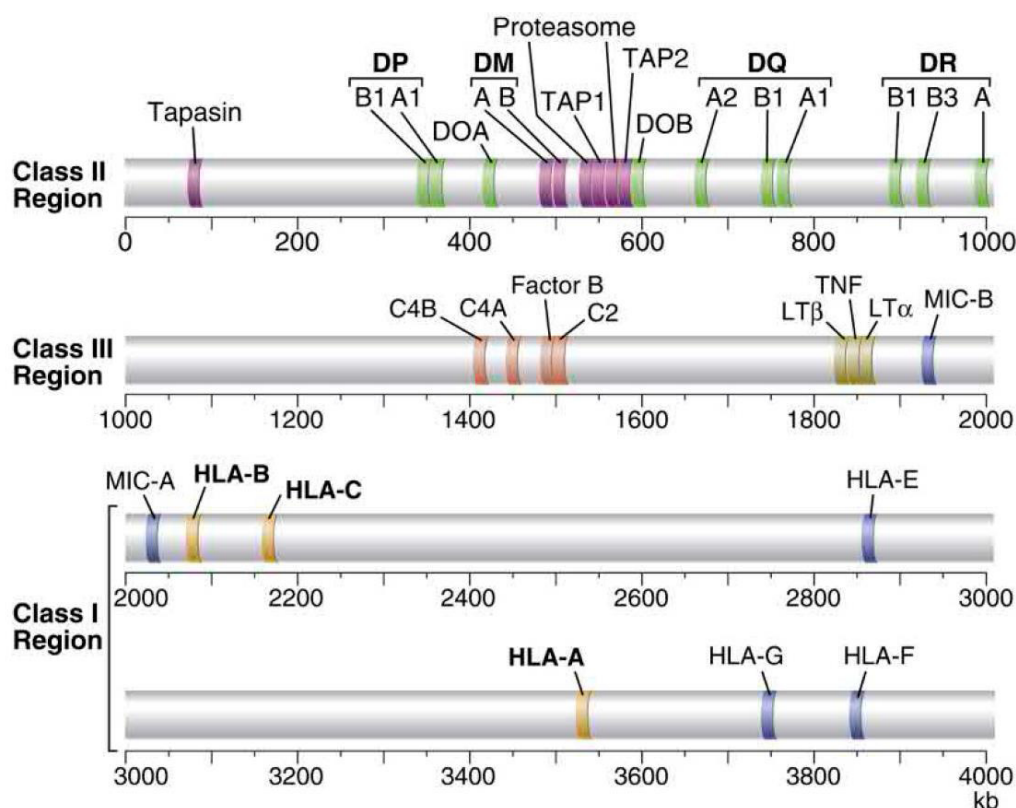


Fig 2. Map of the human MHC locus. HLA — human leukocyte antigen, LT — lymphotoxin, TAP — transporter associated with antigen processing, TNF — tumor necrosis factor (Abbas et al. 2022)

Гены ГКГС I и II классов являются наиболее полиморфными в геноме млекопитающих и человека. В популяции общее количество аллелей HLA превышает 14000, причем более чем с 3500 вариантами только для локуса HLA-B. Поскольку аллели ГКГС связывают и представляют различные пептиды, то для распознавания могут быть представлены разные молекулы белков даже одного и того же антигена. Высокая степень полиморфизма молекул ГКГС обеспечивает противои инфекционную защиту млекопитающих от практически неограниченного разнообразия микробов. Эволюция новых аллелей ГКГС — непрерывный процесс, но управляющие им механизмы, позволяющие сохранить огромное количество аллелей в популяции, неизвестны (Petrova et al. 2022; Unanue et al. 2016).

Существует три гена ГКГС I класса: *HLA-A*, *HLA-B* и *HLA-C*, кодирующие три типа молекул ГКГС I класса, и три гена локуса HLA II класса: *HLA-DP*, *HLA-DQ* и *HLA-DR*. Каждая молекула ГКГС II класса состоит из гетеродимерных  $\alpha$  и  $\beta$  полипептидов. Локусы DP, DQ и DR содержат отдельные гены: *A* и *B*, кодирующие соответственно  $\alpha$  и  $\beta$  цепи. Каждый человек имеет два гена *HLA-DP* (*DPA1* и *DPB1*), два гена

*HLA-DQα* (*DQA1*, 2), один ген *HLA-DQβ* (*DQB1*), один ген *HLA-DRα* (*DRA1*) и один или два гена *HLA-DRβ* (*DRB1* и *DRB3*, 4 или 5). Гены ГКГС тесно связаны, так что гаплотипы наследуются в блоке и индивидуумы обычно экспрессируют все аллели ГКГС в двух гаплотипах, унаследованных от родителей (Stern, Santambrogio 2016).

Установлены особенности экспрессии молекул ГКГС, способствующие распознаванию микробных антигенов и противои инфекционной защите макроорганизма. Экспрессия молекул ГКГС усиливается цитокинами, секретируемыми клетками при развитии реакций врожденного и адаптивного ИО. Конститутивную экспрессию молекул ГКГС I класса усиливают ИФН- $\alpha$ , - $\beta$  и - $\gamma$ . Экспрессия молекул ГКГС II класса на АПК (ДК, макрофаги) регулируется ИФН- $\gamma$  и другими сигналами, а В-лимфоциты конститутивно экспрессируют молекулы ГКГС II класса. ИФН- $\gamma$  также увеличивает экспрессию молекул ГКГС клетками эндотелия сосудов и другими типами неиммунных клеток. Некоторые клетки, такие как нейроны, никогда не экспрессируют молекулы ГКГС II класса (Cruz et al. 2017).

Активность синтеза молекул ГКГС и их экспрессия на поверхности клеток зависят

от уровня транскрипции. Цитокины, стимулируя экспрессию молекул ГКГС, одновременно активируют транскрипцию генов ГКГС I и II классов разными типами клеток. Эти эффекты опосредованы связыванием активированного провоспалительными цитокинами транскрипционного фактора с последовательностями ДНК в промоторных областях генов ГКГС. Может быть несколько транскрипционных факторов, которые вместе с белковой молекулой активатором транскрипции молекул ГКГС II класса (MHC class II transactivator — СИТА) формируют комплекс, связывающийся с промотором, что способствует эффективной транскрипции гена. Благодаря этому СИТА функционирует как главный регулятор экспрессии генов ГКГС II класса. Мутации в СИТА или в ассоциированном транскрипционном факторе — основная причина развития иммунодефицитных состояний человека, связанных с дефектной экспрессией молекул ГКГС. Наиболее изученным из этих расстройств является синдром «голых» лимфоцитов. Мыши, лишенные СИТА, демон-

стрировали сниженную или даже отсутствующую экспрессию молекул ГКГС II класса ДК и В-лимфоцитами, а также неспособность ИФН-γ индуцировать экспрессию этих молекул другими типами клеток. Регуляция экспрессии молекул белков, участвующих в процессинге и презентации антигена осуществляется координировано. Так, ИФН-γ усиливает транскрипцию генов ГКГС I и II классов, а также нескольких генов, продукты которых необходимы для сборки молекул ГКГС, таких как гены, кодирующие транспортер, связанный с процессингом антигена (transporter associated with antigen processing — ТАР), а также некоторые из субъединиц протеасом. Кроме транскрипционной регуляции уровень экспрессии молекул ГКГС II класса контролируется уровнем убиквитин-зависимой деградации (Cresswell 2019).

Биохимические исследования молекул ГКГС I и II классов человека, связанных с пептидами, выявили многие интимные механизмы связывания белковых антигенов и их представления иммунокомпетентным клеткам (табл. 3).

Табл. 3. Особенности молекул ГКГС I и II классов

Свойства	ГКГС I класса	ГКГС II класса
Полипептидные цепи	α и β2-микроглобулин	α и β
Местонахождение полиморфных остатков	α1 и α2 домены	β > α1 домены
Сайт связывания Т-клеточного корецептора	CD8 связывается преимущественно с α3-доменом	CD4 связывается с сайтом, образованным частями доменов α2 и β2 доменов
Размер пептид-связывающей щели	Вмещает пептиды из 8–11 аминокислотных остатков	Вмещает пептиды с 10–30 и более аминокислотных остатков
Номенклатура		
Человек	HLA-A, HLA-B, HLA-C	HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP
Мышь	H-2K, H-2D, H-2L	I-A, I-E

Table 3. Features of class I and class II MHC molecules

Properties	MHC class I	MHC class II
Polypeptide chains	α and β2-microglobulin	α and β
Location of polymorphic residues	α1 and α2 domains	β > α1 domains
T-cell co-receptor binding site	CD8 binds predominantly to α3-domain	CD4 binds to a site formed by parts of domains α2 and β2 domains
Peptide binding groove size	Accommodates peptides of 8–11 amino acid residues	Accommodates peptides with 10–30 or more amino acid residues
Nomenclature		
Human	HLA-A, HLA-B, HLA-C	HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP
Mouse	H-2K, H-2D, H-2L	I-A, I-E

Для молекул ГКГС характерны определенные структурные особенности, имеющие решающее значение для представления пептидов и их распознавания Т-лимфоцитами. Каждая молекула ГКГС имеет внеклеточный пептид-связывающий сайт (щель), за которым следуют иммуноглобулиноподобный (Ig) домен, а также трансмембранный и цитоплазматический домены. Несмотря на структурные различия, трехмерные молекулы ГКГС I и II классов схожи. Полиморфные аминокислотные остатки молекул ГКГС расположены в пептид-связывающей щели или бороздке. Этот участок образуется в результате сворачивания терминально расположенных аминокислот и состоит из парных спиралей, образующих стенки щели. Полиморфные остатки представляют собой аминокислоты, варьирующие между различными аллелями ГКГС, и расположены на дне и стенках пептид-связывающего участка. Эта часть молекулы ГКГС связывает пептиды для их представления Т-лимфоцитам. Рецепторы Т-клеток взаимодействуют с антигенными детерминантами, а также с  $\alpha$ -цепью молекул ГКГС. Благодаря варибельности аминокислот этой области, молекулы ГКГС связывают и представляют разнообразные пептиды, а их распознают субпопуляции Т-лимфоцитов. Молекулы ГКГС I класса состоят из двух нековалентно связанных полипептидных цепей: кодируемой тяжелой цепи  $\alpha$  от 44 до 47 кДа и некодированной субъединицы

12 кДа —  $\beta$ 2-микроглобулина (рис. 3) (Dersh et al. 2021; Kasahara, Flajnik 2019).

Большая часть  $\alpha$ -цепи расположена внеклеточно, короткий гидрофобный участок закреплен в плазматической мембране, а С-концевые остатки расположены в цитоплазме. N-концевые сегменты  $\alpha$ 1 и  $\alpha$ 2  $\alpha$ -цепей, каждый длиной около 90 остатков, взаимодействуют, образуя платформу из восьмицепочечного антипараллельного  $\beta$ -складчатого листа, поддерживающего две параллельные нити спирали. При этом образуется пептид-связывающий участок (щель) молекул ГКГС I класса. Размер этой щели позволяет связывать пептиды от 8 до 11 аминокислот. Более крупные молекулы не вмещаются в этот участок, поэтому нативные глобулярные белки должны быть преобразованы во фрагменты вытянутой линейной структуры не более 11 аминокислот для их распознавания CD8-лимфоцитами. Полиморфные остатки молекул ГКГС I класса ограничены доменами  $\alpha$ 1 и  $\alpha$ 2 и вносят существенный вклад в варибельность аллелей ГКГС I класса, что значительно расширяет спектр возможностей связывания антигенов и последующего их распознавания Т-лимфоцитами (Natarajan et al. 2019) (рис. 3).

$\beta$ 2-микроглобулин, легкая цепь молекул ГКГС I класса, кодируется геном вне локуса ГКГС и назван так из-за его электрофоретической подвижности. Он нековалентно взаимодействует с доменом  $\alpha$ 3  $\alpha$ -цепи. Как и  $\alpha$ 3-сегмент,  $\beta$ 2-микроглобулин структурно гомологичен

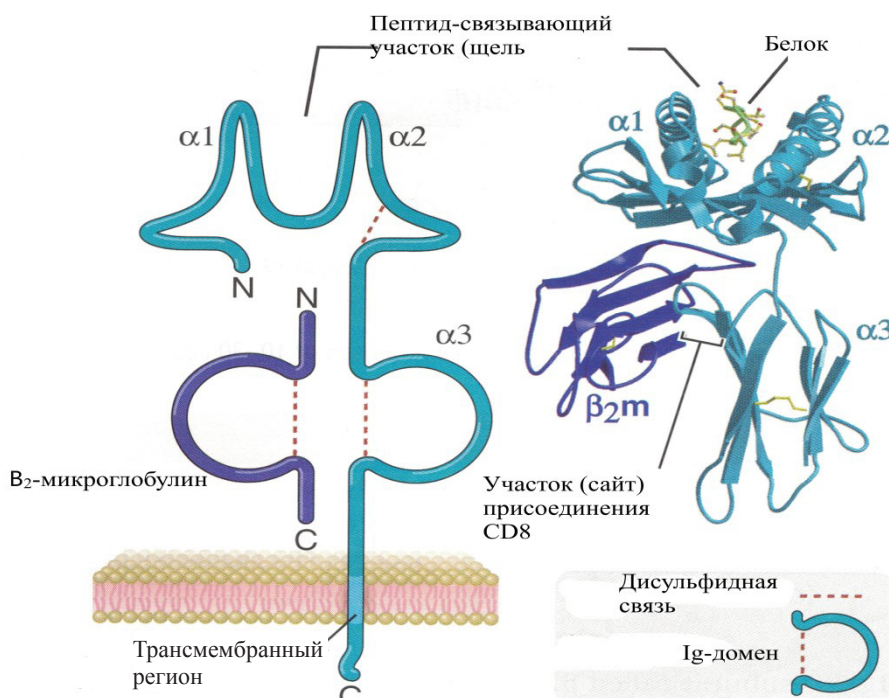


Рис. 3. Структура молекулы ГКГС I класса (Abbas et al. 2022)



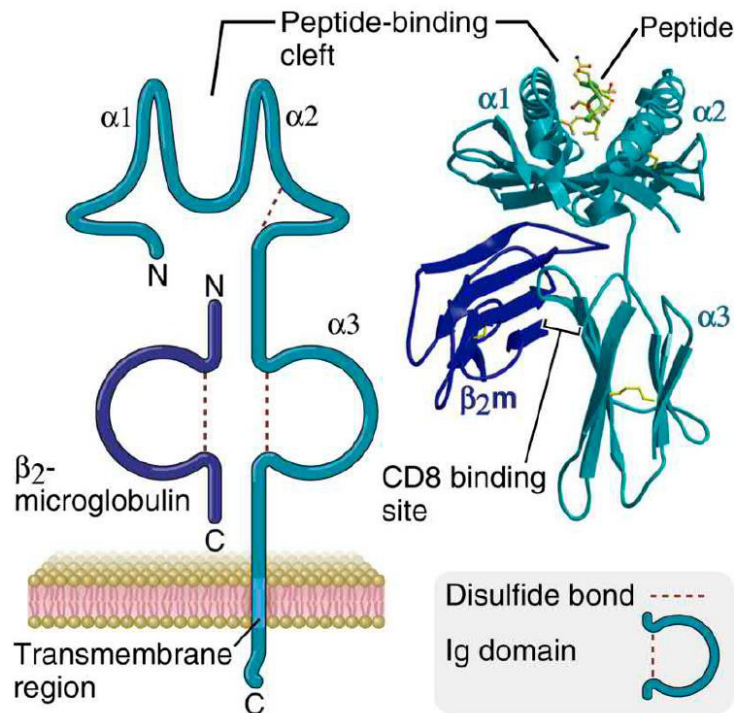


Fig. 3. Structure of a class I MHC molecule (Abbas et al. 2022)

Ig-домену и является инвариантным среди всех молекул ГКГС I класса. На С-конце сегмента  $\alpha 3$  находится участок примерно из 25 гидрофобных аминокислот, пересекающий липидный бислой плазматической мембраны. Сразу после этого в цитоплазме располагается примерно 30 остатков, включающих кластер основных аминокислот, взаимодействующих с фосфолипидными головными группами внутренней створки липидного бислоя и закрепляющих молекулу ГКГС в плазматической мембране. Сегмент  $\alpha 3$   $\alpha$ -цепи образует складку в Ig-домене, аминокислотная последовательность которой является самой консервативной среди всех молекул ГКГС I класса. Именно в этом сегменте находится большая часть сайта связывания CD8-лимфоцитов, в котором также принимают участие небольшая часть неpolиморфной С-концевой части  $\alpha 2$ -домена  $\beta 2$ -микроглобулина (Eggensperger, Tampe 2015).

Полностью собранная молекула ГКГС I класса представляет собой тримерный комплекс, состоящий из  $\alpha$ -цепи,  $\beta 2$ -микроглобулина и связанного пептида, а стабильная экспрессия молекул ГКГС I класса на поверхности клеток требует присутствия всех трех компонентов комплекса. Причина заключается в том, что взаимодействие  $\alpha$ -цепи с  $\beta 2$ -микроглобулином стабилизируется за счет связывания пептидных антигенов с сайтом, образованным  $\alpha 1$  и  $\alpha 2$  сегментами, и, соответственно, связывание пепти-

да усиливается за счет взаимодействия  $\beta 2$ -микроглобулина с  $\alpha$ -цепью. Таким образом, белковые антигены необходимы для стабилизации молекул ГКГС, а сформировавшиеся в цитозоле нестабильные комплексы разрушаются. На поверхность клеток экспрессируются только стабильные молекулы ГКГС с помещенными в их сайт белковыми антигенами. Большинство индивидуумов гетерозиготны по генам ГКГС и в каждой клетке экспрессируется шесть различных молекул ГКГС I класса, содержащих цепи, кодируемые двумя унаследованными аллелями генов *HLA-A*, *B* и *C* (Thomas, Tampe 2019).

Молекулы ГКГС II класса состоят из двух нековалентно ассоциированных полипептидных цепей:  $\alpha$ -цепи (32–34 кДа) и  $\beta$ -цепи (29–32 кДа). В отличие от молекул ГКГС I класса, гены, кодирующие обе цепочки молекул ГКГС II класса, полиморфны и расположены в локусе ГКГС (рис. 4).

N-концевые  $\alpha 1$  и  $\beta 1$  сегменты цепей молекул ГКГС II класса взаимодействуют, образуя пептид-связывающую щель (сайт), которая структурно похожа на щель (сайт) молекул ГКГС I класса. Полиморфные участки цепей расположены в  $\alpha 1$  и  $\beta 1$  сегментах, внутри и вокруг пептид-связывающего участка, как в молекулах ГКГС I класса (рис. 3). Наиболее полиморфными являются участки  $\beta 3$ -цепи ГКГС II класса человека. В связывающий участок могут встраиваться от 10 до 30 аминокислот. Сегменты молекул  $\alpha 2$  и  $\beta 2$ -цепей

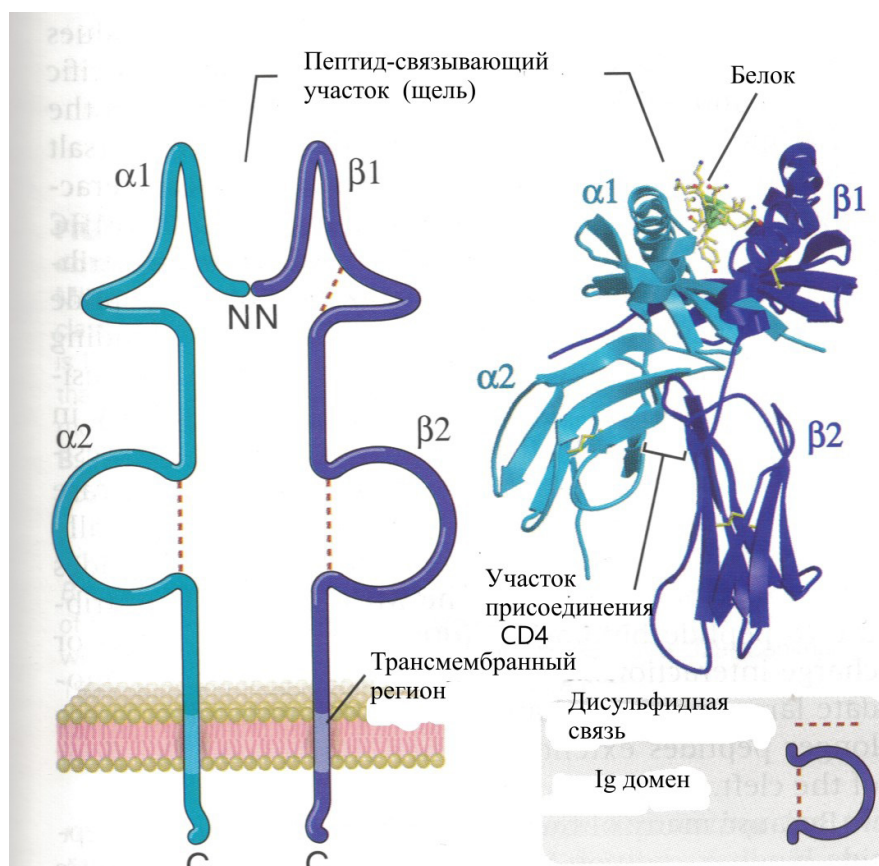


Рис. 4. Структура молекулы ГКГС II класса (Abbas et al. 2022)

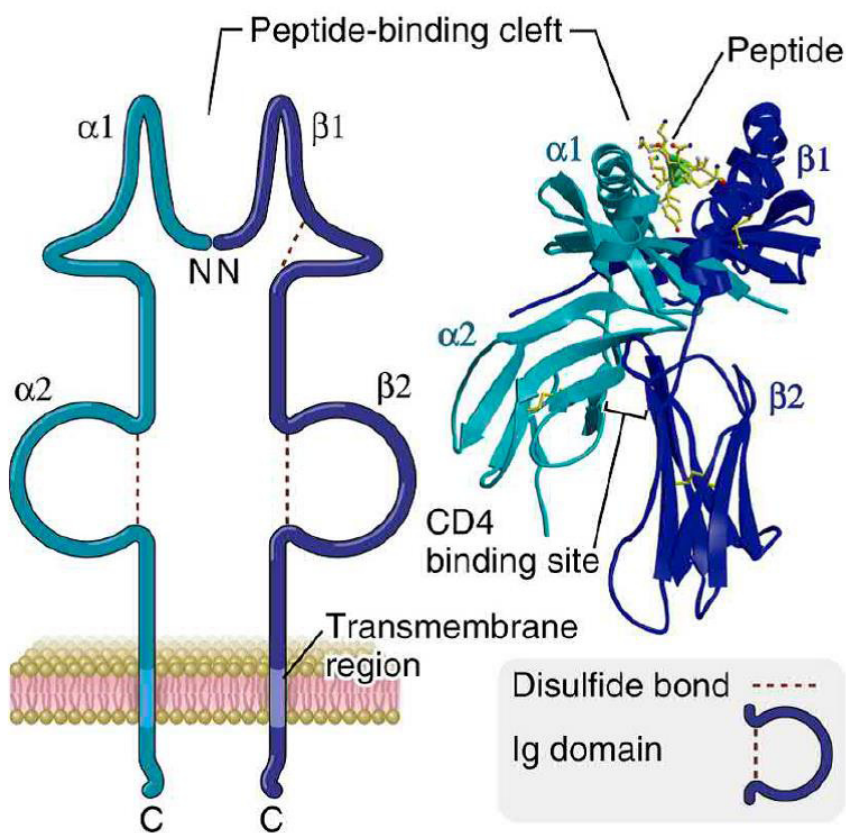


Fig. 4. Structure of a class II MHC molecule (Abbas et al. 2022)

ГКГС II класса, так же как  $\alpha 3$  и  $\beta 2$ -микроглобулин ГКГС I класса, свернуты в Ig-домены и являются неполиморфными, т. е. различий между аллелями конкретного гена ГКГС II класса нет. Домены  $\alpha 2$  и  $\beta 2$  молекул ГКГС II класса вносят свой вклад в формирование участка связывания с рецептором CD4. С-концевые остатки  $\alpha 2$  и  $\beta 2$  сегментов продолжают короткими соединительными областями, за которыми следуют около 25 гидрофобных трансмембранных аминокислотных остатков. В обеих цепях трансмембранные участки заканчиваются кластерами основных аминокислотных остатков, за которыми следуют короткие гидрофильные цитоплазматические остатки. Полностью собранная молекула ГКГС II класса представляет собой тример, состоящий из одной  $\alpha$ -цепи,  $\beta 2$ -микроглобулина и связанного антигенного пептида. Для стабильной экспрессии молекул ГКГС II класса на поверхности клеток необходимо присутствие всех трех компонентов комплекса. Как и в случае с молекулами ГКГС I класса, это гарантирует, что молекулы ГКГС, экспрессирующиеся на поверхность клетки, способны выполнять свою основную функцию — представление антигенов (Petrova et al. 2022; Stern, Santambrogio 2016).

После установления факта, что иммуногенность белковых антигенов зависит от их способности связываться с молекулами ГКГС, значительные усилия были направлены на выяснение молекулярных основ пептид-ГКГС-взаимодействий и свойств антигенов, позволяющих им связываться с молекулами ГКГС. Эти исследования первоначально основывались на функциональных анализах Т-хелперов и CTL, реагирующих с АПК, которые инкубировали с различными пептидами. Связывание пептидов с молекулами ГКГС было изучено с очищенными молекулами ГКГС и радиоактивно или флуоресцентно мечеными пептидами с использованием таких методик, как равновесный диализ и гель-фильтрация. Рентгенокристаллографический анализ пептид-ГКГС-комплексов дал окончательную информацию о том, как пептиды встраиваются в сайты молекул ГКГС. Эта информация была использована для создания компьютерных алгоритмов, позволяющих судить о способности любого белка связываться с молекулами ГКГС. Эта информация также может быть использована для разработки вакцин, специфичных для микробных белков или мутировавших опухолевых антигенов (Awad et al. 2018).

Молекулы ГКГС проявляют широкую специфичность в связывании антигенов, в отличие от узкой специфичности распознавания антигена антиген-специфичными рецепторами лим-

фоцитов. Другими словами, одна аллель ГКГС (например, HLA-A2) может представлять любой из множества различных пептидов для Т-клеток, но только одна Т-клетка будет распознавать единственный из этих многих возможных пептидных комплексов, представленных HLA-A2. Существует несколько важных особенностей взаимодействия молекул ГКГС и антигенных пептидов. Каждая молекула ГКГС I и II классов имеет один сайт (щель) для связывания только одного антигена, но каждая молекула ГКГС может связывать множество различных пептидов, т. е. они могут из огромного количества белковых антигенов выбирать необходимые и их представлять.

Пептиды, связывающиеся с молекулами ГКГС, имеют общие структурные особенности, способствующие этому взаимодействию. Одной из таких особенностей являются размеры пептидов, которые могут встраиваться в сайты молекул ГКГС I класса (8–11 аминокислотных остатков) и ГКГС II класса (10–30 аминокислотных остатков). Оптимальная величина антигенов, которые могут быть помещены в сайт молекул ГКГС II класса — 12–16 аминокислотных остатков. Антигены, которые связываются с конкретной молекулой ГКГС, содержат аминокислотные остатки, обеспечивающие оптимальные элементарные взаимодействия пептида и молекулы ГКГС. Необходимо учитывать, что участки антигенов, связывающиеся с молекулами ГКГС, отличаются от участков, распознаваемых Т-клетками (Blander 2018). Сборка молекул ГКГС и пептидов происходит в процессе биосинтеза в цитозоле клеток. Формирование ассоциации пептидов и молекул ГКГС происходит очень медленно. После образования большинство пептид-ГКГС-комплексов стабильны, а константы кинетической диссоциации указывают на длительный период полураспада, от нескольких часов до многих дней. Низкая скорость диссоциации пептидов гарантирует, что после того, как молекула ГКГС встраивает пептид, она будет его экспрессировать достаточно долго, чтобы максимизировать вероятность распознавания конкретной Т-клеткой с последующим иницированием ИО. Однако очень небольшое количество пептид-ГКГС-комплексов способно активировать специфические Т-лимфоциты. АПК представляют пептиды, полученные из разнообразных белков, поэтому только очень небольшая часть комплексов пептид-ГКГС на клеточной поверхности будет содержать один и тот же пептид. Подсчитано, что всего около 100 комплексов конкретного пептида с молекулой ГКГС II класса на поверхности АПК могут



инициировать специфический ответ Т-клеток. Это составляет менее 0,1% от общего числа молекул ГКГС II класса, экспрессированных на поверхности АПК (Eisenbarth 2019).

Большинство  $\beta$ -цепей молекул ГКГС содержат участки, связывающие аминокислотные остатки пептидов. Молекулы ГКГС I класса имеют гидрофобные участки, распознающие одну из гидрофобных аминокислот — валин, изолейцин, лейцин или метионин — на С-концевом участке пептида. Однако некоторые С-концевые участки молекул ГКГС I класса тропны с высокой аффинностью к аминокислотным остаткам лизина или аргинина. Кроме того, другие аминокислотные остатки могут содержать цепи, которые помещаются в определенные карманы сайта и связываются с комплементарными аминокислотами. Остатки пептида, помещенные в карманы ГКГС, вносят наибольший вклад в закрепление пептида в сайте молекулы ГКГС. Рецепторы Т-лимфоцитов распознают как представленные антигены, так и молекулы ГКГС. Часть связанного пептида экспрессируется из открытой верхней части сайта молекулы ГКГС, а аминокислоты боковой цепи этой части пептида распознаются рецепторами специфических Т-клеток. Этот же ТКР взаимодействует и с полиморфными остатками  $\alpha$ -цепей самой молекулы ГКГС (рис. 1). Вариации либо пептидного антигена, либо пептид-связывающего участка молекулы ГКГС изменяют презентацию этого антигена или его распознавание Т-клетками. Поскольку молекулы ГКГС могут связывать только линейные

пептиды, а микробные и другие белковые антигены представляют собой большие молекулы с конформационными особенностями, должен существовать механизм, с помощью которого эти белки превращаются в пептиды, связывающиеся с молекулами ГКГС. Этот механизм называется процессингом антигенов. В результате процессинга белковые антигены, находящиеся в цитозоле, превращаются в молекулы, которые могут быть загружены в сайты молекул ГКГС для представления Т-лимфоцитам. После обработки белковых антигенов в протеасомах цитозоля они транспортируются в эндоплазматический ретикулум (ЭР), где связываются с молекулами ГКГС I класса. Белковые антигены после обработки в лизосомах связываются с молекулами ГКГС II класса (Perrin et al. 2019).

Эти механизмы процессинга антигенов прошли длительный период эволюционирования. В результате были получены пептиды, обладающие структурными особенностями, необходимыми для ассоциирования с молекулами ГКГС. Белки, присутствующие в цитозоле, расщепляются протеасомами с образованием пептидов, которые экспрессируются молекулами ГКГС I класса, в то время как белки, которые поглощаются из внеклеточной среды и секвестрируются в везикулах, расщепляются в лизосомах (или эндосомах) с образованием пептидов, экспрессируемых молекулами ГКГС II класса. Таким образом, место протеолиза является ключевым в сборке молекул ГКГС I и II классов (табл. 4).

Табл. 4. Сравнительная характеристика путей процессинга и презентации антигенов молекулами ГКГС I и II классов

Свойство/признак	Путь ГКГС I класса	Путь ГКГС II класса
Состав стабильного пептид-ГКГС-комплекса	Полиморфные $\alpha$ -цепи, $\beta 2$ -микроглобулин, белок	Полиморфные $\alpha$ - и $\beta$ -цепи, белок
Типы АПК	Все ядродержащие клетки	ДК, мононуклеарные фагоциты, В-лимфоциты, эндотелиальные клетки, эпителиальные клетки тимуса
Субпопуляции Т-лимфоцитов	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>
Участки дегградации антигена	Протеасомы	Эндосомы, лизосомы
Источник антигенов	В основном цитозольные белки (синтезируются в клетке; могут попадать в цитозоль из фагосом), ядерные и мембранные белки	Эндосомальные и лизосомальные белки (в основном интернализуемые из внеклеточной среды)
Ферменты, ответственные за дегградацию белка	$\beta 1$ , $\beta 2$ , $\beta 5$ субъединицы протеасом	Эндосомальные и лизосомальные белки (в основном интернализуемые из внеклеточной среды)
Сайт пептидной загрузки ГКГС	ЭР	Эндосомы/лизосомы
Молекулы, участвующие в транспорте пептидов и загрузке молекул ГКГС	Тапасин, транспортер, ассоциированный с процессингом антигена	Инвариантная цепь, DM

Table 4. Comparative features of class I and class II MHC pathways of antigen processing and presentation

Property/Characteristic	MHC class I pathway	MHC class II pathway
Composition of the stable peptide-MHC complex	Polymorphic $\alpha$ chains, $\beta$ 2-microglobulin, protein	Polymorphic $\alpha$ and $\beta$ chains, protein
Types of APC	All nucleated cells	Dendritic cells (DC), mononuclear phagocytes, B-lymphocytes, endothelial cells, thymic epithelial cells
T cell subpopulations	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>
Antigen degradation sites	Proteasomes	Endosomes, lysosomes
Source of antigens	Mostly cytosolic proteins (synthesized in the cell; can enter the cytosol from phagosomes), nuclear and membrane proteins	Endosomal and lysosomal proteins (internalized from extracellular environment)
Enzymes responsible for protein degradation	$\beta$ 1, $\beta$ 2, $\beta$ 5 proteasome subunits	Endosomal and lysosomal proteins (internalized from extracellular environment)
MHC peptide loading site	Endoplasmic reticulum (ER)	Endosomes/lysosomes
Molecules involved in peptide transport and loading of MHC molecules	Tapasin, transporter associated with antigen processing (TAP)	Invariant chain, DM

Пути процессинга антигенов играют ключевую роль в определении видов микробов и белковых антигенов, которые представляются Т-лимфоцитам. Вирусы размножаются и синтезируют белки в инфицированных клетках, обрабатываются в протеасомах, а затем экспрессируются молекулами ГКГС I класса. Комплексы ГКГС-пептид распознаются дифференцированными CTL. Бактерии, находящиеся в фагосомах, могут повреждать их мембраны и создают поры, через которые микробы и их антигены проникают в цитозоль. Так, патогенные штаммы *Listeria monocytogenes* секретируют белок листериолизин, обеспечивающий миграцию бактерий из везикул в цитозоль. После того, как антигены фагоцитированных микробов оказываются в цитозоле, они перерабатываются протеасомами (Ligeon et al. 2021).

