



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

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

ISSN 2687-1270

**ИНТЕГРАТИВНАЯ
ФИЗИОЛОГИЯ**

INTEGRATIVE PHYSIOLOGY

T. 1 № 4 2020

Vol. 1 No. 4 2020



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

intphysiology.ru
ISSN 2687-1270 (online)
DOI 10.33910/2687-1270-2020-1-4
2020. Том 1, № 4
2020. Vol. 1, no. 4

Интегративная физиология Integrative Physiology

Свидетельство о регистрации СМИ ЭЛ № ФС 77 – 75141,
выдано Роскомнадзором 07.03.2019

Рецензируемое научное издание
Журнал открытого доступа
Учрежден в 2019 году
Выходит 4 раза в год
16+

Mass Media Registration certificate EL No. FS 77 – 75141,
issued by Roskomnadzor on 7 March 2019

Peer-reviewed journal
Open Access
Published since 2019
4 issues per year
16+

Редакция

Главный редактор

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

Заместитель главного редактора

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

Ответственный редактор

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

Editorial Team

Editor-in-chief

Lyudmila P. Filaretova (St Petersburg, Russia)

Deputy Editor-in-chief

Ekaterina A. Nikitina (St Petersburg, Russia)

Executive Editor

Olga A. Lyubashina (St Petersburg, Russia)

Редакционная коллегия

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

Н. М. Бажан (Новосибирск, Россия)

Б. Боназ (Гренобль, Франция)

Л. Б. Буравкова (Москва, Россия)

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

Дж. Вуд (Колумбус, США)

Н. В. Гуляева (Москва, Россия)

Д. Джебзова (Братислава, Словакия)

Н. Н. Дыгало (Новосибирск, Россия)

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

И. Жданова (Бостон, США)

Д. Зелена (Печ, Венгрия)

Б. Мачадо (Сан-Паулу, Бразилия)

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)

К. Такеучи (Киото, Япония)

И. Таше (Лос-Анджелес, США)

П. Фердинанди (Сегед, Венгрия)

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

Editorial Board

Vyacheslav G. Aleksandrov (St Petersburg, Russia)

Nadezhda M. Bazhan (Novosibirsk, Russia)

Bruno Bonaz (Grenoble, France)

Lyudmila B. Buravkova (Moscow, Russia)

Timur D. Vlasov (St Petersburg, Russia)

Jackie Wood (Columbus, USA)

Natalia V. Gulyaeva (Moscow, Russia)

Daniela Jezova (Bratislava, Slovakia)

Nikolai N. Dygalo (Novosibirsk, Russia)

Natalya A. Dyuzhikova (St Petersburg, Russia)

Irina Zhdanova (Boston, USA)

Dora Zelena (Pécs, Hungary)

Benedito Machado (São Paulo, Brazil)

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)

Koji Takeuchi (Kyoto, Japan)

Yvette Taché (Los Angeles, USA)

Peter Ferdinandy (Szeged, Hungary)

Yuri E. Shelepin (St Petersburg, Russia)

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

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

Объем 13,4 Мб

Подписано к использованию 28.12.2020

Published at 28.12.2020

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

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

Редактор *В. М. Махтина*
Редакторы английского текста *И. А. Наговицына, А. С. Самарский*
Корректор *А. Ю. Гладкова*
Оформление обложки *О. В. Рудневой*
Верстка *А. М. Ходан*

Санкт-Петербург, 2020
© Российский государственный педагогический университет
им. А. И. Герцена, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Приветствие главного редактора.....	256
Обзоры	258
<i>Szabo S., Zourna-Hargaden P.</i> COVID-19: New disease and the largest new human stressor	258
<i>Gyires K.</i> Brain-gut axis: From the conditioned reflex to the microbiota-gut-brain communication system	266
<i>Bonaz B.</i> Targeting the anti-inflammatory properties of the vagus nerve through vagus nerve stimulation: Therapeutic implications for inflammatory bowel diseases and other inflammatory conditions.....	277
<i>Александрова Н. П.</i> Патогенез дыхательной недостаточности при коронавирусной болезни (COVID-19)	285
<i>Гуляева Н. В.</i> Физиологический континуум пластичности и патологии нервной системы	294
<i>Жуйкова С. Е.</i> Глипролины — регуляторные пептиды с интегративным действием	303
<i>Лопатина Н. Г., Камышев Н. Г.</i> Лаборатории сравнительной генетики поведения — 70 лет	317
<i>Громова Л. И.</i> Фонды мемориального музея И. П. Павлова: открывая новые страницы.....	330
Экспериментальные статьи	351
<i>Мошонкина Т. Р., Погорльская М. А., Виноградская З. В., Лихачева П. К., Герасименко Ю. П.</i> Чрескожная электрическая стимуляция спинного мозга в двигательной реабилитации пациентов с травмой спинного мозга	351
<i>Федотов С. А., Беседина Н. Г., Брагина Ю. В., Даниленкова Л. В., Камышева Е. А., Камышев Н. Г.</i> Нейроны, экспрессирующие ген factor of interpulse interval (fipi), вовлечены в регуляцию поведения ухаживания самцов <i>Drosophila melanogaster</i>	366

CONTENTS

A word of salutation by the Editor-in-chief.	256
Reviews	258
<i>Szabo S., Zourna-Hargaden P.</i> COVID-19: New disease and the largest new human stressor	258
<i>Gyires K.</i> Brain-gut axis: From the conditioned reflex to the microbiota-gut-brain communication system	266
<i>Bonaz B.</i> Targeting the anti-inflammatory properties of the vagus nerve through vagus nerve stimulation: Therapeutic implications for inflammatory bowel diseases and other inflammatory conditions.	277
<i>Aleksandrova N. P.</i> Pathogenesis of respiratory failure in coronavirus disease (COVID-19).	285
<i>Gulyaeva N. B.</i> Physiological continuum of plasticity and pathology of the nervous system	294
<i>Zhuikova S. E.</i> Glyprolines: Regulatory peptides with an integrative action	303
<i>Lopatina N. G., Kamyshev N. G.</i> The 70 th anniversary of the Laboratory of Comparative Behavioral Genetics.	317
<i>Gromova L. I.</i> The collection of Ivan Pavlov's Memorial Museum: Opening new pages	330
Experimental articles	351
<i>Moshonkina T. R., Pogolskaya M. A., Vinogradskaya Z. V., Likhacheva P. K., Gerasimenko Yu. P.</i> Transcutaneous spinal cord electrical stimulation in motor rehabilitation of patients with spinal cord injury.	351
<i>Fedotov S. A., Besedina N. G., Bragina Ju. V., Danilenkova L. V., Kamysheva E. A., Kamyshev N. G.</i> The involvement of neurons expressing gene factor of interpulse interval (fipi) in regulation of courtship behavior of <i>Drosophila melanogaster</i> males.	366

Приветствие главного редактора

Глубокоуважаемые коллеги!

Перед вами четвертый, заключительный в 2020 году, номер журнала «Интегративная физиология». Первый номер журнала вышел вслед за празднованием 170-летия со дня рождения академика И. П. Павлова, первого российского лауреата Нобелевской премии, который по праву признается основателем интегративной физиологии. Четвертый номер журнала выходит, когда крупнейший физиологический институт, основанный И. П. Павловым, — Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН — празднует свое 95-летие. Номер посвящается этой юбилейной дате.

С большим удовольствием делюсь с читателями радостной новостью о том, что важность развития интегративной физиологии признается на государственном уровне. Совет по государственной поддержке создания и развития научных центров мирового уровня (НЦМУ), выполняющих исследования и разработки по приоритетам научно-технологического развития, одобрил формирование 10 центров по шести направлениям, в число которых вошел Павловский центр «Интегративная физиология — медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости». Помимо инициатора организации центра, Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (ИФ РАН), в его создании будут участвовать Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, московский Институт медико-биологических проблем РАН и Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ». Результаты исследований НЦМУ Павловский центр будут публиковаться в нашем журнале.

Журнал «Интегративная физиология» продолжает публикацию статей, посвященных проблеме пандемии коронавирусной инфекции COVID-19. Первую из обзорных статей номера, рассматривающую COVID-19 как новый стрессор для человечества, подготовил ученик Ганса Селье, основателя концепции о стрессе, профессор Шандор Сабо (Sandor Szabo, USA). Патогенез дыхательной недостаточности при коронавирусной болезни COVID-19 проанализирован в обзоре заведующей лабораторией физиологии дыхания ИФ РАН, доктора биологических наук Н. П. Александровой.

Приветствую читателей четвертого номера журнала «Интегративная физиология» и благодарю всех, кто сделал реальностью успешный выпуск всех его первых четырех номеров.

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

A word of salutation by the Editor-in-chief

Dear colleagues,

It is my pleasure to present to you the fourth and final issue of *Integrative Physiology* in 2020. The first issue of the journal was published following the celebration of the 170th anniversary of the birth of academician Ivan Pavlov, the first Russian Nobel Prize Winner who is widely acknowledged as the founder of integrative physiology. The fourth issue of *Integrative Physiology* marks the 95th anniversary of the largest physiological institute founded by Pavlov — Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences.

I have some good news to announce: Russian government has recognized the importance and high value of integrative physiology. The Council for State Support for the Creation and Development of World-Class Research Centers (WCRC) performing research and development in priority areas of science and technology has approved the creation of 10 centers in six fields of study, including the Pavlov Center for Integrative Physiology for Personal Medicine, High-Tech Healthcare, and Stress Resistance Technology. The Center is a result of a collective effort: initiated by the Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences (IPh RAS), the initiative will also involve the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS; Moscow Institute of Biomedical Problems, RAS, and Saint Petersburg State Electrotechnical University. The research findings of the Pavlov Center will be published in *Integrative Physiology*.

We continue a series of publications about the COVID-19 pandemic. One of the first papers of the current issue is a review that focuses on COVID-19 as a new stress factor. The publication has been prepared by Professor Sandor Szabo (USA) — a former student of Hans Selye, the founder of the concept of stress. The pathogenesis of respiratory failure in the coronavirus disease (COVID-19) has been analyzed in the review prepared by Nina P. Aleksandrova, Doctor of Sciences in Biology, Head of the Laboratory of Respiratory Physiology, IPh RAS.

Welcome to the fourth issue of *Integrative Physiology*. I would like to thank everyone who made the publication of all the four issues of the journal a success.

*Ludmila P. Filaretova,
Editor-in-Chief*

COVID-19: New disease and the largest new human stressor

S. Szabo^{✉1,2}, P. Zourna-Hargaden¹

¹ School of Medicine, American University of Health Sciences, 1600 E Hill Str., Signal Hill, CA 90755, USA

² School of Medicine, University of California, 1001 Health Sciences Rd, Irvine, CA 92697-3950, USA

Authors

Szabo Sandor,
Scopus AuthorID: 7202937719,
e-mail: sszabo@auhs.edu,
sszabo@uci.edu

Zourna-Hargaden Pantelina,
e-mail: pzhargaden@auhs.edu

For citation:

Szabo, S., Zourna-Hargaden, P.
(2020) COVID-19: New disease and
the largest new human stressor.
Integrative Physiology, vol. 1, no. 4,
pp. 258–265.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-
4-258-265

Received 20 October 2020;
reviewed 10 November 2020;
accepted 15 November 2020.

Copyright: © The Authors (2020).
Published by Herzen State
Pedagogical University of Russia.
Open access under CC BY-NC
License 4.0.

Abstract. Biological stress is the “nonspecific response of the body to any demand made upon it”. By definition, stress should be caused by different factors (stressors) eliciting similar neuroendocrine changes as well as bodily and behavioural alterations. COVID-19 (coronavirus disease — 2019) caused by the SARS-CoV-2 virus is a new and complex infectious disease. Its sudden and unexpected appearance in late 2019 and early 2020 found most countries unprepared; hence, it is not surprising that the new disease created much confusion, panic and chaos that almost predictably lead to stress. The multifactorial stress etiology is almost a given in a pandemic like this, e. g., anxiety about getting infected, uncertainty about what the future may bring, depression, isolation, family arguments in close quarters, real or perceived food shortages, unemployment, reduced income or its total loss, all culminating in increased domestic violence, suicides and stress-related diseases, such as heart attacks (i. e., myocardial infarction). The first scientific publications documenting these changes, especially in older populations, came from China in early and mid-2020. These results, originating from online surveys and interview-based assessments in various countries showed 20–40% increase in perceived distress, especially anxiety, with a substantial increase in PTSD. Fortunately, both the lay press and scientific publications advocate stress-prevention techniques that range from the “relaxation response” to yoga and specific physical exercises. The long-term health effects and public health consequences of increased distress due to COVID-19 remain to be seen and must be investigated.

Keywords: stress, distress, COVID-19, public health, epidemiology, stress-related diseases.

“COVID-19: A stress test for trust in science” is the title of a very recent editorial in the *Lancet* (COVID-19: A stress-test... 2020). The word “stress” in this short overview is not directly related to the biological stress, as Hans Selye first described it almost 85 years ago (Selye 1936; 1937), but nevertheless underlines the popularity and frequent use of not only the word, but also the concept of “stress” during the recent pandemic. The father of biological stress, Hans Selye used to complain during the last decade of his life (he died in 1982) that he had had to fight in the 1940s and 1950s to get the concept of stress or nonspecific adaption syndrome accepted, but in the 1960s and 1970s he had had to fight against its unnecessary use and implications in the scientific literature and the lay press (Szabo et al. 2012). Nevertheless, if he were alive nowadays,

he would enjoy hearing and reading the real and meaningful use of the term “stress” associated with all the travails during the COVID-19 pandemic and especially understanding how much the concept of biological stress has advanced from his early animal experiments to the nonspecific phenomena experienced at individual human and societal level. Thus, it may not be surprising that COVID-19 is the largest human stressor since World War II.

COVID-19 (**coronavirus disease–2019**), caused by the SARS-CoV-2 virus, is a new and complex infectious disease. Its sudden and unexpected appearance in late 2019 and early 2020 found most countries unprepared; thus, it is not surprising that the new disease created much confusion, panic and chaos that almost predictably lead to stress. In a recent review article on this topic written in March

and April 2020, when stress implications were emerging, we summarised new epidemiologic, public health and medical aspects of COVID-19 (Szabo 2020). In this short review, we will focus only on the stress-aspect related to COVID-19.

According to the original definition by Hans Selye, “stress is the nonspecific response of the body to any demand made upon it” (Selye 1974; 1976). Chaos and anxiety are often seen during epidemics, especially when they grow to the pandemic level. As a recent article stated, “crisis response has always been chaotic” (Akst 2020).

By definition, stress should be caused by different factors (stressors) eliciting similar neuroendocrine changes, such as rapidly released catecholamines and sustained, elevated levels of secreted glucocorticoids (Selye 1974; 1976). The multifactorial etiology is almost a given in a pandemic like this, e. g., anxiety about getting infected, uncertainty about what the future may bring, depression, isolation, family arguments in close quarters, real or perceived food shortages, unemployment, reduced income or its total loss, all culminating in increased domestic violence and suicides (Fig. 1). The more psychological, societal and physical stressors hit people, the more serious the resultant distress reaction becomes.

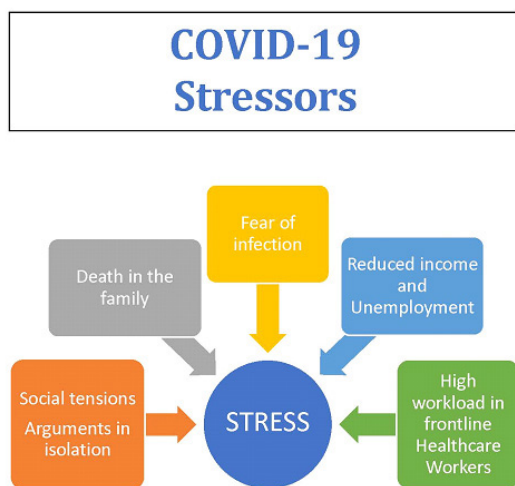


Fig. 1. Multifactorial stressors during the COVID-19 pandemic

Early descriptive reports on the COVID-associated stress

During the late winter and early spring of 2020, multiple descriptive reports were published in reputable newspapers and media outlets (e. g., *BBC*, *The Guardian*, *Le Monde*, *NPR*, *New York Times*, *Wall Street Journal*, *USA Today*, *Los Angeles Times*) on the perceived distress during the initial chaotic response to COVID-19, often focusing on certain

segments of the population. Some of them are illustrated in a collage of representative newspaper articles (Fig. 2).