Некоторые бактерии имеют системы секреции III типа, которые обеспечивают транспортировку бактериальных белков в цитозоль. Многочисленные патогены, в том числе *Yersinia pestis*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae* и *Chlamydia* транспортируют сигнальные белки в цитозоль хозяина, чтобы снижать эффективность защитных иммунологических реакций. Это основной механизм бактериальной вирулентности. Наличие этой системы абсолютно необходимо для развития острого инфекционного процесса, а хронизация инфекции принципиально зависит от эффективности ее функционирования (Herb et al. 2020; Masud et al. 2019).

Антигены инфицированных клеток представляются ДК перекрестной презентацией или

перекрестным праймингом. В этом процессе кДК и другие АПК захватывают инфицированные опухолевые клетки или их антигены и помещают в везикулы. Везикулы сливаются с ЭР, и белки из везикул транспортируются в цитозоль. В дополнение к этим микробным антигенам, белки, продуцируемые в ЭР, либо не сворачиваются должным образом, либо не собираются в этом компартменте, а транслоцируются из ЭР и разрушаются в протеасомах. Некоторые ядерные белки также разрушаются в протеасомах. Эти типы белков часто обнаруживаются в поврежденных клетках и опухолях и могут быть элиминированы Т-лимфоцитами (Keller et al. 2021).

Цитозольные белки расщепляются в протеасомах с образованием пептидов, способных связываться с молекулами ГКГС I класса. Протеасомы представляют собой большие мультибелковые ферментные комплексы с широким спектром протеолитической активности, которые обнаруживаются в цитоплазме и ядрах большинства клеток. Протеасома обладает широкой субстратной специфичностью и может генерировать широкий спектр пептидов из цитозольных белков. От состава протеасом зависит спектр образуемых пептидов. Основная функция протеасом — участие в презентации антигена. Существует два типа протеасом со специализированными функциями. Иммупротеасомы присутствуют в АПК. Они содержат три уникальные каталитические субъединицы, известные как  $\beta$ 1i,  $\beta$ 2i и  $\beta$ 5i в  $\beta$ -кольце. Экспрессия этих трех субъединиц также увеличивается в результате стимуляции ИФН- $\gamma$ . Образование этих

субъединиц способствует изменению субстратной специфичности протеасомы. Иммунопротеасомы играют важную роль в генерации пептидов из чужеродных белков, которые стимулируют CD8<sup>+</sup> Т-клетки. Второй тип протеасом — тимопротеасома, присутствует в эпителиальных клетках тимуса. Тимопротеасома содержит уникальную субъединицу —  $\beta 5t$ , способствующую образованию пептидов, связывающихся с молекулами ГКГС I класса с низкой аффинностью. Эти пептиды являются производными собственных белков, а их низкоаффинное связывание важно для процесса положительного отбора, который сохраняет созревающие Т-клетки, хорошо распознающие чужеродные антигены. При отсутствии  $\beta 5t$  субъединицы (например, у мышей, у которых ген удален), CD8<sup>+</sup> Т-клетки не созревают (Murata et al. 2018; Zenkov et al. 2019).

Пептиды, транслоцированные в ЭР, связываются с вновь синтезированными молекулами ГКГС I класса, которые ассоциированы с димером ТАР через тапасин. Тапасин обладает родством к недавно синтезированным, но еще «пустым» молекулам ГКГС I класса. Тапасин является частью пептидно-нагруженного (мембранно-белкового) комплекса другими белками.

Синтез и сборка молекул ГКГС I класса — многоступенчатый процесс, в котором связывание пептидов играет ключевую роль.  $\alpha$ -цепи ГКГС I класса и  $\beta 2$ -микроглобулин синтезируются в ЭР. Соответствующему сворачиванию зарождающихся  $\alpha$ -цепей способствуют белки-шапероны, такие как мембранный кальнексин. В ЭР вновь образованные «пустые» димеры ГКГС I класса остаются связанными с пептидно-нагруженным комплексом. Пептиды, попадающие в ЭР с помощью ТАР, и пептиды, образующиеся в ЭР, такие как мембранные сигнальные пептиды или секретируемые белки, часто обрезаются до соответствующего размера для связывания с молекулами ГКГС с помощью ЭР-ассоциированной аминопептидазы. Затем пептид вставляется в сайт соседней молекулы ГКГС I класса. Пептидно-нагруженный комплекс не только доставляет пептиды к вновь синтезированным молекулам ГКГС I класса, но и отбирает пептиды, которые могут связываться с молекулами ГКГС I класса. По сути, это механизм контроля качества при отборе антигенов. После того, как молекулы ГКГС I класса загружаются пептидом, они теряют родство к тапасину, высвобождаются, могут выйти из ЭР и транспортироваться на поверхность клетки. В отсутствие связанного пептида, многие из новообразованных димеров  $\beta 2$ -микроглобулинов нестабильны и не могут эффективно транспортироваться из ЭР

в комплекс Гольджи. Эти неправильно свернутые «пустые» комплексы ГКГС I класса транспортируются в цитозоль и выводятся путем протеасомального расщепления. Этот процесс называется ЭР-ассоциированной деградацией, но фактическая деградация происходит в протеасомах. Пептиды, транспортируемые в ЭР, преимущественно связываются с молекулами ГКГС I класса, а не II класса по двум причинам. Во-первых, вновь синтезированные молекулы ГКГС I класса присоединяются к пептидно-нагруженному комплексу и присоединяют пептиды во время их транспортировки в ЭР с помощью ТАР. Во-вторых, пептид-связывающие участки вновь синтезированных молекул ГКГС II класса в ЭР блокируются инвариантной цепью белка. Стабильные комплексы ГКГС I класса-пептид из ЭР направляются шаперонами через комплекс Гольджи на поверхность клетки в экзоцитарных везикулах. Некоторые вирусы и опухоли приобрели механизмы, препятствующие сборке и нагрузке пептидами молекул ГКГС I класса, что подчеркивает важность этого пути для противовирусного и противоопухолевого иммунитета (Gluschko et al. 2018; Lamprinaki et al. 2022; Matsuzawa-Ishimoto et al. 2018).

Большинство белковых антигенов для молекул ГКГС II класса поглощаются и перевариваются в эндосомах и лизосомах АПК. Белки, попадающие в везикулы, чаще всего являются внеклеточными белками, которые поглощаются эндоцитозом, пиноцитозом или фагоцитозом, однако таковыми могут быть и белки клеточной поверхности. Мембраносвязанные, везикулярные или цитозольные внутриклеточные белки в процессе аутофагии включаются в аутофагосомы. АПК поглощают нативные белковые антигены несколькими способами с различной эффективностью и специфичностью. ДК и макрофаги экспрессируют лектиновые рецепторы, распознающие общие структуры многих микроорганизмов для их эффективного связывания и интернализации. Макрофаги также экспрессируют рецепторы для Fc-фрагментов иммуноглобулинов и рецепторы для субкомпонента компонента C3b, которые способствуют интернализации антигена. Важную функцию выполняют Ig-рецепторы на В-лимфоцитах, которые, благодаря своему высокому родству к антигенам, эффективно опосредуют интернализацию белков, присутствующих во внеклеточной жидкости в очень низких концентрациях. После того, как связанные белковые антигены интернализованы, они локализуются во внутриклеточных мембранных везикулах — эндосомах. Эндосомальный путь внутриклеточного белкового трафика



контактирует с лизосомами, представляющими собой более плотные, связанные с мембраной ферментсодержащие везикулы. Некоторые микробы, такие как микобактерии и лейшмании, могут выживать и даже размножаться в фагосомах или эндосомах, обеспечивая постоянный источник антигенов в везикулярных компартментах. Некоторые белковые молекулы, предназначенные для секреции, могут оказаться в тех же везикулах, что и молекулы ГКГС II класса и перерабатываться, а не секретироваться (Ibragimov et al. 2023; Munz 2022).

Цитоплазматические и мембранные белки в результате аутофагии представляются молекулами ГКГС II класса. В результате цитозольные белки попадают в мембранные везикулы (аутофагосомы), которые сливаются с лизосомами, а цитоплазматические белки протеолитически деградируют. Аутофагия также участвует в уничтожении внутриклеточных микробов, которые заключены в везикулы и доставлены в лизосомы. Некоторые пептиды, полученные из мембранных белков, связываются с молекулами ГКГС II класса. Таким образом, даже вирусы, находящиеся в цитоплазме инфицированных клеток, могут быть источниками белков, которые деградируют до соответствующих размеров, чтобы быть погруженными в сайт молекул ГКГС II класса для презентации. Это один из основных механизмов активации CD4<sup>+</sup> Т-хелперов (Johansen, Lamark 2020).

Деградация белковых антигенов в везикулах опосредована протеазами эндосом. Наиболее распространенными протеазами эндосом являются катепсины, представляющие собой тиролизин- и аспартильные протеазы с широкой субстратной специфичностью. Именно катепсины обеспечивают деградирование пептидов, которые ферментативно обрезаются до необходимого размера для связывания с молекулами ГКГС II класса. Молекулы ГКГС II класса синтезируются в ЭР и транспортируются в эндосомы с ассоциированным белком с инвариантной цепью (Ii), которая занимает пептид-связывающие щели вновь синтезированных молекул ГКГС II класса.  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи молекул ГКГС II класса координационно синтезируются и связываются друг с другом в ЭР. Сворачиванию и сборке молекул ГКГС II класса способствуют ЭР-резидентные шапероны, такие как кальнексин (Durgan et al. 2021).

Инвариантные цепи связываются с димерами ГКГС II класса в ЭР, а вновь образованные молекулы ГКГС II класса из транс-сети Гольджи транспортируются в поздние эндосомы и лизосомы, где интернализованные белки подверга-

ются протеолизу. Это также предотвращает перемещение молекул ГКГС II класса на поверхность клетки. Инвариантные цепи представляют собой тример, состоящий из трех субъединиц по 30 кДа, каждая из которых связывает один вновь синтезированный ГКГС  $\alpha\beta$ -гетеродимер II класса таким образом, чтобы блокировать пептид-связывающую щель и не допустить встраивание пептида. В результате молекулы ГКГС II класса не могут связывать и представлять пептиды, с которыми они контактируют в ЭР. Везикулы, отпочковывающиеся от транс-Гольджи, содержащие комплекс ГКГС II класса-Ii, транспортируются в лизосомы. Молекулы ГКГС II класса вставляют антигенные пептиды, которые были получены в результате протеолиза эндотизированных белков в лизосомах, т. е. в этих везикулах происходит формирование комплексов пептид-ГКГС (Admon 2019).

В эндосомных/лизосомальных везикулах Ii под совместным действием протеолитических ферментов и молекул HLA-DM диссоциируют от молекул ГКГС II класса и связываются с доступными пептид-связывающими участками молекул ГКГС II класса. Несмотря на то, что молекулы ГКГС II класса относительно устойчивы к лизосомальным протеазам, молекулы Ii разрушаются здесь же. Те же протеолитические ферменты, генерирующие пептиды из интернализованных белков, таких как катепсины, также действуют на инвариантную цепь, оставляя только 24 аминокислотных остатка, образуя инвариантный пептид для ГКГС II класса (class II-associated invariant chain peptide — CLIP), который находится в пептид-связывающей щели. Ферментативная деградация трансмембранной части и цитозольного остатка предотвращает связывание молекул ГКГС II класса с лизосомальной мембраной, и это позволяет ГКГС-пептиду II класса (и некоторым остаточным ГКГС II класса-CLIP) отпочковываться из кислых деградирующих везикул и выходить на поверхность клетки (Jurewicz, Stem 2019).

Молекула HLA-DM изменяет репертуар представленных пептидов, способствует представлению пептидов, которые с высоким сродством связываются с молекулами ГКГС II класса. Это осуществляется вытеснением CLIP HLA-DM (или H-2M у мышей) и его заменой в лизосомах белками с более высоким сродством. Молекулы HLA-DM не полиморфны и не экспрессируются на поверхности клетки. Молекула DM связывается с молекулами ГКГС II класса в области  $\beta$ -цепи и способствует вытеснению из сайта связывания антигенов с низкой аффинностью. Так происходит облегчение удаления

CLIP и вставка в антиген-связывающий сайт белков с более высоким сродством. Пептиды, с высоким сродством связывающиеся с молекулами ГКГС, не могут быть вытеснены молекулами DM, что имеет важное значение для отбора антигенов и последующего прочного их связывания с антиген-связывающим сайтом ГКГС II класса и представления их CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитам. Другая димерная молекула ГКГС II класса DQ связывается с HLA-DM в лизосомах и негативно регулирует функцию DM. DM обеспечивает пептидный обмен только после отделения от DQ. Провоспалительные цитокины, продуцируемые во время инфекции, способствуют экспрессии DM, более эффективному пептидному обмену и презентации антигена, т. е. HLA-DQ функционирует как шаперон для HLA-DM. На этом этапе крупные пептиды связываются с антиген-связывающим сайтом ГКГС II класса, а затем обрезаются протеолитическими ферментами до размеров, необходимых для распознавания Т-лимфоцитами. В результате пептиды, которые вставлены в антиген-связывающий сайт молекул ГКГС II класса на поверхности клетки, обычно имеют длину от 10 до 30 аминокислот (Cresswell 2019; Unanue et al. 2016).

Стабилизированные комплексы пептид-ГКГС II класса экспрессируются на поверхность АПК для их представления и распознавания CD4<sup>+</sup> Т-клетками. При распознавании комплексов корецептор CD4 играет важную роль, связываясь с неполиморфными участками молекулы ГКГС II класса. Плотность экспрессии молекул ГКГС II класса-пептид регулируется модуляцией деградации системой убиквитин-протеасома. Убиквитин-лигаза E3 (MARCH-1) распознает хвостовую часть молекул ГКГС II класса и способствует их деградации. При развитии инфекционного процесса АПК нейтрализуют экспрессию MARCH-1 и увеличивают количество соответствующих пептидных комплексов ГКГС II класса на поверхности клетки (Kasahara, Flajnik 2019; Stern, Santambrogio 2016; Wieczorek et al. 2017).

Выявлено, что антигенные рецепторы большинства Т-клеток распознают только пептиды, которые им представляют молекулы ГКГС на поверхности АПК. ГКГС представляет собой генетический регион, кодирующий высокополиморфные, кодоминантно экспрессируемые молекулы ГКГС I и II классов. Оба класса молекул ГКГС включают внеклеточный пептид-связывающий участок (щель), неполиморфную иммуноглобулино-подобную область, трансмембранную и цитоплазматическую области. Некоторые полиморфные остатки ГКГС определяют специфичность пептидов, образуя струк-

туры, подобные карманам, которые взаимодействуют с комплементарными остатками связанного пептида, так называемыми якорными остатками. Другие полиморфные остатки ГКГС и некоторые остатки пептида не участвуют в связывании пептидов с молекулами ГКГС, а вместо этого образуют структуру, распознаваемую Т-клетками. Процессинг способствует введению экзогенных белковых антигенов в везикулы АПК и синтезу антигенов в цитозоле, протеолитической деградации этих белков в пептиды, связыванию пептидов с молекулами ГКГС и экспрессии комплексов пептид-ГКГС на поверхности АПК для распознавания их Т-клетками. Белковые антигены для ГКГС I класса образуются в протеасоме. Большая часть этих антигенов синтезируется в цитозоле или попадает в цитозоль из везикул. Эти пептиды доставляются из цитозоля в ЭР с помощью АТФ-зависимого транспортера, ТАР. Стабильные комплексы молекул ГКГС I класса со связанными пептидами перемещаются из ЭР через комплекс Гольджи на поверхность клетки. Специализированные АПК, в основном ДК, могут поглощать инфицированные вирусом или опухолевые клетки и транспортировать их антигены в цитозоль для презентации молекулами ГКГС I класса. Этот процесс, называемый перекрестной презентацией, позволяет ДК инициировать CD8 Т-клеточный ответ (Eggensperger, Tampe 2015; Petrova et al. 2022). Перед помещением белковых антигенов в сайты молекул ГКГС II класса они интернализируются в эндосомы и протеолитически расщепляются лизосомальными и эндосомальными ферментами. Вновь синтезированные молекулы ГКГС II класса, ассоциированные с инвариантной цепью (Ii), транспортируются из ЭР в эндосомальные везикулы. Здесь Ii расщепляется протеолитически, и небольшой пептидный остаток Ii — CLIP удаляется из пептид-связывающей щели молекул ГКГС молекулами DM. Белковые антигены, полученные из внеклеточных белков, связываются с доступной щелью молекулы ГКГС II класса. Тримерный комплекс (ГКГС II класса,  $\alpha$ -,  $\beta$ -цепи и пептид) перемещается и экспрессируется на поверхности клетки. Эти пути презентации ГКГС-рестриктированных антигенов гарантируют, что большинство клеток организма тестируются на возможное присутствие чужеродных антигенов. Подобные механизмы гарантируют, что белковые антигены внеклеточно паразитирующих микробов превращаются в молекулы, способные связываться с молекулами ГКГС II класса для распознавания их CD4 Т-хелперами, которые активируют эффек-

торные механизмы и элиминируют внеклеточные антигены (Eggensperger, Tampe 2015; Nata-  
rajan et al. 2019; Thomas, Tampe 2019).

Т-лимфоциты также могут распознавать и реагировать на антигены с малой молекулярной массой, такие как ионы металлов. Такое распознавание сопровождается феноменом ГКГС-рестрикции, что позволяет использовать никель, бериллий в качестве терапевтических препаратов. Но в ряде случаев это может приводить к патологическим реакциям со стороны Т-лимфоцитов и к развитию реакций гиперчувствительности. Известно несколько вариантов распознавания этих небелковых антигенов ГКГС-рестриктированными CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клетками. Некоторые химические вещества могут ковалентно модифицировать собственные пептиды или даже сами молекулы ГКГС, создавая измененные молекулы, распознающиеся как чужеродные. А другие химические вещества могут нековалентно связываться с молекулами ГКГС и изменять структуру пептид-связывающего участка. Молекула ГКГС может представлять эти пептиды, которые в норме не могут быть помещены в пептид-связывающий участок, а сами пептид-ГКГС-комплексы рассматриваются как чужеродные. Существуют незначительные субпопуляции Т-лимфоцитов (Т-киллеры (natural killer T — NKT),  $\gamma\delta$ Т-клетки), способные распознавать небелковые антигены без участия молекул ГКГС I или II классов. Таким образом, эти популяции являются исключениями из правила, согласно которому Т-клетки могут распознавать только ГКГС-ассоциированные пептиды. NKT-клетки экспрессируют ТКР с очень ограниченным разнообразием. Они распознают антигены липидной и гликолипидной природы и представляются ГКГС-подобной молекулой I класса, CD1 (Keller et al. 2021; Ogg et al. 2019). Существует несколько белков, которые представляются CD1. Вновь синтезированные молекулы CD1 захватывают клеточные липиды и транспортируют их на поверхность клетки. Отсюда CD-1-липидные комплексы интернализируются в эндосомы или лизосомы, где липиды, попавшие в организм из внешней среды, захватываются, а затем образуются новые CD1-липидные комплексы, которые возвращаются на поверхность клетки. Молекулы CD1 приобретают эндоцитозированные липидные антигены в процессе рециркуляции и представляют эти антигены без иммунологической обработки. NKT-клетки, распознающие липидные антигены, играют особую роль в защите макроорганизма от микробных антигенов липидной природы, особенно таких, как микобактерии.

$\gamma\delta$ Т-клетки распознают множество различных типов антигенов, включая некоторые белки и липиды, а также небольшие фосфорилированные молекулы и алкиламины. Эти антигены также не представляются молекулами ГКГС и, соответственно,  $\gamma\delta$ Т-клетки не ограничены феноменом ГКГС-рестрикции (Ogg et al. 2019; Zigangirova et al. 2012).

В целом развитие ИО зависит от многих факторов. Так, антигены микробов, находящиеся в разных участках клетки, избирательно вызывают развитие наиболее эффективного Т-клеточного ИО. Молекулы ГКГС определяют иммуногенность белковых антигенов. Белки, образующиеся в результате протеолиза в АПК, с высокой аффинностью связываются с молекулами ГКГС и вызывают самые сильные Т-клеточные ИО. Необходимо учитывать, что большинство Т-клеток распознают только одну или несколько иммунодоминантных линейных аминокислотных последовательностей антигена, чему способствуют протеазы, участвующие в процессинге антигенов. В этой ситуации важно определить структурную основу иммунодоминирования, поскольку это может позволить эффективно использовать ИС с помощью синтетических пептидов, в частности при разработке вакцин. Такой анализ может быть выполнен экспериментально или *in silico*. Синтетические пептиды, содержащие такие эпитопы, могут быть эффективными вакцинами для индуцирования Т-клеточного ответа против вирусных антигенов, экспрессируемых инфицированной клеткой (Awad et al. 2018; Harle et al. 2021). Аналогичным образом, пептиды, продуцируемые мутировавшими генами при раке, анализируют на предмет их способности связываться с молекулами ГКГС I класса у каждого пациента. Те из них, которые связываются с наибольшей аффинностью, стимулируют противоопухолевый иммунитет у этого пациента. Экспрессия определенных аллелей ГКГС II класса определяет способность этого индивидуума реагировать на конкретные антигены. Ig-гены, контролируемые синтез антител, являются генами ГКГС II класса. Они влияют на интенсивность иммунной реакции, поскольку различные молекулы ГКГС II класса, продуцируемые разными аллелями, различаются по своей способности связывать антигенные пептиды и активировать «свои» Т-хелперы. Варианты наследования данного аллеля ГКГС зависят от природы белковых антигенов, связывающихся с молекулой ГКГС, кодируемой этим аллелем. Так, например, если ИС индивидуума экспрессирует молекулы ГКГС II класса,



которые способны распознавать антигены пыльцы амброзии, то такие индивидуумы будут генетически предрасположены к аллергическим реакциям на пыльцу. И, наоборот, у некоторых индивидуумов не удастся получить устойчивый ИО при вакцинировании на поверхностный антиген вируса гепатита В. По-видимому, это связано с тем, что их молекулы HLA не могут распознавать и связывать вакцинные антигены.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

### Conflict of Interest

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

### Вклад авторов

- а. Москалев Александр Витальевич — разработка общей концепции, написание статьи, анализ данных;
- б. Апчел Василий Яковлевич — дизайн исследования, написание статьи, анализ данных;
- в. Никитина Екатерина Александровна — написание статьи, анализ данных.

### Author Contributions

- a. Alexander V. Moskalev — conceptualization, manuscript writing, data analysis;
- b. Vasily Ya. Apchel — research design, editing, data analysis;
- c. Ekaterina A. Nikitina — manuscript writing, data analysis.

### References

- Abbas, A. K., Lichtman, A. G., Pillai, Sh. (2022) *Cellular and molecular immunology*. Philadelphia: Elsevier Publ., 1735 p. (in English)
- Admon, A. (2019) ERAP1 shapes just part of the immunopeptidome. *Human Immunology*, vol. 80, no. 5, pp. 296–301. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2019.03.004> (In English)
- Anderson, D. A., Murphy, K. M., Briseno, C. G. (2018) Development, diversity, and function of dendritic cells in mouse and human. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, vol. 10, no. 11, article a028613. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028613> (In English)
- Awad, W., Le Nours, J., Kjer-Nielsen, L. et al. (2018) Mucosal-associated invariant T cell receptor recognition of small molecules presented by MR1. *Immunology & Cell Biology*, vol. 96, no. 6, pp. 588–597. <https://doi.org/10.1111/imcb.12017> (In English)
- Blander, J. M. (2018) Regulation of the cell biology of antigen cross-presentation. *Annual Review of Immunology*, vol. 36, pp. 717–753. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-041015-055523> (In English)
- Cresswell, P. (2019) A personal retrospective on the mechanisms of antigen processing. *Immunogenetics*, vol. 71, no. 3, pp. 141–160. <https://doi.org/10.1007/s00251-018-01098-2> (In English)
- Cruz, F. M., Colbert, J. D., Merino, E. et al. (2017) The biology and underlying mechanisms of cross-presentation of exogenous antigens on MHC-I molecules. *Annual Review of Immunology*, vol. 35, pp. 149–176. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-041015-055254> (In English)
- Dersh, D., Holly, J., Yewdell, J. W. (2021) A few good peptides: MHC class I-based cancer immunosurveillance and immunoevasion. *Nature Reviews Immunology*, vol. 21, no. 2, pp. 116–128. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0390-6> (In English)
- Durgan, J., Lystad, A. H., Sloan, K. et al. (2021) Non-canonical autophagy drives alternative ATG8 conjugation to phosphatidylserine. *Molecular Cell*, vol. 81, no. 9, pp. 2031–2040.e8. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.03.020> (In English)
- Eggensperger, S., Tampe, R. (2015) The transporter associated with antigen processing: A key player in adaptive immunity. *Biological Chemistry*, vol. 396, no. 9–10, pp. 1059–1072. <https://doi.org/10.1515/hsz-2014-0320> (In English)
- Eisenbarth, S. C. (2019) Dendritic cell subsets in T cell programming: Location dictates function. *Nature Reviews Immunology*, vol. 19, no. 2, pp. 89–103. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0088-1> (In English)
- Gluschko, A., Herb, M., Wiegmann, K. et al. (2018) The  $\beta$ 2 Integrin Mac-1 induces protective LC3-associated phagocytosis of *Listeria monocytogenes*. *Cell Host & Microbe*, vol. 23, no. 3, pp. 324–337.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.01.018> (In English)
- Harle, G., Kowalski, C., Dubrot, J. et al. (2021) Macroautophagy in lymphatic endothelial cells inhibits T cell-mediated autoimmunity. *Journal of Experimental Medicine*, vol. 218, no. 6, article e20201776. <https://doi.org/10.1084/jem.20201776> (In English)
- Herb, M., Gluschko, A., Schramm, M. (2020) LC3-associated phagocytosis—the highway to hell for phagocytosed microbes. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, vol. 101, pp. 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.04.016> (In English)

- Ibragimov, B. R., Skibo, Yu. V., Abramova, Z. I. (2023) Autofagiya i LC3-assotsirovanniy fagotsitoz: skhodstva i razlichiya [Autophagy and LC3-associated phagocytosis: Similarities and differences]. *Meditsinskaya Immunologiya — Medical Immunology*, vol. 25, no. 2, pp. 233–252. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-AAL-2569> (In Russian)
- Johansen, T., Lamark, T. (2020) Selective autophagy: ATG8 family proteins, LIR motifs and cargo receptors. *Journal of Molecular Biology*, vol. 432, no. 1, pp. 80–103. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.07.016> (In English)
- Jurewicz, M. M., Stem, L. J. (2019) Class II MHC antigen processing in immune tolerance and inflammation. *Immunogenetics*, vol. 71, no. 3, pp. 171–187. <https://doi.org/10.1007/s00251-018-1095-x> (In English)
- Kasahara, M., Flajnik, M. F. (2019) Origin and evolution of the specialized forms of proteasomes involved in antigen presentation. *Immunogenetics*, vol. 71, no. 3, pp. 171–187. <https://doi.org/10.1007/s00251-019-01105-02> (In English)
- Keller, C. W., Kotur, M. B., Mundt, S. et al. (2021) CYBB/NOX2 in conventional DCs controls T cell encephalitogenicity during neuroinflammation. *Autophagy*, vol. 17, no. 5, pp. 1244–1258. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1756678> (In English)
- Kelly, A., Trowsdale, J. (2019) Genetics of antigen processing and presentation. *Immunogenetics*, vol. 71, no. 3, pp. 161–170. <https://doi.org/10.1007/s00251-018-1082-2> (In English)
- Lamprinak, D., Beasy, G., Zhekova, A. et al. (2022) LC3-associated phagocytosis is required for dendritic cell inflammatory cytokine response to gut commensal yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Immunology*, vol. 8, article 1397. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01397> (In English)
- Ligeon, L. A., Pena-Francesch, M., Vanoaica, L. D. et al. (2021) Oxidation inhibits autophagy protein deconjugation from phagosomes to sustain MHC class II restricted antigen presentation. *Nature Communications*, vol. 12, no. 1, article 1508. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21829-6> (In English)
- Masud, S., Prajsnar, T. K., Torracca, V. et al. (2019) Macrophages target Salmonella by Lc3-associated phagocytosis in a systemic infection model. *Autophagy*, vol. 15, no. 5, pp. 796–812. <https://doi.org/10.1080/15548627.2019.1569297> (In English)
- Matsuzawa-Ishimoto, Y., Hwang, S., Cadwell, K. (2018) Autophagy and inflammation. *Annual Review of Immunology*, vol. 36, pp. 73–101. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053253> (In English)
- Munz, C. (2022) Canonical and non-canonical functions of the autophagy machinery in MHC restricted antigen presentation. *Frontiers in Immunology*, vol. 13, article 868888. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.868888> (In English)
- Murata, S., Takahama, Y., Kasahara, M., Tanaka, K. (2018) The immuno-proteasome and thymoproteasome: Functions, evolution and human disease. *Nature Immunology*, vol. 19, no. 9, pp. 923–931. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0186-z> (In English)
- Natarajan, K., Jiang, J., Margulies, D. H. (2019) Structural aspects of chaperone-mediated peptide loading in the MHC-I antigen presentation pathway. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 54, no. 2, pp. 164–173. <https://doi.org/10.1080/10409238.2019.1610352> (In English)
- Ogg, G., Cerundolo, V., McMichael, A. J. (2019) Capturing the antigen landscape: HLA-E, CD1 and MR1. *Current Opinion in Immunology*, vol. 59, pp. 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2019.07.006> (In English)
- Perrin, P., Jongsma, M. L., Neefjes, J., Berlin, I. (2019) The labyrinth unfolds: architectural rearrangements of the endolysosomal system in antigen-presenting cells. *Current Opinion in Immunology*, vol. 58, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2018.12.004> (In English)
- Petersdorf, E. W., O’Hugin, C. (2019) The MHC in the era of next-generation sequencing: implications for bridging structure with function. *Human Immunology*, vol. 80, no. 1, pp. 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2018.10.002> (In English)
- Petrova, N. V., Emelyanova, A. G., Kovalchuk, A. L., Tarasov, S. A. (2022) Rol’ molekul MHC I i II v antibakterial’nom immunitete i lechenii bakterial’nykh infektsiy [Role of MHC class I and class II molecules in antibacterial immunity and treatment of bacterial diseases]. *Antibiotiki i khimioterapiya — Antibiotics and Chemotherapy*, vol. 67, no. 7–8, pp. 70–79. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-7-8-71-81> (In Russian)
- Rossjohn, J., Gras, S., Miles, J. J. et al. (2015) T cell antigen receptor recognition of antigen-presenting molecules. *Annual Review of Immunology*, vol. 33, pp. 169–200. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112334> (In English)
- Stern, L. J., Santambrogio, L. (2016) The melting pot of the MHC II peptidome. *Current Opinion in Immunology*, vol. 40, pp. 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2016.03.004> (In English)
- Thomas, C., Tampe, R. (2019) MHC I chaperone complexes shaping immunity. *Current Opinion in Immunology*, vol. 58, pp. 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2019.01.001> (In English)
- Unanue, E. R., Turk, V., Neefjes, J. (2016) Variations in MHC class II antigen processing and presentation in health and disease. *Annual Review of Immunology*, vol. 34, pp. 265–297. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-041015-055420> (In English)
- Vorobyeva, N. V. (2023) Neytrofily — atipichnye antigenprezentiruyushchie kletki [Neutrophils are atypical antigen-presenting cells]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya*, vol. 78, no. 3, pp. 55–63. <https://doi.org/10.55959/MSU0137-0952-16-78-2-8> (In Russian)

- Wieczorek, M., Abualrous, E. T., Sticht, J. et al. (2017) Major histocompatibility complex (MHC) class I and MHC class II proteins: Conformational plasticity in antigen presentation. *Frontiers in Immunology*, vol. 8, article 292. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00292> (In English)
- Zenkov, N. K., Chegushkov, A. V., Kozhin, P. M. et al. (2019) Autofagiya kak mekhanizm zashchity pri okislitel'nom stresse [Autophagy as a protective mechanism in oxidative stress]. *Byulleten sibirskoj meditsiny — Bulletin of Siberian Medicine*, vol. 18, no. 2, pp. 195–214. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-2-195-214> (In Russian)
- Zigangirova, N. A., Nesterenko, L. N., Tiganova, I. G., Kost, E. A. (2012) Regulyatornaya rol' sistemy sekretsii III tipa gramotritsatel'nykh bakterij v razvitii khronicheskogo vospalitel'nogo protsessa [The role of type-three secretion system of the gram-negative bacteria in regulation of chronic infection]. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya — Molecular genetics, Microbiology and Virology*, no. 3, pp. 3–13. (In Russian)





Check for updates

Обзоры

УДК 591.16, 57.089.34, 57.087.3

EDN JXWUVM

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-283-293>

## Методы оценки доимплантационных эмбрионов человека

Т. С. Архипова<sup>1</sup>, А. Ф. Сайфитдинова<sup>✉1, 2</sup>

<sup>1</sup> Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена,  
191186, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, д. 48

<sup>2</sup> Международный центр репродуктивной медицины,  
197350, Россия, г. Санкт-Петербург, Комендантский пр., д. 53/1

### Сведения об авторах

Татьяна Сергеевна Архипова, SPIN-код: [2724-6121](#), ORCID: [0009-0004-1368-3127](#), e-mail: [archipova\\_tanya@mail.ru](mailto:archipova_tanya@mail.ru)

Алсу Фаритовна Сайфитдинова, SPIN-код: [5114-4844](#), ORCID: [0000-0002-1221-479X](#), e-mail: [saititdinova@mail.ru](mailto:saititdinova@mail.ru)

**Для цитирования:** Архипова, Т. С., Сайфитдинова, А. Ф. (2024) Методы оценки доимплантационных эмбрионов человека. *Интегративная физиология*, т. 5, № 3, с. 283–293. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-283-293>  
EDN JXWUVM

**Получена** 17 февраля 2024; прошла рецензирование 25 апреля 2024; принята 28 апреля 2024.

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

**Права:** © Т. С. Архипова, А. Ф. Сайфитдинова (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](#).

**Аннотация.** Обзор посвящен современным методам оценки потенциала гармоничного развития доимплантационных эмбрионов человека, нашедшим применение в клинической практике программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Кратко описаны исторические аспекты развития методов ВРТ и постепенного появления необходимости разработки и внедрения различных методов оценки эмбрионов. Отдельно рассмотрены методы оценки морфологических характеристик эмбрионов, подробно описаны характерные особенности морфологии, учитываемые при классической оценке эмбрионов по Гарднеру, описан современный метод морфокинетической оценки по специально установленным морфокинетическим параметрам, схожим с морфологическими параметрами, на основании time-lapse микроскопии, машинной обработки данных с использованием искусственного интеллекта и нейросетей. В обзоре также представлены методы молекулярно-генетического анализа клеток эмбриона на основе биопсии и новейшие малоинвазивные подходы, применяемые в ситуациях, когда существенно повышен риск выявления численных хромосомных аномалий, переноса анеуплоидного эмбриона и, как следствие, рождения больного ребенка. Описаны инновационные методы оценки метаболомного статуса, представляющие возможность оценивать потенциал эмбриона через анализ его жизнедеятельности путем неинвазивного метаболомного профилирования культуральных сред Рамановской (оптической) спектроскопией и дальнейших комплексных исследований метаболитов.

**Ключевые слова:** экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), морфокинетика эмбрионального развития, time-lapse, преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ), метаболизм эмбриона

# Methods for evaluating preimplantation human embryos

T. S. Arkhipova<sup>1</sup>, A. F. Saifitdinova<sup>✉1, 2</sup>

<sup>1</sup> Herzen State Pedagogical University of Russia, 48 Moika River Emb., Saint Petersburg 191186, Russia

<sup>2</sup> International Centre for Reproductive Medicine, 53/1 Komendantskiy Ave., Saint Petersburg 197350, Russia

## Authors

Tatyana S. Arkhipova, SPIN: 2724-6121, ORCID: 0009-0004-1368-3127, e-mail: [archipova\\_tanya@mail.ru](mailto:archipova_tanya@mail.ru)

Alsu F. Saifitdinova, SPIN: 5114-4844, ORCID: 0000-0002-1221-479X, e-mail: [saifitdinova@mail.ru](mailto:saifitdinova@mail.ru)

**For citation:** Arkhipova, T. S., Saifitdinova, A. F. (2024) Methods for evaluating preimplantation human embryos. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 3, pp. 283–293. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-283-293> EDN JXWUVM

**Received** 17 February 2024; reviewed 25 April 2024; accepted 28 April 2024.

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

**Copyright:** © T. S. Arkhipova, A. F. Saifitdinova (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

**Abstract.** The review focuses on modern methods of assessing the potential for harmonious development of preimplantation human embryos, which are commonly utilized in assisted reproductive technology (ART) clinical practice. The article briefly outlines historical development of ART techniques and the growing need for various embryo evaluation methods. The review examines morphological assessment techniques, detailing the characteristic features considered in the classical Gardner embryo grading system. Additionally, it describes the modern approach of morphokinetic assessment, which employs time-lapse microscopy and artificial intelligence with neural networks for processing data, based on morphokinetic parameters similar to those used in morphology. The review also highlights biopsy-based molecular genetic analysis methods and the latest minimally invasive approaches, particularly for detecting numerical chromosomal abnormalities. These methods help reduce the risk of transferring aneuploid embryos and prevent the birth of affected children. Furthermore, innovative methods for evaluating embryo metabolism are explored, including non-invasive metabolomic profiling of culture media via Raman (optical) spectrometry and subsequent comprehensive analysis of metabolites to assess embryo viability.

**Keywords:** *in vitro* fertilization (IVF), embryonic morphokinetics, time-lapse, preimplantation genetic testing (PGT), embryo metabolism

## Введение

С внедрением в репродуктивную медицину методов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) возникла необходимость оценки качества доимплантационных эмбрионов человека с точки зрения их потенциала к успешной имплантации, гармоничному эмбриогенезу и дальнейшему развитию в клинически здорового ребенка. Первоначально для повышения вероятности имплантации в полость матки переносили несколько эмбрионов, что приводило к многоплодным беременностям. Это влекло за собой перинатальные и неонатальные проблемы, а также повышало вероятность рождения детей с генетическими и хромосомными патологиями, поскольку их ранняя диагностика при многоплодной беременности затруднена. Поэтому встал вопрос о выборе для переноса наиболее перспективного эмбриона (elective single embryo transfer, eSET). Развитие и совершенствование методов криоконсервации позволило сохранять остальные эмбрионы для последующего использования, а внедрение преимплантационного

генетического тестирования (ПГТ) позволило выбирать эмбрион с наибольшим потенциалом к имплантации (Gerris 1999; Lee 2016). Это привело к разработке и внедрению в практику лабораторий различных методов оценки доимплантационных эмбрионов человека.

## Морфология и морфокинетика

Первым доступным методом была визуальная оценка эмбриона. Существует большое количество морфологических параметров для оценки качества эмбриона, например, *число клеток* на определенной стадии может иметь прямую взаимосвязь с потенциалом к имплантации. Также важны время и синхронность делений дробления. Еще в работах Роберта Эдвардса было показано, что эмбрионы, достигшие 8-клеточной стадии через 55 часов, имплантируются с большей вероятностью по сравнению с эмбрионами, достигшими этой же стадии через 56 часов (Edwards 1984).

При поддержке ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) в 2010 г.

в Стамбуле собрались специалисты для выработки консенсуса по оценке развития эмбрионов (The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting). На встрече было принято сразу несколько со-

глашений: «О временных параметрах этапов и ожидаемых стадиях развития эмбрионов *in vitro*» (табл. 1), «О системе оценки эмбрионов на стадии дробления» (табл. 2) и «О системе оценки эмбрионов 4 дня» (табл. 3).

Табл. 1. Время оценки морфологии и ожидаемая стадия развития

Тип наблюдения	Время после инсеминации (в часах)	Ожидаемая стадия развития
Контроль оплодотворения	$17 \pm 1$	Стадия пронуклеусов
Раннее дробление	$26 \pm 1$ для ИКСИ $28 \pm 1$ для ЭКО	2 бластомера
Оценка на 2-й день	$44 \pm 1$	4 бластомера
Оценка на 3-й день	$68 \pm 1$	8 бластомеров
Оценка на 4-й день	$92 \pm 2$	Морула
Оценка на 5-й день	$116 \pm 2$	Бластула

Table 1. Morphology assessment time and expected developmental stage

Observation type	Time after insemination (hours)	Expected stage of development
Fertilization control	$17 \pm 1$	Pronucleus stage
Early cleavage	$26 \pm 1$ for ICSI $28 \pm 1$ for IVF	2 blastomeres
Day 2 Assessment	$44 \pm 1$	4 blastomeres
Day 3 Assessment	$68 \pm 1$	8 blastomeres
Day 4 Assessment	$92 \pm 2$	Morula
Day 5 Assessment	$116 \pm 2$	Blastula

Табл. 2. Характеристика эмбрионов на стадии дробления

Оценка	Рейтинг	Описание эмбриона
1	Хороший	< 10% фрагментации. Размер бластомеров специфичен для данной стадии. Многоядерность отсутствует
2	Удовлетворительный	10–25% фрагментации. Размер большинства бластомеров специфичен для данной стадии. Многоядерность отсутствует
3	Плохой	> 25% фрагментации. Размер бластомеров не специфичен для данной стадии. Отмечается многоядерность

Table 2. Characteristics of embryos at the cleavage stage

Grade	Rating	Description of the embryo
1	Good	< 10% fragmentation. The size of blastomeres is appropriate for this stage. No multinucleation
2	Satisfactory	10–25% fragmentation. The size of most blastomeres is appropriate for this stage. No multinucleation
3	Poor	> 25% fragmentation. The size of the blastomeres is not appropriate for this stage. Multinucleation is observed.



Табл. 3. Характеристика эмбрионов 4 дня развития

Оценка	Рейтинг	Описание эмбриона
1	Хороший	Вступил в 4-й раунд дробления, все бластомеры вовлечены в компактизацию (M1)
2	Удовлетворительный	Вступил в 4-й раунд дробления, большинство бластомеров компактизуются (M2)
3	Плохой	Меньше половины объема эмбриона вовлечено в компактизацию, остаются отдельные бластомеры (M3)

Table 3. Characteristics of embryos on days 4 of development

Grade	Rating	Description of the embryo
1	Good	Entered the 4 <sup>th</sup> cleavage, all blastomeres involved in compaction (M1)
2	Satisfactory	Entered the 4 <sup>th</sup> cleavage, most blastomeres compacted (M2)
3	Poor	Less than half of the embryo volume is involved in compaction, with separate blastomeres remaining (M3)

В норме, у эмбриона наилучшего качества должна отсутствовать *фрагментация* (отделенная от клетки часть цитоплазмы без генетического материала, окруженная мембраной). Однако иногда при митотических делениях от клеток могут отшнуровываться мелкие цитоплазматические фрагменты, не являющиеся полноценными клетками и часто лишенные ядра. Это приводит к истощению эмбриона из-за потери порции цитоплазмы, что вызывает утрату части основных органелл, дефицит белков и различных РНК. Присутствие существенного количества фрагментов может препятствовать установлению контактов между бластомерами, что затрудняет компактизацию эмбриона (Korsak 2022).

Описание эмбриона включает: количество бластомеров, оценку качества (grade) и характеристику. Например, восемь бластомеров, grade 3, фрагментация, многоядерность.

*Размер бластомеров* также является важным параметром. Из-за особенностей оогенеза человека и небольшого количества вителлогенина в цитоплазме ооцита дробление, в норме, должно быть полным и равномерным, а асимметричное деление приводит к образованию отличающихся друг от друга бластомеров и свидетельствует о нарушениях митоза. Целесообразно обращать внимание как на размеры бластомеров, так и на синхронность делений дробления: так, бластомеры эмбрионов на стадии 2, 4, 8 клеток, в норме, должны иметь равный размер, а бластомеры, имеющие 3, 5, 6, 7 клеток, могут иметь различия в размерах, т. к. не все клетки одновременно завершили цитокинез (Mekina 2021).

*Количество ядер в клетках бластомеров* — это еще один важный критерий отбора эмбрио-

нов, и это нарушение достаточно трудно обнаружить во время наблюдения в микроскоп, т. к. на протяжении клеточного цикла ядра не всегда оформлены. Помимо этого, на визуализацию ядерной оболочки могут влиять особенности цитоплазмы. В норме один бластомер должен иметь одно ядро, но может встречаться двужядерность или многоядерность. Причиной этому служат незавершенный митоз (без цитокинеза), нарушения анафазы, аномалии формирования ядерной оболочки, нарушение расхождения хромосом (Korsak 2022). Также может встречаться триполярный (мультиполярный) митоз, вызванный чрезмерным количеством centrosom (проникновение двух гаплоидных сперматозоидов или одного диплоидного, имеющего такой набор в результате ошибки MI или MII), при котором вместо двух дочерних клеток образуются три и более. Такие зиготы могут развиваться в морфологически нормальные эмбрионы, однако иметь диплоидный, триплоидный или иной, несовместимый с нормальным развитием, набор хромосом. Иногда две дочерние клетки сливаются в одну (двужядерную) клетку. Такое явление называют обратным дроблением (обратным митозом) или слиянием бластомеров, оно может происходить как при дроблении клеток с нормальным набором хромосом, так и после деления с образованием трехполюсного веретена. Несмотря на сниженный потенциал к имплантации подобных эмбрионов, в отдельных случаях можно ожидать рождения здорового ребенка (Campbell 2018; Kalatova 2015).

На стадии морулы (от лат. *morula* — тутовая ягода) в состоящем из 10–12 клеток эмбрионе начинается процесс *компактизации*, границы

клеток становятся плохо различимы, формируется многоклеточный округлый, похожий на ягоду тутовника, эмбрион. При оценке эмбрионов четвертого дня развития важна своевременная компактизация. Дальнейшие деления приводят к увеличению морулы за счет деления клеток до 16–32 и восстановления в клеточном цикле фазы роста между последовательными делениями за счет активации собственного генома. Клетки не только обеспечивают рост цитоплазмы и восстановление органелл, но и начинают формировать внеклеточный матрикс. Начинается процесс *кавитации* — формирование полости путем нагнетания жидкости за счет повышения осмотического давления. В результате этого процесса образуется бластоцель, и постепенно истончается блестящая оболочка (*zona pellucida*, ZP).

Приведенная в таблице 3 система близка к предложенной ранее классификации Джун Тао с соавторами, в которой описаны четыре категории морул. Она также построена на процентном количестве вовлеченных в компактизацию бластомеров (Tao et al. 2002).

*Степень экспансии (расширение) бластоцисты* и размер бластоцеля характеризуют эту стадию развития эмбриона. Учитывается также вылупление бластоцисты из оболочки (*хэтчинг*). Этот процесс делят на шесть стадий: I — размер

бластоцеля < 50% объема эмбриона; II — бластоцель занимает ~ 50–80% объема эмбриона; III — бластоцель занимает > 80% объема эмбриона, это полноценная бластоциста; IV — бластоциста экспандирована, начинается истончение ZP; V — начинается хэтчинг; VI — завершение хэтчинга (Gardner 1999). Предложенный более 20 лет назад *метод оценки морфологии* Дэвида Гарднера до сих пор является наиболее распространенным. Система состоит из числовой оценки степени развития бластоцисты (1–6) и двух буквенных оценок качества трофэктодермы (ТЭ) и внутренней клеточной массы (ВКМ) от А до С, где наилучшее развитие обозначают буквой А (Gardner 2000).

Морфология ВКМ по Гарднеру:

А — ВКМ состоит из большого количества плотно упакованных клеток;

В — меньше сгруппированных клеток;

С — очень мало клеток, клетки не сгруппированы;

Морфология ТЭ по Гарднеру:

А — много клеток, формирующих плотный слой клеток;

В — меньшее количество клеток, формирующих рыхлый слой клеток;

С — единичные клетки серповидной формы.

На рисунке 1 показана система оценивания эмбрионов 4 стадии.

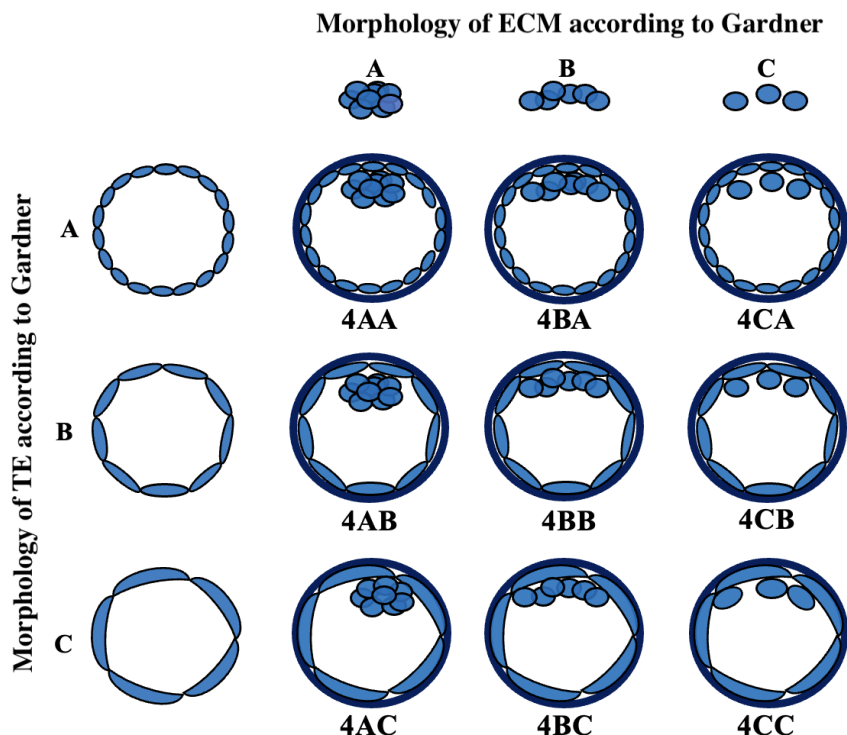


Рис. 1. Классификация бластоцисты по Гарднеру на примере 4 стадии развития.

ECM — внутренняя клеточная масса, TE — трофэктодерма

Fig. 1. Gardner's blastocyst grading system, stage 4. ECM — extracellular matrix, TE — trophectoderm

Формализация оценки морфологии эмбриона позволила применить для ее анализа искусственный интеллект (ИИ) на основе внедрения систем покадровой визуализации (time-lapse). Морфокинетика — изменение морфологии со временем. Она позволяет учитывать скорость достижения эмбрионом определенных стадий развития и длительность нахождения на каждом этапе и регистрировать особенности развития (обратное дробление, многоядерность, вакуолизация, асинхронность деления) (Campbell 2018). Встроенная в time-lapse инкубатор камера создает серию снимков с заданной периодичностью и объединяет получившиеся фотографии в видео. Такая технология основана на цейтраферной (от нем. *zeitraffer* — группировать время) съемке, когда ведется запись с равными временными интервалами между фиксацией кадров.

Внедрение time-lapse микроскопии непосредственно в инкубаторы расширяет возможности наблюдения за эмбрионами, а также позволяет поддерживать оптимальные условия на протяжении всего культивирования, т. к. наблюдение ведется одновременно с культивированием (Korsak 2022). В дополнение к time-lapse инкубаторам были разработаны методы формализации морфокинетических параметров, такие как: время с момента инсеминации ( $t_0$ ) до исчезновения пронуклеусов ( $t_{PNf}$ ; от англ. *time to pronuclear fading*); образования двух ( $t_2$ ), трех ( $t_3$ ), четырех ( $t_4$ ), пяти клеток ( $t_5$ ) и т. д.; морулы ( $t_M$ ); начала бластуляции ( $t_{SB}$ ) и формирования полной бластоцисты ( $t_B$ ) (Campbell 2018). Это позволило внедрить в практику машинную обработку данных и нейросети, для обучения которых использовали большое количество циклов с известным исходом. Компьютерные программы позволяют собирать и хранить данные, аннотировать эмбрионы, выбирать эмбрион с наибольшим потенциалом, стандартизировать оценку качества эмбрионов, определять оптимальное время для биопсии и заморозки без изъятия из инкубатора.

Однако морфокинетической оценки оказывается недостаточно, т. к. подобные системы способны фиксировать наличие митотических ошибок, вызванных нарушениями первых делений дробления, но не могут получить информацию о нарушениях сегрегации хромосом в мейозе, что часто зависит от возраста матери.

### Преимплантационное генетическое тестирование

Для решения задач, связанных с хромосомными аномалиями, были разработаны методы преимплантационного генетического тестиро-

вания (ПГТ), позволяющие предупредить рождение детей с наследственными заболеваниями.

**Полимеразная цепная реакция.** История генетического тестирования эмбрионов началась с работы Алана Хэндисайда, который методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) смог установить пол эмбриона в семье с рецессивным заболеванием, сцепленным с X-хромосомой, в результате чего родился здоровый ребенок (Handyside 1990).

Метод ПЦР может быть основан на прямом определении мутации, когда амплифицируют измененный участок ДНК, или на анализе высокополиморфных коротких tandemных повторов (*short tandem repeats*, STR), маркирующих отдельные хромосомы. Применение STR-маркеров началось в 90-х гг. XX века криминалистическими лабораториями США и Великобритании с последующей разработкой базы данных CODIS (*Combined DNA Index System*). Позднее он стал применяться в медицине (Altarescu et al. 2013; Findlay et al. 1998). При проведении анализа используют сразу несколько STR-маркеров, которые подбирают индивидуально. Совместное применение ПЦР и методов секвенирования позволяет подтверждать наличие определенного варианта гена в геноме эмбриона. Методом ПЦР можно регистрировать наиболее частые анеуплоидии, определять пол, диагностировать моногенные заболевания, однако он имеет ограничения, связанные с исходным количеством материала и относительно малыми размерами исследуемых областей генома.

Метод *флюоресцентной гибридизации in situ* (*fluorescent in situ hybridization*, FISH) основан на физической локализации меченого зонда на цитогенетическом препарате. Он позволяет увидеть численные аномалии половых хромосом (Griffin 1991), а также определить количество отдельных аутосом в ядре исследуемой клетки (Munné 1993). Изучение полярных телец позволило регистрировать ошибки первого и второго делений мейоза (Kuliev et al. 1999; Verlinsky et al. 1996). Рутинно FISH позволяет определить до 12 разных хромосом (Korsak 2022), а также выбрать эмбрионы со сбалансированным набором хромосом у родителей, имеющих транслокации или другие хромосомные перестройки (Puppo et al. 2023; TONYAN et al. 2024). Поскольку метод FISH не основан на косвенных данных о геноме, а позволяет непосредственно определить положение локусов в ядре клетки, то он дает адекватное представление о ploидности клеток, однако проанализировать можно ограниченное число хромосом.



Увеличить глубину анализа позволило развитие методов *полногеномной амплификации ДНК* (whole genome amplification, WGA). Они позволяют масштабировать малые количества ДНК, что расширяет спектр доступных молекулярно-генетических методов (Saifitdinova et al. 2023).

Вместе с тем совершенствовались методы культивирования эмбрионов, и если при первых попытках ЭКО эмбрионы сразу переносили в полость матки, то постепенно появились методы культивирования до пятого дня развития. Продленное культивирование позволило биопсировать большее количество клеток для амплификации ДНК и отсеивать эмбрионы с нарушениями развития, которые не доживали до стадии бластоцисты (Korsak 2022).

Получение дополнительного времени на проведение анализа и возможность увеличить количество ДНК для анализа с использованием WGA открыли возможности применения для ПГТ *сравнительной геномной гибридизации* (comparative genomic hybridization, CGH) на микроматрицах (array-CGH). Этот метод позволяет анализировать все хромосомы и обнаруживать делеции и дупликации в геноме (Lebedev et al. 2021; Wells et al. 2002).

Метод на основе *микроматриц с определением однонуклеотидных замен* (single nucleotide polymorphism array, SNP array) позволяет выявлять родительское происхождение хромосом. При таком исследовании проводят тестирование на микроматрицах как родительской, так и эмбриональной ДНК с последующим сравнением, что позволяет определить родительское происхождение участков хромосом у эмбриона, картировать их, поэтому его называли кариомэппинг (karyomapping). Он позволяет выявить анеуплоидии, структурные перестройки, триплоидии, однородительские дисомии, происхождение хромосомного дисбаланса и мозаицизм. Кариомэппинг может быть альтернативой STR анализу в определении родительского происхождения хромосом для косвенной диагностики носительства моногенных заболеваний (Thornhill 2015).

Метод *секвенирования нового поколения* (next generation sequencing, NGS) позволяет быстро расшифровывать предварительно фрагментированную ДНК, картировать ее методами биоинформатики и рассчитать соотношение в клетках различных участков ДНК. NGS является высокочувствительным методом даже при использовании его с низким покрытием (low coverage), что позволяет уверенно определять анеуплоидии и сегментные хромосомные на-

рушения (Zhang 2011). С помощью NGS можно исследовать молекулярный кариотип клеток образца и выявлять мозаицизм достаточно быстро и относительно дешево.

Следующим этапом развития ПГТ стало снижение инвазивности. Был разработан метод *анализа внеклеточной ДНК*, находящейся в полости бластоцеля. В 2016 г. Люка Джанароли представил сравнение ДНК из жидкости бластоцеля (вероятно, попадающей в бластоцель из погибших клеток) с известными результатами молекулярного кариотипа клеток ТЭ и показал, что они совпали в 97,1% случаев. Это значит, что исследование внеклеточной ДНК, биопсированной из полости эмбриона, в значительной степени представляет хромосомный статус всего эмбриона (Magli 2016).

Впоследствии было разработано *полностью неинвазивное ПГТ* (non-invasive PGT, niPGT), основанное на анализе внеклеточной ДНК из культуральной среды. Исследования показывают возможность частичного или почти полного совпадения результатов niPGT и ПГТ клеток ТЭ (Rubio et al. 2020; Vera-Rodriguez 2018). Дополнительно к культуральной внеклеточной ДНК может использоваться жидкость бластоцеля, однако и это может не дать результата, если ни одна из клеток не погибла (Gianaroli 2014; Palini 2013; Zhigalina 2016). Кроме того, остается открытым вопрос инвазивности данных процедур, так как они требуют дополнительных манипуляций с эмбрионами для удаления остатков ооцит-кумулюсного комплекса и сперматозоидов, а в отдельных случаях и прокол бластоцисты иглой для забора жидкости (Cinnioglu et al. 2023; Kakourou et al. 2022).

## Метабономика

Культуральная среда хранит не только ДНК, но и следы погибших клеток, а также метаболиты, спектр которых зависит от физиологического состояния клеток эмбриона. Это привело к появлению методов оценки развития доимплантационных эмбрионов на основе изучения состава среды.

Известно, что в естественном цикле эмбрион перемещается по маточной трубе, по мере продвижения к полости матки меняется его окружение (уровень pH и осмолярность). За развитие эмбриона от начала дробления до старта компактизации отвечает материнская мРНК и компоненты, накопленные яйцеклеткой. На этапе дробления питание осуществляется за счет накопленного в цитоплазме энергоемкого вителлогенина. Далее восстанавливается работа

митохондрий, на стадии 4–8 клеток включается собственный геном эмбриона и скорость метаболизма увеличивается, требуется переключение на другие источники энергии. За время своего развития эмбрион использует четыре типа дыхания (за счет пирувата, лактата, глюкозы и аминокислот) и способен переключаться между ними (Li 2017).

Ранние ооциты содержат комплекс органелл, называемый тельцем Бальбиани (митохондрии, комплекс Гольджи, шероховатый и гладкий эндоплазматический ретикулум (ЭПР), центриоли), образующийся во время оогенеза. Формирование тельца Бальбиани приводит к определению полюсов: анимального, содержащего ядро, и вегетативного, где формируется тельце Бальбиани. По мере созревания ооцита тельце Бальбиани распадается, митохондрии активируются и изменяется их морфология. От их правильной работы зависит потенциал к имплантации эмбриона (Jansen 2000; Marlow 2010). Все клеточные процессы требуют большого количества аденозинтрифосфата (АТФ), получаемого в результате окислительного фосфорилирования в митохондриях. Недостаток АТФ во время оогенеза и эмбриогенеза может привести к нарушениям дробления. С другой стороны, появляется все больше данных, подтверждающих снижение качества ооцитов у женщин старшего репродуктивного возраста, связанное с избытком митохондрий (Qi 2019).

Знание этой информации позволило разработать метод неинвазивного метаболомного профилирования культуральных сред с использованием Рамановской (оптической) спектроскопии, основанный на регистрации изменения спектров комбинационного рассеяния света в процессе смены эмбрионом типов дыхания. Было предложено рассматривать пируват как

индикатор жизнеспособности, поскольку у трехдневных эмбрионов, успешно имплантировавшихся в дальнейшем, наблюдалось сниженное содержание пирувата в культуральной среде по сравнению с не имплантировавшимися эмбрионами (Zhao 2013).

Эмбрионам для развития необходимо определенное количество ключевых питательных веществ, изменение уровней которых может быть предложено в качестве индикатора метаболической активности (*комплексное исследование метаболитов*). Все методы исследования оценки метаболомного статуса эмбрионов отражены в таблице 4.

Дальнейшие исследования, с разработкой надёжных протоколов, определенно позволят методам на основе метаболомики войти в практику клинической эмбриологии (Uyar 2014).

Заключение

Подводя итог, можно сказать, что на данный момент развиваются разнообразные методы оценки доимплантационных эмбрионов человека, позволяющие в перспективе выбирать различные стратегии отбора эмбриона для повышения шансов на успешный исход цикла ЭКО.

Рассмотренные в статье методы оценки морфологии и морфокинетики открывают возможности выбора эмбриона, наиболее успешно преодолевшего доимплантационные этапы развития. Постоянно развивающиеся методы генетического тестирования, как инвазивные, так и малоинвазивные, позволяют с высокой вероятностью идентифицировать эмбрионы с хромосомными нарушениями. Прогрессивные методы оценки метаболомного статуса открывают перспективу проверки жизнеспособности и потенциала к имплантации эмбрионов человека. Внедрение

Табл. 4. Метаболиты и методы их исследования

Анализируемый метаболит	Метод анализа
Углеводный обмен: пируват, лактат, глюкоза	Ультрамикрорфлюоресцентный анализ
Обмен аминокислот: глутамин, аргинин, метионин, аланин, аспарагин, серин, глицин, лейцин	Высокоэффективная жидкостная хроматография
Глутамат	Протонный ядерный магнитный резонанс

Table 4. Metabolites and methods for their study

Metabolite analysed	Method of analysis
Carbohydrate metabolism: pyruvate, lactate, glucose	Ultramicrofluorescence analysis
Amino acid profile: glutamine, arginin, methyonin, alanine, asparagin, serine, glycine, leucine	High performance liquid chromatography
Amino acid profile: glutamine, arginin, methyonin, alanine, asparagin, serine, glycine, leucine	Proton nuclear magnetic resonance

всего комплекса инновационных подходов открывает новые перспективы для изучения различных аспектов клинической эмбриологии и повышения эффективности лечения бесплодия.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

### Conflict of Interest

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

### Вклад авторов

- а. Архипова Татьяна Сергеевна — написание и редактирование текста;
- б. Сайфитдинова Алсу Фаритовна — концепция и структура обзора, редактирование текста.

### Author Contributions

- a. Tatyana S. Arkhipova — writing and editing;
- b. Alsu F. Saifitdinova — review concept and structure, editing.