Fig. 2. COVID-19 and stress in public and healthcare workers, as seen in the media. Suggestions for stress-coping and relief (modified from Szabo 2020)

Distress may involve all segments of the population, but the most severely affected ones are healthcare workers (e. g., emergency room and intensive care unit doctors and nurses) and contact tracers. Besides almost all the other factors that hit any segment of the society, additional stress on the healthcare workers includes long hours they have to put in, in part due to the shortages of doctors and nurses, insufficient personal protective equipment, triaging patients who cannot be saved due to the lack of respirators or hospital beds, seeing dying patients, etc. No wonder that healthcare workers in some hospitals demand improvements or refuse to work to protect themselves and their families from potential exposure to the new virus (Fig. 2). All this is compounded by the fact that thousands of doctors and nurses died worldwide, apparently in a much larger percentage than people in any other professional segment.

Some of the early articles offered remedies for the pandemic distress and, fortunately, the social media and the lay press were full of stress-reduction exercises, diets and other measures. The simplest, scientifically proven measures among them are the “relaxation response” (Benson 1975), meditation, yoga and easy seven-minute workouts (Fig. 2). All these measures should be preceded by and associated with a healthy diet (a lot of vegetables, minimal carbohydrates and salt), plenty of hydration, daily exercise (at least 30 min of walking), breathing exercise and (if available) plenty of sunshine. If none of these steps help, it is crucial to obtain professional help from licensed mental health experts to avoid deep depression, alcoholism or domestic violence.

Understanding stress in the COVID-19 era

Stress is usually perceived as something bad and negative; however, Selye often emphasised that “stress is the salt of life” (Selye 1974; 1976). At the end of his long scientific career, not only did he recognize that stress in small amounts makes us more resilient (he named this “cross resistance”) but also that there is good or positive and bad or negative stress. In his book “Stress without distress” Selye named these “eustress” (like euphoria) and “distress” (Selye 1974). Although the pituitary and adrenal glands cannot differentiate the reasons for increased ACTH and cortisol secretion, some brain areas can (e. g., the prefrontal cortex, the amygdala and the hippocampus). These concepts were further reinforced by subsequent seminal discoveries by Ludmila Filaretova who confirmed that although high levels of glucocorticoids are indeed bad for our body, their small doses are actually protective (Filaretova et al. 1998; 2009).

In this review, due to COVID-19 being a severe disease, we focus on the negative effects of the associated biological stress, i. e., on distress, and we use terms “stress” and “distress” interchangeably.

Life during the COVID-19 pandemic is associated with increased levels of anxiety, distress, mood

disturbances and other mental health disorders in certain population groups (trauma, PTSD, obsessive-compulsive syndrome) (Zvolensky et al. 2020). This section will focus on evidence-based data but also on media-reported information since February 2020. As public health professionals, the authors believe that media advocacy is of utmost importance in developing public health strategies to promote well-being of individuals during the pandemic and unique mental health challenges associated with it. There has never been a comparable chance and urgent need for public health practitioners to take into consideration all emerging data in order to coordinate their efforts in epidemiologic research, to promote public health measures through dissemination of scientifically correct information and to formulate health policies through globally used social media platforms and technologies.

In order to identify population groups at risk of stress and worse general health or mental health outcomes, a certain distinction in the etiology and description of stress is necessary: (a) direct (normal) stress, generated through a full direct cascade of stress responses. This can be expected to include activation of the neuroendocrine HPA stress axis and other systems that maintain homeostasis; (b) stress through indirect mechanisms; e. g., social

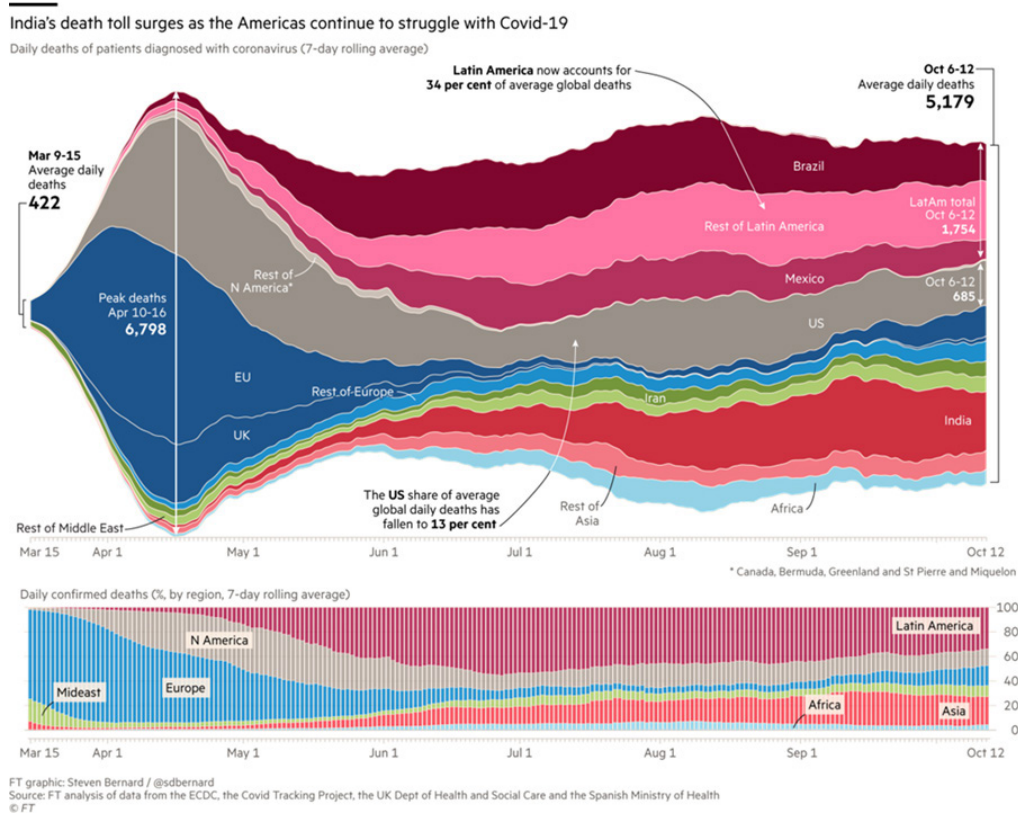


Fig. 3. COVID-19 death rates (as of October 2020). Data from Latin America (separate data from Brazil), Mexico, US, Europe, India and Asia

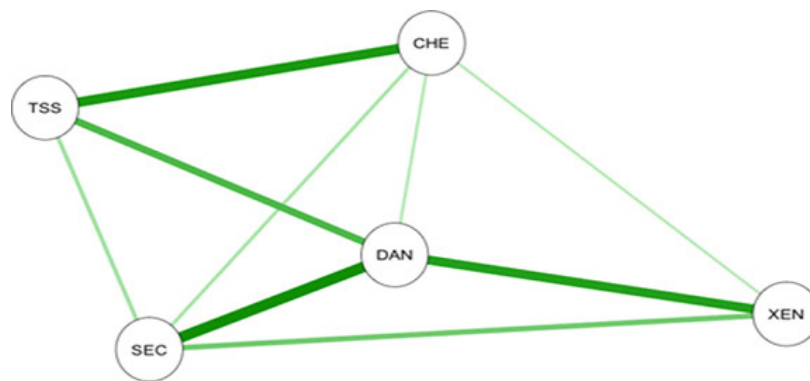


Fig. 4. The COVID stress syndrome is characterised as a network of interconnected symptoms, with the fear caused by COVID-19 and its danger at its centre (DAN), which is interconnected with socioeconomic concerns (SEC), xenophobia (XEN), traumatic stress symptoms (TSS) and compulsive checking and reassurance seeking (CHE). Thicker lines represent stronger connections (modified from Taylor et al. 2020)

distancing and financial hardships likely influence coping/adaptive mechanisms, causing anxiety and stress, and may lead to increased smoking or increased vulnerability and relapse in former users. (Patwardhan 2020; Stubbs et al. 2017). Smoking initiation and severity, in turn, increase the COVID-19 susceptibility and lead to worse disease-related outcomes. It is imperative that healthcare providers assess smoking (including the e-cigarette use) as well as the relapse potential among former users and provide appropriate education and intervention to help mitigate the potential negative effect of this health behaviour on the disease infection and its course.

Facts and evidence-based data

COVID-19 acts as a broad stressor that increases both normal and pathologic functions in the body, but the resulting distress also leads to mood disturbances and other mental health problems (fear, paranoia, PTSD, obsessive-compulsive syndrome). According to recent research, it may bring about more severe health problems, such as chronic illnesses and drug addiction, especially in people with pre-existing pathologic conditions (Zvolensky et al. 2020). To date, COVID-19 has affected more than 38 million people, with fatal consequences for more than 1 million. The total toll is depicted in Fig. 3.

Recently, the “COVID Stress Syndrome” model (CSS 2020) was developed, which identifies five distinct but also interrelated elements (Taylor et al. 2020):

- 1) Fear of the COVID-19 danger and getting infected by different means, e. g., touching contaminated objects, breathing contaminated air, etc. (DAN).

- 2) Worry about the social and financial impact (socioeconomic costs) of the virus (SEC).
- 3) Marked concern that foreigners spread the disease (XEN).
- 4) Related traumatic stress symptoms (TSS).
- 5) Compulsive checking and seeking reassurance (CHE).

The new “COVID stress syndrome” was described and characterised as a network of interconnected symptoms, with the fear caused by COVID-19 and its danger at its centre, which is interconnected with socioeconomic concerns, xenophobia, traumatic stress symptoms, compulsive checking and reassurance seeking. The network, in turn, is associated with other factors such as excessive avoidance, panic purchasing, high distress levels and maladaptive coping during self-isolation (Fig. 4) (Taylor et al. 2020).

Data from survey studies in China suggest that around 25% of the general population have experienced moderate to severe levels of stress- or anxiety-related symptoms in response to COVID-19 (Qiu et al. 2020; Wang et al. 2020b). Among 1210 respondents in a survey study in China, 8.1% reported moderate to severe stress levels, while 28.8% reported moderate to severe anxiety symptoms (Wang et al. 2020a). A countrywide survey that included 52730 people in China during the COVID-19 epidemic found that about 35% of the participants had psychological distress (Qui et al. 2020). The latter study is in line with the recent Kaiser Family Foundation survey results indicating that 45% of adults in the USA report that their mental health has been negatively impacted due to worry and distress over the coronavirus (Panchal et al. 2020).

Stress is often associated with insomnia, as demonstrated by cross-sectional studies that included medical staff and individuals in self-isolation (Xiao

et al. 2020a; 2020b). In the largest Chinese survey in July 2020, with 56 679 participants across all 34 province-level regions, 31.6% had anxiety symptoms, 29.2% had insomnia and 24.4% had acute distress symptoms during the outbreak (Shi et al. 2020).

Comparison of data from several countries reveals the variability in the perceived distress among the general public, e. g., 32.1% in China (Wang et al. 2020a, an online survey), 35.7% in India (Kazmi et al. 2020, an online survey), 17.5% in Iraq (Othman et al. 2020, an online survey), 37% in Spain (Odriozola-González 2020, social media survey) and 27.2% in Italy (Mazza et al. 2020, an online survey). No difference in depression levels was detected among the COVID-19 patients compared to the general public, nor did the anxiety levels differ between the groups, according to a case-control study in China (Zhang et al. 2020). In an online survey involving infected patients, 96.2% reported PTSD-like symptoms associated with the COVID-19 (Bo et al. 2020).

A survey of 1441 individuals from the US showed that 27.8% had depression symptoms during COVID-19 compared with 8.5% before COVID-19, representing a 3-fold increase in all demographic groups during the pandemic. Furthermore, a higher socioeconomic status was associated with fewer depression symptoms both before and during COVID-19 (Ettman et al. 2020).

Data from most case-control studies originating in China suggest that stress and anxiety levels significantly increased among healthcare professionals (Cai et al. 2020; Lu et al. 2020; Xu et al. 2020; Chen et al. 2020; Xue et al. 2020; Li et al. 2020). However, one case-control study (Liang et al. 2020) showed no differences in anxiety levels when medical health workers in the COVID department were compared to medical staff in other departments (e. g., cardiology). Lastly, in another case-control study, poor sleep quality was detected among healthcare workers with no differences in anxiety levels (Huang, Zhao 2020).

A systematic review and meta-analysis from Greece, which combined data from 12 studies on healthcare workers, showed that the pooled prevalence of anxiety among healthcare workers was 23.2%. Remarkably, when the GAD-7 (Generalised anxiety disorder 7-item scale) was used as the assessment tool, the pooled prevalence of anxiety (from four studies) was as high as 36.9% (Pappa et al. 2020).

Although there is more evidence coming in since the beginning of the pandemic (around 40 studies so far), these results cannot be generalised due to their origin (most studies were conducted in Asia) and the fact that they are not case-control studies

and include various reported outcomes and statistical methods. Lastly, the scientific literature is very limited on psychiatric symptoms among patients with the SARS-CoV-2 infection. The inconsistencies may be due to several factors, such as differences in sampling methods, variations in research participants or screening tools, differences in the time points of the mental health assessment (Peng et al. 2020).

Prevention and treatment strategies

In the aftermath of the health crisis declared by the WHO as the Public Health Emergency of International Concern, multiple public health measures were implemented at community, regional and national levels in China and most of the countries around the world in an effort to control the disease transmission (Adhikari et al. 2020). The WHO also issued detailed guidelines on the use of face masks in the community, during care at home and in the health care settings during COVID-19 (WHO. Advice on the use of masks in the community, during home care and in health care settings in the context of the novel coronavirus 2019-nCoV outbreak Interim guidance: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330987>).

With the depression prevalence in 23% of the aging population in China, there was an early need to improve mental health services delivery to this population group, as detected by public health professionals (Yang et al. 2020). In this paper, the authors underline the risks caused by an upcoming mental health crisis and the inadequacy of online mental health services due to the restricted technology use by older populations. It was proposed to use online surveys for assessing mental health problems and to provide online counseling and self-help services targeting several age groups (Liu et al. 2020).

Another study highlighted the services that are already provided in China and also listed strategies for the general public to minimize the outbreak-related stress: (a) information accuracy assessment; (b) enhancing social support; (c) reducing the stigma associated with the disease; (d) maintaining as normal a life as possible while adhering to safety measures; (e) using available psychosocial services, particularly online services, when needed (Bao et al. 2020). A recent educational article from the USA underlined mental health issues associated with the COVID-19 pandemic and declared that “under stress, our brain works overtime to regulate our emotions, attention and behaviour” (Bernstein 2020). It called attention to “the one thing you can control now: yourself”.

Psychiatric services have also shifted to telepsychiatry, up to 90% in Europe, especially in Paris, and up to 100% in Italian psychiatric departments. Telemedicine has been embraced by a part of clinicians; however, the majority does not practice. In the US, a consensus guideline exists since 2018 between the American Psychiatric Association and the American Telemedicine Association, and clinicians are encouraged to embrace telemedicine by public health officials (Best practices... 2018). Researchers in China developed intervention models, including AI programs, and suggested that all medical health professionals as well as volunteers should be trained to deliver mental health care in and out of hospitals (Kang et al. 2020).

The “virtual reality” therapy for stress developed by companies involved in Augmented Reality (AR) and Virtual Reality (VR) gained attention during

the pandemic (Fig. 5). Examples include meditative virtual reality games which invoke slow and deep breathing by making players watch virtual worlds using biofeedback mechanics as their control system (DEEP VR, Soundself). In Spain, for instance, the Barcelona-based company Psious has developed an all-in-one virtual reality platform for therapists and mental health professionals to treat anxiety disorders through exposure therapies. In the United States, the Massachusetts-based XR Health is a virtual reality tele-health company with over 500 certified healthcare professionals.

Despite multiple existing stress-coping, preventive and therapeutic programs, the long-term health effects and public health consequences of the increased distress during the COVID-19 pandemic remain to be seen and must be investigated.



Fig. 5. Virtual reality exposure-based therapy (VR) and augmented reality exposure-based therapy (ARET) adopted to combat stress during COVID-19 (a collage based on the Internet resources)

References

- Adhikari, S. P., Meng, S., Wu, Y.-J. et al. (2020) Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: A scoping review. *Infectious Diseases of Poverty*, vol. 9, article 29. DOI: 10.1186/s40249-020-00646-x (In English)
- Akst, D. (2020) Crisis response has always been chaotic. *Los Angeles Times*, 19 April. [Resource with limited access]. Available at: <https://blendle.com/i/time/crisis-response-has-always-been-chaotic/bnl-latimes-20200419-1ba1df2b> (accessed 10.09.2020). (In English)
- Benson, H. (1975) *The relaxation response*. New York: Morrow Publ., 158 p. (In English)
- Bernstein, E. (2020) The one thing you can control now: Yourself. *Wall Street Journal*, 25 August. [Resource with limited access]. Available at: <https://www.wsj.com/articles/the-one-thing-you-can-control-right-now-yourself-11598403600> (accessed 10.09.2020). (In English)
- Bao, Y., Sun, Y., Meng, S. et al. (2020) 2019-nCoV epidemic: Address mental health care to empower society. *The Lancet*, vol. 395, no. 10224, pp. e37–e38. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30309-3 (In English)
- Best practices in videoconferencing-based telemental health (April 2018)*. (2018) [Online]. Available at: <https://www.psychiatry.org/File%20Library/Psychiatrists/Practice/Telepsychiatry/APA-ATA-Best-Practices-in-Videoconferencing-Based-Telemental-Health.pdf> (accessed 19.09.2020). (In English)
- Bo, H.-X., Li, W., Yang, Y et al. (2020) Posttraumatic stress symptoms and attitude toward crisis mental health services among clinically stable patients with COVID-19 in China. *Psychological Medicine*. DOI: 10.1017/S0033291720000999 (In English)
- Cai, W., Lian, B., Song, X. et al. (2020) A cross-sectional study on mental health among health care workers during the outbreak of Corona Virus Disease 2019. *Asian Journal of Psychiatry*, vol. 51, article 10211. DOI: 10.1016/j.ajp.2020.102111 (In English)
- COVID-19: A stress-test for trust in science. (2020) *The Lancet*, vol. 396, no. 10254, p. 799. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31954-1 (In English)
- Ettman, C. K., Abdalla, S. M., Cohen, G. H. et al. (2020) Prevalence of depression symptoms in US adults before and during the COVID-19 pandemic. *JAMA Network Open*, vol. 3, no. 9, article e2019686. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2020.19686 (In English)
- Filaretova, L. P., Filaretov, A. A., Makara, G. B. (1998) Corticosterone rise inhibits stress-induced gastric erosions in rats. *American Journal of Physiology. Gastroprotection by endogenous corticosterone*, vol. 274, no. 6, pp. G1024–G1030. DOI: 10.1152/ajpgi.1998.274.6.G1024 (In English)
- Filaretova, L., Podvigina, T., Bagaeva, T., Morozova, O. (2009) Dual action of glucocorticoid hormones on the gastric mucosa: How the gastroprotective action can be transformed to the ulcerogenic one. *Inflammopharmacology*, vol. 17, no. 1, pp. 15–22. DOI: 10.1007/s10787-008-8046-3 (In English)
- Huang, Y., Zhao, N. (2020) Generalized anxiety disorder, depressive symptoms and sleep quality during COVID-19 outbreak in China: A web-based cross-sectional survey. *Psychiatry Research*, vol. 288, article 112954. DOI: 10.1016/j.psychres.2020.112954 (In English)
- Kang, L., Li, Y., Hu, S. et al. (2020) The mental health of medical workers in Wuhan, China dealing with the 2019 novel coronavirus. *The Lancet Psychiatry*, vol. 7, no. 3, p. e14. DOI: 10.1016/S2215-0366(20)30047-X (In English)
- Kazmi, S. S. H., Hasan, K., Talib, S., Saxena, S. (2020) COVID-19 and lockdown: A study on the impact on mental health. *Mukt Shabd Journal*, vol. 9, no. 4, pp. 1477–1489. DOI: 10.2139/ssrn.3577515 (In English)
- Li, Z., Ge, J., Yang, M. et al. (2020) Vicarious traumatization in the general public, members, and non-members of medical teams aiding in COVID-19 control. *Brain, Behavior, and Immunity*, vol. 88, pp. 916–919. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.03.007 (In English)
- Liu, S., Yang, L., Zhang, C. et al. (2020) Online mental health services in China during the COVID-19 outbreak. *The Lancet Psychiatry*, vol. 7, no. 4, pp. e17–e18. DOI: 10.1016/S2215-0366(20)30077-8 (In English)
- Lu, W., Wang, H., Lin, Y., Li, L. (2020) Psychological status of medical workforce during the COVID-19 pandemic: A cross-sectional study. *Psychiatry Research*, vol. 288, article 112936. DOI: 10.1016/j.psychres.2020.112936 (In English)
- Mazza, C., Ricci, E., Biondi, S. et al. (2020) A nationwide survey of psychological distress among Italian people during the COVID-19 pandemic: Immediate psychological responses and associated factors. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 17, no. 9, article 3165. DOI: 10.3390/ijerph17093165 (In English)
- Odrozola-González, P., Planchuelo-Gómez, Á., Irurtia, M. J., de Luis-García, R. (2020) Psychological effects of the COVID-19 outbreak and lockdown among students and workers of a Spanish university. *Psychiatry Research*, vol. 290, article 113108. DOI: 10.1016/j.psychres.2020.113108 (In English)
- Othman, N. (2020) Depression, anxiety, and stress in the time of COVID-19 pandemic in Kurdistan region, Iraq. *Kurdistan Journal of Applied Research*, vol. 5, Special issue on coronavirus (COVID-19), pp. 37–44. DOI: 10.24017/covid.5 (In English)
- Panchal, N., Kamal, R., Orgera, K. et al. (2020) The implications of COVID-19 for mental health and substance use. *Kaiser Family Foundation*, 21 August. [Online]. Available at: <https://www.kff.org/coronavirus-covid-19/issue-brief/the-implications-of-covid-19-for-mental-health-and-substance-use/> (accessed 19.09.2020). (In English)

- Pappa, S., Ntella, V., Giannakas, T. et al. (2020) Prevalence of depression, anxiety, and insomnia among healthcare workers during the COVID-19 pandemic: A systematic review and meta-analysis. *Brain, Behavior, and Immunity*, vol. 88, pp. 901–907. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.05.026 (In English)
- Patwardhan, P. (2020) COVID-19: Risk of increase in smoking rates among England's 6 million smokers and relapse among England's 11 million ex-smokers. *British Journal of General Practice Open*, vol. 4, no. 2, article bjgpopen20X101067. DOI: 10.3399/bjgpopen20X101067 (In English)
- Peng, M., Mo, B., Liu, Y. et al. (2020) Prevalence, risk factors and clinical correlates of depression in quarantined population during the COVID-19 outbreak. *Journal of Affective Disorders*, vol. 275, pp. 119–124. DOI: 10.1016/j.jad.2020.06.035 (In English)
- Qiu, J., Shen, B., Zhao, M. et al. (2020) A nationwide survey of psychological distress among Chinese people in the COVID-19 epidemic: Implications and policy recommendations. *General Psychiatry*, vol. 33, no. 2, article e100213. DOI: 10.1136/gpsych-2020-100213 (In English)
- Selye, H. (1936) A syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature*, vol. 138, no. 3479, p. 32. DOI: 10.1038/138032a0 (In English)
- Selye, H. (1937) The significance of the adrenals for adaptation. *Science*, vol. 85, no. 2201, pp. 247–248. DOI: 10.1126/science.85.2201.247 (In English)
- Selye, H. (1974) *Stress without distress*. Philadelphia: J. B. Lippincott Co., 171 p. (In English)
- Selye, H. (1976) *Stress in health and disease*. Boston: Butterworth-Heinemann Publ., 1300 p. (In English)
- Shi, L., Lu, Z.-A., Que, J.-Y. et al. (2020) Prevalence of and risk factors associated with mental health symptoms among the general population in China during the coronavirus disease 2019 Pandemic. *JAMA Network Open*, vol. 3, no. 7, article e14053. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2020.14053 (In English)
- Stubbs, B., Veronese, N., Vancampfort, D. et al. (2017) Perceived stress and smoking across 41 countries: A global perspective across Europe, Africa, Asia and the Americas. *Scientific Reports*, vol. 7, article 7597. DOI: 10.1038/s41598-017-07579-w (In English)
- Szabo, S. (2020) COVID-19: New disease and chaos with panic, associated with stress. *Medical Sciences*, vol. 59, no. 1, pp. 41–62. DOI: 10.25040/ntsh2020.01.14 (In English)
- Szabo, S., Tache, Y., Somogyi, A. (2012) The legacy of Hans Selye and the origins of stress research: A retrospective 75 years after his landmark “letter” in Nature. *Stress*, vol. 15, no. 5, pp. 472–478. DOI: 10.3109/10253890.2012.710919 (In English)
- Taylor, S., Landry, C. A., Paluszek, M. M. et al. (2020) COVID stress syndrome: Concept, structure, and correlates. *Depression and Anxiety*, vol. 37, no. 8, pp. 706–714. DOI: 10.1002/da.23071 (In English)
- Wang, C., Pan, R., Wan, X. et al. (2020a) Immediate psychological responses and associated factors during the initial stage of the 2019 coronavirus disease (COVID-19) epidemic among the general population in China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 17, no. 5, article 1729. DOI: 10.3390/ijerph17051729 (In English)
- Wang, S., Xie, L., Xu, Y. et al. (2020b) Sleep disturbances among medical workers during the outbreak of COVID-2019. *Occupational Medicine*, vol. 70, no. 5, pp. 364–369. DOI: 10.1093/occmed/kqaa074 (In English)
- Xiao, H., Zhang, Y., Kong, D. et al. (2020a) Social capital and sleep quality in individuals who self-isolated for 14 days during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in January 2020 in China. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, vol. 26, article e923921. DOI: 10.12659/MSM.923921 (In English)
- Xiao, H., Zhang, Y., Kong, D. et al. (2020b) The effects of social support on sleep quality of medical staff treating patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in January and February 2020 in China. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, vol. 26, article e923549. DOI: 10.12659/MSM.923549 (In English)
- Xu, J., Xu, Q.-h., Wang, C.-m., Wang, J. (2020) Psychological status of surgical staff during the COVID-19 outbreak. *Psychiatry Research*, vol. 288, article 112955. DOI: 10.1016/j.psychres.2020.112955 (In English)
- Xue, Z., Lin, L., Zhang, S. et al. (2020) Sleep problems and medical isolation during the SARS-CoV-2 outbreak. *Sleep Medicine*, vol. 70, pp. 112–115. DOI: 10.1016/j.sleep.2020.04.014 (In English)
- Yang, Y., Li, W., Zhang, Q. et al. (2020) Mental health services for older adults in China during the COVID-19 outbreak. *The Lancet Psychiatry*, vol. 7, no. 4, p. e19. DOI: 10.1016/S2215-0366(20)30079-1 (In English)
- Zhang, J., Lu, H., Zeng, H. et al. (2020) The differential psychological distress of populations affected by the COVID-19 pandemic. *Brain, Behavior, and Immunity*, vol. 87, pp. 49–50. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.04.031 (In English)
- Zvolensky, M. J., Garey, L., Rogers, A. H. et al. (2020) Psychological, addictive, and health behavior implications of the COVID-19 pandemic. *Behaviour Research and Therapy*, vol. 134, article 103715. DOI: 10.1016/j.brat.2020.103715 (In English)

Brain-gut axis: From the conditioned reflex to the microbiota-gut-brain communication system

K. Gyires✉¹

¹Department of Pharmacology and Pharmacotherapy, Semmelweis University, Nagyvárad tér 4, 1089, Budapest, Hungary

Author

Klara Gyires,
Scopus AuthorID: 7004020519,
e-mail:
gyires.klara@med.semmelweis-univ.hu

For citation:

Gyires, K.
(2020) Brain-gut axis:
From the conditioned reflex
to the microbiota-gut-brain
communication system. *Integrative
Physiology*, vol. 1, no. 4,
pp. 266–276.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-
4-266-276

Received 7 October 2020;
reviewed 25 October 2020;
accepted 4 November 2020.

Copyright: © The Author (2020).
Published by Herzen State
Pedagogical University of Russia.
Open access under CC BY-NC
License 4.0.

Abstract. Communication between the central nervous system (CNS) and the gastrointestinal tract is called the brain-gut axis. This communication network includes the CNS, hypothalamic-pituitary-adrenal axis, the autonomic nervous system (sympathetic and parasympathetic), the enteric nervous system and the gut microbiota. From the conditioned reflex activity in gastric acid secretion discovered by Pavlov to the recognition of the role of CNS in stress-induced gastric ulcer and exacerbation of intestinal inflammation, all these facts confirm the significance of brain-gut axis. Moreover, mental illnesses and depression also result in high risk for developing subsequent gastrointestinal mucosal injury. The brain-gut axis is bidirectional; therefore, not only the CNS affects the gastrointestinal functions, but the gut information is also forwarded to the CNS, which may modify its activity. Several observations suggested that changes in microbiome composition can be manifested in alterations of behavior and cognition; and a strong correlation between dysbiosis and psychiatric disorders has been observed. These observations substantially contributed to the establishment of the concept of the microbiota-gut-brain axis. The present work aims to overview the mutual role of brain-gut-microbiota and microbiota-gut-brain axis in the development of gastrointestinal and mental disorders as well as their mechanisms.

Keywords: brain-gut, gut-brain axis, microbiomes, stress, mental disorders, gastric ulceration, inflammatory bowel disease (IBD).

Introduction

The role of central nervous system (CNS) in regulation of gastrointestinal functions under physiological and pathological conditions has been in the focus of research for decades. Several data indicate that the brain-gut axis is bidirectional and the peripheral alterations in GI tract may influence the brain activity and functions. This bidirectional communication network, the brain-gut and the gut-brain axis, includes the CNS, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA axis), the autonomic nervous system (sympathetic and parasympathetic), the enteric nervous system (ENS) and the gut microbiome. Therefore, this bidirectional communication system can be better characterised as the microbiome-gut-brain and brain-gut-microbiome axis.

Historical background of brain-gut axis

The role of the CNS in regulation of gastrointestinal function was first demonstrated in the

19th century by I. P. Pavlov in a brilliant experimental series on dogs. Among other fascinating findings, Pavlov was the first to demonstrate that animals could be conditioned to salivate when they hear a certain sound. Similarly, gastric acid and pancreatic secretions could be induced by smell and sight of food (cephalic phase of digestion). He also demonstrated that gastric acid secretion in fasted dogs starts almost immediately following exposure to appetising food without food actually entering the stomach (sham feeding) (Pavlov, Thompson 1902). He investigated the entire neural control of gastric secretion and the role of vagal nerves in this process, since the sham-feeding-induced gastric acid secretion was abolished by vagotomy.

Based on these findings, Pavlov was the first to demonstrate and systematically analyse the communication between the brain and the gastric function; thus he established the concept of brain-gut axis, which became one of the most exciting research topics in the next centuries. In 1904,

he was awarded Nobel Prize for achievements in gastroenterology. The significance of his findings continue to be recognised and cited also in the 20th and 21st century (Filaretova, Bagaeva 2016; Konturek et al. 2005; Smith 2000).

In the 20th century Hans Selye, who has been recognized as the father of stress research, introduced the concept of stress in a medical context. His theories on the responses of the organism to emotion, illness and injury helped to understand the causes and mechanisms of disease. According to his definition, stress is a non-specific response of the body (Szabo et al. 2012). His research on stress-related disorders, mechanisms and hormonal background, particularly in gastrointestinal tract, significantly contributed to and confirmed the concept of brain gut axis. He suggested that not only catecholamines released from the adrenal medulla (as Cannon concluded), but also glucocorticoids produced by adrenal cortex under the influence of ACTH play a crucial role in stress. Thus, Selye was the first to demonstrate the determining role of the hypophysis-adrenal cortex axis in the stress response (Selye 1936). He showed that experimental stress induced powerful gastric mucosal injury in rats and recognised the development of stress-related ulcers in humans, based on clinical reports on the dramatic increase of the number of perforated gastric and duodenal ulcers during bombings of London in World War II (Selye 1943).