### References

- Altarescu, G., Zeevi, D. A., Zeligson, S. et al. (2013) Familial haplotyping and embryo analysis for Preimplantation genetic diagnosis (PGD) using DNA microarrays: A proof of principle study. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, vol. 30, no. 12, pp. 1595–1603. <https://doi.org/10.1007/s10815-013-0044-8> (In English)
- Campbell, A., Fishel, S. (2018) *Atlas embriologii. Posledovatel'nye pokadrovye izobrazheniya (timelaps-tehnologiya)* [Atlas of Time lapse embryology]. Moscow: MEDpress-inofrm Publ., 120 p. (In Russian)
- Cinnioglu, C., Glessner, H., Jordan, A., Bunshaft, S. (2023) A systematic review of noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidy. *Fertility and Sterility*, vol. 120, no. 2, pp. 235–239. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.06.013> (In English)
- Edwards, R. G., Fishel, S. B., Cohen, J. et al. (1984) Factors influencing the success of in vitro fertilization for alleviating human infertility. *Journal of in Vitro Fertilization and Embryo Transfer*, vol. 1, no. 1, pp. 3–23. <https://doi.org/10.1007/BF01129615> (In English)
- Findlay, I., Tóth, T., Matthews, P. et al. (1998) Rapid trisomy diagnosis (21, 18, and 13) using fluorescent PCR and short tandem repeats: Applications for prenatal diagnosis and preimplantation genetic diagnosis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, vol. 15, no. 5, pp. 266–275. <https://doi.org/10.1023/a:1022536309381> (In English)
- Gardner, D. K., Schoolcraft, W. B. (1999) Culture and transfer of human blastocysts. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*, vol. 11, no. 3, pp. 307–311. <https://doi.org/10.1097/00001703-199906000-00013> (In English)
- Gardner, D. K., Lane, M., Stevens, J. et al. (2000) Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: Towards a single blastocyst transfer. *Fertility and Sterility*, vol. 73, no. 6, pp. 1155–1158. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(00\)00518-5](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(00)00518-5) (In English)
- Gerris, J., De Neubourg, D., Mangelschots, K. et al. (1999) Prevention of twin pregnancy after in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection based on strict embryo criteria: A prospective randomized clinical trial. *Human Reproduction*, vol. 14, no. 10, pp. 2581–2587. <https://doi.org/10.1093/humrep/14.10.2581> (In English)
- Gianaroli, L., Magli, M. C., Pomante, A. et al. (2014) Blastocentesis: A source of DNA for preimplantation genetic testing. Results from a pilot study. *Fertility and Sterility*, vol. 102, no. 6, pp. 1692–1699.e6. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.08.021> (In English)
- Griffin, D. K., Handyside, A. H., Penketh, R. J. et al. (1991) Fluorescent in-situ hybridization to interphase nuclei of human preimplantation embryos with X and Y chromosome specific probes. *Human Reproduction*, vol. 6, no. 1, pp. 101–105. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a137241> (In English)
- Handyside, A. H., Kontogianni, E. H., Hardy, K., Winston, R. M. (1990) Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature*, vol. 344, no. 6268, pp. 768–770. <https://doi.org/10.1038/344768a0> (In English)
- Jansen, R. P. (2000) Origin and persistence of the mitochondrial genome. *Human Reproduction*, vol. 15, no. 2, pp. 1–10. [https://doi.org/10.1093/humrep/15.suppl\\_2.1](https://doi.org/10.1093/humrep/15.suppl_2.1) (In English)
- Kakourou, G., Mamas, T., Vrettou, C., Traeger-Synodinos, J. (2022) An update on non-invasive approaches for genetic testing of the preimplantation embryo. *Current Genomics*, vol. 23, no. 5, pp. 337–352. <https://doi.org/10.2174/1389202923666220927111158> (In English)
- Kalatova, B., Jesenska, R., Hlinka, D., Dudas, M. (2015) Tripolar mitosis in human cells and embryos: Occurrence, pathophysiology and medical implications. *Acta Histochemica*, vol. 117, no. 1, pp. 111–125. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2014.11.009> (In English)



- Korsak, V. S. (2022) *Rukovodstvo po klinicheskoy embriologii [Guide to Clinical Embryology]*. Moscow: Media Sfera Publ., 250 p. (In Russian)
- Kuliev, A., Rechitsky, S., Verlinsky, O. et al. (1999) Birth of healthy children after preimplantation diagnosis of thalassemias. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, vol. 16, no. 4, pp. 207–211. <https://doi.org/10.1023/a:1020316924064> (In English)
- Lebedev, I. N., Karamysheva, T. V., Elisaphenko, E. A. et al. (2021) Prenatal diagnosis of small supernumerary marker chromosome 10 by array-based comparative genomic hybridization and microdissected chromosome sequencing. *Biomedicines*, vol. 9, no. 8, article 1030. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9081030> (In English)
- Lee, A. M., Connell, M. T., Csokmay, J. M., Styer, A. K. (2016) Elective single embryo transfer- the power of one. *Contraception and Reproductive Medicine*, vol. 1, article 11. <https://doi.org/10.1186/s40834-016-0023-4> (In English)
- Li, H., Zhang, S. (2017) Functions of vitellogenin in eggs. *Results and Problems in Cell Differentiation*, vol. 63, pp. 389–401. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-60855-6\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-319-60855-6_17) (In English)
- Magli, M. C., Pomante, A., Cafueri, G. et al. (2016) Preimplantation genetic testing: polar bodies, blastomeres, trophoctoderm cells, or blastocoelic fluid? *Fertility and Sterility*, vol. 105, no. 3, pp. 676–683. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.11.018> (In English)
- Marlow, F. L. (2010) Oocyte polarity and the embryonic axes: The Balbiani body, an ancient oocyte asymmetry. In: *Maternal control of development in Vertebrates: My mother made me do it!* San Rafael: Morgan & Claypool Life Sciences Publ., [Online]. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53189/> (accessed 11.02.2024). (In English)
- Mekina, I. D. (2021) Otsenka kachestva doimplantatsionnykh embrionov cheloveka [Quality assessment of preimplantation human embryos]. In: I. Yu. Kogan (ed.). *Ekstrakorporal'noe oplodotvorenije [In vitro fertilization]*. Moscow: GEOTAR-Media Publ., pp. 249–260. <https://doi.org/10.33029/9704-5941-6-IVF-2021-1-368> (In Russian)
- Munné, S., Lee, A., Rosenwaks, Z., Grifo, J., Cohen, J. (1993) Fertilization and early embryology: Diagnosis of major chromosome aneuploidies in human preimplantation embryos. *Human Reproduction*, vol. 8, no. 12, pp. 2185–2191. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a138001> (In English)
- Palini, S., Galluzzi, L., De Stefani, S. et al. (2013) Genomic DNA in human blastocoele fluid. *Reproductive BioMedicine Online*, vol. 26, no. 6, pp. 603–610. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.02.012> (In English)
- Puppo, I. L., Tonyan, Z. N., Saifitdinova, A. F. et al. (2023) Evaluating chromosomal segregation in a family where both spouses carry an autosomal translocation. *Reproductive and Developmental Medicine*, vol. 7, no. 3, pp. 189–192. <https://doi.org/10.1097/RD9.0000000000000041> (In English)
- Qi, L., Chen, X., Wang, J. et al. (2019) Mitochondria: The panacea to improve oocyte quality? *Annals of Translational Medicine*, vol. 7, no. 23, article 789. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.12.02> (In English)
- Rubio, C., Navarro-Sánchez, L., García-Pascual, C. M. et al. (2020) Multicenter prospective study of concordance between embryonic cell-free DNA and trophoctoderm biopsies from 1301 human blastocysts. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, vol. 223, no. 5, pp. 751.e1–751.e13. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.04.035> (In English)
- Saifitdinova, A. F., Pavlova, O. A., Zelinskij, A. A. et al. (2023) Polnogenomnaya amplifikatsiya malykh količestv DNK dlya opredeleniya molekulyarnogo kariotipa kletok [Whole genome amplification of small amounts of DNA to determine the molecular karyotype of cells]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 324–334. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-324-334> (In Russian)
- Tao, J., Tamis, R., Fink, K. et al. (2002) The neglected morula/compact stage embryo transfer. *Human Reproduction*, vol. 17, no. 6, pp. 1513–1518. <https://doi.org/10.1093/humrep/17.6.1513> (In English)
- Thornhill, A. R., Handyside, A. H., Ottolini, C. et al. (2015) Karyomapping-a comprehensive means of simultaneous monogenic and cytogenetic PGD: Comparison with standard approaches in real time for Marfan syndrome. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, vol. 32, no. 3, pp. 347–356. <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0405-y> (In English)
- Tonyan, Z. N., Puppo, I. L., Saifitdinova, A. F. et al. (2024) Assessment of quadrivalent characteristics influencing chromosome segregation by analyzing human preimplantation embryos from reciprocal translocation carriers. *Comparative Cytogenetics*, vol. 18, pp. 1–13. <https://doi.org/10.3897/compcytogen.18.115070> (In English)
- Uyar, A., Seli, E. (2014) Metabolomic assessment of embryo viability. *Seminars in Reproductive Medicine*, vol. 32, no. 2, pp. 141–152. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1363556> (In English)
- Vera-Rodriguez, M., Diez-Juan, A., Jimenez-Almazan, J. et al. (2018) Origin and composition of cell-free DNA in spent medium from human embryo culture during preimplantation development. *Human Reproduction*, vol. 33, no. 4, pp. 745–756. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey028> (In English)
- Verlinsky, Y., Cieslak, J., Ivakhnenko, V. et al. (1996) Birth of healthy children after preimplantation diagnosis of common aneuploidies by polar body fluorescent in situ hybridization analysis. *Fertility and Sterility*, vol. 66, no. 1, pp. 126–129. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)58399-x](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)58399-x) (In English)

- Wells, D., Escudero, T., Levy, B. et al. (2002) First clinical application of comparative genomic hybridization and polar body testing for preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Fertility and Sterility*, vol. 78, no. 3, pp. 543–549. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(02\)03271-5](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(02)03271-5) (In English)
- Zhang, J., Chiodini, R., Badr, A., Zhang, G. (2011) The impact of next-generation sequencing on genomics. *Journal of Genetics and Genomics*, vol. 38, no. 3, pp. 95–109. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2011.02.003> (In English)
- Zhao, Q., Yin, T., Peng, J. et al. (2013) Noninvasive metabolomic profiling of human embryo culture media using a simple spectroscopy adjunct to morphology for embryo assessment in in vitro fertilization (IVF). *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 14, no. 4, pp. 6556–6570. <https://doi.org/10.3390/ijms14046556> (In English)
- Zhigalina, D. I., Skryabin, N. A., Artyukhova, V. G. et al. (2016) Molecular karyotyping by using cell-free DNA from human blastocoele fluid, embryoblast and trophoblast cells. *Tsitologiya*, vol. 58, no. 6, pp. 488–492. (In English)



Check for updates

Экспериментальные статьи

УДК 577.2

EDN ITRYEN

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-294-306>

## Малые белки теплового шока способны защитить клетки млекопитающих от кофилинопатии

Б. Ф. Щёголев<sup>✉1</sup>, Е. Ю. Илатовская<sup>2</sup>, Е. А. Никитина<sup>1,2</sup>, Е. В. Савватеева-Попова<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> Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена,  
191186, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, д. 48

### Сведения об авторах

Борис Федорович Щёголев, SPIN-код: [1239-3324](#), Scopus AuthorID: [6701534523](#), Researcher ID: [J-6953-2018](#), ORCID: [0000-0001-5500-2837](#), e-mail: [shcheg@mail.ru](mailto:shcheg@mail.ru)

Елена Юрьевна Илатовская, e-mail: [latofski2497@gmail.com](mailto:latofski2497@gmail.com)

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

Елена Владимировна Савватеева-Попова, SPIN-код: [2559-4778](#), Scopus AuthorID: [6603078303](#), e-mail: [esavvateeva@mail.ru](mailto:esavvateeva@mail.ru)

**Для цитирования:** Щёголев, Б. Ф., Илатовская, Е. Ю., Никитина, Е. А., Савватеева-Попова, Е. В. (2024) Малые белки теплового шока способны защитить клетки млекопитающих от кофилинопатии. *Интегративная физиология*, т. 5, № 3, с. 294–306. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-294-306> EDN ITRYEN

**Получена** 16 октября 2024; прошла рецензирование 6 ноября 2024; принята 8 ноября 2024.

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

**Права:** © Б. Ф. Щёголев, Е. Ю. Илатовская, Е. А. Никитина, Е. В. Савватеева-Попова (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

**Аннотация.** Регуляция динамики актинового цитоскелета играет фундаментальную роль в жизнедеятельности клетки. К группе актин-связывающих белков относится семейство актин-деполимеризующий фактор (ADF) / кофилины. Взаимодействие цитоскелета клеток нервной ткани с белками — представителями семейства ADF/кофилинов может приводить к развитию нейродегенеративных заболеваний. Для млекопитающих характерна экспрессия трех форм ADF/кофилинов: дестрин, кофилин-1 и кофилин-2. В то же время при стрессорных воздействиях в клетках млекопитающих экспрессируются малые белки теплового шока мБТШ27, для которых характерна широкая специфичность к белкам-мишеням. В предположении, что белок мБТШ27 способен связывать ряд ADF/кофилинов, с использованием программы ClusPro 2.0 был проведен докинг этих трех белков ADF/кофилинов в 24-мерный белковый комплекс мБТШ27. Показано, что сильнее всего с мБТШ27 связывается кофилин-1, затем дестрин и слабее всего — кофилин-2. При этом реконструкция F-актина — основного белка цитоскелета, ответственного за увеличение количества и размеров дендритных шипиков, а также синаптическую пластичность, модулируется именно кофилином-1. Таким образом, мБТШ27 способен осуществлять шаперонную функцию относительно ADF/кофилинов, защищая клетки от их высокой концентрации.

**Ключевые слова:** нейродегенеративные заболевания, цитоскелет клеток, ADF/кофилины, малый белок теплового шока, докинг белка в белок, шаперонная функция



# Small heat shock proteins protect mammalian cells from cofilinopathy

B. F. Shchegolev <sup>✉1</sup>, E. Yu. Ilatovskaya <sup>2</sup>, E. A. Nikitina <sup>1,2</sup>, E. V. Savvateeva-Popova <sup>1</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

## Authors

Boris F. Shchegolev, SPIN: [1239-3324](#), Scopus Author ID: [6701534523](#), Researcher ID: [J-6953-2018](#), ORCID: [0000-0001-5500-2837](#), e-mail: [shcheg@mail.ru](mailto:shcheg@mail.ru)

Elena Yu. Ilatovskaya, e-mail: [latofski2497@gmail.com](mailto:latofski2497@gmail.com)

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

Elena V. Savvateeva-Popova, SPIN: [2559-4778](#), Scopus AuthorID: [6603078303](#), e-mail: [esavvateeva@mail.ru](mailto:esavvateeva@mail.ru)

**For citation:** Shchegolev, B. F., Ilatovskaya, E. Yu., Nikitina, E. A., Savvateeva-Popova, E. V. (2024) Small heat shock proteins protect mammalian cells from cofilinopathy. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 3, pp. 294–306. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-294-306> EDN ITRYEN

**Received** 16 October 2024; reviewed 6 November 2024; accepted 8 November 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:** © B. F. Shchegolev, E. Yu. Ilatovskaya, E. A. Nikitina, E. V. Savvateeva-Popova (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](#).

**Abstract.** The regulation of actin cytoskeleton dynamics is crucial for cellular function. The actin-depolymerizing factor (ADF)/cofilin family of actin-binding proteins plays a significant role in this process. Dysregulation of the interaction between neural tissue cell cytoskeletons and ADF/cofilin proteins can contribute to the development of neurodegenerative diseases. Mammals typically express three forms of ADF/cofilins: destrin, cofilin-1, and cofilin-2. Under stress conditions, small heat shock proteins (sHsp27), known for their broad specificity to target proteins, are upregulated in mammalian cells. We hypothesized that sHsp27 proteins may bind ADF/cofilins, and used the ClusPro 2.0 tool for docking simulations of these three ADF/cofilins into a 24-dimensional sHsp27 protein complex. Our results revealed that cofilin-1 formed the strongest interaction with sHsp27, followed by destrin and cofilin-2. Notably, cofilin-1 modulates the remodeling of F-actin, a key cytoskeletal protein involved in dendritic spine formation and synaptic plasticity. Thus, sHsp27 may serve as a chaperone for ADF/cofilins, protecting cells from their harmful accumulation.

**Keywords:** neurodegenerative diseases, cell cytoskeleton, ADF/cofilins, small heat shock protein, protein-protein docking, chaperone function

## Введение

Важнейшую роль в развитии нейродегенеративных заболеваний (НДЗ) играют нарушения в работе цитоскелета клеток нервной ткани, вызывающие, в том числе, и снижение синаптической пластичности (Wang et al. 2020). К подобным нарушениям может приводить, например, взаимодействие с белками — представителями семейства актин-деполимеризующего фактора (ADF) / кофилинов, активно участвующих в реорганизации актинового цитоскелета (Maciver, Hussey 2002; Tanaka et al. 2018; Wonga, Sept 2011). В зависимости от концентрации ADF/кофилинов возможно два варианта реорганизации актинового цитоскелета: при низкой концентрации ADF/кофилинов они способствуют разборке F-актина посредством его диссоциации до мономерного G-актина (Kovaleva et al. 2019), тогда как

высокая концентрация белков ADF/кофилинов способствует нуклеации и полимеризации актина (Wang et al. 2020).

Обнаружено, что при сверхэкспрессии или гиперактивации ADF/кофилинов, а также при хроническом или остром стрессе, в нейритах нейронов образуются особые структуры — кофилин-актиновые палочки, нарушающие аксоплазматический транспорт и синаптические функции. Образование таких палочек приводит к потере дендритных шипиков, а также к ухудшению транспортной функции аксоплазмы, что в дальнейшем может приводить к развитию НДЗ (Wang et al. 2020).

Следует отметить, что в нормальных условиях в различных клетках, в том числе и в клетках нервной ткани, синтезируется большое количество разных белков, включая белки теплового шока (БТШ). Белки теплового шока

различными способами участвуют в фолдинге полипептидных цепочек, как в нормальных, так и в экстремальных условиях, а также способствуют ренатурации частично денатурированных или элиминации полностью денатурированных белков (Wang et al. 2020). Эти белки обнаружены у разных организмов от бактерий до млекопитающих, в том числе и у человека, и относятся к группе наиболее консервативных белков. Ранее нами при исследовании роли больших белков теплового шока при НДЗ была определена одна из функций белков БТШ70, которые активируются в клетках в ответ на различные формы стресса (Zhuravlev et al. 2022). Оказалось, что эти АТФ-связывающие белки, осуществляющие шаперонную функцию, способны конкурентно связывать 3-гидроксикинурунин (3-НОК), который в высоких концентрациях является критическим фактором развития многих НДЗ. При этом изменяется активность самого БТШ70, связанная с его участием в процессах стресса, обучения и формирования кратковременной памяти. В то же время эффективное связывание 3-НОК белком теплового шока БТШ70 является новым механизмом защиты клеток от высокой концентрации 3-НОК.

В нашей дальнейшей работе мы обратились еще к одной группе белков теплового шока — малым белкам теплового шока (мБТШ), которые также активируются при действии стресса. Малые белки теплового шока с молекулярными массами в интервале 12–43 кДа представляют отдельную группу среди белков теплового шока. Эти белки были выделены из архей, бактерий, растений и животных (MacRae 2000). Характерной чертой таких белков является независимость их деятельности от АТФ (в них отсутствует сайт связывания с АТФ), что позволяет этим белкам успешно функционировать без затраты собственных энергетических запасов клетки. Для большинства малых белков теплового шока характерна широкая специфичность к белкам-мишеням. Такие мБТШ образуют первую линию защиты от различных протеотоксических стрессов, связанных с неправильным свертыванием белка (Shatov et al. 2023).

Малый белок теплового шока мБТШ27 является повсеместно экспрессируемым молекулярным шапероном в клетках млекопитающих, играющим важную роль во многих физиологических процессах (Hao et al. 2007; Singh et al. 2017). Являясь АТФ-независимым, белок мБТШ27 защищает субстраты от необратимой агрегации и удерживает их в свернутом состоянии для последующей разборки. Отмечено, что мБТШ27 взаимодействует напрямую с F-актином (Gracef-

fa 2011; Gusev et al. 2002; Muranova et al. 2022). Кроме того, показано, что при развитии нейродегенеративных заболеваний наблюдается повышенный уровень мБТШ27, что явно неслучайно (Westerheide, Morimoto 2005). Наряду с этим мутации в гене мБТШ27 приводят к развитию нейродегенеративных расстройств, таких как болезнь Шарко-Мари-Тута и дистальная наследственная моторная невропатия (Holguin et al. 2022).

Белки мБТШ27 образуют димеры, которые собираются в большие 16–32 олигомерные комплексы (Gusev et al. 2002; Panasenکو et al. 2003). В работе МакРей (MacRae 2000) подчеркивается, что олигомеризация является необходимым условием для функционирования этого белка в качестве молекулярного шаперона. Оказывается, что мБТШ, хотя и способны связывать широкий спектр клеточных белков, предпочитают защищать определенные классы функциональных белков, таких как белки, связанные с трансляцией, и метаболические ферменты, что вполне может объяснить, почему они способны повышать устойчивость клеток-хозяев к различным видам стресса.

В работе Мурановой с соавторами (Muranova et al. 2022) отмечено, что малые белки теплового шока, возможно, обладают способностью к связыванию с некоторыми актин-связывающими белками. Именно к этой категории белков и относятся исследуемые нами ADF/кофилины. Основываясь на данном предположении, мы выдвинули гипотезу о том, что белок мБТШ27, являющийся одним из наиболее распространенных и повсеместно экспрессируемых малых белков теплового шока человека (Hayashi et al. 2021), может оказаться способным к связыванию ряда ADF/кофилинов, тем самым регулируя концентрацию кофилинов в клетках и образование актин-кофилиновых палочек. Именно поэтому проблема уменьшения концентрации ADF/кофилинов в клетках за счет возможных разнообразных ресурсов самой клетки становится чрезвычайно актуальной. Подобная постановка задачи в научной литературе до этого вообще не рассматривалась.

## Материалы и методы

В качестве модели малого белка теплового шока, потенциально способного к связыванию ADF/кофилинов, была выбрана модель сферического 24-мерного комплекса мБТШ27, состоящего из 12 димеров мБТШ27. Структура, свойства, а также шаперонная активность малых белков теплового шока, в том числе

и мБТШ27 подробно разобраны в работе Панасенко с соавторами (Panasenکو et al. 2003). В свою очередь в работе Наппи с соавторами (Narpi et al. 2020) отмечено, что именно 24-мерный олигомер мБТШ27 способен выполнять шаперонную или шапероноподобную функции, взаимодействуя с неправильно свернутыми или, как в нашем случае, специфическими белками.

Структура 24-мерного комплекса человека мБТШ27 (идентификатор PDB — 6DV5) представлена на рисунке 1, здесь и далее рисунки сделаны в программе PyMOL (PyMOL... 2024). Структура была получена в 2019 г. методом дифракции рентгеновских лучей с разрешением 3,6 Å. В растворе белки мБТШ27 существуют в виде крупных гетерогенных олигомеров с порами со средней массой 500 кДа. Масса их мономерной субъединицы составляет 22,8 кДа.

Как и у всех малых белков теплового шока, аминокислотная последовательность мБТШ27 состоит из трех областей (Shatov et al. 2023): N-концевой области (NTR), домена  $\alpha$ -кристаллина (ACD) и C-концевой области (CTR). Область NTR имеет различную длину, в основном она не структурирована и активно участвует в образовании крупных мБТШ-олигомеров. В свою очередь, центральный ACD домен высоко кон-

сервативен и хорошо структурирован. Обычно он строится из 80–100 аминокислотных остатков и содержит шесть-семь  $\beta$ -складок, расположенных в виде иммуноглобулиновой укладки, которая, в свою очередь, складывается в два  $\beta$ -листа, каждый из которых образован тремя-четырьмя  $\beta$ -нитями.

Основным строительным блоком интактного мБТШ-олигомера является димер. Неструктурированная CTR область обеспечивает растворимость этого гидрофобного белка и обеспечивает взаимодействия между отдельными субъединицами (Shatov et al. 2023).

Существуют пять форм кофилина, встречающихся в различных организмах эукариот: кофилин-1, кофилин-2, дестрин, депактин и актофорин (Maciver, Hussey 2002). Для млекопитающих в основном характерна экспрессия трех форм ADF-кофилинов: дестрин (актин-деполимеризующий фактор), кофилин-1 (немышечный) и кофилин-2 (мышечный) (Gusev et al. 2002; Wang et al. 2020).

В качестве материалов для задания входных данных наших расчетов по докингу трех упомянутых выше белков-кофилинов были использованы файлы из электронной базы данных Protein Data Bank (PDB) (Berman et al. 2000; Structure-guided discovery... 2024).

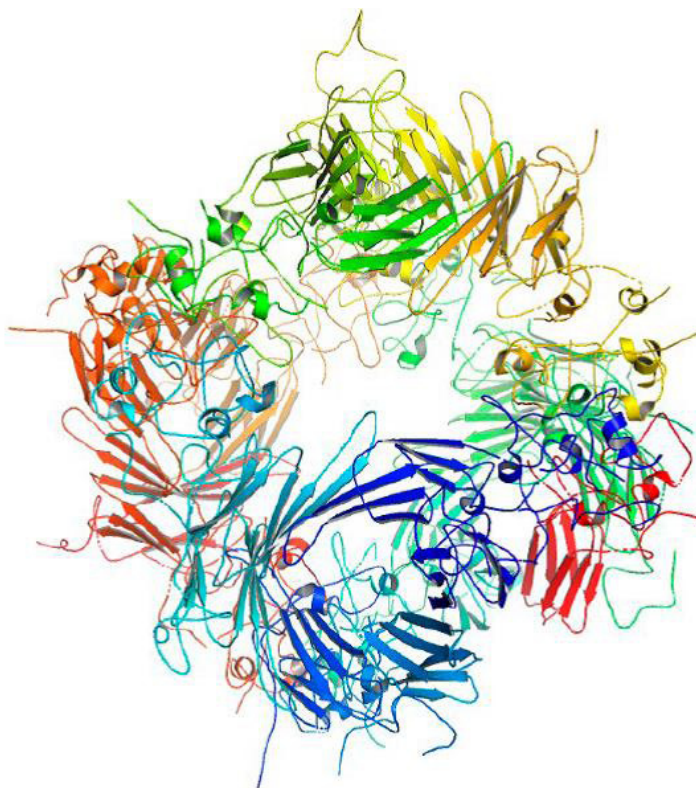


Рис. 1. Олигомерный комплекс 24-мерного мБТШ27 человека

Fig. 1. Oligomeric complex of 24-dimensional human sHsp27



Структура кофилина-1 (идентификатор PDB — 4BEX) представляет собой мономер точечного мутанта C147A кофилина-1 человека (рис. 2), была получена в 2013 г. методом дифракции рентгеновских лучей с разрешением 2,80 Å (Klejnot et al. 2013).

Структура кофилина-2 человека (рис. 3) (идентификатор PDB — 7M0G) представляет собой мономер кофилина-2b и была получена методом ядерного магнитного резонанса в твердом состоянии в 2022 г. (Kraus et al. 2022).

Структура дестрина (идентификатор PDB — 1AK6) представляет собой мономер дестрина

человека (рис. 4); была получена методом ядерного магнитного резонанса в растворе в 1996 г. (Hatanaka et al. 1996).

Для каждого из приведенных белков ADF/кофилинов характерен следующий тип строения: наличие домена ADF-H с несколькими дополнительными аминокислотными остатками, в их числе метионин на N-конце полипептидной цепи и около десяти аминокислотных остатков на C-конце (Shatov et al. 2023). Структуры кофилина-1 и кофилина-2 в значительной мере похожи, тогда как структура дестрина несколько отличается.

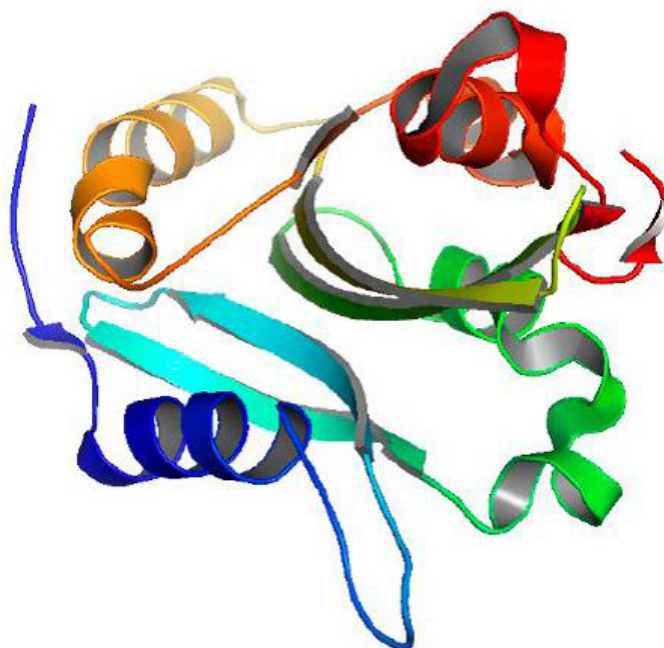


Рис. 2. Точечный мутант C147A мономера кофилина-1 человека

Fig. 2. Human cofilin-1 C147A monomer point mutant

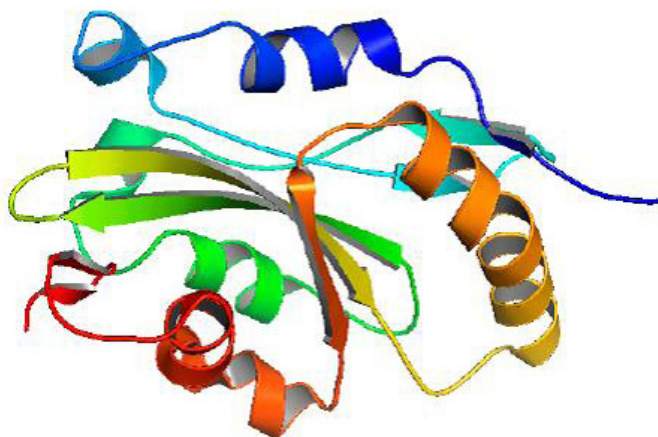


Рис. 3. Мономер кофилина-2b человека

Fig. 3. Human cofilin-2b monomer

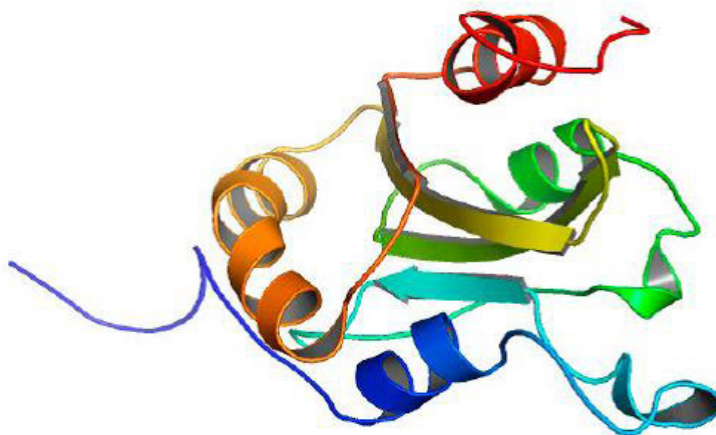


Рис. 4. Мономер дестрина человека

Fig. 4. Human destrin monomer

Докинг рассматриваемых белков ADF/кофилинов в белок 24-мерного комплекса мБТШ27 человека проводили с использованием общедоступного комплекса программ ClusPro 2.0 (ClusPro... 2024), реализованного на сервере Бостонского университета. Для ввода входных данных требуется только два файла в формате Protein Data Bank, представляющих структуры выбранного ADF/кофилина и мБТШ27. При расчетах использовали опцию «Метод уравнивания». Уникальная часть программы по высокоскоростному расчету на основе преобразований Фурье была создана сотрудником МФТИ А. М. Казённовым совместно с группой The Vajda Lab (Kozakov et al. 2010; 2017).

### Результаты и обсуждение

В рамках расчетов с помощью комплекса программ ClusPro 2.0 для модификации поиска оптимальной конформации конечных кластеров была применена скоринг-функция с большим вкладом электростатических взаимодействий. Кроме того, из шести возможных энергетических функций, следуя рекомендациям разработчиков программы, была выбрана электростатическая функция.

$$E = 0,40E_{\text{rep}} - 0,40E_{\text{attr}} + 1200E_{\text{elec}} + 1,00E_{\text{DARS}}$$

где  $E_{\text{rep}}$  и  $E_{\text{attr}}$  — вклады отталкивания и притяжения в энергию Ван-дер-Ваальсова взаимодействия,  $E_{\text{elec}}$  — энергия электростатического взаимодействия;  $E_{\text{DARS}}$  — вклады в энергию парного, структурно зависимого взаимодействия, описывающие десольватацию, т. е. изменение свободной энергии за счет удаления молекул воды из границы раздела двух сред.

В результате были получены следующие оценочные рейтинговые баллы:

- для кофилина-1    -1207,2
- для дестрина        -1143,6
- для кофилина-2    -971,6

К сожалению, полученные оценки не могут рассматриваться как мера сродства к связыванию. Для оценки связывания необходимо привлечь полученные в расчетах данные о количестве цепей между белками, участвующими в связывании, а также количестве водородных связей и солевых мостиков в них.

Все полученные результаты записываются в виде PDB-файла с дальнейшей расшифровкой с помощью программы PDBPlus (PyMOL3... 2024; Structure-guided discovery... 2024). Результаты расчетов, визуализированные на рисунке 5, показывают, что при взаимодействии мБТШ27 с кофилином-1 в связывании принимают участие только 8 из 24 цепей.