Brain gut, gut-brain axis

Within the brain-gut axis, the brain-stomach axis represents a separate research area. Therefore, the brain-stomach axis is discussed separately.

Brain-stomach axis

The concept of Selye was confirmed by further clinical observations. Parallel with Selye, the role of CNS in development of peptic ulcer was suggested by Cushing who recognized that brain injury, cerebral stroke or tumor were associated with gastric mucosal damage (Cushing 1932). Furthermore, a significant association was found between schizophrenia and lower incidence for duodenal (but not for gastrojejunal) ulcers (Ozdemir et al. 2007). Different mental illnesses (like anxiety, panic disorder, panic attacks, and social phobia) resulted in high risk for developing subsequent peptic ulcer disease. Similarly, patients suffering from bipolar disorders exhibited a substantially higher risk of ulcer disease (Goodwin et al. 2013).

The mechanism of stress-induced gastric mucosal injury, bleeding and ulceration are probably associated with the release of adrenaline, noradrenaline

from adrenal medulla resulting in redistribution of circulation to ensure the blood supply of vital organs, however, at the same time, the blood flow of visceral system, including the gastric mucosa, decreases. The decreased gastric mucosal microcirculation results in mucosal ischemia, and consequently, mucosal injury (Abdel-Salam et al. 2001; Monnig, Prittie 2011) (Fig. 1).

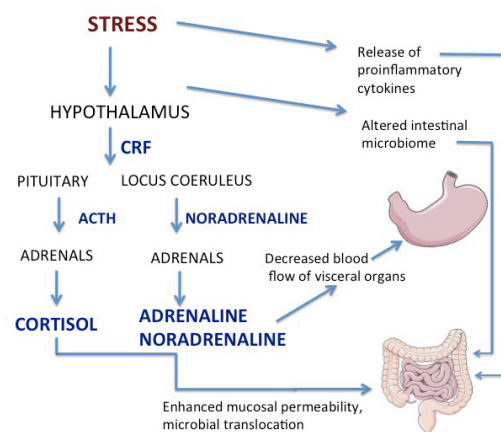


Fig. 1. The mechanism of stress-induced gastrointestinal mucosal injury. In stress adrenaline and noradrenaline are released from adrenals. Through circulation redistribution, the catecholamines gastric mucosal microcirculation and induce mucosal ischemia. The intestinal lesions may be associated with the release of proinflammatory cytokines, alteration of microbiome composition as well as enhanced intestinal mucosal permeability and the consequent microbial translocation into intestinal wall

Beside the human data, experimental evidence confirmed the key role of brain-gut axis and provided further details for the mechanism. In these experiments, the compounds, mainly neuropeptides, were given centrally, intracerebroventricularly (icv.), intracistrenally (ic.) or into discrete brain areas to rats or mice and their effect on gastrointestinal functions (gastric mucosal lesions, acid secretion and motility) was determined.

Thyrotropin-releasing hormone (TRH), plays a key role in the regulation of the autonomic nervous system; it was among the first neuropeptides that was shown to inhibit the gastric mucosal injury induced by ethanol injected ic. or into the dorsal motor nucleus of vagus (DMN) in low (0.5–1.5 ng), non-secretory doses (Tache 2012). This finding was followed by an intensive research, and several neuropeptides were shown to be gastroprotective if given centrally, such as peptide YY (PYY) (ic.), amylin (icv.) (both of them are involved in regulation of food intake), α -calcitonin gene-related peptide (α -CGRP) (ic.), adrenomedullin (ic.) (Tache 2012). The same group also showed that

corticotropine releasing factor (CRF), having outstanding role in initiation of stress response, exerted mucosal protective effect injected icv. against cold-restrain stress induced mucosal lesions and reduced C-fos expression in DMN (Wang et al. 1996). This finding might suggest that during the development of stress-related gastric mucosal injury, compensatory mechanisms are also activated to attenuate the deleterious effect of stress.

Furthermore, opioid peptides with different selectivity to the opioid receptor types such as the non-selective β -endorphin (released also in stress response), the δ -opioid receptor selective [D-Ala(2),D-Leu(5)]-enkephalin (DADLE), [D-Pen(2),D-Pen(5)]-enkephalin (DPDPE) and deltorphin II as well as μ -opioid receptor selective Ala(2),Phe(4),Gly(5)-ol]-enkephalin (DAGO) were shown to exert powerful gastroprotective effect in low, non-analgesic doses. Endomorphins (endomorphin I and endomorphin II), highly selective μ -opioid receptor agonists, discovered in 1997 (Zadina et al. 1997) differ in basic structure from the above mentioned opioid peptides (β -endorphin, enkephalins and deltorphin), since they are tetrapeptides. They are widely distributed in the CNS. Endomorphins proved to be particularly potent; they caused a significant inhibition of ethanol-induced lesions in femtomolar doses (given icv.). In addition, elevation of brain level of endomorphins via inhibition of their degradation by diprotin A, a dipeptidyl peptidase IV inhibitor, also resulted in a gastroprotective effect. This finding might have practical benefit. Namely, peptides do not cross the blood-brain barrier following peripheral administration (unless they have special transporter), therefore, their potential therapeutic application is very limited. However, if elevation of their endogenous level by inhibiting their degradation results in the same beneficial action as the centrally injected peptide itself, it may be considered whether this pharmacological approach might be utilized in the drug development strategy (Gyires, Rónai 2001; Gyires et al. 2013; Gyires, Zádori 2014).

Moreover, the group of peptides that have a key role in regulation of food intake, also exert mucosal protective action, indicating that they might play a role in gastric mucosal defensive processes as well. PYY and amylin were mentioned above. Furthermore, ghrelin (icv., ischemia-reperfusion model), orexin-A (ic., ethanol-model), leptin (icv., ethanol and ischemia-reperfusion) and nesfatin-1 (icv., ethanol) reduced the mucosal lesions in different ulcer model (Gyires, Zádori 2014).

The effective gastroprotective dose range of neuropeptides varies widely from fmol/rat (endo-

morphin, β -endorphin) to nmol/rat (ghrelin, orexin, deltorphin II) given icv., ic. or into discrete brain areas (Gyires, Zádori 2014).

How is the centrally-induced gastroprotective effect conveyed to the periphery?

Pavlov already demonstrated the role of vagal nerve in the gastric acid secretion and salivation in sham feeding and conditional reflex in dogs. Similarly, the dorsal vagal complex and vagal efferents were shown to play a crucial role in conveying the centrally initiated effect to the periphery, and the vagally mediated gastroprotective effect has been demonstrated for the majority of neuropeptides. First, the mucosal protective effect of TRH, or its stable analogue RX-77368, injected ic. or into or the dorsal motor nucleus of vagus was shown to be abolished by both vagotomy and atropine indicating the involvement of vagal cholinergic pathways in the centrally initiated gastroprotective effect. Activation of vagal cholinergic pathways stimulates the gastric mucosal nitric oxide and prostaglandin release as well as the effector function of capsaicin-sensitive afferent fibers which is manifested in calcitonin gene-related peptide (CGRP) release (Tache 2012; Gyires, Zádori 2014; Gyires et al. 2013; Holzer et al. 1990).

However, beside vagal nerve, other mechanisms have also been identified. For example, the gastroprotective effect of centrally injected ghrelin could be blocked only by parallel inhibition of both cholinergic and adrenergic systems, indicating that both systems are likely to be involved in the mucosal protective effect of centrally injected ghrelin (Pawlik et al. 2011). Similarly, both adrenergic and cholinergic systems also play a role in the gastroprotective effect of nociceptin (N/OFQ) given either centrally (icv.) or peripherally (intaperitoneally), since its protective action was inhibited by vagotomy or atropine as well as bretilium (Polidori et al. 2005). However, the gastroprotective effect of angiotensin II injected into the paraventricular nucleus of the hypothalamus was not influenced by vagotomy or atropine, but was blocked by propranolol or disconnection of the nerves innervating the adrenal glands, indicating the role of the sympathetic-adrenal gland/beta adrenoceptor pathway (Zhang et al. 2008).

Brain-gut axis

The most common chronic and relapsing inflammatory condition of the intestinal tract is the inflammatory bowel disease (IBD): Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC). Both diseases have immunological background and increasing number of evidence suggests that crosstalk between the nervous and immune systems may have a significant influence

on the regulation of the immune response and, consequently, the inflammatory processes.

Depression and IBD

Several data indicated that IBD may coexist with mental disorders and the occurrence of different mental diseases, stress, major depression and anxiety are more frequent in IBD patients than in the control population (Kurina et al. 2001; Filipovic, Filipovic 2014). In addition, IBD can exacerbate in the presence of psychiatric disorders. Major depression can also be responsible for the failure of the successful treatment of IBD with infliximab. Therefore, identification and management of major depressive disorders should be part of the clinical treatment (Persoons et al. 2005).

Why can depression aggravate or even cause IBD?

Intensive research has been focused to clarify how nervous system may influence the immune system. It was found that in the GI tract, vagal innervation plays a basic role in controlling intestinal immune activation. Namely, the release of acetylcholine reduces the immune cell activation by interacting with α -7 nicotinic acetylcholine receptors (Matteoli, Boeckxstaens 2013). It has been demonstrated that depression results in impaired parasympathomimetic functions and, consequently, the activation of inflammatory processes (see review: Bonaz et al. 2018). For example, in patients with depression the inflammatory parameters, like C-reactive protein (CRP) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) increased, similarly the leukocytes counts were also higher. Antidepressant treatment resulted in a decreased level of TNF- α , CRP, and leukocyte counts (Tuglu et al. 2003) (Fig. 2).

Experimental results are in line with the human findings. Increased gut inflammation, disease activity index, myeloperoxidase activity, elevated colonic tissue levels of interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) and TNF- α were observed in vagotomised mice with dextran sulfate sodium (DSS) and hapten-induced colitis compared to sham-operated mice administered DSS or hapten. It was concluded that the vagus nerve plays an inhibitory role on inflammatory parameters in acute colitis and identification of counter-inflammatory neuronal pathway might represent a new therapeutic target for treating acute exacerbations of inflammatory bowel disease (Ghia et al. 2006; 2008).

Furthermore, reactivation of chronic colitis induced by dextran sulfate sodium (mimics UC), was observed in vagotomised mice or in mice with experimental depression elicited by icv. infusion of reserpine, this effect was reversed by the treatment with antidepressant, desmethylimipramine (DMI). Macrophages isolated from mice exposed to vagotomy or experimental depression resulted in

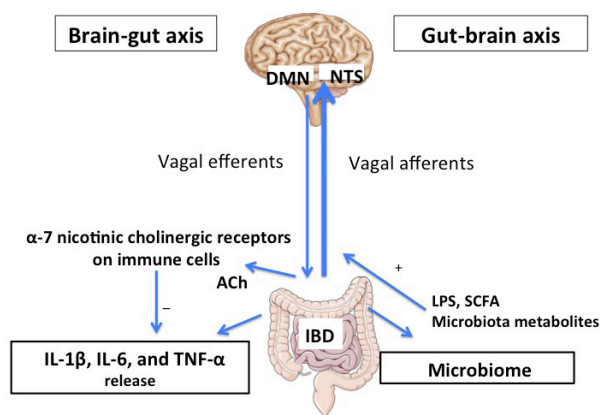


Fig. 2. The role of vagal nerve in brain-gut and gut-brain axis. The release of acetylcholine from the nerve terminal of efferent fibers reduces the immune cell activation by interacting with α -7 nicotinic acetylcholine receptors. In depression, impaired parasympathomimetic functions can be observed, resulting in activation of inflammatory processes.

Afferent fibers of vagal nerve are able to sense the microbiota through microbiota derived compounds, metabolites such as lipopolysaccharide (LPS) and sort chain fatty acids (SCFAs), and transfer this gut information to the brain through nucleus tractus solitarius (NTS), part of dorsal vagal complex

a selective increase of pro-inflammatory cytokine release, this effect was reversed by DMI. These findings suggest the critical role of macrophage in the reactivation of chronic colitis by depression or vagotomy (Ghia et al. 2011).

Stress and IBD

In humans, psychosocial factors may influence the course of IBD. Adverse life events and chronic stress can contribute to disease relapse. Moreover, experimental stress can increase mucosal inflammation both in patients with IBD and in animal models of colitis. Although increasing number of findings suggest the pro-inflammatory effects of stress in IBD, very few studies have identified stress reduction as a therapeutic possibility (Mawdsley, Rampton 2006). Bonaz and Bernstein (2013) emphasised the psychophysiological vulnerability of patients with IBD, for example mood disorders, distress or increased perceived stress. Since multiple evidence indicates that stress or other negative psychological factors may have a deleterious effect on the course of the disease, patients with IBD may need psychotherapy.

Why does stress produce a negative impact on the course of IBD?

Several mechanisms have been identified.

- Disruption of intestinal mucosal tight junctions by acute and chronic stress was observed. Namely, increase in serum corticosterone in chronic stress was found to induce a decrease in specific intestinal epithelial tight junction proteins (Zheng et al. 2017). This can lead to enhanced mucosal permeability of the colon, and, consequently, microbial translocation into the intestinal wall. The increased number of bacteria in the colonic tissue provokes an excessive release of cytokine and a consequent inflammation.
- Acute minor stress is accompanied by activation of hypothalamus-pituitary axis, that results in a prompt increase in cortisol and catecholamine levels (Koob 1999) as well as the concentration of pro-inflammatory cytokines such as TNF- α , interleukin-8 (IL-8), IL-1 β and IL-6. Thus, acute stress is characterized by enhancement of immune function (Brzozowski et al. 2016). In contrast, chronic sustained stress induces a prolonged increase of cortisol for several days in humans, which may result in immunosuppressive action (Straub et al. 2005) (Fig.1).
- Change of composition of microflora is considered to be one of the main mechanisms in the pathogenesis of IBD. Stress may alter the intestinal microbiomes. For example, under ex vivo condition, dopamine and noradrenaline increased enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 adherence in murine cecum compared to untreated control group. These findings suggest that conditions associated with elevated catecholamine release, such as stress exposure, may influence host susceptibility to *E. coli* O157:H7 infection (Chen et al. 2003). Furthermore, stress may affect microbial populations, including the lactobacilli, in mice, which have beneficial effect in human intestinal homeostasis. The stress-induced reduction of their population could initiate pathological alterations (Galley et al. 2014). Recently, there was an experimental series aimed to explore how gut microbiota changes in adolescent rats that were exposed to fixed period of restraint stress. It was found that while adolescent chronic stress-induced differences in microbial species and distribution disappeared three weeks after the stress treatment, the differences in microbial metabolic profiles could also be observed in adulthood (Xu et al. 2020) (Fig. 1).

Gut-brain axis

As mentioned in Introduction, the brain-gut axis is bidirectional; numerous experimental data suggested a complex interaction between the GI tract and the CNS, that confirms the importance of gut-brain axis. Convincing evidence from both human and animal studies show that inflammatory processes in the gut may trigger central changes that result in altered brain function.

On the other hand, recently, the importance of gut microbiota in these interactions has been recognized. Namely, the cells of the gastrointestinal tract are also under the influence of the gut microbiota. Several human and experimental data indicate that microbiome plays an important role in the gut-brain axis, and therefore the concept of microbiome-gut-brain axis has been introduced (Carabotti et al. 2015).

IBD and CNS disorders

The significance of gut brain axis is supported by multiple clinical data. There is growing evidence that IBD is associated with anxiety- and depression-related disorders, which contribute to the social burden of these diseases. Comorbidity of psychological/psychiatric disorders and IBD often can be observed, and when they coexist it influences the course of both diseases. IBD impairs the quality of life of the patients not only because of the intestinal (abdominal pain associated with diarrhea, rectal bleeding, and malnutrition) and extraintestinal (e.g. fever, weight loss, arthritis, arthralgia, mucocutaneous, ophthalmologic lesions) symptoms, but also because of the impaired mental health (Holzer et al. 2015).

Recently, aberrant brain activity in patients with mildly to moderately active UC has been shown by resting state — fMRI study. Their study revealed alterations in the limbic system that might play an important role in cognitive impairments in patients with active UC (Fan et al. 2019).