На рисунке 6 визуализирован результат докинга дестрина в мБТШ27, в связывании с дестрином принимают участие 10 из 24 цепей мБТШ27.

На рисунке 7 визуализированы результаты докинга кофилина-2 в мБТШ27. Оказалось, что в связывании участвуют 9 из 24 цепей мБТШ27.

Данные проведенных расчетов по оптимизации пространственного расположения трех исследуемых ADF/кофилинов внутри малого белка теплового шока мБТШ27 показывают, что самое большое количество солевых мостиков (по семь) образуют кофилин-1 и кофилин-2, тогда как дестрин образует всего лишь четыре таких мостика. В свою очередь самое большое количество значимых по энергетическим вкладам водородных связей с мБТШ27 образует кофилин-1, их 21; дестрин образует меньшее

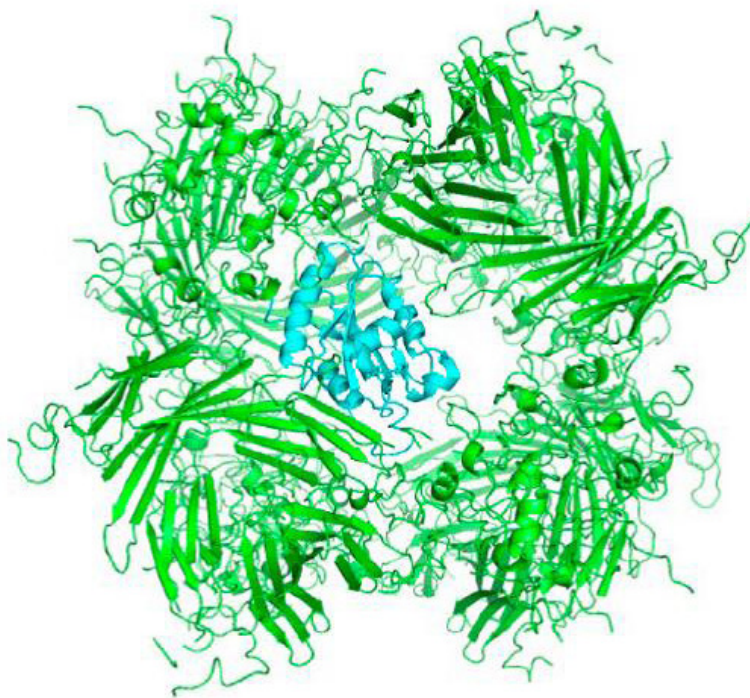


Рис. 5. Расположение кофилина-1 внутри мБТШ27. Белки изображены в виде вторичных структур. Зеленым цветом обозначены цепи мБТШ27, голубым — кофилина-1

Fig. 5. Localization of cofilin-1 within sHsp27. Proteins are depicted as secondary structures, with sHsp27 chains colored green and cofilin-1 chains colored blue.

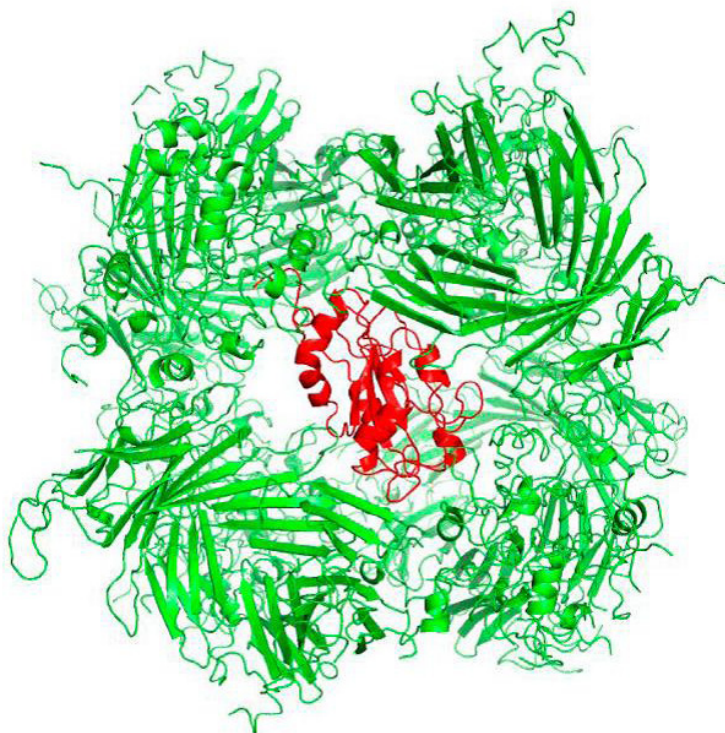


Рис. 6. Расположение дестрина внутри мБТШ27. Белки изображены в виде вторичных структур. Зеленым цветом обозначены цепи мБТШ27, красным — дестрина

Fig. 6. Localization of destrin within sHsp27. Proteins are depicted as secondary structures, with sHsp27 chains colored green and destrin colored red.





Рис. 7. Расположение кофилина-2 внутри мБТШ27. Белки изображены в виде вторичных структур. Зеленым цветом обозначены цепи мБТШ27, розовым — кофилина-2

Fig. 7. Localization of cofilin-2 within sHsp27. Proteins are depicted as secondary structures, with sHsp27 chains colored green and cofilin-2 chains colored pink

количество таких водородных связей — 16 и всего лишь 9 таких водородных связей образует кофилин-2. По-видимому, решающую роль в связывании играет образование водородных связей между молекулярными фрагментами ADF/кофилинов и фрагментами структуры, участвующими в связывании со стороны мБТШ27.

Приведем энергетические оценки возможного связывания ADF/кофилинов внутри мБТШ27 с учетом того, что образованные межбелковые водородные связи являются слабыми, этим

связям соответствуют межатомные расстояния порядка 3Å, а их энергия составляет приблизительно 1,5 ккал/моль на одну связь (Sheu et al. 2003). Для солевых мостиков в белках характерны соответствующие межатомные расстояния порядка 4Å и энергии связывания приблизительно 3 ккал/моль на одну связь (Wimley et al. 1996). В таблице 1 приведены оценки энергий связывания ADF/кофилинов с мБТШ27 с учетом всех слабых водородных связей и солевых мостиков, а также суммарные оценки связывания.

Табл. 1. Оценка энергии связывания ADF/кофилинов с мБТШ27 в ккал/моль

ADF/кофилин	Число водородных связей	Энергия водородных связей ккал/моль	Число солевых мостиков	Энергия солевых мостиков ккал/моль	Суммарная энергия связывания ккал/моль
Кофилин-1	21	31,5	7	21	52,5
Кофилин-2	9	13,5	7	21	34,5
Дестрин	16	24	4	12	36

Table 1. Evaluation of binding energy between ADF/cofilins and sHSP27, kcal/mol

ADF/cofilin	Number of hydrogen bonds	Hydrogen bond energy (kcal/mol)	Number of salt bridges	Energy of salt bridges (kcal/mol)	Total binding energy (kcal/mol)
Cofilin-1	21	31.5	7	21	52.5
Cofilin-2	9	13.5	7	21	34.5
Dextrin	16	24	4	12	36

Приведенные суммарные оценки энергий связывания ADF/кофилинов внутри мБТШ27 показывают, что сильнее всего с мБТШ27 связывается кофилин-1, затем следует дестрин и слабее всего связывается кофилин-2.

Согласно современным представлениям, биохимические каскады, активируемые в ответ на стрессорные воздействия, напрямую взаимосвязаны с некоторыми когнитивными функциями, такими как обучение и формирование памяти (Medvedeva et al. 2022). По-видимому, существует единый адаптационный механизм, лежащий в основе формирования стрессорной реакции и обучения, который позволяет организмам приспособиться к окружающей среде. В настоящее время это положение уже подтверждено экспериментально. Данные работы О. Г. Зацепиной с соавторами (Zatsepina et al. 2021) убедительно демонстрируют роль белка теплового шока БТШ70 в формировании памяти, помимо его важной роли в фолдинге и деградации белков. Показано, что транскрипционный фактор, который индуцирует экспрессию БТШ70 и других генов теплового шока, играет центральную роль в синаптической пластичности и консолидации памяти. Все это приводит к выводу о совместном эволюционировании механизмов стрессорной реакции и формирования памяти.

Относительно влияния мБТШ27 на когнитивные процессы известно немного. Наиболее важная функция мБТШ27 основана на его способности связывать ненативные белки и ингибировать агрегацию неправильно свернутых белков, поддерживая их в состоянии, способном к рефолдингу. Кроме того, он обладает антиапоптотической и антиоксидантной активностью. Помимо этого, с привлечением модели болезни Альцгеймера (БА) на мышах показано, что сверхэкспрессия мБТШ27 может облегчать некоторые симптомы БА, в частности, восстанавливать способность к пространственному обучению, нормализовать долговременную потенцию (long term potentiation, LTP) и уменьшать количество амилоидных бляшек в мозге (Tóth et al. 2013). В этой связи результаты наших расчетов — еще один шаг в понимании и разработке возможных путей терапевтических воздействий при лечении НДЗ, в том числе БА.

В XXI веке нейродегенеративные заболевания, характеризующиеся прогрессирующей деменцией, часто называют кофилинопатиями. Это обусловлено тем, что гиперактивация кофилина сопровождается образованием кофилин-актиновых комплексов, которые накапливаются в аксонах и дендритах нейронов, блокируя везикулярный транспорт, что является причиной атрофии нейритов. Нарушение как антероград-

ного, так и ретроградного транспорта в нейронах затрудняет процесс консолидации стимулов при обучении и формировании памяти. Ключевую роль в регуляции актинового каскада путем фосфорилирования кофилина по серину-3, ослабляя его актин-связывающую, расщепляющую и деполимеризующую активность, играет LIMK1 (Nikitina et al. 2024). Ранее было показано, что мутационное повреждение гена LIMK1 у мутанта дрозофилы *agn<sup>ts3</sup>* нарушает все типы памяти (Kaminskaya et al. 2012; 2015; Medvedeva et al. 2008; Nikitina et al. 2012; 2014a; 2014b; Zalomaeva et al. 2021).

В этой связи интересны данные о регулирующем влиянии мБТШ27 на динамику актиновых филаментов (Doshi et al. 2009). Показано, что мБТШ27 и актин колокализуются в клетках, кроме того наличие мБТШ27 важно для обеспечения подвижности клеток. Белок мБТШ27 ингибирует полимеризацию актина *in vitro*, связываясь с F-актином (Graceffa 2011). Ключевым регулятором динамики актина является кофилин. При низких концентрациях кофилин способствует разборке F-актина путем увеличения диссоциации до мономерного G-актина. F-актин также осуществляет контроль изменения морфологии шипиков. Инактивация кофилина способствует снижению обучения и вызывает тяжелые поведенческие аномалии (Nikitina et al. 2024). Экспериментально показано связывание мБТШ27 с актином, а также возможное связывание с кофилином, следующее из наших расчетов, может быть одним из возможных механизмов нейропротекции.

Проведенный недавно исследователями из Гонконга полногеномный анализ (Chine et al. 2019) показал, что мБТШ27 является частью транскрипционной сети, индуцируемой повреждением аксонов, в которую вовлечены гены, участвующие в адаптивных реакциях нейронов, особенно в регенерации аксонов. Обнаружено, что мБТШ27 способен защищать нейроны от нейротоксичности, вызванной химиотерапевтическими агентами, *in vivo*, включая дегенерацию афферентных нервных волокон, демиелинизацию, набухание митохондрий, апоптоз и восстановление потенциала действия чувствительных нервов. Отдельно отмечено участие мБТШ27 в нейропротекции против ишемического повреждения (Stetler et al. 2012). Чрезвычайно интересные результаты получены на дрозофиле, у которой нейрональная экспрессия мБТШ27 увеличивает продолжительность жизни и повышает устойчивость к окислительному стрессу, а также ослабляет токсичность, вызванную полиглутамином (Liao et al. 2008). Кроме того, показана стабилизация дендритных шипиков в нейронах, конститутивно

экспрессирующих мБТШ27 (Ruscher et al. 2011). Эти данные дополнительно свидетельствуют о вовлеченности мБТШ27 в обеспечение синаптической пластичности.

### Заключение

Таким образом, малый белок теплового шока мБТШ27 в виде 24-мерного олигомера, в предположении, что именно это и есть его функциональная нативная структура, способен связывать все три изучаемых белка семейства ADF-кофилинов, однако связывает он их с различной энергией. Вслед за связыванием мБТШ27 способен осуществлять шаперонную функцию в отношении рассматриваемых белков семейства ADF/кофилинов, структура которых может несколько отличаться от структуры правильно свернутых белков, например, за счет их частичной денатурации из-за некоторого повышения температуры. Во всяком случае мы предполагаем продолжить наши расчеты со связыванием таких ADF/кофилинов. Стоит отметить, что наши результаты не исключают возможность связывания белков семейства ADF/кофилинов с белком мБТШ27, который может находиться и в другом виде (например, в виде 26–32 олигомерных комплексов), что также будет предметом наших дальнейших расчетов.

Реконструкция F-актина — основного белка цитоскелета, ответственного за увеличение размеров дендритных шипиков, модулируется именно кофилином-1 (Wang et al. 2020), который, по данным наших расчетов, связывается сильнее всего с мБТШ27, предположительно защищая на первом этапе нервные клетки от уменьшения количества и размеров дендритных шипиков, а, следовательно, и от нарушений синаптической пластичности. Следует напомнить, что именно дендритные шипики являются первичными участками приема информации, а также клеточными субстратами для осуществления синаптической передачи (Wang et al. 2020).

Необходимо отметить, что, хотя малые белки теплового шока не содержат сайт связывания АТФ, не стоит исключать, что для образования еще более прочных связей с белками — представителями семейства ADF-кофилины — белки мБТШ27 могут нуждаться в предварительной активации путем каких-либо структурных изменений, вызванных, например, повышением температуры. Для возможного объяснения такого эффекта следует обратиться к структуре мБТШ27. Образование димеров, а затем 24-мерных олигомерных комплексов такого белка, во многом происходит за счет водородных связей их  $\beta$ -складок. Некоторое повышение

температуры приводит к разрыву части водородных связей, в том числе и в  $\beta$ -складках. В свою очередь такие разорванные водородные связи способны образовывать дополнительные водородные связи с соответствующими фрагментами ADF-белков-кофилинов, увеличивая энергию их связывания внутри мБТШ27. С другой стороны, фосфорилирование мБТШ27 приводит к резкому снижению его активности (Hao et al. 2007), что объясняется, на наш взгляд, как снижением возможностей к связыванию внутри мБТШ27 за счет уже образованных водородных связей с фосфорными остатками, так и за счет уменьшения свободного пространства, доступного для связывания других белков.

Для подтверждения обнаруженного эффекта связывания ряда ADF/кофилинов с мБТШ27 в клетке и того, что данное взаимодействие может оказывать влияние на НДЗ, а также возможной шаперонной функции мБТШ27 необходимо продолжение данных исследований в условиях *in vitro* и *in vivo*.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

### Conflict of Interest

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

### Вклад авторов

а. Щёголев Борис Федорович — планирование эксперимента, обсуждение результатов, написание статьи;

б. Илатовская Елена Юрьевна — постановка эксперимента, обработка данных, обсуждение результатов;

в. Никитина Екатерина Александровна — планирование эксперимента, обсуждение результатов, написание статьи;

г. Савватеева-Попова Елена Владимировна — обсуждение результатов.

### Author Contributions

a. Boris F. Shchegolev — experiment planning, results discussion, manuscript writing;

b. Elena Yu. Ilatovskaya — experiment setting, data processing, results discussion;

c. Ekaterina A. Nikitina — experiment planning, results discussion, manuscript writing;

d. Elena V. Savvateeva-Popova — results discussion.



## References

- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z. et al. (2000) The protein data bank. *Nucleic Acids Research*, vol. 28, no. 1, pp. 235–242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235> (In English)
- Chine, V. B., Au, N. P. B., Kumar, G., Ma, C. H. E. (2019) Targeting axon integrity to prevent chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Molecular Neurobiology*, vol. 56, no. 5, pp. 3244–3259. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1301-8> (In English)
- ClusPro 2.0. (2024) [Online]. Available at: <https://cluspro.bu.edu/> (accessed 15.10.2024). (In English)
- Doshi, B., Hightower, L. E., Lee, J. (2009) The role of Hsp27 and actin in the regulation of movement in human cancer cells responding to heat shock. *Cell Stress and Chaperones*, vol. 14, no. 5, pp. 445–457. <https://doi.org/10.1007/s12192-008-0098-1> (In English)
- Graceffa, P. (2011) Hsp27-actin interaction. *Biochemistry Research International*, vol. 2011, no. 1, article 901572. <https://doi.org/10.1155/2011/901572> (In English)
- Gusev, N. B., Bogachova, N. V., Marston, S. B. (2002) Structure and properties of small heat shock proteins (sHsp) and their interaction with cytoskeleton proteins. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 67, no. 5, pp. 511–519. <https://doi.org/10.1023/a:1015549725819> (In English)
- Hao, X., Zhang, S., Timakov, B., Zhang, P. (2007) The Hsp27 gene is not required for Drosophila development but its activity is associated with starvation resistance. *Cell Stress & Chaperones*, vol. 12, no. 4, pp. 364–372. <https://doi.org/10.1379/csc-308.1> (In English)
- Hatanaka, H., Ogura, K., Moriyama, K. et al. (1996) Tertiary structure of destrin and structural similarity between two actin-regulating protein families. *Cell*, vol. 85, no. 7, pp. 1047–1055. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81305-7](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81305-7) (In English)
- Hayashi, J., Ton, J., Negi, S. et al. (2021) The effect of oxidized dopamine on the structure and molecular chaperone function of the small heat-shock proteins,  $\alpha$ B-crystallin and Hsp27. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 7, article 3700. <https://doi.org/10.3390/ijms22073700> (In English)
- Holguin, B. A., Hildenbrand, Z. L., Bernal, R. A. (2022) Insights into the role of heat shock protein 27 in the development of neurodegeneration. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, vol. 15, article 868089. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.868089> (In English)
- Kaminskaya, A. N., Nikitina, E. A., Medvedeva, A. V. et al. (2015) The influence of gene limk1 polymorphism on learning and memory and formation, pCREB distribution and aggregates formation in neuromuscular junctions of Drosophila melanogaster. *Russian Journal of Genetics*, vol. 51, no. 6, pp. 582–590. <https://doi.org/10.1134/S1022795415060071> (In English)
- Kaminskaya, A. N., Nikitina, E. A., Payalina, T. L. et al. (2012) Effect of the LIM kinase 1 isoform ratio on Drosophila melanogaster courtship behavior: A complex approach. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, vol. 2, no. 5, pp. 367–377. <https://doi.org/10.1134/S2079059712050024> (In English)
- Klejnot, M., Gabrielsen, M., Cameron, J. et al. (2013) Analysis of the human cofilin 1 structure reveals conformational changes required for actin binding. *Acta Crystallographica Section D*, vol. 69, no. 9, pp. 1780–1788. <https://doi.org/10.1107/S0907444913014418> (In English)
- Kovaleva, T. F., Maksimova, N. S., Zhukov, I. Y. et al. (2019) Cofilin: Molecular and cellular functions and its role in the functioning of the nervous system. *Neurochemical Journal*, vol. 13, no. 1, pp. 11–19. <https://doi.org/10.1134/S1819712419010124> (In English)
- Kozakov, D., Hall, D. R., Beglov, D. et al. (2010) Achieving reliability and high accuracy in automated protein docking: ClusPro, PIPER, SDU, and stability analysis in CAPRI rounds 13–19. *Proteins*, vol. 78, no. 15, pp. 3124–3130. <https://doi.org/10.1002/prot.22835> (In English)
- Kozakov, D., Hall, D. R., Xiab, B. et al. (2017) The ClusPro web server for protein-protein docking. *Nature Protocols*, vol. 12, no. 2, pp. 255–278. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.169> (In English)
- Kraus, J., Russell, R. W., Kudryashova, E. et al. (2022) Magic angle spinning NMR structure of human cofilin-2 assembled on actin filaments reveals isoform-specific conformation and binding mode. *Nature Communications*, vol. 13, no. 1, article 2114. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29595-9> (In English)
- Liao, P. C., Lin, H. Y., Yuh, C. H. et al. (2008) The effect of neuronal expression of heat shock proteins 26 and 27 on lifespan, neurodegeneration, and apoptosis in Drosophila. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 376, no. 4, pp. 637–641. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.08.161> (In English)
- Maciver, S. K., Hussey, P. J. (2002) The ADF/cofilin family: Actin-remodeling proteins. *Genome Biology*, vol. 3, no. 5, article reviews3007. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-5-reviews3007> (In English)
- MacRae, T. H. (2000) Structure and function of small heat shock/ $\alpha$ -crystallin proteins: Established concepts and emerging ideas. *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol. 57, pp. 899–913. <https://doi.org/10.1007/pl00000733> (In English)
- Medvedeva, A. V., Molotkov, D. A., Nikitina, E. A. et al. (2008) Systemic regulation of genetic and cytogenetic processes by a signal cascade of actin remodeling: Locus agnostic in Drosophila. *Russian Journal of Genetics*, vol. 44, no. 6, pp. 669–681. <https://doi.org/10.1134/S1022795408060069> (In English)

- Medvedeva, A. V., Rebrova, A. V., Zalomaeva, E. S. et al. (2022) Role of LIM kinase 1 in dopaminergic and serotonergic neurons in genome stability, learning and memory during stress response to weakening of Earth's magnetic field in *Drosophila*. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 58, no. 1, pp. 35–44. <https://doi.org/10.1134/S0022093022010033> (In English)
- Muranova, L. K., Shatov, V. M., Gusev, N. B. (2022) Role of small heat shock proteins in the remodeling of actin microfilaments. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 87, no. 8, pp. 800–811. <https://doi.org/10.1134/S0006297922080119> (In English)
- Nappi, L., Aguda, A. H., Nakouzi, N. A. et al. (2020) Ivermectin inhibits HSP27 and potentiates efficacy of oncogene targeting in tumor models. *Journal of Clinical Investigation*, vol. 130, no. 2, pp. 699–714. <https://doi.org/10.1172/JCI130819> (In English)
- Nikitina, E. A., Kaminskaya, A. N., Molotkov, D. A. et al. (2014a) 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. <http://dx.doi.org/10.1134/S0022093014020082> (In English)
- Nikitina, E. A., Medvedeva, A. V., Dolgaya, Yu. F. et al. (2012) Involvement of GDNF and LIMK1 and heat shock proteins in *Drosophila* learning and memory formation. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 48, no. 5–6, pp. 529–539. <https://doi.org/10.1134/S0022093012050076> (In English)
- Nikitina, E. A., Medvedeva, A. V., Zakharov, G. A., Savvateeva-Popova, E. V. (2014b) The *Drosophila* agnostic locus: Involvement to formation of cognitive defects in Williams syndrome. *Acta Naturae*, vol. 6, no. 2 (21), pp. 53–61. <https://doi.org/10.32607/20758251-2014-6-2-53-61> (In English)
- Nikitina, E. A., Zalomaeva, E. S., Medvedeva, A. V. et al. (2024) The role of LIM kinase 1 in memory processes. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 54, no. 5, pp. 764–780. <https://doi.org/10.1007/s11055-024-01656-0> (In English)
- Panasenko, O. O., Kim, M. V., Gusev, N. B. (2003) Структура и свойства малых белков теплового шока [Structure and properties of small heat shock proteins]. *Uspekhi biologicheskoy khimii — Biochemistry (Moscow)*, vol. 43, pp. 59–98. (In Russian)
- Protein Data Bank. (2024) [Online]. Available at: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> (accessed 15.10.2024). (In English)
- PyMOL3. (2024) [Online]. Available at: <https://www.schrodinger.com/products/pymol> (accessed 15.10.2024). (In English)
- PyMOL Molecular Graphics System. (2024) [Online]. Available at: <https://lists.sourceforge.net/lists/listinfo/pymol-users> (accessed 15.10.2024). (In English)
- Ruscher, K., Fernandes, E., Capela, J. P. et al. (2011) Effect of 3,4-methylenedioxamphetamine on dendritic spine dynamics in rat neocortical neurons — involvement of heat shock protein 27. *Brain Research*, vol. 1370, pp. 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.11.022> (In English)
- Shatov, V. M., Muranova, L. K., Zamotina, M. A. et al. (2023)  $\alpha$ -crystallin domains of five human small heat shock proteins (sHsps) differ in dimer stabilities and ability to incorporate themselves into oligomers of full-length sHsps. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, no. 2, article 1085. <https://doi.org/10.3390/ijms24021085> (In English)
- Sheu, S.-Y., Yang, D.-Y., Selzle, H. L., Schlag, E. W. (2003) Energetics of hydrogen bonds in peptides. *Biophysics and Computational Biology*, vol. 100, no. 22, pp. 12683–12687. <https://doi.org/10.1073/pnas.2133366100> (In English)
- Singh, M. K., Sharma, B., Tiwari, P. K. (2017) The small heat shock protein Hsp27: Present understanding and future prospects. *Journal of Thermal Biology*, vol. 69, pp. 149–154. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.06.004> (In English)
- Stetler, R. A., Gao, Y., Zhang, L. et al. (2012) Phosphorylation of Hsp27 by protein kinase D is essential for mediating neuroprotection against ischemic neuronal injury. *Journal of Neuroscience*, vol. 32, no. 8, pp. 2667–2682. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5169-11.2012> (In English)
- Structure-guided discovery of ivermectin as an inhibitor of heat shock protein-27 phosphorylation and depolymerization. (2024) [Online]. Available at: <https://pdbj.org/mine/summary/6dv5> (accessed 15.10.2024). (In English)
- Tanaka, K., Takeda, S., Mitsuoka, K. et al. (2018) Structural basis for cofilin binding and actin filament disassembly. *Nature Communications*, vol. 9, article 1860. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04290-w> (In English)
- Tóth, M. E., Szegedi, V., Varga, E. et al. (2013) Overexpression of Hsp27 ameliorates symptoms of Alzheimer's disease in APP/PS1 mice. *Cell Stress and Chaperones*, vol. 18, no. 6, pp. 759–771. <https://doi.org/10.1007/s12192-013-0428-9> (In English)
- Wang, Q., Yuan, W., Yang, X. et al. (2020) Role of cofilin in Alzheimer's disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, vol. 8, article 584898. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.584898> (In English)
- Westerheide, S. D., Morimoto, R. I. (2005) Heat shock response modulators as therapeutic tools for diseases of protein conformation. *Journal of Biological Chemistry*, vol. 280, no. 39, pp. 33097–33100. <https://doi.org/10.1074/jbc.R500010200> (In English)

- Wimley, W. C., Gawrisch, K., Creamer, T. P., White, S. H. (1996) Direct measurement of salt-bridge solvation energies using a peptide model system: Implications for protein stability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, vol. 93, no. 7, pp. 2985–2990. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.7.2985> (In English)
- Wonga, D. Y., Sept, D. (2011) The interaction of cofilin with the actin filament. *Journal of Molecular Biology*, vol. 413, no. 1, pp. 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2011.08.039> (In English)
- Zalomaeva, E. S., Falina, V. S., Medvedeva, A. V. et al. (2021) Obuchenie i zabyvanie u *Drosophila melanogaster* pri polimorfizme po genu limk1 [Learning and forgetting in *Drosophila melanogaster* in limk1 gene polymorphism]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 2, no. 3, pp. 318–327. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-3-318-327> (In Russian)
- 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., 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, no. 3, pp. 1862–1871. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02704-3> (In English)





Check for updates

Экспериментальные статьи

УДК 612.826 + 612.884

EDN JAKGNU

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-307-317>

## Эффекты колита на вовлечение серотонинергических и несеротониновых нейронов в ноцицептивную активацию ядер шва

Б. М. Сушкевич<sup>✉1</sup>, А. А. Михалкин<sup>1</sup>, О. А. Любашина<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

Борис Михайлович Сушкевич, SPIN-код: [9154-4183](#), ORCID: [0000-0003-1359-439X](#), e-mail: [bob-jn@mail.ru](mailto:bob-jn@mail.ru)

Александр Александрович Михалкин, SPIN-код: [9942-9379](#), Scopus AuthorID: [55210047400](#), ORCID: [0000-0003-2342-6357](#), e-mail: [mikhalkin@infran.ru](mailto:mikhalkin@infran.ru)

Ольга Анатольевна Любашина, SPIN-код: [5257-4057](#), Scopus AuthorID: [6505777191](#), ResearcherID: [A-6241-2017](#), ORCID: [0000-0002-6296-4628](#), e-mail: [lyubashinaoa@infran.ru](mailto:lyubashinaoa@infran.ru)

**Для цитирования:** Сушкевич, Б. М., Михалкин, А. А., Любашина, О. А. (2024) Эффекты колита на вовлечение серотонинергических и несеротониновых нейронов в ноцицептивную активацию ядер шва. *Интегративная физиология*, т. 5, № 3, с. 307–317. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-307-317> EDN JAKGNU

**Получена** 27 ноября 2024; прошла рецензирование 2 декабря 2024; принята 3 декабря 2024.

**Финансирование:** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00151, <https://rscf.ru/project/23-25-00151/>.

**Права:** © Б. М. Сушкевич, А. А. Михалкин, О. А. Любашина (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

**Аннотация.** Серотонин-синтезирующие большое (БЯШ) и дорсальное (ДЯШ) ядра шва являются ключевыми центрами обработки болевых сигналов. Эти ядра, помимо серотонинергических ноцицептивных нейронов, содержат множество боль-реактивных несеротониновых клеток. Ранее нами было показано, что БЯШ и ДЯШ содержат различающиеся по морфо-функциональным характеристикам популяции нейронов, которые специализированы в отношении висцеральной или соматической ноцицепции и специфически изменяют активность при кишечном воспалении. Однако остается неясным, как при этом изменяется общий уровень активации этих структур висцеральными и соматическими болевыми входами, а также относительный вклад в этот процесс серотонинергических и несеротониновых механизмов. Целью нашего исследования, выполненного на анестезированных самцах крыс Вистар с использованием иммуногистохимических методов, являлось определение индуцируемых колитом изменений в количестве с-Fos-синтезирующих нейронов БЯШ и ДЯШ, активируемых висцеральным (колоректальное растяжение) и соматическим (сдавливание хвоста) болевыми раздражениями, и в соотношении среди них серотонинергических и несеротониновых клеток. Установлено, что в отсутствие патологии реципиентами висцеральных болевых сигналов в БЯШ и ДЯШ преимущественно являются несеротониновые нейроны, тогда как соматическая ноцицепция, наряду с несеротониновыми, активирует серотониновые клетки. Экспериментальный колит сопровождается общим усилением возбудимости с-Fos-синтезирующих нейронов БЯШ при их ослабленной активации соматическими болевыми сигналами, а также снижением реактивности с-Fos-позитивных нейронов ДЯШ к висцеральному и соматическому ноцицептивным входам. Эти изменения в БЯШ ассоциированы со смещением соматической ноцицептивной трансмиссии в сторону большей активации несеротониновых нейронов, а в ДЯШ — с сохранением серотонин-зависимых процессов обработки болевых сигналов при сокращении доли в них несеротониновых. Продемонстрированные при колите нейрохимические перестройки могут ослаблять серотонин-зависимый вклад БЯШ в нисходящий антиноцицептивный контроль и усиливать ноцицептивный поток от ДЯШ к структурам переднего мозга, способствуя развитию висцеральной и соматической гипералгезий.

**Ключевые слова:** ядра шва, висцеральная боль, соматическая боль, экспрессия с-Fos-белков, серотонинергические нейроны, колит

# Effect of colitis on the involvement of serotonergic and non-serotonin neurons in the raphe nuclei nociceptive activation

B. M. Sushkevich <sup>1</sup>, A. A. Mikhalkin<sup>1</sup>, O. A. Lyubashina<sup>1</sup>

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

## Authors

Boris M. Sushkevich, SPIN: [9154-4183](#), ORCID: [0000-0003-1359-439X](#), e-mail: [bob-jn@mail.ru](mailto:bob-jn@mail.ru)

Aleksandr A. Mikhalkin, SPIN: [9942-9379](#), Scopus AuthorID: [55210047400](#), ORCID: [0000-0003-2342-6357](#), e-mail: [mikhalkin@infran.ru](mailto:mikhalkin@infran.ru)

Olga A. Lyubashina, SPIN: [5257-4057](#), Scopus AuthorID: [6505777191](#), ResearcherID: [A-6241-2017](#), ORCID: [0000-0002-6296-4628](#), e-mail: [lyubashinaoa@infran.ru](mailto:lyubashinaoa@infran.ru)

**For citation:** Sushkevich, B. M., Mikhalkin, A. A., Lyubashina, O. A. (2024) Effect of colitis on the involvement of serotonergic and non-serotonin neurons in the raphe nuclei nociceptive activation. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 3, pp. 307–317. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-307-317> EDN JAKGNU

**Received** 27 November 2024; reviewed 2 December 2024; accepted 3 December 2024.

**Funding:** The study was supported by the Russian Science Foundation, project no. 23-25-00151, <https://rscf.ru/project/23-25-00151/>.

**Copyright:** © B. M. Sushkevich, A. A. Mikhalkin, O. A. Lyubashina (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

**Abstract.** The serotonin (5-HT)-synthesizing raphe magnus (RMg) and dorsal raphe (DR) nuclei are key pain processing centers. In addition to serotonergic nociceptive neurons, these regions house various non-serotonin cells that respond to pain stimuli. Our previous studies indicated that the RMg and DR contain distinct neuronal populations that specialize in either visceral or somatic nociception, with their activity being influenced by intestinal inflammation. However, the effects of inflammation on the general activation of the RMg and DR by visceral or somatic nociception and relative contribution of serotonergic and non-serotonergic mechanisms to this process remain unclear. In this immunohistochemical study performed on anesthetized male Wistar rats, we assessed colitis-induced changes in the neuronal activation of RMg and DR neurons by visceral (colorectal distension) and somatic (tail squeezing) pain stimuli, focusing on the local c-Fos-synthesizing activity and the balance between 5-HT-ergic and non-serotonin cells. Under normal conditions, non-serotonin neurons predominantly responded to visceral pain in both RMg and DR, whereas somatic nociception activated both 5HT-ergic and non-serotonin cells. Colitis led to a general increase in c-Fos production in RMg neurons, with their reduced response to somatic pain, and a decrease in c-Fos-positive DR neuron reactivity to both types of pain. These colitis-induced changes in the RMg were linked to a shift in somatic nociceptive processing toward greater involvement of non-serotonin neurons, while the DR maintained 5-HT-dependent pain signaling but exhibited reduced non-serotonin one. These neurochemical alterations associated with colitis may attenuate the RMg's role in descending antinociceptive control and enhance nociceptive signaling from the DR to the forebrain, contributing to both visceral and somatic hyperalgesia.

**Keywords:** raphe nuclei, visceral pain, somatic pain, c-Fos expression, serotonergic neurons, colitis

## Введение

Будучи ключевыми компонентами церебральной серотонинергической системы, большое ядро шва (БЯШ) и дорсальное ядро шва (ДЯШ) являются важнейшими центрами обработки болевых сигналов, получаемых от разных областей тела непосредственно по восходящим спинальным трактам или через парабрахиальный комплекс моста (Chen, Heinricher 2022; Martins, Tavares 2017; Zhang et al. 2024).

Установлено, что эти ядра являются сложными нейрoхимическими системами, содержащими, помимо серотонин-синтезирующих нейронов, также значительные количества несеротониновых клеток (глутамат-, ГАМК-,

дофамин-, норадрен-, опиоид-, нитро-, холин-, гистаминергических, а также экспрессирующих SP и NPY), которые различным образом регулируют возбудимость первых и высвобождение ими серотонина внутри ядра или в других областях мозга (Hernández-Vázquez et al. 2019; Inyushkin et al. 2010; Martins, Tavares 2017; Wang, Nakai 1994; Zhang et al. 2024).

В нашем предыдущем исследовании было обнаружено, что БЯШ и ДЯШ содержат избирательно реагирующие на висцеральное и соматическое болевые раздражения нейроны, различающиеся по импульсной и c-Fos-синтезирующей активности (Sushkevich et al. 2023a). Эти данные указывают на существование в БЯШ и ДЯШ специализированных по отношению к болевым

ходам нейрональных популяций, которые могут обладать различным нейрохимическим фенотипом и, в частности, различаться по содержанию серотонин-синтезирующих и несеротониновых клеток, способствуя формированию присущей каждому виду боли функциональной активности ядер шва. Однако до настоящего времени мало известно о сравнительных нейрохимических характеристиках ноцицептивных нейронов БЯШ и ДЯШ, активирующихся в ответ на висцеральные и соматические болевые воздействия.

Между тем, изучение нейрохимических процессов, обеспечивающих избирательную обработку висцеральных и соматических болевых сигналов в ядрах шва в норме и при патологии, является актуальным, поскольку нарушения в них считают одной из причин развития хронических болевых синдромов (Chen, Heinricher 2022; Cleary, Heinricher 2013; Zhang et al. 2024). Так в экспериментах на грызунах продемонстрированы изменения в серотонинергической и несеротониновой (ГАМК-, глутамат-, дофамин- и нитроергической) нейротрансмиссиях в БЯШ и ДЯШ при усилении соматической (Cai et al. 2014; Costa-Pereira et al. 2020; Ganley et al. 2023; Liu et al. 2023; Xie et al. 2022) и висцеральной болевых чувствительностей (Ren et al. 2007; Sanoja et al. 2010). При этом отдельные факты свидетельствуют о различиях в локальных нейрохимических перестройках, сопровождающих развитие соматической и висцеральной гипералгезий (Vilela et al. 2021; Zhang et al. 2018). Между тем, специфика таких перестроек при разных видах патологии и их значение для ноцицептивной активности исследуемых ядер шва изучены мало.

Ранее было установлено, что кишечное воспаление вызывает изменения фоновой экспрессии c-Fos-белков в нейронах БЯШ и ДЯШ (Goehler et al. 2005; Lu, Westlund 2001; Wan et al. 2017), а также импульсных реакций функционально различных групп их нейронов на висцеральные и соматические болевые стимулы (Sanoja et al. 2010; Sushkevich et al. 2023b). Однако остается неясным, как при этом изменяются общий уровень нейрональной активации этих структур при поступлении висцеральных и соматических болевых сигналов, а также относительный вклад серотонинергических и несеротониновых механизмов в этот процесс.

Поэтому целью нашего исследования являлось определение индуцируемых кишечным воспалением изменений в количестве c-Fos-синтезирующих нейронов БЯШ и ДЯШ, активируемых висцеральными и соматическими болевыми сигналами, и в соотношении среди них серотонин-синтезирующих и несеротониновых клеток.

## Материалы и методы

Исследование выполнено на взрослых самцах крыс стока линии Вистар (масса тела 280–320 г) из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем», разделенных на две равные группы ( $n = 9$ ): 1) с интактной толстой кишкой и 2) подвергнутые экспериментальному колиту (Morris et al. 1989). Спустя шесть-восемь дней животные из обеих групп после 16-часовой пищевой депривации со свободным доступом к воде были анестезированы (в/б; уретан (0,8 г/кг; Sigma-Aldrich, США) и альфа-хлоралоза (60 мг/кг; Sigma-Aldrich, США)). Внутри каждой из групп были случайным образом сформированы три равные ( $n = 3$ ) подгруппы: 1) контрольная (без стимуляционных воздействий); 2) с висцеральной и 3) с соматической болевыми стимуляциями.

Висцеральное болевое раздражение вызывали колоректальным растяжением посредством раздувания резинового баллона шприцевым насосом ДШ-09 (Висма-Планар, Беларусь) до достижения уровня внутрикишечного давления в 80 мм рт. ст. Соматическое — механическим сдавливанием основания хвоста пинцетом алгезиметра (BIO-RP-R, Bioseb SAS, Франция) с нагрузкой от 650 до 900 г. Оба вида стимуляции осуществляли периодами по 60 с и четырехминутным интервалом в течение часа. Животные контрольной подгруппы такое же количество времени находились в покое.

По окончании описанных выше процедур производили транскардиальную перфузию опытных животных с последующим извлечением головного мозга. Каждый мозг подвергали криопротекции перед изготовлением серийных (один-из-пяти) фронтальных срезов толщиной 40 мкм через области исследуемых серотонинергических структур (Sushkevich et al. 2023a).

Срезы первой серии монтировали на стекла, высушивали, окрашивали крезилловым фиолетовым (Merck, Germany) по методу Ниссля и заключали в энтеллан (Merck, Germany) для идентификации границ исследуемых структур по стереотаксическому атласу мозга крысы (Paxinos, Watson 1998).

Вторая серия срезов была подвергнута иммуногистохимической обработке для визуализации клеток с c-Fos-позитивными ядрами по авидин-биотин-пероксидазному методу с применением первичных поликлональных антител к белку c-Fos (ABE457; Sigma-Aldrich, США; host: rabbit; 1:10000), вторичных биотинилированных антител (goat anti-rabbit IgG; PK-4001 kit, Vector Laboratories,



США; 1:600) и хромогенсодержащего раствора диаминобензидина с Ni и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Готовые срезы обезжировали в спиртах восходящей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали в среду 05-BMNM508 (Bio-Optica, Италия).

Срезы из третьей серии подвергали двойному флуоресцентному иммуногистохимическому процессингу для выявления серотонин-синтезирующих нейронов с с-Fos-позитивными ядрами с использованием антител anti-c-Fos (ABE457; 1:1000) и anti-Serotonin (ab66047; Abcam, Великобритания; host: goat; 1:500), а также вторичных флуоресцентных антител Alexa Fluor 568 Goat anti-Rabbit IgG (A-11036; Thermo Fisher, США; 1:500) и Alexa Fluor 405 Donkey Anti-Goat IgG (ab175664; Abcam, Великобритания; 1:250). Высушенные стекла со срезами заключали в защитную среду ab104135 (Abcam, Великобритания).

Во всех видах иммуногистохимического процессинга для приготовления инкубационных растворов использовали 0,01 М фосфатный буфер (pH = 7,4; БиолоТ, Россия).

Изображения препаратов, окрашенных хромогенами, получали в светлом поле микроскопа Olympus CX41 (Япония) с помощью цифровой видеокамеры Nikon (Япония). Локализацию и количество с-Fos-позитивных клеток определяли при помощи программного пакета CAS (Nurzynska et al. 2017). Изображения флуоресцентных препаратов получали с помощью кон-

фокального лазерного сканирующего микроскопа LSM 710 на базе инвертированного микроскопа Axio Observer (Carl Zeiss AG, Германия) в ЦКП «Конфокальная микроскопия» ИФ им. И. П. Павлова РАН. Количество с-Fos- и с-Fos/серотонин-позитивных (с-Fos/5-HT) нейронов определяли с помощью программного пакета «ImageJ Fiji» (NIH, США).

Статистическую обработку, сравнение и графическое оформление данных осуществляли в среде программных пакетов «Origin 8» (США) и «GraphPad InStat 3.02» (США) с использованием непараметрических тестов для независимых измерений (тесты Крускала — Уоллиса и Манна — Уитни — Вилкоксона). Данные представлены как медиана (25-й процентиль; 75-й процентиль). Во всех случаях различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования

Анализ препаратов мозга, иммуногистохимически обработанных по авидин-биотин-пероксидазному методу, показал, что у здоровых животных болевые раздражения вызывают значительное увеличение количества с-Fos-позитивных нейронов как в БЯШ, так и в ДЯШ (рис. 1).

В БЯШ увеличение в числе клеток с иммунопозитивными ядрами после обеих стимуляций

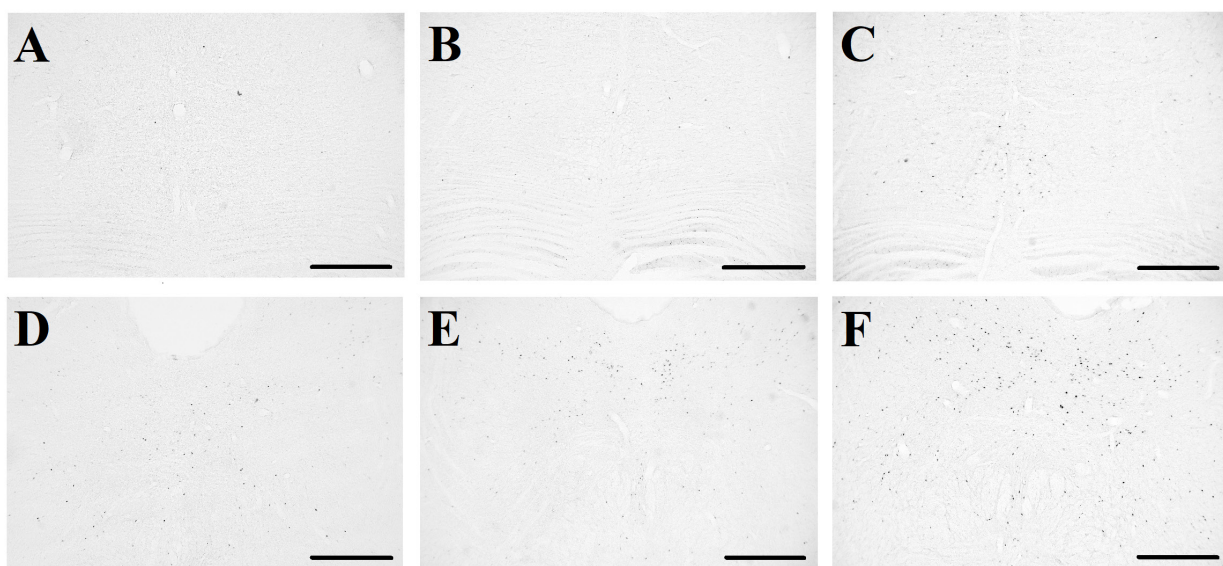


Рис. 1. Микрофотографии иммунохимически обработанных срезов мозга через область БЯШ на уровне 10,2 мм каудальнее брегмы (А — С) и ДЯШ на уровне 7,6 мм каудальнее брегмы (D — F) у здоровых крыс, демонстрирующие с-Fos-позитивные ядра нейронов в контрольной группе (А, D), после висцерального (В, E) и соматического (С, F) болевых раздражений. Масштабная линия — 300 мкм

Fig. 1. Micrographs of immunochemically processed brain sections through the RMg at 10.2 mm caudal to bregma (A–C) and DR at 7.6 mm caudal to bregma (D–F) in healthy rats, demonstrating c-Fos-positive neuronal nuclei in the control group (A, D), after visceral (B, E) and somatic (C, F) noxious stimulation. Scale bar = 300 μm

было в равной мере существенным по сравнению с контролем (для висцеральной —  $p = 0,0001$ ,  $U = 75$ , тест Манна — Уитни — Вилкоксона; для соматической —  $p < 0,0001$ ,  $U = 70$ ) (рис. 2 А). Однако реактивность структуры к растяжению кишки была менее выражена, чем к сдавливанию хвоста ( $p = 0,04$ ,  $U = 135$ ).

В свою очередь, ДЯШ демонстрировало сопоставимое усиление с-Fos-синтезирующей активности после активации висцерального ( $p = 0,03$ ,  $U = 69$ ) и соматического ( $p = 0,0015$ ,  $U = 88$ ) ноцицептивных входов (рис. 2 В). В обоих ядрах различий в локализации нейронов, активируемых разными стимулами, не наблюдалось.

Состояние кишечной патологии по сравнению со здоровым контролем характеризовалось увеличением базального количества с-Fos-позитивных нейронов в БЯШ ( $p = 0,04$ ,  $U = 235,5$ , тест Манна — Уитни — Вилкоксона) и существенным сокращением числа клеток этого ядра, реагирующих на соматическую ноцицепцию ( $p = 0,03$ ,  $U = 212,5$ ) (рис. 2 А). Количество последних при колите было сопоставимым с чис-

лом нейронов, активируемых висцеральным болевым раздражением ( $p = 0,4$ ,  $U = 327$ ). В свою очередь, ДЯШ в условиях кишечного воспаления уже не демонстрировало каких-либо выраженных изменений в количестве с-Fos-синтезирующих клеток при разного рода болевых воздействиях ( $p = 0,6$ ,  $KW = 1,13$ , тест Крускала — Уоллиса), так же как и не проявляло сдвигов в базальном уровне этого показателя по сравнению с нормой ( $p = 0,5$ ,  $U = 204$ , тест Манна — Уитни — Вилкоксона) (рис. 2 В).

Как показали результаты двойного флуоресцентного иммуногистохимического процессинга, большинство нейронов БЯШ с с-Fos-позитивными ядрами, как в контроле, так и после болевых воздействий, были негативны к мечению на серотонин. Лишь в среднем  $38,6 \pm 2,3\%$  из них относились к серотонин-позитивным. Существенное увеличение количества с-Fos/5-НТ клеток в ядре (т. е. функциональная активация серотонинергических нейронов) было отмечено только после соматического болевого раздражения ( $p = 0,016$ ,  $U = 15$ , тест Манна — Уитни —

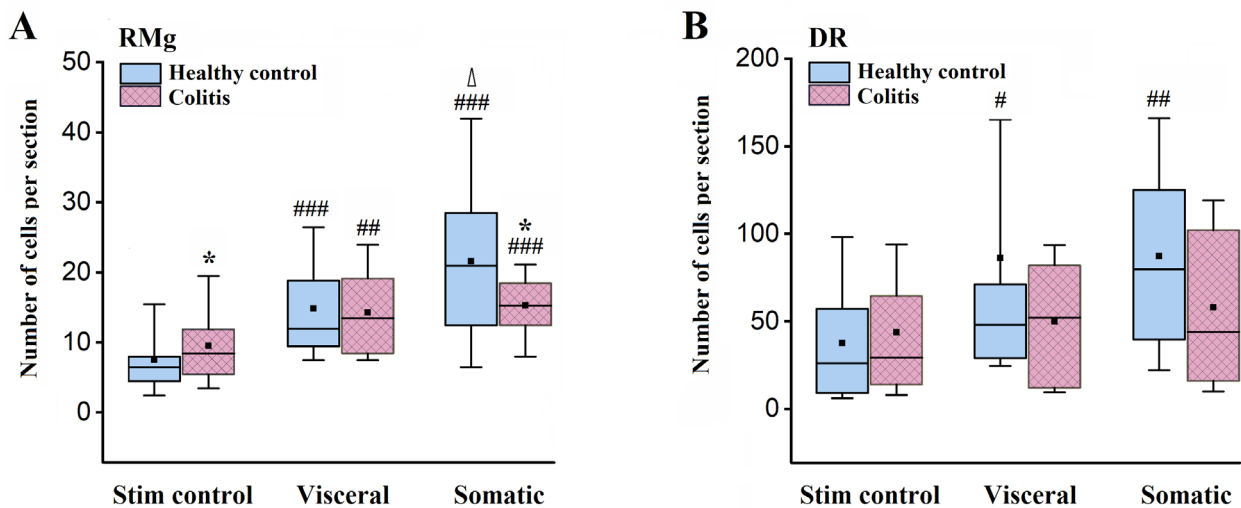


Рис. 2. Количество с-Fos-позитивных нейронов в БЯШ (RMg, А) и ДЯШ (DR, В) у крыс без стимуляции (Stim control), после висцерального (Visceral) или соматического (Somatic) болевых раздражений в группе здорового контроля (Healthy control) и группы с колитом (Colitis). На (А, В) верхняя и нижняя границы каждого прямоугольника — первый и третий квартили (25-й и 75-й процентиля соответственно), горизонтальная линия внутри — медиана (50-й процентиль), квадрат — среднее арифметическое, концы отрезков — 10-й и 90-й процентиля. Значимые различия (тест Манна — Уитни — Вилкоксона):

# —  $p < 0,05$ , ## —  $p < 0,01$  и ### —  $p < 0,001$  — по сравнению со стимуляционным контролем;

\*  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  — по сравнению со здоровым контролем; Δ —  $p < 0,05$ ;

ΔΔ —  $p < 0,01$  — по сравнению с висцеральной болевой стимуляцией

Fig. 2. Numbers of c-Fos-positive neurons in the RMg (A) and DR (B) in rats with no stimulation (Stim control), after visceral (Visceral) and somatic (Somatic) noxious stimulations in the healthy control (Healthy control) and colitis (Colitis) groups. In panels (A) and (B), the upper and lower edges of the box represent the first and third quartiles (25<sup>th</sup> and 75<sup>th</sup> percentiles, respectively), the horizontal line inside the box indicates the median (50<sup>th</sup> percentile), the square represents the mean, and the ends of the segments show the 10<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> percentiles. Significant differences (Mann-Whitney-Wilcoxon test):

# —  $p < 0.05$ , ## —  $p < 0.01$  and ### —  $p < 0.001$  — vs. stimulation control; \*  $p < 0.05$ ;

\*\*  $p < 0.01$  — vs. healthy control; Δ —  $p < 0.05$ ; ΔΔ —  $p < 0.01$  — vs. visceral noxious stimulation

Вилкоксона (рис. 3 А). При этом доля таких клеток в общем числе с-Fos-позитивных нейронов оставалась на уровне  $36,5 \pm 3,1\%$  (рис. 3 С).

В ДЯШ здоровых животных контрольной и стимулируемых групп лишь в среднем  $27,7 \pm 1,0\%$  нейронов с с-Fos-позитивными ядрами были серотонинергическими. Как и в БЯШ, значимое по сравнению с контролем увеличение количества с-Fos/5-НТ клеток наблюдалось только после соматического болевого раздражения ( $p = 0,0099$ ,  $U = 10,5$ , тест Манна — Уитни — Вилкоксона) (рис. 3 В). При этом доля таких клеток в общем числе с-Fos-позитивных нейронов повышалась до  $30,2 \pm 1,8\%$ . Это было

существенно выше, чем при висцеральной болевой стимуляции ( $p = 0,008$ ,  $U = 4$ , тест Манна — Уитни — Вилкоксона), при которой процент с-Fos/5-НТ нейронов среди всех ею активируемых был ниже, чем в контроле ( $p = 0,04$ ,  $U = 8$ ) (рис. 3 D).

У крыс с колитом в покое не было выявлено существенных изменений в количестве с-Fos/5-НТ клеток в БЯШ по сравнению с таковым у здоровых крыс ( $p = 0,7$ ,  $U = 63$ ), хотя и наблюдалась тенденция к его уменьшению в относительном к общему числу с-Fos-позитивных нейронов значениях ( $с\ 45,6 \pm 7,7\%$  в норме до  $36,9 \pm 6,1\%$  при колите) (рис. 3 С). При этом

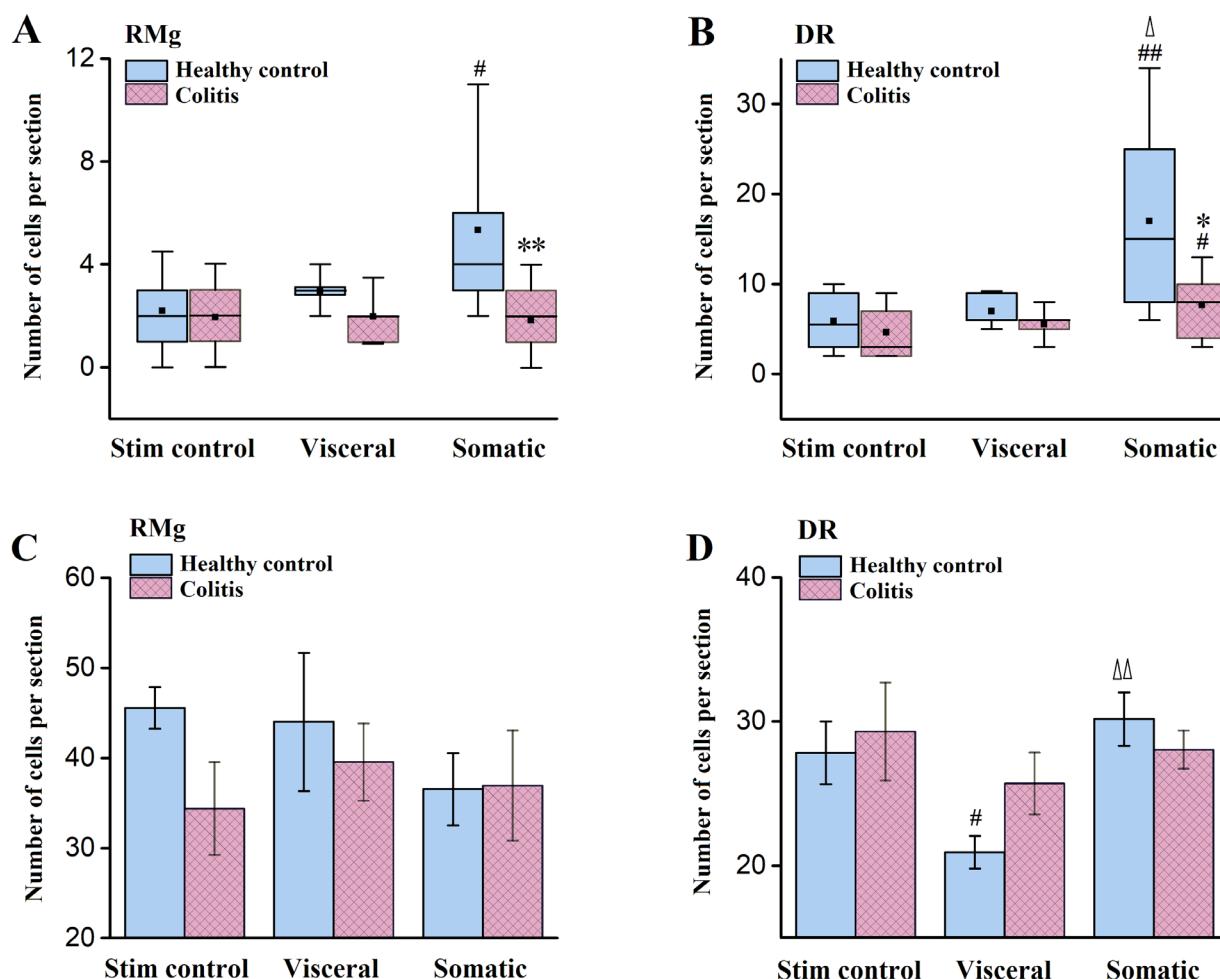


Рис. 3. Абсолютное количество с-Fos/5-НТ-позитивных клеток (А, В) и их процентная доля в общем числе с-Fos-синтезирующих нейронов (С, D) в БЯШ (RMg; А, С) и ДЯШ (DR; В, D) ядрах шва у крыс без стимуляции (Stim control), после висцерального (Visceral) или соматического (Somatic) болевых раздражений в группе здорового контроля (Healthy control) и группы с колитом (Colitis). На (А, В) обозначения как для рис. 2. На (С, D) высота каждого столбца — среднее арифметическое, отрезки — стандартная ошибка среднего. Расшифровка значимых различий как для рис. 2

Fig. 3. Absolute number of c-Fos/5-HT-positive cells (A, B) and their percentage in the total number of c-Fos-synthesizing neurons (C, D) in the RMg (A, C) and DR (B, D) in rats without stimulation (Stim control), after visceral (Visceral) or somatic (Somatic) pain stimuli in the healthy control (Healthy control) and colitis (Colitis) groups. Notations in (A, B) and significant differences are as shown in Fig. 2. In (C, D), the column height represents the mean, and the segments represent the standard error of the mean



висцеральная ноцицепция не вызвала статистически значимых изменений обоих показателей ( $p = 0,9$ ,  $U = 68$  и  $p = 0,68$ ,  $U = 62,5$ , соответственно). Число c-Fos/5-НТ клеток БЯШ при соматическом раздражении в условиях колита было значительно меньше, чем в норме ( $p = 0,002$ ,  $U = 14,5$ ), не отличаясь от соответствующего контрольного уровня в абсолютном ( $p = 0,9$ ,  $U = 95,5$ ) (рис. 3 А) и процентном значениях ( $p = 0,79$ ,  $U = 92$ ) (рис. 3 С).

В ДЯШ крыс с кишечной патологией не было выявлено существенных изменений в базальном количестве c-Fos/5-НТ клеток ( $p = 0,7$ ,  $U = 63$ , тест Манна — Уитни — Вилкоксона) (рис. 3 В) и их процентной доле в общем числе c-Fos-позитивных нейронов ( $29,3 \pm 3,4\%$ ) по сравнению с таковым у здоровых крыс (рис. 3 D). Висцеральная болевая стимуляция не вызвала статистически значимых сдвигов этих показателей ( $p = 0,57$ ,  $U = 57,5$ ), хотя вовлекала несколько больший процент серотониновых нейронов среди c-Fos-позитивных (рис. 3 В, D). При этом соматическое раздражение по-прежнему повышало абсолютное число c-Fos/5-НТ нейронов по отношению к контролю ( $p = 0,02$ ,  $U = 57,5$ ), но в меньшей степени, чем в норме ( $p = 0,02$ ,  $U = 24$ ) (рис. 3 В) и уже в сопоставимых с висцеральной ноцицепцией процентных долях (рис. 3 D).

### Обсуждение

Как демонстрируют результаты нашего исследования, в отсутствие патологии реципиентами висцеральных болевых сигналов в БЯШ и ДЯШ преимущественно являются несеротониновые нейроны, тогда как соматическая ноцицепция активирует как несеротониновые, так и серотонинергические клетки. Кишечное воспаление сопровождается общим усилением возбудимости c-Fos-синтезирующих нейронов БЯШ при их ослабленной активации соматическими болевыми сигналами и параллельном снижении уровня реактивности c-Fos-позитивных нейронов ДЯШ к обоим видам болевого воздействия. Эти изменения ассоциированы с дефицитом серотонинергической ноцицептивной трансмиссии в БЯШ при сохранении серотонин-зависимых процессов обработки болевых сигналов в ДЯШ.

Полученные нами данные о небольшой доле серотонин-синтезирующих нейронов среди боль-реактивных в БЯШ и ДЯШ согласуются с результатами предыдущих исследований (Brink, Mason 2003; Gau et al. 2013; Winkler et al. 2006). Однако, в отличие от указанных

авторов, мы впервые провели сравнительное исследование нейрональных популяций БЯШ и ДЯШ, активируемых висцеральным и соматическим болевыми входами, и установили, что обе данные структуры главным образом вовлечены в процессы соматической ноцицепции. Что касается реактивных к болевым сигналам несеротониновых клеток в исследуемых ядрах, то их нейрохимический фенотип в настоящее время изучен плохо. Известно только, что соматическое болевое воздействие может активировать глутамат-, ГАМК- и энкефалинергические нейроны в БЯШ, а также глутамат- и ГАМКергические в ДЯШ, а висцеральное — нитроергическую нейротрансмиссию в ДЯШ (Liu et al. 2024; Radhakrishnan, Sluka 2009; Ren et al. 2024; Winkler et al. 2006; Yang et al. 2009). Очевидно, что нейрохимические характеристики реактивных к висцеральной ноцицепции нейронов БЯШ и ДЯШ нуждаются в специальном исследовании.

Как впервые показали наши эксперименты, при кишечном воспалении серотонин-синтезирующие нейроны БЯШ утрачивали реактивность к соматическим болевым сигналам. Известно, что БЯШ является основным источником нисходящих серотонинергических проекций, регулирующих передачу болевых сигналов в дорсальных рогах спинного мозга. Поэтому нарушенная активация при соматической ноцицепции тех серотонин-синтезирующих нейронов БЯШ, которые обеспечивают его нисходящие тормозные влияния (Ganley et al. 2023; Martins, Tavares 2017), может способствовать соматической гипералгезии, которую, помимо висцеральной, отмечает при воспалении кишки (Jain et al. 2015; Sanoja et al. 2010; Zhang et al. 2014; Zhou et al. 2008).

Логично предположить, что именно несеротониновые клетки вносят основной вклад в усиление базальной c-Fos-синтезирующей активности БЯШ и ее подъем после висцерального и, в меньшей степени, соматического болевых воздействий, которые мы наблюдали у крыс с колитом. В частности, при патологии может усиливаться ноцицептивная активация локальных ГАМКергических нейронов, которые, как установлено, способны оказывать тормозные влияния на серотонинергические нейроны БЯШ (Inyushkin et al. 2010; Li et al. 2015). Косвенным подтверждением чего может служить продемонстрированное нами ранее нарастание в нем тормозных ноцицептивных процессов после колита (Sushkevich et al. 2023b). Также подавляющие влияния ГАМКергических нейронов, активированных болевыми воздействиями, могут

испытывать соседние с ними ГАМК/энкефалиновые, опосредующие нисходящий тормозный контроль проведения болевых сигналов на уровне спинального дорсального рога (Nguyen et al. 2022; Zhang et al. 2015). В совокупности, все указанные выше процессы могут приводить к общему ослаблению функции БЯШ в системе эндогенной анальгезии, способствуя характерному для кишечной патологии усилению как висцеральной, так и соматической болевых чувствительностей.

В свою очередь, серотонинергические нейроны ДЯШ при колите сохраняли реактивность к соматическим болевым стимулам в меньшей степени и вместе с этим сильнее вовлекались в висцеральную ноцицептивную трансмиссию. Отсутствие при этом существенных сдвигов в общей c-Fos-синтезирующей активности клеток ДЯШ после болевых воздействий может говорить об уменьшении вклада в эти процессы значительной группы локальных несеротониновых нейронов, в том числе ГАМКергических (Liu et al. 2024; Ren et al. 2024), способных подавлять активность серотониновых (Wang, Nakai 1994; Xie et al. 2022; Zhang et al. 2024). Следствием их меньшей реактивности к болевым воздействиям при колите может быть ослабление ноцицептивного тормозного контроля в пределах ДЯШ и, как результат, постколитное усиление импульсных реакций нейронов на висцеральные и соматические болевые стимулы, которое было отмечено в нашем предыдущем исследовании (Sushkevich et al. 2023b).