Furthermore, intestinal inflammation can induce mood disorders, alteration of circadian rhythm and changes in appetite. Preclinical studies demonstrated that effective treatment of intestinal inflammation improves the associated behavioural impairment. Therefore, a holistic approach to the treatment of patients with IBD and appropriate management of behavioural disorders are necessary (Collins 2020).

Convincing evidence was provided by Canadian researchers. They found 21.2% and 25.8%, rate of anxiety and depression, respectively, in patients with IBD, in contrast with the general Canadian population. In an earlier Canadian study, IBD patients demonstrated 4.7% and 11.3% 12-month and lifetime depression rates, respectively, while their

12-month and lifetime Generalised Anxiety Disorder rates were 2.6% and 8.7%, respectively (Byrne et al. 2017).

In addition, not only in GI tract, but in any peripheral organ, inflammation may induce a common pattern of CNS response, the so-called “sickness syndrome”, which includes fever, sleepiness, anorexia, hyperalgesia, fatigue, mood alterations, cognitive dysfunction and corticosteroid release (Saper et al. 2012).

Human observations have been confirmed by experimental findings. For example, dextran sulphate sodium induced colitis in mice affected their stress-associated behavior; prolonged immobility during the water avoidance stress session was observed, parallel with brain region-dependent alterations of neuropeptide Y (NPY), NPY receptor Y1, CRH, CRH receptor 1, brain-derived neurotrophic factor and glucocorticoid receptor gene expression (Reichmann et al. 2015).

Similarly, experimental colitis elicited by dextran sodium sulphate in mice was shown to induce CNS excitability in response to kainic acid and increased anxiety-related behaviour as revealed using the elevated plus-maze and open field models (Nyuyki et al. 2018). Furthermore, peripheral inflammation through administration of TNF- α to mice, was shown to activate the brain microglia and elevate pro-inflammatory factors, as well as delayed and progressive loss of dopaminergic neurons in substantia nigra characteristic in Parkinson’s disease (Qin et al. 2007).

Why can intestinal inflammation induce brain alterations?

Several mechanisms have been identified as responsible for the gut-CNS communication. For example, it is well known, that cytokines, (IL-1 β , IL-6, and TNF- α) play a pathogenic role in IBD and also appear in the circulation (Nikolaus et al. 1998). These cytokines also play a role in the pathogenic mechanisms of several psychiatric diseases associated with inflammation, like behaviour-disorders, cognitive changes and affective disorders, since cytokines may alter neurotransmission in the brain (Dantzer 2009).

Cytokines circulating in the blood affect CNS function through a variety of pathways, since these cytokines are too bulky to cross the blood-brain barrier (BBB) in large amounts.

- It was shown that in minor amounts they can be actively transported (Banks, Erickson 2010). Their transport rates differ depending on cytokines, brain regions, physiological circumstances and diseases (Banks 2005).

- Another mechanism by which cytokine can affect brain function is that cytokines — through their receptors located at BBB on perivascular and endothelial cells — can increase the expression of cyclo-oxygenase-2 (COX-2) and biosynthesis of PGE₂ (Schiltz, Sawchenko 2002), and prostaglandins are probably a key mediator responsible for brain responses to systemic inflammation by their ability to cross the BBB (Saper et al. 2012).
- Additional mechanism how peripheral inflammation may signal to CNS is the neural pathway when cytokines sensitise and/or stimulate vagal and spinal afferent neurons and thus contribute to a rapid propagation of immune signals (Holzer et al. 2015).
- Finally, the signalling mechanisms from the periphery result in additional synthesis of cytokines inside the brain, such as IL-1, IL-6, and TNF- α , most probably by activating the microglial cells (Dantzer 2009; Beynon, Walker 2012).

Microbiome-gut-brain axis

The most important components of gut-brain-axis are the CNS, the ENS system and the intestinal microbiota (Ambrosini et al. 2019).

IBDs are complex diseases caused by interaction of environmental, genetic factors, immune dysregulations, barrier dysfunction, and changes in microbial flora. Under normal physiologic condition, the intestinal barrier prevents the invasion of microbes and toxins into the mucosa.

Several observations suggested that changes in microbiome composition can be manifested in alterations of behavior and cognition, substantially contributing to the establishment of the microbiota-gut-brain axis as a concept (Holzer et al. 2015; Stilling et al. 2014).

Approximately 75% of intestinal microbioms belong to *Firmicutes*, *Bacteroidetes Firmicutes* and *Bacteroidetes* phyla (Eckburg et al. 2005). It has been recognised that the presence of a healthy and diverse gut microbiota is important for the normal cognitive and emotional development. A newborn is first exposed to the mother’s vaginal microbiota which is important in the offspring’s microbial colonisation and it was demonstrated that the gut microbiota has a central role in the development and maturation of the human CNS and ENS in these early postnatal weeks (Mueller et al. 2015). This process can be influenced by several factors, including the Cesarean section, perinatal antibiotics and formula feeding that may correlate with increased risks of metabolic and immune diseases. For example, following Cesarean section the risk of celiac disease, asthma, type 1 diabetes, and

obesity may increase in the offspring. Similarly, the treatment with antibiotics during pregnancy may increase the prevalence of obesity and asthma in childhood (Mueller et al. 2015).

Furthermore, several data show a strong correlation between dysbiosis and psychiatric disorders, autoimmune disorders, irritable bowel syndrome (IBS), IBD and obesity (Wang, Kasper 2014).

Autism is a developmental neuro-behavioral disorder. Although the possible role of gut microorganisms in the pathogenesis of autism is controversial (Mangiola et al. 2016), it was found that large amount (10 times more) of species in the Clostridium genus was identified in the fecal samples of autistic children (Parracho et al. 2005). Furthermore, the gut barrier alteration may also contribute to autism (Emanuele et al. 2010).

Information of the microbiota-gut-brain communication axis can be conveyed from the gut to the brain by several mechanisms, such as:

- Vagal and spinal afferents. Microbial factors, such as polysaccharides or sort chain fatty acids can stimulate vagal afferents (Mao 2013). They carry feedback from the intestine to the brain stem, hypothalamus and limbic system where it is integrated, and then generate an adapted or inappropriate response (Eisenstein 2016; Bonaz et al. 2018). Vice versa, descending pathways from the limbic system also influence the function of the gut.
- Immune mediators, gut hormone- and gut microbiota derived molecules. The bacterial products may stimulate enteroendocrine cells resulting in the release of several neuropeptides (like PYY, NPY, cholecystokinin, glucagon-like peptide-1 and -2, and substance P). These neuropeptides entering the circulation may directly influence the enteric nervous system (Holzer, Farzi 2014; Holzer et al. 2015).
- Neuroactive substances produced by microbiome, such as catecholamines, histamine, and other compounds can influence the host neurophysiology and neurotransmission in the GI tract by binding to their receptors. In addition, after absorption these substances can enter the systemic circulation where they can induce receptor-mediated actions.
- Increased intestinal permeability. Toxins produced by intestinal pathogenic microorganisms and the focal inflammation induced by immune responses developed against these pathogens can increase gut permeability (Lyte 2013).

- The non-specific factors such as lipopolysaccharide (LPS) can activate Toll-like receptor 4 (TLR4) on microglial cells which can provoke the release of inflammatory cytokines within the CNS (Kim et al. 2012) (Fig. 2).

Summary and conclusion

There is a bidirectional communication and interaction between the brain and the gut. The brain regulates the gut microenvironment and microbiota composition, while the gut can modulate the brain function. Within the brain-gut axis, the brain-stomach axis should be discussed separately.

The brain-stomach axis has prominent role in the pathogenesis of stress ulcer. The decrease of gastric mucosal protective mechanisms and reduced gastric mucosal blood flow may be the dominant mechanisms responsible for the development of stress-induced gastric mucosal injury, ulceration. Beside stress, anxiety, panic disorder, panic attacks, social phobia as well as bipolar disorders exhibited a substantially higher risk for gastric ulcer disease.

Much less is known about the impact of *stomach-brain axis*. It has been observed that exposure of gastric mucosa to different irritants resulted in a rapid expression of *c-Fos* mRNA in nucleus of the solitarii tract (NTS), area postrema of the brainstem (Schuligoi et al. 1998). However, whether the *c-Fos* expression correlates with any functional mechanism has not yet been clarified.

On the contrary, increasing number of evidence suggests the importance of *brain-gut axis*; namely, the crosstalk between the central nervous and immune systems may have a significant influence on inflammatory processes. Stress and pre-existing behavioural illnesses, such as depression, result in increased susceptibility to inflammatory stimuli and can provoke and reactivate intestinal inflammatory processes, like IBD. The increased risk of intestinal inflammation in stress is likely to be associated with increased intestinal permeability and the consequent translocation of bacteria, the increased level of proinflammatory cytokines as well as changes in composition of intestinal bacterial flora. Multiple data indicate that IBD may coexist with mental disorders; major depression and anxiety are more frequent in IBD patients than in the control population. Depression is characterised by an impaired parasympathomimetic functions and consequently inflammatory processes are activated. Namely, cholinergic system via α -7 nicotinic acetylcholine receptors reduces the immune cell activation and the release of pro-inflammatory cytokines.

Vice versa, preclinical and clinical observations suggest that intestinal inflammation alters brain functions, confirming the importance of *gut-brain axis*. There is growing evidence that IBD is associated with anxiety- and depression-related disorders. Also, comorbidity of psychological/psychiatric diseases and IBD can often be observed, and when these diseases coexist, they influence the course of each other.

The significance of *microbiota-gut-brain axis* communication system has been suggested recently by the observations that changes in microbiome composition can be manifested in alterations of behavior and cognition. Strong correlation was found between dysbiosis and development of psychiatric disorders.

This complex communication network requires a holistic approach to the management of patients with IBD, as well as monitoring and treating the behavioural disorders. Well-designed clinical studies on antidepressants are highly needed to evaluate their effect on the inflammatory disease activity (Collins 2020).

Acknowledgements

In preparation of manuscript, Barbara Hutka provided valuable technical help. The figures contain artworks produced by Servier Medical Art (<http://smart.servier.com>).

References

- Abdel-Salam, O. M. E., Czimmer, J., Drebrenceni, A. et al. (2001) Gastric mucosal integrity: Gastric mucosal blood flow and microcirculation. An overview. *Journal of Physiology-Paris*, vol. 95, no. 1-6, pp. 105–127. DOI: 10.1016/S0928-4257(01)00015-8 (In English)
- Ambrosini, Y. M., Borchering, D., Kanthasamy, A. et al. (2019) The gut-brain axis in neurodegenerative diseases and relevance of the canine model: A review. *Frontiers in Aging Neuroscience*, vol. 11, article 130. DOI: 10.3389/fnagi.2019.00130 (In English)
- Banks, W. A., Erickson, M. A. (2010) The blood-brain barrier and immune function and dysfunction. *Neurobiology of Disease*, vol. 37, no. 1, pp. 26–32. DOI: 10.1016/j.nbd.2009.07.031 (In English)
- Banks, W. A. (2005) Blood-brain barrier transport of cytokines: A mechanism for neuropathology. *Current Pharmaceutical Design*, vol. 11, no. 8, pp. 973–984. DOI: 10.2174/1381612053381684 (In English)
- Beynon, S. B., Walker, F. R. (2012) Microglial activation in the injured and healthy brain: What are we really talking about? Practical and theoretical issues associated with the measurement of changes in microglial morphology. *Neuroscience*, vol. 225, pp. 162–171. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.07.029 (In English)
- Bonaz, B., Bazin, T., Pellissier, S. (2018) The vagus nerve at the interface of the microbiota-gut-brain Axis. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 12, article 49. DOI: 10.3389/fnins.2018.00049 (In English)
- Bonaz, B. L., Bernstein, C. N. (2013) Brain-gut interactions in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, vol. 144, no. 1, pp. 36–49. DOI: 10.1053/j.gastro.2012.10.003 (In English)
- Brzozowski, B., Mazur-Bialy, A., Pajdo, R. et al. (2016) Mechanisms by which stress affects the experimental and clinical inflammatory bowel disease (IBD): Role of brain-gut axis. *Current Neuropharmacology*, vol. 14, no. 8, pp. 892–900. DOI: 10.2174/1570159x14666160404124127 (In English)
- Byrne, G., Rosenfeld, G., Leung, Y. et al. (2017) Prevalence of anxiety and depression in patients with inflammatory bowel disease. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, vol. 2017, article 6496727. DOI: 10.1155/2017/6496727 (In English)
- Carabotti, M., Scirocco, A., Maselli, M. A. et al. (2015) The gut-brain axis: Interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Annals of Gastroenterology*, vol. 28, no. 2, pp. 203–209. PMID: 25830558. (In English)
- Chen, C., Brown, D. R., Xie, Y. et al. (2003) Catecholamines modulate Escherichia coli O157:H7 adherence to murine cecal mucosa. *Shock*, vol. 20, no. 2, pp. 183–188. DOI: 10.1097/01.shk.0000073867.66587.e0 (In English)
- Collins, S. M. (2020) Interrogating the gut-brain axis in the context of inflammatory bowel disease: A translational approach. *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 26, no. 4, pp. 493–501. DOI: 10.1093/ibd/izaa004 (In English)
- Cushing, H. (1932) Peptic ulcers and the interbrain. *Surgery, Gynecology and Obstetrics*, vol. 55, pp. 1–34. (In English)
- Dantzer, R. (2009) Cytokine, sickness behavior, and depression. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, vol. 29, no. 2, pp. 247–264. DOI: 10.1016/j.jiac.2009.02.002 (In English)
- Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. M. et al. (2005) Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, vol. 308, no. 5728, pp. 1635–1638. DOI: 10.1126/science.1110591 (In English)
- Emanuele, E., Orsi, P., Boso, M. et al. (2010) Low-grade endotoxemia in patients with severe autism. *Neuroscience Letters*, vol. 471, no. 3, pp. 162–165. DOI: 10.1016/j.neulet.2010.01.033 (In English)
- Eisenstein, M. (2016) Microbiome: Bacterial broadband. *Nature*, vol. 533, no. 7603, pp. S104–S106. DOI: 10.1038/533S104a (In English)

- Fan, W., Zhang, S., Hu, J. et al. (2019) Aberrant brain function in active-stage ulcerative colitis patients: A resting-state functional MRI study. *Frontiers in Human Neuroscience*, vol. 13, article 107. DOI: 10.3389/fnhum.2019.00107 (In English)
- Filaretova, L., Bagaeva, T. (2016) The realization of the brain-gut interactions with corticotropin-releasing factor and glucocorticoids. *Current Neuropharmacology*, vol. 14, no. 8, pp. 876–881. DOI: 10.2174/1570159x14666160614094234 (In English)
- Filipovic, B. R., Filipovic, B. F. (2014) Psychiatric comorbidity in the treatment of patients with inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, vol. 20, no. 13, pp. 3552–3563. DOI: 10.3748/wjg.v20.i13.3552 (In English)
- Galley, J. D., Nelson, M. C., Yu, Z. et al. (2014) Exposure to a social stressor disrupts the community structure of the colonic mucosa-associated microbiota. *BMC Microbiology*, vol. 14, article 189. DOI: 10.1186/1471-2180-14-189 (In English)
- Ghia, J.-E., Blennerhassett, P., Collins, S. M. (2008) Impaired parasympathetic function increases susceptibility to inflammatory bowel disease in a mouse model of depression. *Journal of Clinical Investigation*, vol. 118, no. 6, pp. 2209–2218. DOI: 10.1172/jci32849 (In English)
- Ghia, J.-E., Blennerhassett, P., Kumar-Ondiveeran, H. et al. (2006) The vagus nerve: A tonic inhibitory influence associated with inflammatory bowel disease in a murine model. *Gastroenterology*, vol. 131, no. 4, pp. 1122–1130. DOI: 10.1053/j.gastro.2006.08.016 (In English)
- Ghia, J.-E., Park, A. J., Blennerhassett, P. et al. (2011) Adoptive transfer of macrophage from mice with depression-like behavior enhances susceptibility to colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 17, no. 7, pp. 1474–1489. DOI: 10.1002/ibd.21531 (In English)
- Goodwin, R. D., Talley, N. J., Hotopf, M. et al. (2013) A link between physician-diagnosed ulcer and anxiety disorders among adults. *Annals of Epidemiology*, vol. 23, no. 4, pp. 189–192. DOI: 10.1016/j.annepidem.2013.01.003 (In English)
- Gyires, K., Németh, J., Zádori, Z. S. (2013) Gastric mucosal protection and central nervous system. *Current Pharmaceutical Design*, vol. 19, no. 1, pp. 34–39. DOI: 10.2174/13816128130107 (In English)
- Gyires, K., Rónai, A. Z. (2001) Supraspinal delta- and mu-opioid receptors mediate gastric mucosal protection in the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 297, no. 3, pp. 1010–1015. PMID: 11356923. (In English)
- Gyires, K., Zádori, Z. S. (2014) Brain neuropeptides in gastric mucosal protection. *Current Opinion in Pharmacology*, vol. 19, pp. 24–30. DOI: 10.1016/j.coph.2014.06.002 (In English)
- Holzer, P., Farzi, A. (2014). Neuropeptides and the microbiota-gut-brain axis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 817, pp. 195–219. DOI: 10.1007/978-1-4939-0897-4_9 (In English)
- Holzer, P., Hassan, A. M., Jain, P. et al. (2015) Neuroimmune pharmacological approaches. *Current Opinion in Pharmacology*, vol. 25, pp. 13–22. DOI: 10.1016/j.coph.2015.09.003 (In English)
- Holzer, P., Pabst, M. A., Lippe, I. T. et al. (1990) Afferent nerve-mediated protection against deep mucosal damage in the rat stomach. *Gastroenterology*, vol. 98, no. 4, pp. 838–848. DOI: 10.1016/0016-5085(90)90005-l (In English)
- Kim, K.-A., Gu, W., Lee, I.-A. et al. (2012) High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway. *PLoS One*, vol. 7, no. 10, article e47713. DOI: 10.1371/journal.pone.0047713 (In English)
- Konturek, S. J., Konturek, P. C., Brzozowski, T. et al. (2005) From nerves and hormones to bacteria in the stomach; Nobel prize for achievements in gastrology during last century. *Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 56, no. 4, pp. 507–530. PMID: 16391411. (In English)
- Koob, G. F. (1999) Corticotropin-releasing factor, norepinephrine, and stress. *Biological Psychiatry*, vol. 46, no. 9, pp. 1167–1180. DOI: 10.1016/s0006-3223(99)00164-x (In English)
- Kurina, L. M., Goldacre, M. J., Yeates, D., Gill, L. E. (2001) Depression and anxiety in people with inflammatory bowel disease. *Journal of Epidemiology and Community Health*, vol. 55, no. 10, pp. 716–720. DOI: 10.1136/jech.55.10.716 (In English)
- Lyte, M. (2013) Microbial endocrinology in the microbiome-gut-brain axis: How bacterial production and utilization of neurochemicals influence behavior. *PLoS Pathogens*, vol. 9, no. 11, article e1003726. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003726 (In English)
- Mangiola, F., Ianiro, G., Franceschi, F. et al. (2016) Gut microbiota in autism and mood disorders. *World Journal of Gastroenterology*, vol. 22, no. 1, pp. 361–368. DOI: 10.3748/wjg.v22.i1.361 (In English)
- Mao, Y.-K., Kasper, D. L., Wang, B. et al. (2013) *Bacteroides fragilis* polysaccharide A is necessary and sufficient for acute activation of intestinal sensory neurons. *Nature Communications*, vol. 4, article 1465. DOI: 10.1038/ncomms2478 (In English)
- Matteoli, G., Boeckxstaens, G. E. (2013) The vagal innervation of the gut and immune homeostasis. *Gut*, vol. 62, no. 8, pp. 1214–1222. DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302550 (In English)
- Mawdsley, J. E., Rampton, D. S. (2006) The role of psychological stress in inflammatory bowel disease. *Neuroimmunomodulation*, vol. 13, no. 5-6, pp. 327–336. DOI: 10.1159/000104861 (In English)

- Monnig, A. A., Prittie, J. E. (2011) A review of stress-related mucosal disease. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care (San Antonio)*, vol. 21, no. 5, pp. 484–495. DOI: 10.1111/j.1476-4431.2011.00680.x (In English)
- Mueller, N. T., Bakacs, E., Combellick, J. et al. (2015) The infant microbiome development: Mom matters. *Trends in Molecular Medicine*, vol. 21, no. 2, pp. 109–117. DOI: 10.1016/j.molmed.2014.12.002 (In English)
- Nikolaus, S., Bauditz, J., Gionchetti, P. et al. (1998) Increased secretion of pro-inflammatory cytokines by circulating polymorphonuclear neutrophils and regulation by interleukin 10 during intestinal inflammation. *Gut*, vol. 42, no. 4, pp. 470–476. DOI: 10.1136/gut.42.4.470 (In English)
- Nyuyki, K. D., Cluny, N. L., Swain, M. G. et al. (2018) Altered brain excitability and increased anxiety in mice with experimental colitis: Consideration of hyperalgesia and sex differences. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, vol. 12, article 58. DOI: 10.3389/fnbeh.2018.00058 (In English)
- Ozdemir, V., Jamal, M. M., Osapay, K. et al. (2007) Cosegregation of gastrointestinal ulcers and schizophrenia in a large national inpatient discharge database: Revisiting the “brain-gut axis” hypothesis in ulcer pathogenesis. *Journal of Investigative Medicine*, vol. 55, no. 6, pp. 315–320. DOI: 10.2310/6650.2007.00014 (In English)
- Parracho, H. M., Bingham, M. O., Gibson, G. R., McCartney, A. L. (2005) Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *Journal of Medical Microbiology*, vol. 54, no. 10, pp. 987–991. DOI: 10.1099/jmm.0.46101-0 (In English)
- Pavlov, I. P., Thompson, W. H. (1902) *The work of the digestive glands: Lectures by Professor J. P. Pawlow*. London: Charles Griffin & Co. Ltd, 196 p. DOI: 10.5962/bhl.title.3784 (In English)
- Pawlik, M. W., Obuchowicz, R., Biernat, J. et al. (2011) Effects of peripherally and centrally applied ghrelin in the pathogenesis of ischemia-reperfusion induced injury of the small intestine. *Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 62, no. 4, pp. 429–439. PMID: 22100844. (In English)
- Persoons, P., Vermeire, S., Demyttenaere, K. et al. (2005) The impact of major depressive disorder on the short- and long-term outcome of Crohn’s disease treatment with infliximab. *Alimentary Pharmacology Therapeutics*, vol. 22, no. 2, pp. 101–110. DOI: 10.1111/j.1365-2036.2005.02535.x (In English)
- Polidori, C., Massi, M., Guerrini, R. et al. (2005) Peripheral mechanisms involved in gastric mucosal protection by intracerebroventricular and intraperitoneal nociceptin in rats. *Endocrinology*, vol. 146, no. 9, pp. 3861–3867. DOI: 10.1210/en.2005-0397 (In English)
- Qin, L., Wu, X., Block, M. L. et al. (2007) Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia*, vol. 55, no. 5, pp. 453–462. DOI: 10.1002/glia.20467 (In English)
- Reichmann, F., Hassan, A. M., Farzi, A. et al. (2015) Dextran sulfate sodium-induced colitis alters stress-associated behaviour and neuropeptide gene expression in the amygdala-hippocampus network of mice. *Scientific Reports*, vol. 5, article 9970. DOI: 10.1038/srep09970 (In English)
- Saper, C. B., Romanovsky, A. A., Scammell, T. E. (2012) Neural circuitry engaged by prostaglandins during the sickness syndrome. *Nature Neuroscience*, vol. 15, no. 8, pp. 1088–1095. DOI: 10.1038/nn.3159 (In English)
- Schiltz, J. C., Sawchenko, P. E. (2002) Distinct brain vascular cell types manifest inducible cyclooxygenase expression as a function of the strength and nature of immune insults. *Journal of Neuroscience*, vol. 22, no. 13, pp. 5606–5618. DOI: 10.1523/jneurosci.22-13-05606.2002 (In English)
- Schuligoi, R., Jovic, M., Heinemann, A. (1998) Gastric acid-evoked c-fos messenger RNA expression in rat brainstem is signaled by capsaicin-resistant vagal afferents. *Gastroenterology*, vol. 115, no. 3, pp. 649–660. DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70144-1 (In English)
- Selye, H. (1936) A syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature*, vol. 138, no. 3479, p. 32. DOI: 10.1038/138032a0 (In English)
- Selye, H. (1943) Perforated peptic ulcer during air-raid. *The Lancet*, vol. 241, no. 6234, p. 252. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)42250-6 (In English)
- Smith, G. P. (2000) Pavlov and integrative physiology. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 279, no. 3, pp. R743–R755. DOI: 10.1152/ajpregu.2000.279.3.R743 (In English)
- Stilling, R. M., Dinan, T. G., Cryan, J. F. (2014) Microbial genes, brain & behaviour — epigenetic regulation of the gut-brain axis. *Genes, Brain and Behavior*, vol. 13, no. 1, pp. 69–86. DOI: 10.1111/gbb.12109 (In English)
- Straub, R. H., Dhabhar, F. S., Bijlsma, J. W., Cutolo, M. (2005) How psychological stress via hormones and nerve fibers may exacerbate rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatology*, vol. 52, no. 1, pp. 16–26. DOI: 10.1002/art.20747 (In English)
- Szabo, S., Tache, Y., Somogyi, A. (2012) The legacy of Hans Selye and the origins of stress research: A retrospective 75 years after his landmark “letter” in Nature. *Stress*, vol. 15, no. 5, pp. 472–478. DOI: 10.3109/10253890.2012.710919 (In English)
- Tache, Y. (2012) Brainstem neuropeptides and vagal protection of the gastric mucosal against injury: Role of prostaglandins, nitric oxide and calcitonin-gene related peptide in capsaicin afferents. *Current Medicinal Chemistry*, vol. 19, no. 1, pp. 35–42. DOI: 10.2174/092986712803414097 (In English)
- Tuglu, C., Kara, S. H., Caliyurt, O. et al. (2003) Increased serum tumor necrosis factor-alpha levels and treatment response in major depressive disorder. *Psychopharmacology*, vol. 170, no. 4, pp. 429–433. DOI: 10.1007/s00213-003-1566-z (In English)

- Wang, L., Cardin, S., Martínez, V., Taché, Y. (1996) Intracerebroventricular CRF inhibits cold restraint-induced c-fos expression in the dorsal motor nucleus of the vagus and gastric erosions in rats. *Brain Research*, vol. 736, no. 1–2, pp. 44–53. DOI: 10.1016/0006-8993(96)00726-3 (In English)
- Wang, Y., Kasper, L. H. (2014) The role of microbiome in central nervous system disorders. *Brain, Behavior and Immunity*, vol. 38, pp. 1–12. DOI: 10.1016/j.bbi.2013.12.015 (In English)
- Xu, M., Wang, C., Krolick, K. N. et al. (2020) Difference in post-stress recovery of the gut microbiome and its altered metabolism after chronic adolescent stress in rats. *Scientific Reports*, vol. 10, no. 1, article 3950. DOI: 10.1038/s41598-020-60862-1 (In English)
- Zadina, J. E., Hackler, L., Ge, L. J., Kastin, A. B. (1997) A potent and selective endogenous agonist for the mu-opiate receptor. *Nature*, vol. 386, no. 6624, pp. 499–502. DOI: 10.1038/386499a0 (In English)
- Zhang, Y. M., Wei, E. Q., Hu, X. et al. (2008) Administration of angiotensin II in the paraventricular nucleus protects gastric mucosa from ischemia-reperfusion injury. *Brain Research*, vol. 1212, pp. 25–34. DOI: 10.1016/j.brainres.2008.03.028 (In English)
- Zheng, G., Fon, G. V., Meixner, W. (2017) Chronic stress and intestinal barrier dysfunction: Glucocorticoid receptor and transcription repressor HES1 regulate tight junction protein Claudin-1 promoter. *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, article 4502. DOI: 10.1038/s41598-017-04755-w (In English)

Targeting the anti-inflammatory properties of the vagus nerve through vagus nerve stimulation: Therapeutic implications for inflammatory bowel diseases and other inflammatory conditions

B. Bonaz^{✉1,2}

¹ Inserm, U1216, Grenoble Institute Neurosciences, University of Grenoble Alpes, 38706 La Tronche Cedex, Grenoble, France

² Division of Hepato-Gastroenterology, CHU Grenoble Alpes, 38700 La Tronche, Grenoble, France

Author

Bruno Bonaz,
Scopus AuthorID: 7004197628,
e-mail: BBonaz@chu-grenoble.fr

For citation:

Bonaz, B.
(2020) Targeting the anti-inflammatory properties of the vagus nerve through vagus nerve stimulation: Therapeutic implications for inflammatory bowel diseases and other inflammatory conditions. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 4, pp. 277–284.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-277-284

Received 29 September 2020;
reviewed 30 October 2020;
accepted 9 November 2020.

Copyright: © The Author (2020).
Published by Herzen State
Pedagogical University of Russia.
Open access under CC BY-NC
License 4.0.

Abstract. The vagus nerve (VN) is the longest nerve of the organism that innervates major organs such as the heart, lungs and gastro-intestinal tract and is a major component of the autonomic nervous system at the interface of the central nervous system and the body. The VN has anti-inflammatory properties both through its afferent fibers, activating the hypothalamic-pituitary adrenal axis, and its efferent fibers activating the cholinergic anti-inflammatory pathway. Targeting these anti-inflammatory pathways is of interest for various inflammatory conditions. Bioelectronic medicine through VN stimulation (VNS) appears as an interesting tool to release inflammatory conditions. VNS is approved for the treatment of drug-resistant epilepsy and has potential therapeutic applications in chronic inflammatory disorders such as inflammatory bowel diseases and others. Preclinical data and pilot clinical studies argue for such an effect. However, larger randomized double-blinded control study and a long-lasting follow-up of the patients to confirm these promising results are awaiting. In addition, the optimal neurostimulation parameters to better treat common conditions and diseases that involve immune regulation need to be determined.

Keywords: vagus nerve, vagus nerve stimulation, cholinergic anti-inflammatory pathway, hypothalamic-pituitary adrenal axis, inflammatory bowel diseases, rheumatoid arthritis.

Introduction

The vagus nerve (VN), the tenth cranial nerve, is the longest nerve of the organism, which innervates major organs, such as the heart, lungs, and gastrointestinal tract. The vagus nerves are normally referred to in the singular. The VN is a major component of the parasympathetic nervous system, which, together with the sympathetic nervous system, forms the autonomic nervous system (ANS) at the interface of the central nervous system and the body. In this manuscript, we will focus on the VN distribution at the level of the digestive tract, as well as its anti-inflammatory properties, which can be targeted by vagus nerve stimulation (VNS) in the domain of inflammatory bowel diseases (IBD) and other inflammatory disorders.