Известно, что восходящие серотонинергические проекции ДЯШ к ядрам таламуса, амигдалы, первичной соматосенсорной и медиальной префронтальной коры обеспечивают формирование перцептуальных, эмоционально-аффективных и когнитивных реакций организма на боль (Hao et al. 2023; Huang et al. 2019; Wang, Nakai 1994; Zhang et al. 2024). При колите, в условиях ослабленного локального ГАМКергического тормозного контроля, ноцицептивная активация нейронов ДЯШ, являющихся источниками этих проекций, может быть более интенсивной, приводя к усилению указанных выше реакций. Результатом может быть проявление висцеральной и соматической гипералгезий на поведенческом уровне. Косвенными подтверждениями этому предположению могут служить результаты поведенческих исследований других авторов (Akbar et al. 2023; Xie et al. 2022; Zhang et al. 2018). Помимо этого, мы не можем исключать, что определенный вклад в развитие таких состояний при колите также может вносить возможное снижение

реактивности к болевым стимулам других несеротониновых нейронов ДЯШ — дофаминергических, ноцицептивная активация которых важна для механизмов антиноцицепции (Taylor et al. 2019; Zhang et al. 2024). Для проверки предложенных нами гипотез необходимы дальнейшие исследования.

Таким образом, проведенные нами исследования впервые продемонстрировали, что колит инициирует разнонаправленные изменения в относительном вкладе серотонинергических и несеротониновых нейронов в активацию БЯШ и ДЯШ висцеральными и соматическими болевыми стимулами — ослабление серотонинергических ноцицептивных процессов при сохранении несеротониновых в БЯШ и противоположные перестройки в ДЯШ. Продемонстрированные нейрохимические изменения могут ослаблять вклад БЯШ в нисходящий антиноцицептивный контроль и усиливать ноцицептивный поток от ДЯШ к структурам переднего мозга, способствуя тем самым развитию присущих кишечному воспалению висцеральной и соматической гипералгезий.

### 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 экспериментальные процедуры соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и были одобрены Комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии им. И. П. Павлова РАН (протокол №10/23 от 23.01.2023).

### Ethics Approval

All experimental procedures were conducted in accordance with the ethical standards set forth by the Russian legislation, the principles outlined in the Basel Declaration, and were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of the Pavlov Institute of Physiology (Protocol No. 10/23, dated 23.01.2023).

## Вклад авторов

- а. Сушкевич Борис Михайлович — сбор данных, обработка данных, написание и редактирование манускрипта;
- б. Михалкин Александр Александрович — сбор данных, обработка данных, написание и редактирование манускрипта;
- в. Любашина Ольга Анатольевна — идея работы и планирование эксперимента, сбор данных, обработка данных, написание и редактирование манускрипта.

## Author Contributions

- a. Boris M. Sushkevich — data collection, data processing, manuscript writing and editing;
- b. Aleksandr A. Mikhalkin — data collection, data processing, manuscript writing and editing;
- c. Olga A. Lyubashina — conceptualization and experimental design, data collection, data processing, manuscript writing and editing.

## References

- Akbar, L., Castillo, V. C. G., Olorocisimo, J. P. et al. (2023) Multi-region microdialysis imaging platform revealed dorsal raphe nucleus calcium signaling and serotonin dynamics during nociceptive pain. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, no. 7, article 6654. <https://doi.org/10.3390/ijms24076654> (In English)
- Brink, T. S., Mason, P. (2003) Raphe magnus neurons respond to noxious colorectal distension. *Journal of Neurophysiology*, vol. 89, no. 5, pp. 2506–2515. <https://doi.org/10.1152/jn.00825.2002> (In English)
- Cai, Y.-Q., Wang, W., Hou, Y.-Y., Pan, Z. Z. (2014) Optogenetic activation of brainstem serotonergic neurons induces persistent pain sensitization. *Molecular Pain*, vol. 19, no. 10, article 70. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-10-70> (In English)
- Chen, Q., Heinricher, M. M. (2022) Shifting the balance: How top-down and bottom-up input modulate pain via the rostral ventromedial medulla. *Frontiers in Pain Research*, vol. 3, article 932476. <https://doi.org/10.3389/fpain.2022.932476> (In English)
- Cleary, D. R., Heinricher, M. M. (2013) Adaptations in responsiveness of brainstem pain-modulating neurons in acute compared with chronic inflammation. *Pain*, vol. 154, no. 6, pp. 845–855. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.02.019> (In English)
- Costa-Pereira, J. T., Serrão, P., Martins, I., Tavares, I. (2020) Serotonergic pain modulation from the rostral ventromedial medulla (RVM) in chemotherapy-induced neuropathy: The role of spinal 5-HT<sub>3</sub> receptors. *European Journal of Neuroscience*, vol. 51, no. 8, pp. 1756–1769. <https://doi.org/10.1111/ejn.14614> (In English)
- Ganley, R. P., de Sousa, M. M., Werder, K. et al. (2023) Targeted anatomical and functional identification of antinociceptive and pronociceptive serotonergic neurons that project to the spinal dorsal horn. *Elife*, vol. 8, no. 12, article 78689. <https://doi.org/10.7554/eLife.78689> (In English)
- Gau, R., Sévoz-Couche, C., Hamon, V., Bernard, J.-F. (2013) Noxious stimulation excites serotonergic neurons: A comparison between the lateral paragigantocellular reticular and the raphe magnus nuclei. *Pain*, vol. 154, no. 5, pp. 647–659. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.09.012> (In English)
- Goehler, L. E., Gaykema, R. P., Opitz, N. et al. (2005) Activation in vagal afferents and central autonomic pathways: Early responses to intestinal infection with *Campylobacter jejuni*. *Brain, Behavior and Immunity*, vol. 19, no. 4, pp. 334–344. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2004.09.002> (In English)
- Hao, S., Shi, W., Liu, W. et al. (2023) Multiple modulatory roles of serotonin in chronic pain and injury-related anxiety. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, vol. 15, article 1122381. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2023.1122381> (In English)
- Hernández-Vázquez, F., Garduño, J., Hernández-López, S. (2019) GABAergic modulation of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus. *Reviews in the Neurosciences*, vol. 30, no. 3, pp. 289–303. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2018-0014> (In English)
- Huang, K. W., Ochandarena, N. E., Philson, A. C. et al. (2019) Molecular and anatomical organization of the dorsal raphe nucleus. *Elife*, vol. 8, article 46464. <https://doi.org/10.7554/eLife.46464> (In English)
- Inyushkin, A. N., Merkulova, N. A., Orlova, A. O., Ilyuskina, E. M. (2010) Local GABAergic modulation of the activity of serotonergic neurons in the nucleus raphe magnus. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 40, no. 8, pp. 885–893. <https://doi.org/10.1007/s11055-010-9337-x> (In English)
- Jain, P., Hassan, A. M., Koyani, C. N. et al. (2015) Behavioral and molecular processing of visceral pain in the brain of mice: Impact of colitis and psychological stress. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, vol. 9, article 177. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00177> (In English)
- Li, M. H., Suchland, K. L., Ingram, S. L. (2015) GABAergic transmission and enhanced modulation by opioids and endocannabinoids in adult rat rostral ventromedial medulla. *Journal of Physiology*, vol. 593, no. 1, pp. 217–230. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.275701> (In English)



- Liu, D., Hu, S. W., Wang, D. et al. (2024) An ascending excitatory circuit from the dorsal raphe for sensory modulation of pain. *Journal of Neuroscience*, vol. 44, no. 4, article e0869232023. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0869-23.2023> (In English)
- Liu, X., He, J., Jiang, W. et al. (2023) The roles of periaqueductal gray and dorsal raphe nucleus dopaminergic systems in the mechanisms of thermal hypersensitivity and depression in mice. *Pain*, vol. 24, no. 7, pp. 1213–1228. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2023.02.004> (In English)
- Lu, Y., Westlund, K. N. (2001) Effects of baclofen on colon inflammation-induced Fos, CGRP and SP expression in spinal cord and brainstem. *Brain Research*, vol. 889, no. 1–2, pp. 118–130. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)03124-3](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(00)03124-3) (In English)
- Martins, I., Tavares, I. (2017) Reticular formation and pain: The past and the future. *Frontiers in Neuroanatomy*, vol. 5, article 11:51. <https://doi.org/10.3389/fnana.2017.00051> (In English)
- Morris, G. P., Beck, P. L., Herridge, M. S. et al. (1989) Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology*, vol. 96, no. 3, pp. 795–803. PMID: 2914642 (In English)
- Nguyen, E., Smith, K. M., Cramer, N. et al. (2022) Medullary kappa-opioid receptor neurons inhibit pain and itch through a descending circuit. *Brain*, vol. 145, no. 7, pp. 2586–2601. <https://doi.org/10.1093/brain/awac189> (In English)
- Nurzynska, K., Mikhalkin, A., Piorkowski, A. (2017) CAS: Cell annotation software—research on neuronal tissue has never been so transparent. *Neuroinformatics*, vol. 15, no. 4, pp. 365–382. <https://doi.org/10.1007/s12021-017-9340-2> (In English)
- Paxinos, G., Watson, C. (1998) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 4<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press, 237 p. (In English)
- Radhakrishnan, R., Sluka, K. A. (2009) Increased glutamate and decreased glycine release in the rostral ventromedial medulla during induction of a pre-clinical model of chronic widespread muscle pain. *Neuroscience Letters*, vol. 457, no. 3, pp. 141–145. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.03.086> (In English)
- Ren, S., Zhang, C., Yue, F. et al. (2024) A midbrain GABAergic circuit constrains wakefulness in a mouse model of stress. *Nature Communications*, vol. 15, no. 1, article 2722. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-46707-9> (In English)
- Ren, T. H., Wu, J., Yew, D. et al. (2007) Effects of neonatal maternal separation on neurochemical and sensory response to colonic distension in a rat model of irritable bowel syndrome. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 292, no. 3, pp. G849–G856. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00400.2006> (In English)
- Sanoja, R., Tortorici, V., Fernandez, C. et al. (2010) Role of RVM neurons in capsaicin-evoked visceral nociception and referred hyperalgesia. *European Journal of Pain*, vol. 14, no. 2, article 120.e1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2009.04.006> (In English)
- Sushkevich, B. M., Mikhalkin, A. A., Lyubashina, O. A. (2023a) Differentsirovannye reaktsii neyronov bol'shogo i dorsal'nogo yader shva krysy na vistseral'nye i somaticheskie bolevye signaly [Differential reactions of neurons in the rat raphe magnus and dorsal raphe nuclei to visceral and somatic pain signals]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 312–323. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-312-323> (In Russian)
- Sushkevich, B. M., Sivachenko, I. B., Lyubashina, O. A. (2023b) Postcolitis alterations in nociceptive properties of neurons in the rat nucleus raphe magnus and dorsal raphe nucleus. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 59, no. 4, pp. 1057–1076. <https://doi.org/10.1134/S0022093023040051> (In English)
- Taylor, N. E., Pei, J., Zhang, J. et al. (2019) The role of glutamatergic and dopaminergic neurons in the periaqueductal gray/dorsal raphe: Separating analgesia and anxiety. *eNeuro*, vol. 6, no. 1, article 0018-18.2019. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0018-18.2019> (In English)
- Vilela, F. C., Vieira, J. S., Vitor-Vieira, F. et al. (2021) Maternal separation increases pain sensitivity by reducing the activity of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus and noradrenergic neurons in locus coeruleus. *Neuroscience Letters*, vol. 748, article 135734. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135734> (In English)
- Wan, J., Ding, Y., Tahir, A. H. et al. (2017) Electroacupuncture attenuates visceral hypersensitivity by inhibiting JAK2/STAT3 signaling pathway in the descending pain modulation system. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 11, article 644. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00644> (In English)
- Wang, Q.-P., Nakai, Y. (1994) The dorsal raphe: An important nucleus in pain modulation. *Brain Research Bulletin*, vol. 34, no. 6, pp. 575–585. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(94\)90143-0](https://doi.org/10.1016/0361-9230(94)90143-0) (In English)
- Winkler, C. W., Hermes, S. M., Chavkin, C. I. et al. (2006) Kappa opioid receptor (KOR) and GAD67 immunoreactivity are found in OFF and NEUTRAL cells in the rostral ventromedial medulla. *Journal of Neurophysiology*, vol. 96, no. 6, pp. 3465–3473. <https://doi.org/10.1152/jn.00676.2006> (In English)
- Xie, L., Wu, H., Chen, Q. et al. (2022) Divergent modulation of pain and anxiety by GABAergic neurons in the ventrolateral periaqueductal gray and dorsal raphe. *Neuropsychopharmacology*, vol. 48, pp. 1509–1519. <https://doi.org/10.1038/s41386-022-01520-0> (In English)

- Yang, J., Yuan, H., Chu, J. et al. (2009) Arginine vasopressin antinociception in the rat nucleus raphe magnus is involved in the endogenous opiate peptide and serotonin system. *Peptides*, vol. 30, no. 7, pp. 1355–1361. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2009.03.014> (In English)
- Zhang, H. A., Sang, N., Ge, X. et al. (2018) Nesfatin-1 in the dorsal raphe nucleus influences visceral sensitivity via 5-HT neurons in male maternally separated rats. *Scientific Reports*, vol. 8, article 9334. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27592-x> (In English)
- Zhang, H., Li, L., Zhang, X. et al. (2024) Role of the dorsal raphe nucleus in pain processing. *Brain Sciences*, vol. 14, no. 10, article 982. <https://doi.org/10.3390/brainsci14100982> (In English)
- Zhang, M. M., Liu, S. B., Chen, T. et al. (2014) Effects of NB001 and gabapentin on irritable bowel syndrome-induced behavioral anxiety and spontaneous pain. *Molecular Brain*, vol. 7, article 47. <https://doi.org/10.1186/1756-6606-7-47> (In English)
- Zhang, Y., Zhao, S., Rodriguez, E. et al. (2015) Identifying local and descending inputs for primary sensory neurons. *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 125, no. 10, pp. 3782–3794. <https://doi.org/10.1172/JCI81156> (In English)
- Zhou, Q., Price, D. D., Caudle, R. M., Verne, N. G. (2008) Visceral and somatic hypersensitivity in a subset of rats following TNBS-induced colitis. *Pain*, vol. 134, no. 1–2, pp. 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2007.03.029> (In English)



УДК 612.85

EDN JGWHUM

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-318-324>

## Проявления стимул-специфической адаптации в реакциях нейронов первичной слуховой коры бодрствующих мышей на модели последовательностей крика дискомфорта мышат

М. А. Егорова<sup>1</sup>, А. Г. Акимов<sup>1</sup>, Г. Д. Хорунжий<sup>✉1</sup>

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

### Сведения об авторах

Марина Александровна Егорова, SPIN-код: 3883-2885, Scopus AuthorID: 57216641258, ResearcherID: AAN-5197-2020, ORCID: 0000-0002-2650-5619, e-mail: [ema6913@yandex.ru](mailto:ema6913@yandex.ru)

Александр Григорьевич Акимов, SPIN-код: 7859-4191, Scopus AuthorID: 36442429100, ResearcherID: C-2820-2008, ORCID: 0000-0003-1659-6227, e-mail: [agakimov@yandex.ru](mailto:agakimov@yandex.ru)

Глеб Дмитриевич Хорунжий, SPIN-код: 4627-3646, Scopus AuthorID: 55376795700, ResearcherID: AAM-4890-2020, ORCID: 0000-0002-2650-5619, e-mail: [khorunzhii.gd@gmail.com](mailto:khorunzhii.gd@gmail.com)

**Для цитирования:** Егорова, М. А., Акимов, А. Г., Хорунжий, Г. Д. (2024) Проявления стимул-специфической адаптации в реакциях нейронов первичной слуховой коры бодрствующих мышей на модели последовательностей крика дискомфорта мышат. *Интегративная физиология*, т. 5, № 3, с. 318–324. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-318-324> EDN JGWHUM

**Получена** 23 октября 2024; прошла рецензирование 18 ноября 2024; принята 19 ноября 2024.

**Финансирование:** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00074.

**Права:** © М. А. Егорова, А. Г. Акимов, Г. Д. Хорунжий (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](#).

**Аннотация.** Впервые исследованы нейрофизиологические проявления стимул-специфической адаптации в активности одиночных нейронов первичных полей слуховой коры у домашних мышей, находящихся в бодрствующем состоянии. На фоне адаптации реакций нейронов к звуковым последовательностям, состоящим из четырех идентичных тонов, временные интервалы между которыми были подобраны так, чтобы воспроизвести временную структуру серий криков дискомфорта мышат, взрослым самкам предъявляли пятый, девиантный тональный сигнал, частота которого отличалась от частоты первых четырех тональных импульсов серии. Это приводило к полному или частичному освобождению реакций нейронов от адаптации в ответах на пятый компонент последовательности, т. е. ответ на пятый тон существенно превышал ответы на второй — четвертый сигналы. Восстановление реакций на пятый сигнал серии наблюдали у разных нейронов при его различных частотах. Данный эффект был наиболее выражен при частотах пятого тона, отстоявших на 0,4–0,6 октавы в сторону низких или на 0,2–0,4 октавы — в сторону высоких частот от характеристической частоты нейрона. Обсуждается фундаментальная роль стимул-специфической адаптации в формировании реакций нейронов на новизну, включая ориентировочные реакции на звук.

**Ключевые слова:** слух, первичная слуховая кора, бодрствующие мыши, стимул-специфическая слуховая адаптация, одиночные нейроны



# Stimulus-specific adaptation in neuronal responses in the primary auditory cortex of awake mice: A model of mouse pups wriggling call sequences

M. A. Egorova<sup>1</sup>, A. G. Akimov<sup>1</sup>, G. D. Khorunzhii ✉<sup>1</sup>

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

## Authors

Marina A. Egorova, SPIN: 3883-2885, Scopus AuthorID: 57216641258, ResearcherID: AAN-5197-2020, ORCID: 0000-0002-2650-5619, e-mail: ema6913@yandex.ru

Alexander G. Akimov, SPIN: 7859-4191, Scopus AuthorID: 36442429100, ResearcherID: C-2820-2008, ORCID: 0000-0003-1659-6227, e-mail: agakimov@yandex.ru

Gleb D. Khorunzhii, SPIN: 4627-3646, Scopus AuthorID: 55376795700, ResearcherID: AAM-4890-2020, ORCID: 0000-0002-2650-5619, e-mail: khorunzhii.gd@gmail.com

**For citation:** Egorova, M. A., Akimov, A. G., Khorunzhii, G. D. (2024) Stimulus-specific adaptation in neuronal responses in the primary auditory cortex of awake mice: A model of mouse pups wriggling call sequences. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 3, pp. 318–324. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-318-324> EDN JGWHUM

**Received** 23 October 2024; reviewed 18 November 2024; accepted 19 November 2024.

**Funding:** This study was financially supported by the funds of RSCF grant (project No 23-25-00074).

**Copyright:** © M. A. Egorova, A. G. Akimov, G. D. Khorunzhii (2024). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

**Abstract.** This study is the first to investigate the neurophysiological effects of stimulus-specific adaptation (SSA) on the activity of single neurons in the primary auditory cortex of awake house mice. While adaptation of neuronal responses to sound sequences consisting of four identical tones, the time intervals between which were selected so as to be similar to the temporal structure of series of mouse pups wriggling call, adult females were stimulated by a fifth tone signal, the frequency of which differed from the frequency of the first four tone pulses in the series. A fifth tone, differing in frequency from the first four, was presented to stimulate adult female mice. Following the presentation of the deviant tone, a recovery in neuronal responses was observed, either complete or partial, indicating a stronger response to the fifth tone compared to the second through fourth tones. The recovery was frequency-dependent, with the most pronounced effects occurring when the fifth tone frequency was 0.4–0.6 octaves lower or 0.2–0.4 octaves higher than the characteristic frequency of the neuron. These findings highlight the crucial role of SSA in shaping neuronal responses to novel stimuli, including the orienting responses to sound.

**Keywords:** hearing, primary auditory cortex, awake mice, stimulus-specific auditory adaptation, single neurons

## Введение

Хорошо известно, что общим свойством большинства биоакустических сигналов, включая коммуникационные сигналы животных и речевые стимулы, является наличие у них определенной временной структуры, позволяющей рассматривать их как последовательности звуковых событий. Очевидно, что временная структура этих последовательностей, особенно продолжительность пауз между отдельными звуками, критически важна для их распознавания, что позволяет предположить функционирование в слуховой системе позвоночных нейрофизиологического механизма, ответственного за временной анализ звуковых последовательностей (т. е. их связывание и разделение во времени), а также за определение

биологической значимости данных акустических стимулов. Этот механизм, учитывая общие принципы структурно-функциональной организации слуховой системы в разных классах позвоночных животных, должен быть в высокой степени универсальным.

В качестве основного кандидата на эту роль на данный момент рассматривается слуховая адаптация — одна из форм пластичности мозга, имеющая непосредственную связь с обработкой входящего информационного потока (Bibikov 2010; Bregman 1990). В активности одиночных нейронов слуховых центров мозга она, как правило, проявляется как прекращение или существенное ослабление реакции данного нейрона на повторяющиеся звуковые сигналы, идентичные по своим характеристикам (Pérez-González et al. 2014; Ulanovsky et al. 2003; 2004). Одна

из форм слуховой адаптации — стимул-специфическая адаптация (Duque, Malmierca 2015; Duque et al. 2016; Malmierca et al. 2009; 2014; Pérez-González et al. 2024; Valerio et al. 2024). Основная ее черта — освобождение от адаптации, т. е. восстановление ответа нейрона до его начальной величины (или близкой к таковой) при изменении характеристик звука. Впервые изменение импульсной активности нейронов, которое могло быть трактовано как освобождение от стимул-специфической адаптации, было обнаружено у нейронов высшего слухового центра озерной лягушки, известного как полукружный торус (Bibikov 1977). К настоящему моменту присутствие данного эффекта однозначно подтверждено также в слуховой коре и слуховом центре среднего мозга млекопитающих (Malmierca et al. 2009; Ulanovsky et al. 2003; 2004). Таким образом, стимул-специфическая адаптация реакций слуховых нейронов на повторяющиеся звуки является общим свойством слуховых центров у позвоночных животных разных классов. Вместе с тем, все указанные выше работы, выполненные на млекопитающих, проводились исключительно в условиях анестезии. Особенности эффектов стимул-специфической адаптации в активности нейронов слуховых центров бодрствующих млекопитающих, а именно, изменение выраженности адаптации и освобождение от нее в зависимости от изменения параметров предъявляемого звукового сигнала, остаются неисследованными. Настоящая работа представляет собой первую попытку детально проанализировать особенности стимул-специфической адаптации, возникающей в реакциях одиночных нейронов первичных областей слуховой коры бодрствующей домовый мыши (*Mus musculus*) при обработке звуковых последовательностей, имитирующих серии естественного сигнала дискомфорта мышат.

### Методы исследования

В экспериментах выполняли внеклеточную электрофизиологическую регистрацию вызванных разрядов нейронов первичной слуховой коры мышцей *Mus musculus*, находившихся в состоянии бодрствования, самок гибридов F1 линий CBA и C57BL/6 в возрасте 8–15 недель. Методика подготовки животного к эксперименту подробно описана ранее (Egorova et al. 2024).

В качестве стимулов использовали последовательности звуковых сигналов, состоящие из пяти тональных посылок длительностью 100 мс, время нарастания и спада которых составляло 5 мс. Частота первых четырех импуль-

сов совпадала с характеристической частотой (ХЧ) нейрона, частота пятого — варьировалась в диапазоне  $\pm$  одна октава относительно ХЧ нейрона (–1, –0,8, –0,6, –0,4, –0,2, –0,05, +0,2, +0,4, +0,6, +0,8, +1 октава). Уровень тонов составлял 30–40 дБ над порогом ответа нейрона, что соответствовало области оптимального ответа большинства нейронов слуховой коры (Egorova et al. 2005). Интервал между тональными составляющими одной серии составлял 4 мс. Такая временная структура серий обеспечивала устойчивый режим адаптации ответов нейронов (Malinina et al. 2016). Каждую серию предъявляли 20 раз с интервалом в 2 секунды. Подбор параметров последовательностей стимулов произведен с учетом поведенческих данных о наличии взаимосвязи между излучением вокализаций мышатами и восприятием последовательностей коммуникационных сигналов мышью-матерью (Gaub, Ehret 2005; Ehret, Riecke 2002).

Тестовые последовательности тональных сигналов генерировали при помощи D/A преобразователя платы TMS320C30, вставленной в персональный компьютер (тактовая частота 200 кГц, разрешение по амплитуде 16 бит, программа TMS2, Германия). Для излучения звука использовали электродинамический излучатель Sonotrack (Metris, Голландия). Неравномерность частотной характеристики излучателя составляла  $\pm 5$  дБ в диапазоне частот 3–65 кГц. Излучатель располагали контралатерально стороне регистрации импульсной активности на уровне головы животного на расстоянии 60 см под углом 45° справа относительно средне-сагиттальной плоскости.

Биполярные вольфрамовые изолированные лаком микроэлектроды (сопротивление кончика 2–3 МОм) вводили ортогонально поверхности мозга в каудальную часть височной коры левого полушария, которая, согласно литературным данным, у домовый мыши соответствует положению поля 41 неокортекса, т. е. первичной слуховой коры (Sidman et al. 1971). Поскольку индифферентный электрод при регистрации активности нейронов следовало закрепить на поверхности мозга мыши по возможности жестко, его фиксацию производили при помощи рентгеноконтрастного композита (Tetric EvoFlow Рефил), который, будучи нанесенным на поверхность черепа, отвердевал под воздействием синего света полимеризующей лампы (Woodpecker LED B). Ответы нейронов, положение которых по глубине соответствовало III–V слоям коры (т. е. 300–600 мкм), регистрировали дифференциальным способом. Импульсную

активность нейронов при помощи интерфейса CED1401plus переводили из аналоговой формы в цифровую и записывали на персональный компьютер (программный пакет Spike2) в форме стандартных импульсов для дальнейшей обработки. При обработке полученных данных оценку величины ответа нейрона на каждый из тональных сигналов, составляющих серию, производили путем подсчета числа спайков в нем. Для оценки выраженности адаптационных эффектов, возникающих в нейрональной активности при воздействии тестовой последовательности звуков, были получены зависимости величины ответа нейрона на пятый сигнал в серии, нормированного по ответу на четвертый сигнал, от частоты пятого сигнала.

Частотные рецептивные поля нейронов тестировали одиночными тонами в автоматическом режиме, т. е. при помощи контролируемой компьютером однотоновой парадигмы стимуляции. Тональные сигналы, длительность которых составляла 100 мс, а время нарастания и спада — 5 мс, предъявляли один раз в секунду (пауза между сигналами 900 мс) в случайном порядке комбинаций 45 фиксированных частот и 15 интенсивностей (т. е. 675 различных сигналов). Шаг по интенсивности составлял 5 дБ, по частоте — 1/45 от выбранного частотного диапазона по логарифмической шкале. Результаты настоящей работы основываются на данных регистрации и анализа характеристик активности 68 нейронов первичного (AI) и переднего (AAF) полей слуховой коры с ХЧ от 3,5 до 24 кГц у 11 домовых мышей, находящихся в состоянии бодрствования.

## Результаты и обсуждение

В первичных полях слуховой коры экспериментальных животных импульсные реакции 57 нейронов на последовательности сигналов проявляли устойчивую адаптацию. Еще у 11-ти нейронов данный эффект отсутствовал или был слабо выражен, причиной чего, видимо, была их высокая спонтанная активность, которая маскировала проявления адаптации. Характеристики активности этих нейронов были исключены из анализа полученных данных. Для остальной части нейронов было характерно частичное или полное восстановление их разрядов, вызванных пятым сигналом, частота которого была девиантной по отношению к частотам предыдущих тонов серии. Количество импульсов в ответах данного нейрона на второй — четвертый одинаковые компоненты звуковой последовательности было существенно ниже (вплоть до пол-

ного отсутствия ответов), чем в его реакциях на первый и пятый сигналы серии (рис. 1), что свидетельствовало о присутствии эффектов стимул-специфической адаптации в активности большинства нейронов слуховой коры бодрствующих мышей. Восстановление величины ответа на пятый сигнал серии наблюдалось у разных нейронов при его различных частотах. Эти частоты всегда находились в пределах  $\pm$  одной октавы относительно ХЧ нейрона (рис. 1). Значительная ширина частотного диапазона, в котором у бодрствующей мыши при сдвиге частоты пятого сигнала происходило освобождение ответов корковых слуховых нейронов от стимул-специфической адаптации, как мы предполагаем, является следствием их широкой настройки по частоте. Дополнительным свидетельством этого были широкие частотные рецептивные поля нейронов. Вместе с тем, у большинства нейронов низко- и высокочастотные границы рецептивных полей находились в пределах одной октавы относительно ХЧ данного нейрона (рис. 1). Частотная область возбудительного ответа нейрона оказалась неоднородна по степени выраженности в ней эффектов освобождения от адаптации — наиболее ярко они проявлялись при сдвиге частоты последнего компонента последовательности относительно ХЧ данного нейрона на 0,4–0,6 октавы в сторону низких или на 0,2–0,4 октавы — в сторону высоких частот. Анализ вариабельности разряда нейрона, вызванного девиантным стимулом, выполненный нами по всей нейрональной частотной области возбудительного ответа, показал, что по мере смещения частоты пятого тона в направлении ее границ реакция нейрона становилась существенно слабее (т. е. имело место уменьшение количества импульсов в разряде данного нейрона). Как правило, максимальное ослабление реакции на девиантный компонент серии соответствовало его частоте, на октаву отстоящей от характеристической частоты нейрона. Кроме того, у части исследованных нейронов, отличавшихся высокой частотой и нерегулярным характером спонтанной активности, доминирующей особенно в адаптированном режиме, эффекты освобождения от адаптации не были столь явными, как у единиц, спонтанная активность которых была менее частой.

Обнаруженное в настоящей работе свойство ответов нейронов слуховой коры бодрствующей мыши выходить из режима постстимульной адаптации к звуковым последовательностям (т. е. освобождаться от нее) при изменении частоты последнего компонента серии подтверждает фундаментальную и ключевую роль стимул-



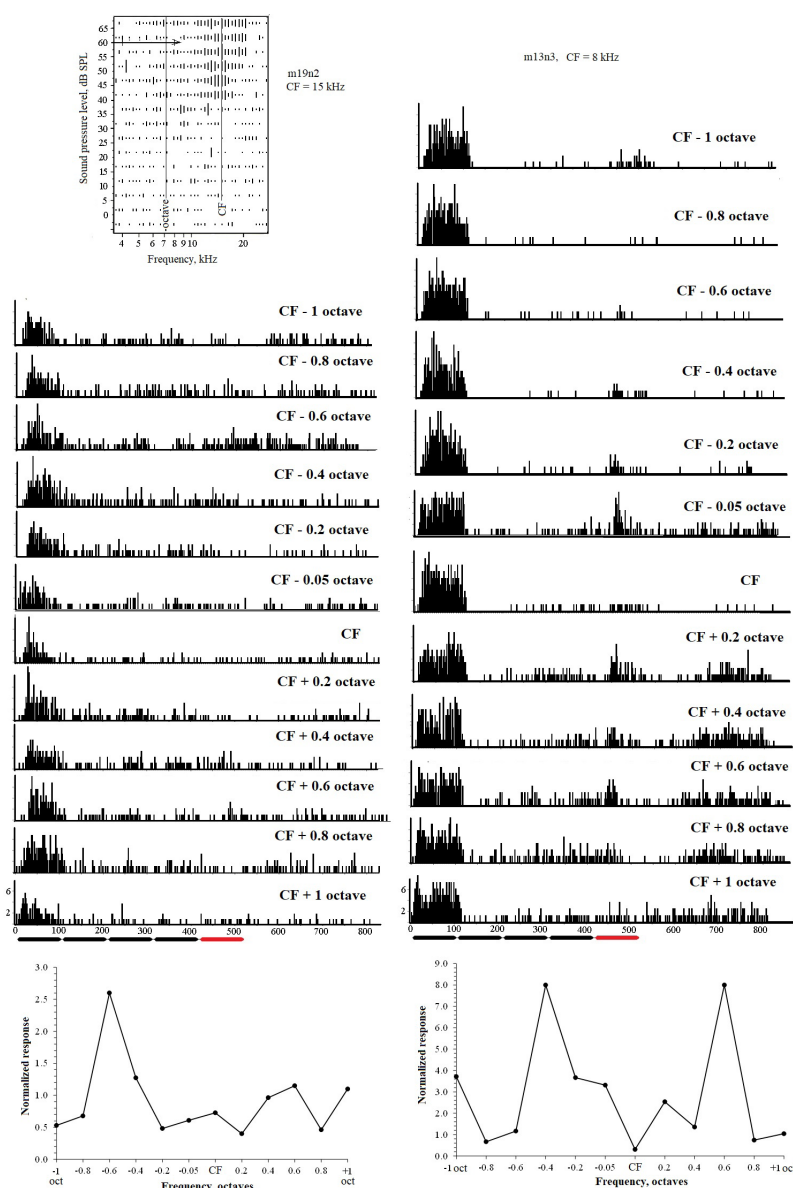


Рис. 1. Примеры освобождения от стимул-специфической адаптации ответов двух нейронов первичной слуховой коры бодрствующей мыши. В центре: перистимульные гистограммы ответов нейронов, вызванных сериями из четырех идентичных тонов и пятым девиантным тоном с изменяющейся частотой. Значение частоты пятого тона указано в октавных отношениях относительно ХЧ нейрона. Величина бина — 2 мс. Абсцисса — время, мс. Ордината — число спайков, N. Под гистограммами приведена отметка стимула, представляющего собой серию из 5 тонов длительностью 100 мс каждый. Вверху слева: частотное рецептивное поле нейрона. Высота каждого столбца диаграммы пропорциональна количеству спайков в ответе. Стрелки указывают на расположение тестируемых серий в рецептивном поле нейрона. Внизу: зависимость величины ответа тех же нейронов на 5-й тон в серии от его частоты. Величина ответа нейрона (число спайков) нормирована относительно его ответа на 4-й тон в серии, т. е. равна отношению числа спайков в ответе нейрона на 5-й тон к числу спайков в ответе на 4-й тон

Fig. 1. Examples of release from stimulus-specific adaptation in responses of two neurons in the primary auditory cortex of an awake mouse. The center shows peristimulus time histograms of neuronal responses evoked by series of four identical tones and a fifth deviant tone with a changing frequency. The frequency of the fifth tone is indicated in octaves relative to the neuron's characteristic frequency (CF). The bin width is 2 ms. The abscissa represents time (ms), and the ordinate represents the number of spikes (N). Below each histogram, the stimulus marking a sequence of five 100-ms tones is depicted. Top left: The frequency receptive field. The height of each bar is proportional to the number of spikes in the response, with arrows indicating the location of the tested series within the receptive field of the neuron. Bottom: The response value of the same neurons to the fifth tone in the series, plotted as a function of its frequency. The magnitude of the neuron's response (number of spikes) is normalized relative to the response to the fourth tone, i. e., it represents the ratio of the number of spikes in the response to the fifth tone to the number of spikes in the response to the fourth tone

специфической адаптации в формировании реакций нейронов на новизну, включая ориентировочные реакции на звук. Эффект, показанный нами, таким образом, можно рассматривать как нейрофизиологическую основу избирательного выделения животным или человеком новой сенсорной информации из окружающего информационного континуума.

### 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 настоящем исследовании с участием экспериментальных животных (мышей), соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по биоэтике ИЭФБ РАН (Протокол № 1-2 от 26.01.2023).

### Ethics Approval

All experimental procedures involving mice in this study were conducted in accordance with

the ethical standards set forth by the legal regulations of the Russian Federation, the principles of the Basel Declaration, and the guidelines of the Commission on Bioethics of the I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry (Protocol No. 1-2, dated 26 January 2023).

### Вклад авторов

а. Егорова Марина Александровна — планирование исследования, проведение экспериментов, анализ и обсуждение результатов, написание текста статьи и подготовка рисунка;

б. Акимов Александр Григорьевич — проведение экспериментов, статистическая обработка полученных результатов;

в. Хорунжий Глеб Дмитриевич — первичная обработка и анализ данных, редактирование текста статьи, подготовка рисунка.

### Author Contributions

a. Marina A. Egorova — planned the study, conducted experiments, analyzed and discussed the results, wrote the manuscript, and prepared the figure;

b. Alexander G. Akimov — conducted experiments, performed statistical analysis of the obtained results;

c. Gleb D. Khorunzhii — conducted primary data processing and analysis, edited the manuscript, prepared the figure.

### References

- Bibikov, N. G. (1977) Nejrony novizny v slukhovoј sisteme lyagushki [“Novelty” neurons in the frog auditory system]. *Zhurnal vyshej nervnoj deyatel'nosti im. I. P. Pavlova — Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 27, no. 5, pp. 1091–1098. (In Russian)
- Bibikov, N. G. (2010) Neirofiziologicheskie mehanizmy slukhovoј adaptatsii. 2. Effekty posledestviya [Neurophysiological mechanisms of auditory adaptation. 2. Aftereffects]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*, vol. 41, no. 4, pp. 77–92. (In Russian)
- Bregman, A. S. (1990) *Auditory scene analysis. The Perceptual Organization of Sound*. Cambridge: MIT Press, 790 p. <https://doi.org/10.7551/mitpress/1486.001.0001> (In English)
- Duque, D., Malmierca, M. S. (2015) Stimulus-specific adaptation in the inferior colliculus of the mouse: Anesthesia and spontaneous activity effects. *Brain Structure and Function*, vol. 220, no. 6, pp. 3385–3398. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0862-1> (In English)
- Duque, D., Wang, X., Nieto-Diego, J. et al. (2016) Neurons in the inferior colliculus of the rat show stimulus-specific adaptation for frequency, but not for intensity. *Scientific Reports*, vol. 6, article 24114. <https://doi.org/10.1038/srep24114> (In English)
- Egorova, M. A. (2005) Frequency selectivity of neurons of the primary auditory field (A1) and anterior auditory field (AAF) in the auditory cortex of the house mouse (*Mus musculus*). *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 41, no. 4, pp. 476–480. <https://doi.org/10.1007/s10893-005-0085-4> (In English)
- Egorova, M. A., Akimov, A. G., Khorunzhii, G. D. (2024) Time scale of adaptation at the tonal sequence processing in the awake mice auditory cortex neurons. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 60, no. 1, pp. 332–341. <https://doi.org/10.1134/S0022093024010241> (In English)

- Ehret, G., Riecke, S. (2002) Mice and humans perceive multiharmonic communication sounds in the same way. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, vol. 99, no. 1, pp. 479–482. <https://doi.org/10.1073/pnas.012361999> (In English)
- Gaub, S., Ehret, G. (2005) Grouping in auditory temporal perception and vocal production is mutually adapted: The case of wriggling calls of mice. *Journal of Comparative Physiology A*, vol. 191, no. 12, pp. 1131–1135. <https://doi.org/10.1007/s00359-005-0036-y> (In English)
- Malinina, E. S., Egorova, M. A., Khorunzhiy, G. D., Akimov, A. G. (2016) Vremennaya shkala adaptatsii pri obrabotke zvukovykh posledovatel'nostej neuronami slukhovogo tsentra srednego mozga myshej [The time scale of adaptation in tonal sequence processing by the mouse auditory midbrain neurons]. *Doklady Akademii Nauk — Doklady Biological Sciences*, vol. 470, no. 1, pp. 209–213. <https://doi.org/10.1134/S001249661605001X> (In Russian)
- Malmierca, M. S., Cristaudo, S., Pérez-González, D., Covey, E. (2009) Stimulus-specific adaptation in the inferior colliculus of the anesthetized rat. *Journal of Neuroscience*, vol. 29, no. 17, pp. 5483–5493. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4153-08.2009> (In English)
- Malmierca, M. S., Sanchez-Vives, M. V., Escera, C., Bendixen, A. (2014) Neuronal adaptation, novelty detection and regularity encoding in audition. *Frontiers in Systems Neuroscience*, vol. 8, article 111. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00111> (In English)
- Pérez-González, D., Lao-Rodríguez, A. B., Aedo-Sánchez, C., Malmierca, M. S. (2024) Acetylcholine modulates the precision of prediction error in the auditory cortex. *Elife*, vol. 12, article RP91475. <https://doi.org/10.7554/eLife.91475.3> (In English)
- Pérez-González, D., Malmierca, M. S. (2014) Adaptation in the auditory system: An overview. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, vol. 8, article 19. <https://doi.org/10.3389/fnint.2014.00019> (In English)
- Sidman, R. L., Angevine, J. B., Pierce, E. T. (1971) *Atlas of the mouse brain and spinal cord*. Boston: Harvard University Press, 290 p. (In English)
- Ulanovsky, N., Las, L., Farkas, D., Nelken, I. (2004) Multiple time scales of adaptation in auditory cortex neurons. *Journal of Neuroscience*, vol. 24, no. 46, pp. 10440–10453. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1905-04.2004> (In English)
- Ulanovsky, N., Las, L., Nelken, I. (2003) Processing of low-probability sounds by cortical neurons. *Nature Neuroscience*, vol. 6, no. 4, pp. 391–398. <https://doi.org/10.1038/nn1032> (In English)
- Valerio, P., Rechenmann, J., Joshi, S. et al. (2024) Sequential maturation of stimulus-specific adaptation in the mouse lemniscal auditory system. *Science Advances*, vol. 10, no. 1, article eadi7624. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adi7624> (In English)





Check for updates

Экспериментальные статьи

УДК 57.04

EDN KLBVHU

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-325-330>

## Экспрессия генов *mtor* и *creb1* в мозге медоносной пчелы при действии электромагнитного излучения 2,4 ГГц

Т. Г. Зачепило<sup>✉1</sup>, А. К. Прибышина<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

Татьяна Геннадьевна Зачепило, SPIN-код: [7746-2208](#), ScopusAuthorID: [6506211770](#), ORCID: [0000-0001-6350-7050](#), e-mail: [polosataya2@mail.ru](mailto:polosataya2@mail.ru)

Алиса Кирилловна Прибышина, e-mail: [alisa\\_pribyshina@mail.ru](mailto:alisa_pribyshina@mail.ru)

**Для цитирования:** Зачепило, Т. Г., Прибышина, А. К. (2024) Экспрессия генов *mtor* и *creb1* в мозге медоносной пчелы при действии электромагнитного излучения 2,4 ГГц. *Интегративная физиология*, т. 5, № 3, с. 325–330. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-325-330> EDN KLBVHU

**Получена** 7 ноября 2024; прошла рецензирование 5 декабря 2024; принята 10 декабря 2024.

**Финансирование:** Исследование выполнено в рамках государственного задания Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (№1021062411629-7-3.1.4), с привлечением ресурсов ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем».

**Права:** © Т. Г. Зачепило, А. К. Прибышина (2024). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

**Аннотация.** Один из возможных путей негативных эффектов электромагнитных излучений — это нарушение внутриклеточных каскадов и как следствие метаболизма клеток. К важнейшим регуляторам активности генов в нейронах относится транскрипционный фактор CREB1. Ключевым регулятором метаболизма клеток является белок mTOR. Рассматривается влияние высокочастотного электромагнитного излучения Wi-Fi-роутера 2,4 ГГц на экспрессию генов *mtor* и *creb* в мозге медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.). Пчела — важнейшее насекомое-опылитель — чувствительна к действию электромагнитных излучений в связи с необходимостью их использования в процессе жизнедеятельности. В экспериментальной группе пчел облучали в течение 3 часов, в контрольной группе пчелы были без действия облучения. Далее мозг извлекали, осуществляли выделение РНК, обратную транскрипцию и полимеразную цепную реакцию. Обнаружено, что после трехчасовой экспозиции высокочастотного электромагнитного излучения изменяется экспрессия изучаемых генов по сравнению с контрольной группой. Полученные результаты указывают на возможное ухудшение метаболизма в нервной ткани. Понимание механизмов влияния электромагнитных излучений на мозг пчелы требует дальнейших исследований.

**Ключевые слова:** медоносная пчела, электромагнитное излучение, мозг, CREB1, mTOR

# Expression of *mtor* and *creb1* genes in the honeybee brain under the action of electromagnetic radiation of 2.4 GHz

T. G. Zachepilo <sup>1</sup>, A. K. Pribyshina<sup>1</sup>

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

## Authors

Tatiana G. Zachepilo, SPIN: 7746-2208, ScopusAuthorID: 6506211770, ORCID: 0000-0001-6350-7050, e-mail: [polosataya2@mail.ru](mailto:polosataya2@mail.ru)

Alisa K. Pribyshina, e-mail: [alisa\\_pribyshina@mail.ru](mailto:alisa_pribyshina@mail.ru)

**For citation:** Zachepilo, T. G., Pribyshina, A. K. (2024) Expression of *mtor* and *creb1* genes in the honeybee brain under the action of electromagnetic radiation of 2.4 GHz. *Integrative Physiology*, vol. 5, no. 3, pp. 325–330. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2024-5-3-325-330> EDN KLBYHU

**Received** 7 November 2024; reviewed 5 December 2024; accepted 10 December 2024.

**Funding:** The study was carried out within the supporting of the state task of the Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences (№1021062411629-7-3.1.4), with the involvement of the resources of the Center for Collective Use “Biocollection of IF RAS for the study of integrative mechanisms of nervous and visceral systems”.

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

**Abstract.** Electromagnetic radiation can potentially disrupt intracellular signaling pathways, thereby affecting cellular metabolism. Among the key regulators of gene activity in neurons are the transcription factor CREB1 and the mTOR protein involved in cellular metabolism. This study examines the effect of 2.4 GHz electromagnetic radiation, commonly emitted by Wi-Fi router on the expression of the *mtor* and *creb* genes in the brain of the honeybee (*Apis mellifera* L.). Honeybees, essential pollinators in ecosystems, are particularly vulnerable to electromagnetic radiation due to their interaction with environmental signals. In this experiment, honeybees in the experimental group were exposed to radiation for three hours, while the control group remained unexposed. After exposure, brain tissue was collected, and RNA was isolated for reverse transcription and PCR analysis. Results revealed altered expression of both *mtor* and *creb1* genes in treated honeybees compared to controls, suggesting a potential disturbance in cellular metabolism within the nervous tissue. These findings highlight the need for further investigation into the mechanisms by which electromagnetic radiation affects honeybee brain function.

**Keywords:** honeybee, electromagnetic radiation, brain, CREB1, mTOR

## Введение

В последние годы обнаружены негативные эффекты высокочастотных электромагнитных излучений (ЭМИ) на ряд животных и растительных организмов (Balmori 2021; Saliev et al. 2018). Одним из высокочувствительных к ЭМИ организмов является медоносная пчела *Apis mellifera* L. — важнейший опылитель сельскохозяйственных растений. Описано, что низко- и высокочастотные электромагнитные излучения ухудшают репродуктивный потенциал матки, влияют на биохимические показатели и поведение пчел (пищевую возбудимость, кратковременную память, способность возвращаться в улей) (Favre 2011; Halabi et al. 2013; Kumar et al. 2011; Lopatina et al. 2019; Migdal et al. 2023; Treder et al. 2023). Однако на сегодняшний день малоизвестно, какие изменения в клетках вызывают такие эффекты.

Для оценки физиологического состояния часто используют активность многофункцио-

нальных генов и их продуктов (белков). К таким генам относятся, например, гены транскрипционных факторов, гены антиоксидантных ферментов и белков теплового шока, гены нейротрофических факторов и т. д. К многофункциональным генам относятся *creb1* и *mtor*.

Важнейшим белком, регулирующим активность нейронов, является транскрипционный фактор CREB1. Белок CREB1 ((cAMP)-responsive element-binding protein, белок, связывающийся с цАМФ-чувствительным элементом) относится к семейству факторов транскрипции с мотивом лейциновой молнии (Yamashima 2012). CREB имеет домен с лейциновой молнией (bZIP) на С-конце, который обеспечивает димеризацию между различными членами семейства и участвует в распознавании и связывании с сайтами CRE; и KID домен, где расположен сайт для фосфорилирования протеинкиназой A (PKA) и другими киназами. Факторы транскрипции семейства CREB — это гомо- или гетеродимеры, при этом гомодимер CREB-CREB является более

сильным активатором транскрипции (Dworkin, Mantamadiotis 2010).

Транскрипционная активность CREB зависит от его статуса фосфорилирования. Например, увеличение внутриклеточной концентрации кальция, входящего через потенциал- и лиганд-зависимые каналы, приводит к повышению уровня циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) посредством активации рецепторов, связанных с G-белком. Факторы роста также активируют рецепторные тирозинкиназы для повышения уровня цАМФ. Указанные пути влияют на уровни фосфорилирования CREB1. Внутри нейронов CREB1 активируется фосфорилированием по Ser133 протеинкиназами PKA, MAPK и CaMKIV. Протеинфосфатазы PP-1 и PP2-A являются основными фосфатазами CREB. Активация NMDA рецепторов вызывает дефосфорилирование CREB во внесинаптических участках нейрона, тогда как в синаптических участках, напротив, она приводит к фосфорилированию CREB1 и CREB-зависимой экспрессии генов (Ghiani et al. 2007). Молекулы, участвующие в модуляции фосфорилирования CREB, включают: нейротрансмиттеры — дофамин, серотонин, глутамат,  $\gamma$ -аминомасляную кислоту (ГАМК); факторы роста — IGF-1, VEGF; нейротрофины — BDNF (Yamashima 2012).

CREB1 хорошо известен как активатор транскрипции, зависящей от опыта. Так, участие CREB1 в процессах памяти широко изучали на ряде модельных животных, от нематод до высших млекопитающих. Использование мутантных по CREB1 линий мышей было одним из наиболее важных подходов в выяснении роли CREB1 в механизмах памяти (см. обзор Kida, Serita 2014). Показано также, что CREB1 участвует в регуляции эмбрионального и взрослого нейрогенеза (Dworkin, Mantamadiotis 2010). CREB регулирует когнитивные процессы напрямую, влияя на память, и косвенно, влияя на нейрогенез в гиппокампе у взрослых позвоночных (Ortega-Martínez 2015). Показано наличие CREB и в мозге насекомых, в частности у медоносной пчелы, а также его роль в процессах памяти (Gehring et al. 2016).

Обнаружено, что хронический психосоциальный стресс у грызунов стимулирует транскрипционную активность CREB1 в гиппокампе и других областях мозга (Böer et al. 2010).

Другой важнейший белок-регулятор — mTOR (mammalian target of rapamycin) мишень рапамицина млекопитающих, представляет собой серин-треониновую протеинкиназу, кодируемую геном *mtor*. Путь mTOR является ключевым регулятором метаболизма. Передача сигналов

через путь mTOR активируется аминокислотами, инсулином и факторами роста и нарушается при дефиците питательных веществ или энергии. mTOR регулирует работу клеточных компонентов, участвующих в синтезе белка, включая факторы инициации и элонгации, а также в биогенезе рибосом (Wang, Proud 2006).

mTOR служит основным компонентом двух различных белковых комплексов, mTORC1 и mTORC2, которые регулируют различные клеточные процессы. В клетках активация mTORC1 требует интеграции различных стимулов, которые запускают биохимические реакции, регулирующие рост и метаболизм клеток. mTORC1 играет роль в опосредованной адаптации животных к различным экологическим стрессам в природе. Он важен для регуляции гомеостаза, влияя на рост и размножение, выживание при стрессе (Wu, Storey 2021). mTORC2 активируется АМФ-активируемой протеинкиназой во время острого энергетического стресса в качестве защитного механизма для ингибирования апоптоза и обеспечения выживания клеток (Kazyken et al. 2019).

В нейронах mTOR активируется аминокислотами (аргинин, лейцин и др.), нейротрофическими факторами (BDNF, NRG-1 и др.), и нейротрансмиттерами (через глутаматные метаботропные mGlu1/5, AMPA, дофаминовые D1 и D3, GABAB и серотониновые 5-HT<sub>6</sub> рецепторы). Такая активация способствует синтезу белка и зависимому от него синаптогенезу. Гораздо меньше сведений о функциях в нейронах mTORC2. Например, активация mTORC2 может быть вызвана нейротрофическими факторами, а не питательными веществами, в то время как ингибирование его активности, по видимому, связано с чрезмерной активацией mTORC1. Пластические события в ЦНС, запускаемые mTORC1, зависят от синтеза нового белка. У млекопитающих mTORC1 участвует в раннем развитии ЦНС, регулируя поддержание нейральных стволовых клеток, нейрональную дифференциацию, миграцию, а также развитие аксонов и дендритов. Было показано, что и взрослый нейрогенез у млекопитающих является процессом, зависящим от mTOR. Поэтому нарушение в работе сигнального пути mTOR приводит к аномалиям развития нейронов и порокам развития мозга, вызывая широкий спектр расстройств мозга, таких как аутизм, судороги и синдромы умственной отсталости. Таким образом, mTOR играет особую роль в нормальном развитии ЦНС, которое включает: удлинение и ветвление нейритов, формирование дендритных шипиков, синаптическую пластичность



и консолидацию памяти (см. обзор Ryskalin et al. 2017). В обзоре Хеберле с соавторами (Heberle et al. 2014) приведены сведения об изменении в активности комплексов mTOR во время клеточного стресса: стресса эндоплазматического ретикулума, окислительного и гипоксии.

Мы предположили, что такие важные регуляторы функций нейронов, как CREB и mTOR, могут изменять свою активность и/или экспрессию в ответ на экспозицию радиочастотным электромагнитным излучением. Таким образом, цель работы — оценить уровень экспрессии генов *creb1* и *mtor* в мозге пчел после трехчасового действия ЭМИ 2,4 ГГц.

## Материал и методы

### Материал

10–30-суточные рабочие особи медоносной пчелы краинской расы *Apis mellifera carnica* (Hymenoptera). Источник — пасека Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем»).

**Условия содержания.** Пчел содержали в наблюдательном улье, в условиях свободного доступа к пище и воде при постоянной температуре 30 °С. Световой режим — 12 ч:12 ч.

**Группы пчел.** В экспериментах изучали две группы пчел: контроль — пчелы, не подвергавшиеся облучению, опыт — пчелы, находившиеся три часа под излучающим роутером.

### Методы

**Экспозиция ЭМИ.** Источник ЭМИ — Wi-Fi роутер Linksys E1200EE (частота — 2,4 ГГц, мощность — 16,5 dBm, 2 внутренние антенны, коэффициент усиления — dBi: 4 dBi, стандарт Wi-Fi — 802,11 b/g/n). Роутер размещали на фанерной полке в клетке Фарадея, пчел — в сетчатых пластиковых пробирках под полкой с роутером на расстоянии 30 см. Напряженность электромагнитного поля в месте размещения пробирок с пчелами — 20 мВ/м. Облучение проводили в течение трех часов.

**Выделение РНК, обратная транскрипция и ПЦР.** Пчел замораживали. Затем извлекали мозг. Выделение РНК проводили с лизирующим раствором ExtractRNA (BC032, Евроген) согласно инструкции производителя. Обратную транскрипцию проводили с Oligo(dT) праймером согласно рекомендациям производителя (SK021, Евроген) — 2 часа при 38 °С. Проводили количественную ПЦР со смесью 5X

qPCRMix-HS SYBR+LowROX (PK156BL, Евроген) на амплификаторе QuantStudio5 (Applied Biosystems) с праймерами к генам *creb* (F — acacagcagcaactcatca, R — accagtctcaaccactgaa), *mtor* (F — tggcttggtggtgatagaca, R — ctttgctgtttccctctgtgc) и *rps5* (F — gatgtttctccgttacgacgagt, R — gagttcatcggtctaaacattcgg, референсный ген). Температура отжига праймеров: 58 °С. Температура элонгации: 68 °С. Количество циклов: 45. Экспрессию генов оценивали методом 2-ΔΔCt.

### Обработка данных

Количественные данные об экспрессии в контроле и опыте сравнивали с помощью критерия Манна — Уитни в программе Past 4.10.

## Результаты и обсуждение

Экспрессию генов *creb* и *mtor* при воздействии высокочастотным излучением роутера с частотой 2,4 ГГц изучали с помощью метода ОТ-ПЦР в реальном времени. Для гена транскрипционного фактора *creb* была показана экспрессия и в контроле (среднее 1,17), и в опыте (0,43). Экспрессия *creb* была ниже в опытной группе (действие ЭМИ 2,4 ГГц) (рис. 1А).

В некотором роде сходные результаты были получены на крысах при действии ЭМИ 2,856 ГГц и 1,5 ГГц: у животных снижалось количество фосфорилированного CREB1 в мозге, ухудшалась пространственная память и изменялись параметры электроэнцефалограммы (ЭЭГ) (Tan et al. 2021). Выявленное снижение уровня экспрессии *creb* после действия ЭМИ может указывать на снижение адаптационных процессов в ЦНС пчелы после трехчасового облучения.

Для гена *mtor* также была показана экспрессия и в контроле (среднее 1,32), и в опыте (0,72). При этом, экспрессия *mtor* была ниже в опытной группе (рис. 1В). mTOR активируется в ответ на поступление в клетку питательных веществ, гормонов и факторов роста, регулируя синтез белка и энергетический баланс клетки (Wu, Storey 2021). Также показано его влияние на продолжительность жизни, иммунную систему и аутофагию у беспозвоночных (нематода, дрозофила) (Kuo et al. 2018). mTOR вовлечен в опосредованную адаптацию животных к действию стрессоров в дикой природе. Полученные результаты могут указывать на то, что трехчасовое действие ЭМИ приводит к снижению уровня активности этого гена, и, вероятно, к изменению общего метаболизма.

В связи с небольшим объемом выборки (12 пчел в группе, по два исследованных мозга

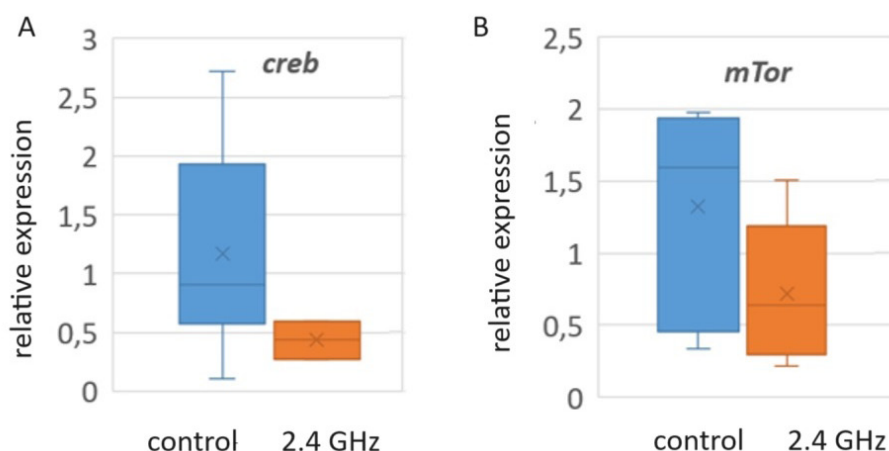


Рис. 1. Влияние ЭМИ 2,4 ГГц на экспрессию генов (А) *creb* и (В) *mTor* в мозге медоносной пчелы

Fig. 1. Effect of 2.4 GHz electromagnetic field on the expression of (A) *creb* and (B) *mTor* genes in the honeybee brain

в одной пробе) в проведенном пилотном исследовании не было получено достоверных различий. Однако имеется тенденция к снижению экспрессии генов *creb* и *mTor* после облучения в течение трех часов. Также отметим, что после действия ЭМИ уменьшался разброс данных для обоих генов, но влияние на *creb* было сильнее.

Интересно отметить однонаправленность в изменении экспрессии обоих генов регуляторов, которые имеют сходство по выше- и нижележащим регуляторным процессам и функциям. Несмотря на существенные различия в функциях CREB1 и mTOR, необходимо отметить, что оба эти белка вовлечены в регуляцию множества других процессов через активацию синтеза белка. Молекулярные механизмы ответа на действие высокочастотных ЭМИ требуют дальнейшего изучения.

### 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 contributed equally to the preparation of the article.

### References

- Balmori, A. (2021) Electromagnetic radiation as an emerging driver factor for the decline of insects. *Science of The Total Environment*, vol. 767, article 144913. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144913> (In English)
- Böer, U., Noll, C., Cierny, I. et al. (2010) A common mechanism of action of the selective serotonin reuptake inhibitors citalopram and fluoxetine: Reversal of chronic psychosocial stress-induced increase in CRE/CREB-directed gene transcription in transgenic reporter gene mice. *European Journal of Pharmacology*, vol. 633, no. 1–3, pp. 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.01.016> (In English)
- Dworkin, S., Mantamadiotis, T. (2010) Targeting CREB Signaling in Neurogenesis. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, vol. 14, no. 8, pp. 869–879. <https://doi.org/10.1517/14728222.2010.501332> (In English)
- Favre, D. (2011) Mobile phone-induced honeybee worker piping. *Apidologie*, vol. 42, no. 3, pp. 270–279. <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0016-x> (In English)
- Gehring, K. B., Heufelder, K., Feige, J. et al. (2016) Involvement of phosphorylated *Apis mellifera* CREB in gating a honeybee's behavioral response to an external stimulus. *Learning & Memory*, vol. 23, no. 5, pp. 195–207. <https://doi.org/10.1101/lm.040964.115> (In English)
- Ghiani, C. A., Beltran-Parral, L., Sforza, D. M. et al. (2007) Genetic program of neuronal differentiation and growth induced by specific activation of NMDA receptors. *Neurochemical Research*, vol. 32, no. 2, pp. 363–376. <https://doi.org/10.1007/s11064-006-9213-9> (In English)

- Halabi, N., Achkar, R., Haidar, G. A. (2013) The effect of cell phone radiations on the life cycle of honeybees. *IEEE EUROCON 2013*, pp. 529–536. <https://doi.org/10.1109/EUROCON.2013.6625032> (In English)
- Heberle, A. M., Prentzell, M. T., van Eunen, K. et al. (2014) Molecular mechanisms of mTOR regulation by stress. *Molecular Cell Oncology*, vol. 2, no. 2, article e970489. <https://doi.org/10.4161/23723548.2014.970489> (In English)
- Kazyken, D., Magnuson, B., Bodur, C. et al. (2019) AMPK directly activates mTORC2 to promote cell survival during acute energetic stress. *Science Signaling*, vol. 12, no. 585, article eaav3249. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aav3249> (In English)
- Kida, S., Serita, T. (2014) Functional roles of CREB as a positive regulator in the formation and enhancement of memory. *Brain Research Bulletin*, vol. 105, pp. 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2014.04.011> (In English)
- Kumar, N. R., Sangwan, S., Badotra, P. (2011) Exposure to cell phone radiations produces biochemical changes in worker honey bees. *Toxicology International*, vol. 18, no. 1, pp. 70–72. <https://doi.org/10.4103/0971-6580.75869> (In English)
- Kuo, C. J., Hansen, M., Troemel, E. (2018) Autophagy and innate immunity: Insights from invertebrate model organisms. *Autophagy*, vol. 14, no. 2, pp. 233–242. <https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1389824> (In English)
- Lopatina, N. G., Zachepilo, T. G., Kamyshev, N. G. et al. (2019) Vliyaniye neioniziruyushogo elektromagnitnogo izlucheniya na povedeniye medonosnoj pchely Apis mellifera L. (Hymenoptera, Apidae) [Effect of non-ionizing electromagnetic radiation on behavior of the honeybee Apis mellifera L. (Hymenoptera, Apidae)]. *Entomologicheskoye obozrenie — Entomological Review*, vol. 98, no. 1, pp. 35–43. <https://doi.org/10.1134/S0367144519010039> (In Russian)
- Migdal, P., Bienkowski, P., Cebrat, M. et al. (2023) Exposure to a 900 MHz electromagnetic field induces a response of the honey bee organism on the level of enzyme activity and the expression of stress-related genes. *PloS One* vol. 18, no. 5, article e0285522. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285522> (In English)
- Ortega-Martínez, S. (2015) A new perspective on the role of the CREB family of transcription factors in memory consolidation via adult hippocampal neurogenesis. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, vol. 8, article 46. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2015.00046> (In English)
- Ryskalin, L., Lazzeri, G., Flaibani, M. et al. (2017) mTOR-dependent cell proliferation in the brain. *Biomedical Research International*, vol. 2017, no. 1, article 7082696. <https://doi.org/10.1155/2017/7082696> (In English)
- Saliev, T., Begimbetova, D., Masoud, A.-R., Matkarimov, B. (2018) Biological effects of non-ionizing electromagnetic fields: Two sides of a coin. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, vol. 141, pp. 25–36. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2018.07.009> (In English)
- Tan, S., Wang, H., Xu, X. et al. (2021) Acute effects of 2.856 GHz and 1.5 GHz microwaves on spatial memory abilities and CREB-related pathways. *Scientific Reports*, vol. 11, no. 1, article 12348. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91622-4> (In English)
- Treder, M., Müller, M., Fellner, L. et al. (2023) Defined exposure of honey bee colonies to simulated radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF): Negative effects on the homing ability, but not on brood development or longevity. *The Science of the total environment*, vol. 896, article 165211. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165211> (In English)
- Wang, X., Proud, C. G. (2006) The mTOR pathway in the control of protein synthesis. *Physiology*, vol. 21, pp. 362–369. <https://doi.org/10.1152/physiol.00024.2006> (In English)
- Wu, C. W., Storey, K. B. (2021) mTOR Signaling in metabolic stress adaptation. *Biomolecules*, vol. 11, no. 5, article 681. <https://doi.org/10.3390/biom11050681> (In English)
- Yamashima, T. (2012) “PUFA-GPR40-CREB Signaling” Hypothesis for the adult primate neurogenesis. *Progress in Lipid Research*, vol. 51, no. 3, pp. 221–231. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2012.02.001> (In English)