The VN is a mixed nerve containing predominantly 80% of afferent fibers vehiculating visceral, somatic and taste sensations and 20% of efferent fibers controlling gastrointestinal motility and secretion. In particular, the VN is involved in the “conditioned reflex” described by the famous Russian researcher Ivan Petrovich Pavlov who won the Nobel Prize for Physiology or Medicine in 1904. The VN typically transmits information to the brain regarding luminal osmolarity, carbohydrate levels, mechanical distortion of the mucosa, and the presence of cytostatic drugs and bacterial products, whereas sympathetic afferents normally transmit visceral pain. Vagal efferents originate in the dorsal motor nucleus of the VN (DMNV), in the medulla, and innervate the digestive tract from the esophagus to the splenic flexure while the rest of the gut (left colon and rectum) is innervated

by the sacral (S2-S4) parasympathetic nucleus (Netter, Colacino 1989). However, according to J. Delmas and G. Laux (1933), the VN innervates all the digestive tract in humans. In rats, S. M. Altschuler et al. (1993) reported that the VN innervates all of the digestive tract except the rectum. Vagal efferent fibers do not reach the intestinal lamina propria directly (Berthoud et al. 1991) but synapse onto enteric neurons that innervate the lamina propria where they release acetylcholine (ACh) acting on nicotinic or muscarinic receptors. Vagal afferent fibers originate from the mucosa to the muscle layers of the digestive tract. Their sensory afferent cell bodies are located in nodose ganglia and relay information to the nucleus tractus solitarii (NTS) (Cechetto 1987) and the area postrema, in close relation with the DMNV to form the dorsal vagal complex. Visceral information is then transmitted to areas of the forebrain such as the hypothalamus, amygdala, and cortex, via a relay through the parabrachial nucleus, hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, thalamus before final visceral afferent inputs in the insular cortex, the anterior cingulate and prefrontal cortices corresponding to the central autonomic network (CAN) (Benarroch 1993). The CAN, in turn, is able to modulate the ANS especially through projections of (i) the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVH) to the DMNV and preganglionic neurons of the sympathetic nervous system at the spinal cord level; (ii) the amygdala to the DMN; (iii) the Barrington nucleus to the sacral parasympathetic nucleus; (iv) the A5 noradrenergic and C1 adrenergic groups to spinal preganglionic sympathetic neurons (Ricardo, Koh 1978). This complex is involved in the autonomic, endocrine and limbic responses of the “inner medium”. The VN is a major component of interoceptive pathways and is considered the sixth sense of the body (Zagon 2001). Interoception, the sense of the body’s internal physiological state, is regarded as the basis for motivational and emotional feelings and to the core neurobiological representation of self. Interoceptive mechanisms appear central to somatic disorders of brain-body interactions, including functional digestive disorders, such as irritable bowel syndrome (IBS), but also IBD (Bonaz et al. 2020; Fournier et al. 2020).

Anti-inflammatory properties of the vagus nerve

The VN has anti-inflammatory properties both through its afferent and efferent fibers (Fig. 1). Indeed, the release of peripheral pro-inflammatory cytokines, such as interleukin (IL)-1, IL-6, and tumour necrosis factor (TNF), by macrophages and other

immune cells, following peripheral (iv or ip) injection of lipopolysaccharide (LPS), as a septic shock model (Werner et al. 2003), activates vagal afferents, through IL-1 β receptors of the paraganglia. Then, the information is conveyed to the NTS, at the level of the medulla, where neurons projecting the information to the PVH, around corticotrophin-releasing-factor (CRF)-containing neurons, are activated. These CRF neurons will then induce the release of adrenocorticotrophic hormone by the pituitary, finally stimulating the release of glucocorticoids by the adrenal glands to dampen peripheral inflammation, i. e. the HPA axis. Therefore, the VN is a major component of the neuro-endocrine immune axis. This anti-inflammatory pathway is disrupted by vagotomy, which worsens experimental colitis (Ghia et al. 2006). Circulating pro-inflammatory cytokines are also able to target circumventricular organs, located outside the blood-brain barrier, that stimulate neighbouring neurons, which then stimulate the HPA axis (Buller 2001).

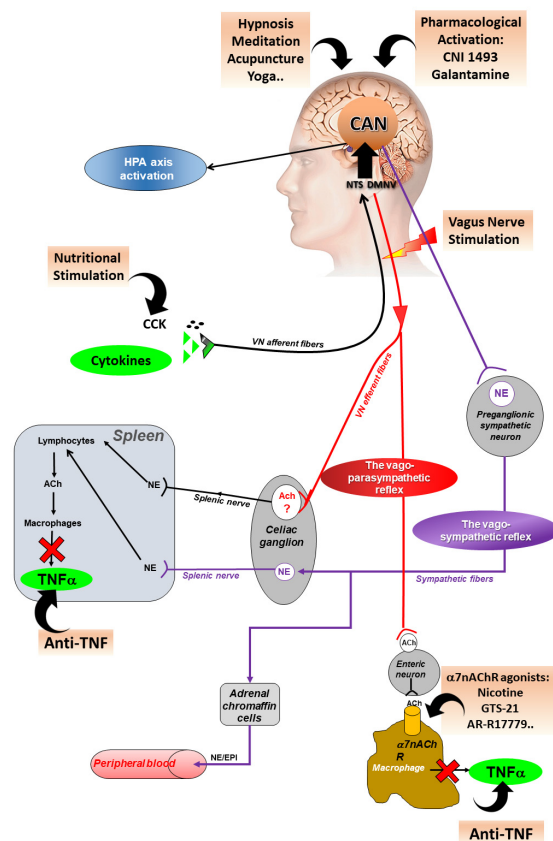


Fig. 1. Different pathways of the anti-inflammatory properties of the vagus nerve and their activation (from Bonaz et al. 2017). Ach, acetylcholine; CAN, central autonomic network; CCK, cholecystokinin; DMNV, dorsal motor nucleus of the vagus nerve; EPI, epinephrine; HPA, hypothalamic-pituitary-adrenal; NE, norepinephrine; NTS, nucleus tractus solitarii; TNF α , tumor necrosis factor-alpha; VN, vagus nerve; α 7nAChR, alpha7nicotinic acetylcholine receptor

In 2000, Tracey's group described the parasympathetic cholinergic anti-inflammatory pathway (CAP) involving the vago-vagal reflex where vagal afferent fibers activate vagal efferent fibers (Fig. 1). Indeed, peripheral iv injection of LPS inducing a septic shock in rats was prevented by VN stimulation (VNS) of the distal end cut VN, thus stimulating vagal efferent fibers (Borovikova et al. 2000). This effect was mediated by the release of ACh by the VN inhibiting the release of pro-inflammatory cytokines such as TNF by activated macrophages. Besides TNF, other pro-inflammatory cytokines such as IL6 and IL1 β were significantly decreased by VNS, but not the anti-inflammatory cytokine IL-10. This anti-inflammatory effect was mediated by linking ACh with α -7-nicotinic ACh receptors (α 7nAChR) of macrophages and was suppressed in α 7nAChR knockout animals (Wang et al. 2003). The intra-cellular signaling of α 7nAChRs inhibits transactivational activity of the transcription factor NF- κ B p65 (Wang et al. 2004) and activates Jak2 and STAT3 signalling (de Jonge et al. 2005). However, the VN does not interact directly with resident macrophages in the gut but interacts with nNOS, VIP, and ChAT enteric neurons located within the gut muscularis and with their nerve endings close to resident macrophages (Cailotto et al. 2014).

Tracey's group also described a vago-sympathetic anti-inflammatory pathway through which the VN activates the splenic sympathetic nerve (Rosas-Ballina et al. 2008) (Fig. 1). Indeed, the release of norepinephrine by this splenic nerve binds to the β 2 adrenergic receptor of splenic lymphocytes, which release ACh, which binds to α 7nAChRs of splenic macrophages finally inhibiting the release of TNF by the spleen (Olofsson et al. 2012). This is the non-neuronal cholinergic pathway. Thus, the VN has an anti-TNF effect either at the peripheral macrophages level or at the spleen level. However, for some authors, the efferent pathway of the CAP is not the VN but the sympathetic nervous system. For example, D. Martelli et al. (2014) proposed a non-neural link from the VN to the spleen where α 7nAChRs are located on the peripheral terminals of the splenic sympathetic nerves. When stimulated by ACh from incoming T-cells, these terminals release norepinephrine, which then acts on β adrenergic receptors on splenic macrophages to suppress their release of TNF. Another anatomical pathway could be the activation of the celiac ganglion, at the origin of the innervation of the spleen, by brain nuclei that are parts of the CAN and that generate patterns of autonomic responses via projections to preganglionic sympathetic neurons in the spinal cord, such as the C1 adrenergic group (Abe et al. 2017). Indeed, five cell groups in the

brain regulate the entire sympathetic outflow (Strack et al. 1989): the PVN, the A5 noradrenergic cell group, the caudal raphe region, the rostral ventrolateral medulla (C1 adrenergic group), and the ventromedial medulla. The activation of the afferent arm (i. e. vagal afferents) of the inflammatory reflex could activate the CAN, through projections from the NTS, to modulate the sympathetic nervous system through these five cell groups. In this case, the VN would induce an indirect anti-inflammatory reflex by activating the sympathetic nervous system.

Thus, the anti-inflammatory pathways involving the VN are rather complex and it clearly appears that both vagal afferents and efferents are of interest in this respect. Targeting this anti-inflammatory pathway is of interest in various pathologic conditions, especially in inflammatory disorders where cytokines are involved in their pathogeny such as IBD, represented by Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis, and rheumatoid arthritis (RA). Presently, in the domain of IBD and RA, biological therapies, such as anti-TNF, have revolutionized the care of these patients. However, these treatments have complex side effects (Click, Regueiro 2019) resulting in 30–50% of non-adherence (Chan et al. 2017); and patients show a growing interest in complementary medicines (Torres et al. 2019). These biological therapies act downstream of macrophages and other immune cells while other therapeutic approaches can act upstream (Fig. 1). For example, (i) α 7nAChRs agonists (GTS-21, AR-R17779) or nicotine have been used in inflammatory models of post-operative ileus, pancreatitis; (ii) activation of the central cholinergic pathway with CNI 1493 or Galantamine in a model of carageenan-induced paw edema and endotoxemia improve inflammation; (iii) nutritional therapy with fat nutrition induces the release of cholecystokinin which activates vagal afferents which blunted hemorrhagic shock-induced TNF and IL-6 release; (iv) complementary therapies such as hypnosis, meditation, tai chi, acupuncture as well as physical activity stimulate the VN; and, finally, (v) VNS is of interest in activating the CAP; we will now focus on this non-drug therapy approach (see a review by Bonaz et al. 2017; 2019).

Vagus nerve stimulation in epilepsy

VNS was approved by the FDA for the treatment of drug-resistant epilepsy in 1997 (Bonaz et al. 2013). Today, ~100,000 patients have been implanted for epilepsy. About 50% of patients have a significant reduction in seizure frequency, with ~12% experiencing a 90% decrease in seizures

(Englot et al. 2011). VNS is a slow acting therapy because its effect needs some latency in epilepsy and its effectiveness improves over time, according to a 3-year follow-up study (Morris et al. 1999). Although the anti-epileptic effect of VNS was supposed to be related to vagal C-fibres, their destruction did not alter subsequent VNS-induced seizure suppression in rats; thus arguing for an involvement of vagal A- and B-fibres (Krahl et al. 2001). VNS is a safe procedure with the most adverse events reported being hoarseness (20–28%), paraesthesia (12%), headache (4.5%), and shortness of breath (3.2%) (Morris et al. 1999) usually occurring during stimulation and often decreasing over time and/or following the modification of stimulation parameters such as intensity and pulse width. No significant impact on heart rate has been reported. Indeed, VNS is performed on the left VN, innervating the atrioventricular node (regulating the force of contraction of the heart muscle with less influence on the heart rate) while the right VN innervates the sinoatrial node (involved in the pace-making function of the heart) (Bonaz et al. 2013). VNS parameters activating vagal afferents in epilepsy are: frequency, 20–30 Hz; intensity, 0.5–1.5 mA; pulse width, 500 μ s; on-time, 30 s; and off-time, 5 min; they are easily adjusted with a programming wand (Bonaz 2013). VNS in epilepsy is normally invasive, requiring a ~1 h surgery performed under general anaesthesia usually by a neurosurgeon familiar with this technique. The electrode (Model 302, Livano, London) is wrapped around the left VN at the cervical level near the carotid artery, tunnelled under the skin and connected to a bipolar pulse generator (Model 102) implanted subcutaneously in the left chest wall.

In epilepsy treatment, VNS aims to stimulate vagal afferents at a high frequency of 20–30 Hz, while for activating the CAP vagal efferents need to be stimulated at a low-frequency (1–10 Hz) (Borovikova 2000; Bernik et al. 2002). However, we have shown that even at a low frequency stimulation of 5–10 Hz, VNS also activates vagal afferents targeting the central nervous system (Kibleur et al. 2018; Reyt et al. 2010).

Vagus nerve stimulation in inflammatory bowel disease

Based on the theory of the CAP, we first performed VNS in an experimental model of TNBS (2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid)-induced colitis (Th1-induced inflammation) in rats, resembling CD (Meregnani et al. 2011). VNS was performed in freely moving animals chronically stimulated 3 h per day for 5 days, starting 1 h before colitis,

with the following stimulation parameters: 1 mA, 5 Hz, pulse width of 500 μ s; 10 s ON, 90 s OFF; continuous cycle with an external stimulator. Control rats were implanted according to the same procedure but were not stimulated. VNS reduced body weight loss in rats with colitis and improved inflammatory markers above the colonic lesions as observed by histological score and myeloperoxidase quantification. This anti-inflammatory effect was also demonstrated by the improvement of a multivariate index of colitis (Meregnani et al. 2011).

In a translational bench-to-bedside approach, we performed a pilot study of VNS in patients with active CD (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01569503) where VNS was regarded as an alternative to anti-TNF treatment. This study received a grant from the INSERM-DGOS. Nine patients have been implanted according to the protocol and with the device (neurostimulator and electrode) for epilepsy, using the following parameters: intensity, 0.5–1.5 mA; frequency, 10 Hz; pulse width, 500 μ s; stimulation on-time: 30 s, off-time: 5 min. The first patient was implanted in April 2012 and the last patient in March 2016. Patients were selected according to a clinical activity index (CDAI: Crohn's disease activity index, $220 < \text{CDAI} < 450$), biological parameters (C-reactive protein, CRP > 5 mg/L; fecal calprotectin $> 100\mu\text{g/g}$), endoscopic parameters (CDEIS: Crohn's disease endoscopic index of severity; $\text{CDEIS} \geq 7$) with the aim to induce clinical, biological, and endoscopic remission. It was a 12-month follow-up study. We published, for the first time, the 6-month follow-up of the seven first implanted patients where 5/7 patients had responded to VNS with clinical, biological and endoscopic improvement/healing, with a restored vagal tone (Bonaz et al. 2016). Two patients were withdrawn from the study after 3 months of VNS, due to worsening of their disease. One patient underwent surgery (ileocecal resection) and then was treated with a combination therapy (Infliximab + azathioprine) and the other patient received the same combination therapy. These two patients are presently in remission while the VNS device was left in place with the intensity turned down. Among the other 5 patients, only one patient was treated with an immunosuppressant (azathioprine). These preliminary results showed that VNS was feasible and could be a promising tool in the treatment of active CD. The procedure was safe with the usual side effects described above. No device was removed during the study period and later on. Recently, we published the 12-month follow-up data on 9 patients (Sinniger et al. 2020). After 1 year of VNS, five patients were in clinical remission and six in endoscopic remission. CRP

and fecal calprotectin decreased in six and five patients, respectively. Seven patients restored their vagal tone and decreased their digestive pain score. The patients' cytokinergic profile evolved toward a more "healthy profile": IL-6, -23, -12, TNF and transforming growth factor β 1 were the most impacted cytokines. Correlations were observed between CRP and TNF, and some gut mucosa metabolites such as taurine, lactate, alanine and beta-hydroxybutyrate. VNS was well tolerated, as reported in the 6-month follow-up study.

These results are in agreement with the preliminary results of another study published in an abstract form (D'Haens et al. 2018), which observed clinical, biomarker, and endoscopic improvement for half of the 16 CD patients who received either VNS monotherapy (biologics refractory patients) or VNS adjunctive therapy for 4 months. We also showed that, in addition to the activation of vagal efferent fibers that regulate the ANS, our data suggest that chronic VNS has a regulatory effect via afferent vagal fibers on anxio-depressive symptomatology associated with CD, which could be directly highlighted by the modulation of EEG alpha power known to be associated with depressed states (Kibleur et al. 2018).

VNS in other inflammatory conditions

RA is also a chronic inflammatory condition where VNS is of interest. Experimental data have shown that knockdown of the α 7nAChR in RA fibroblast-like synoviocytes increased the production of mediators of inflammation, and degradation and activation of α 7nAChRs in an animal model of RA resulted in reduced arthritis activity (Koopman et al. 2014). Accordingly, stimulation of the CAP by VNS improved an experimental model of arthritis while aggravation of arthritis activity was observed after unilateral cervical vagotomy, as well as in α 7nAChR-knockout mice. In 2016, F. A. Koopman et al. (2016) showed — using an implantable device from SetPoint Medical Corporation (Valencia, CA) — that VNS (up to four times daily) significantly inhibited TNF production for up to 84 days in patients with RA. In addition, RA disease severity, measured by standardized clinical composite scores, improved significantly; thus suggesting that it is possible to use neuroimmune modulating device in the therapy of RA with potential implications in other auto-immune and auto-inflammatory diseases. Postoperative ileus (POI) is characterized by a delay of gastric emptying and prolonged intestinal transit after surgery (Stakenborg et al. 2017a). Postoperative ileus can prolong hospitalization and increase healthcare costs. A peripheral pathway,

involving the CAP, has shown the release of TNF by resident macrophages in the muscularis propria after abdominal surgery (de Jonge et al. 2003). VNS improves postoperative ileus both in experimental conditions and in humans (Stakenborg et al. 2017b).

Non-invasive vagus nerve stimulation

The data that we have reported above were based on invasive VNS that requires a surgical implantation of an electrode and a neurostimulator. However, the development of non-invasive VNS techniques is of interest, such as transcutaneous auricular VNS (ta-VNS). This technique is based on the innervation pattern of the lateral surface auricle of the cymba conchae, cavity of the concha, and tragus which are innervated by the auricular (afferent) branch of VN, respectively at 100%, 45%, and 45% (Peuker, Filler 2002). Thus, stimulation of this anatomical part of the auricle will activate vagal afferents targeting the NTS and then activating vagal efferent through the inflammatory reflex described by Tracey's group. Afferent pathway of the VN and regions activated by taVNS (fMRI studies) are the same (Badran et al. 2018). The Cerbomed Nemos device (Erlangen, Germany) is an external device that provides ta-VNS by using a dedicated intra-auricular electrode (like an earphone) which stimulates the auricular branch of the VN (Stefan et al. 2012). This device received the European clearance (CE mark) in 2010 for epilepsy treatment and is currently available in Germany, Austria, Switzerland, and Italy. Another ta-VNS device is marketed by Schwa Medico (Rouffach, France) with an electrode stimulating the cymba conchae and the cavity of the concha and connected to a neurostimulator (Urostim 2); this device is recommended for IBS (Mion et al. 2020), IBD, RA, migraine, pelvic pain and fibromyalgia treatment. The Electrocore LLC Gammacore device (Basking Ridge, NJ, USA) is a transcutaneous cervical VN stimulator that uses proprietary electrical signals to treat primary headache (Mwamburi et al. 2020). These non-invasive devices are well tolerated with no major side effects, and could be used for the treatment of various inflammatory disorders and others, because the VN has anti-inflammatory but also anti-nociceptive and anti-depressive properties.

Conclusion

The anti-inflammatory properties of the VN, both through its afferents (activation of the HPA axis) and efferents (activation of the CAP) can be used to treat various pathological conditions such as chronic inflammatory diseases. In particular,

as a key element of the ANS in the brain-gut interactions in IBD (Bonaz et al. 2013), the VN is a therapeutic target in IBD. In addition, the VN is also at the interface of the microbiota-gut-brain axis (Bonaz et al. 2018) and based on the implication of dysbiosis in various pathological conditions, one can assume that VNS is also able to target this dysbiosis. VNS is able to restore vagal tone. Indeed, we have reported an abnormal ANS in IBD patients (Pellissier et al. 2010) negatively correlated with TNF α levels (Pellissier et al. 2014). VNS, by restoring the ANS balance in such patients through the activation of the VN, is a novel therapeutic treatment. Finally, VNS is devoid of the adverse events of biological therapies such as anti-TNF drugs (infections, dermatological complications, lymphoma, immunisation) which are still a gold stan-

dard treatment in IBD but are feared by patients, thus explaining their non-adherence to treatment and their search for a non-drug therapy. Finally, the economic impact of VNS is of interest since, for example, the median cost of 1-year anti-TNF therapy raises up to \$40 000 for CD patients (Targownik et al. 2019). The use of neuromodulation by bioelectronics devices as a treatment is an emerging field in the domain of bioelectronic medicine. It could be an alternative non-drug therapy to conventional treatment or could be combined with such treatments, but further investigation in large longitudinal cohorts of patients is required. Finally, the optimal neurostimulation parameters to better treat common conditions and diseases that involve immune regulation to achieve significant cytokine changes need to be determined (Bonaz 2020).

References

- Abe, C., Inoue, T., Inglis, M. A. et al. (2017) C1 neurons mediate a stress-induced anti-inflammatory reflex in mice. *Nature Neuroscience*, vol. 20, no. 5, pp. 700–707. DOI: 10.1038/nn.4526 (In English)
- Altschuler, S. M., Escardo, J., Lynn, R. B., Miselis, R. R. (1993) The central organization of the vagus nerve innervating the colon of the rat. *Gastroenterology*, vol. 104, no. 2, pp. 502–509. DOI: 10.1016/0016-5085(93)90419-d (In English)
- Badran, B. W., Dowdle, L. T., Mithoefer, O. J. et al. (2018) Neurophysiologic effects of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS) via electrical stimulation of the tragus: A concurrent taVNS/fMRI study and review. *Brain Stimulation*, vol. 11, no. 3, pp. 492–500. DOI: 10.1016/j.brs.2017.12.009 (In English)
- Benarroch, E. E. (1993) The central autonomic network: Functional organization, dysfunction, and perspective. *Mayo Clinic Proceedings*, vol. 68, no. 10, pp. 988–1001. DOI: 10.1016/s0025-6196(12)62272-1 (In English)
- Bernik, T. R., Friedman, S. G., Ochani, M. et al. (2002) Cholinergic anti-inflammatory pathway inhibition of tumor necrosis factor during ischemia reperfusion. *Journal of Vascular Surgery*, vol. 36, no. 6, pp. 1231–1236. DOI: 10.1067/mva.2002.129643 (In English)
- Berthoud, H. R., Carlson, N. R., Powley, T. L. (1991) Topography of efferent vagal innervation of the rat gastrointestinal tract. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 260, no. 1, pp. R200–R207. DOI: 10.1152/ajpregu.1991.260.1.R200 (In English)
- Bonaz, B. (2020) Parameters matter: Modulating cytokines using nerve stimulation. *Bioelectronic Medicine*, vol. 6, article 12. DOI: 10.1186/s42234-020-00049-1 (In English)
- Bonaz, B., Bazin, T., Pellissier, S. (2018) The vagus nerve at the interface of the microbiota-gut-brain axis. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 12, article 49. DOI: 10.3389/fnins.2018.00049 (In English)
- Bonaz, B. L., Bernstein, C. N. (2013) Brain–gut interactions in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, vol. 144, no. 1, pp. 36–49. DOI: 10.1053/j.gastro.2012.10.003 (In English)
- Bonaz, B., Lane, R. D., Oshinsky, M. L. (2020) Diseases, disorders, and comorbidities of interoception. *Trends in Neurosciences*. (In press). (In English)
- Bonaz, B., Sinniger, V., Hoffmann, D. et al. (2013) Vagus nerve stimulation: From epilepsy to the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, vol. 25, no. 3, pp. 208–221. DOI: 10.1111/nmo.12076 (In English)
- Bonaz, B., Sinniger, V., Hoffmann, D. et al. (2016) Chronic vagus nerve stimulation in Crohn's disease: A 6-month follow-up pilot study. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, vol. 28, no. 6, pp. 948–953. DOI: 10.1111/nmo.12792 (In English)
- Bonaz, B., Sinniger, V., Pellissier, S. (2017) The vagus nerve in the neuro-immune axis: Implications in the pathology of the gastrointestinal tract. *Frontiers in Immunology*, vol. 8, article 1452. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01452 (In English)
- Bonaz, B., Sinniger, V., Pellissier, S. (2019) Vagus nerve stimulation at the interface of brain-gut interactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, vol. 9, no. 8, article a034199. DOI: 10.1101/cshperspect.a034199 (In English)
- Borovikova, L. V., Ivanova, S., Zhang, M. et al. (2000) Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*, vol. 405, no. 6785, pp. 458–462. DOI: 10.1038/35013070 (In English)

- Buller, K. M. (2001) Role of circumventricular organs in pro-inflammatory cytokine-induced activation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, vol. 28, no. 7, pp. 581–589. DOI: 10.1046/j.1440-1681.2001.03490.x (In English)
- Cailotto, C., Gomez-Pinilla, P. J., Costes, L. M. et al. (2014) Neuro-anatomical evidence indicating indirect modulation of macrophages by vagal efferents in the intestine but not in the spleen. *PLoS One*, vol. 9, no. 1, article e87785. DOI: 10.1371/journal.pone.0087785 (In English)
- Cechetto, D. F. (1987) Central representation of visceral function. *Federation Proceedings*, vol. 46, no. 1, pp. 17–23. PMID: 3542576. (In English)
- Chan, W., Chen, A., Tiao, D. et al. (2017) Medication adherence in inflammatory bowel disease. *Intestinal Research*, vol. 15, no. 4, pp. 434–445. DOI: 10.5217/ir.2017.15.4.434 (In English)
- Click, B., Regueiro, M. (2019) Managing risks with biologics. *Current Gastroenterology Reports*, vol. 21, no. 2, article 1. DOI: 10.1007/s11894-019-0669-6 (In English)
- De Jonge, W. J., van den Wijngaard, R. M., The, F. O. et al. (2003) Postoperative ileus is maintained by intestinal immune infiltrates that activate inhibitory neural pathways in mice. *Gastroenterology*, vol. 125, no. 4, pp. 1137–1147. DOI: 10.1016/s0016-5085(03)01197-1 (In English)
- De Jonge, W. J., van der Zanden, E. P., The, F. O. et al. (2005) Stimulation of the vagus nerve attenuates macrophage activation by activating the Jak2-STAT3 signaling pathway. *Nature Immunology*, vol. 6, no. 8, pp. 844–851. DOI: 10.1038/ni1229 (In English)
- Delmas, J., Laux, G. (1933) *Anatomie médico-chirurgicale du système nerveux végétatif: sympathique & parasympathique [Medical-surgical anatomy of the vegetative nervous system: sympathetic and parasympathetic]*. Paris: Masson, 266 p. (In French)
- D’Haens, G. R., Cabrijan, Z., Eberhardson, M. (2018) The effects of vagus nerve stimulation in biologic-refractory Crohn’s disease: A prospective clinical trial. *Journal of Crohn’s and Colitis*, vol. 12, no. 1, pp. S397–S398. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjx180.701 (In English)
- Englot, D. J., Chang, E. F., Auguste, K. I. (2011) Vagus nerve stimulation for epilepsy: A meta-analysis of efficacy and predictors of response. *Journal of Neurosurgery*, vol. 115, no. 6, pp. 1248–1255. DOI: 10.3171/2011.7.JNS11977 (In English)
- Fournier, A., Mondillon, L., Luminet, O. et al. (2020) Interoceptive abilities in inflammatory bowel diseases and irritable bowel syndrome. *Frontiers in Psychiatry*, vol. 11, article 229. DOI: 10.3389/fpsy.2020.00229 (In English)
- Ghia, J. E., Blennerhassett, P., Kumar-Ondiveeran, H. et al. (2006) The vagus nerve: A tonic inhibitory influence associated with inflammatory bowel disease in a murine model. *Gastroenterology*, vol. 131, no. 4, pp. 1122–1130. DOI: 10.1053/j.gastro.2006.08.016 (In English)
- Kibleur, A., Pellissier, S., Sinniger, V. et al. (2018) Electroencephalographic correlates of low-frequency vagus nerve stimulation therapy for Crohn’s disease. *Clinical Neurophysiology*, vol. 129, no. 5, pp. 1041–1046. DOI: 10.1016/j.clinph.2018.02.127 (In English)
- Koopman, F. A., Chavan, S. S., Miljko, S. et al. (2016) Vagus nerve stimulation inhibits cytokine production and attenuates disease severity in rheumatoid arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, vol. 113, no. 29, pp. 8284–8289. DOI: 10.1073/pnas.1605635113 (In English)
- Koopman, F. A., Schuurman, P. R., Vervoordeldonk, M. J., Tak, P. P. (2014) Vagus nerve stimulation: A new bioelectronics approach to treat rheumatoid arthritis? *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, vol. 28, no. 4, pp. 625–635. DOI: 10.1016/j.berh.2014.10.015 (In English)
- Krahl, S. E., Senanayake, S. S., Handforth, A. (2001) Destruction of peripheral C-fibers does not alter subsequent vagus nerve stimulation-induced seizure suppression in rats. *Epilepsia*, vol. 42, no. 5, pp. 586–589. DOI: 10.1046/j.1528-1157.2001.09700.x (In English)
- Martelli, D., McKinley, M. J., McAllen, R. M. (2014) The cholinergic anti-inflammatory pathway: A critical review. *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical*, vol. 182, pp. 65–69. DOI: 10.1016/j.autneu.2013.12.007 (In English)
- Meregnani, J., Clarencon, D., Vivier, M. et al. (2011) Anti-inflammatory effect of vagus nerve stimulation in a rat model of inflammatory bowel disease. *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical*, vol. 160, no. 1–2, pp. 82–89. DOI: 10.1016/j.autneu.2010.10.007 (In English)
- Mion, F., Pellissier, S., Garros, A. et al. (2020) Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation for the treatment of irritable bowel syndrome: A pilot, open-label study. *Neuromodulation*. (In press). (In English)
- Morris, G. L., Mueller, W. M., The Vagus Nerve Stimulation Study Group E01-E05. (1999) Long-term treatment with vagus nerve stimulation in patients with refractory epilepsy. *Neurology*, vol. 53, no. 8, pp. 1731–1735. DOI: 10.1212/wnl.53.8.1731 (In English)
- Mwamburi, M., Liebler, E. J., Staats, P. S. (2020) Patient experience with non-invasive vagus nerve stimulator: GammaCore patient registry. *American Journal of Managed Care*, vol. 26, no. 1, pp. S15–S19. DOI: 10.37765/ajmc.2020.42545 (In English)
- Netter, F. H., Colacino, S. (1989) *Atlas of human anatomy*. Summit: Ciba-Geigy Corporation, 550 p. (In English)
- Olofsson, P. S., Katz, D. A., Rosas-Ballina, M. et al. (2012) α -7-Nicotinic acetylcholine receptor (α 7nAChR) expression in bone marrow-derived non-T cells is required for the inflammatory reflex. *Molecular Medicine*, vol. 18, pp. 539–543. DOI: 10.2119/molmed.2011.00405 (In English)

- Pellissier, S., Dantzer, C., Canini, F. et al. (2010) Psychological adjustment and autonomic disturbances in inflammatory bowel diseases and irritable bowel syndrome. *Psychoneuroendocrinology*, vol. 35, no. 5, pp. 653–662. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2009.10.004 (In English)
- Pellissier, S., Dantzer, C., Mondillon, L. et al. (2014) Relationship between vagal tone, cortisol, TNF-alpha, epinephrine and negative affects in Crohn's disease and irritable bowel syndrome. *PLoS One*, vol. 9, no. 9, article e105328. DOI: 10.1371/journal.pone.0105328 (In English)
- Peuker, E. T., Filler, T. J. (2002) The nerve supply of the human auricle. *Clinical Anatomy*, vol. 15, no. 1, pp. 35–37. DOI: 10.1002/ca.1089 (In English)
- Reyt, S., Picq, C., Sinniger, V. et al. (2010) Dynamic causal modelling and physiological confounds: A functional MRI study of vagus nerve stimulation. *Neuroimage*, vol. 52, no. 4, pp. 1456–1464. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2010.05.021 (In English)
- Ricardo, J. A., Koh, E. T. (1978) Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. *Brain Research*, vol. 153, no. 1, pp. 1–26. DOI: 10.1016/0006-8993(78)91125-3 (In English)
- Rosas-Ballina, M., Ochani, M., Parrish, W. R. et al. (2008) Splenic nerve is required for cholinergic antiinflammatory pathway control of TNF in endotoxemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, vol. 105, no. 31, pp. 11008–11013. DOI: 10.1073/pnas.0803237105 (In English)
- Sinniger, V., Pellissier, S., Fauvelle, F. et al. (2020) A 12-month pilot study outcomes of vagus nerve stimulation in Crohn's disease. *Neurogastroenterology & Motility*, vol. 32, no. 10, article e13911. DOI: 10.1111/nmo.13911 (In English)
- Stakenborg, N., Gomez-Pinilla, P. J., Boeckxstaens, G. E. (2017a) Postoperative ileus: Pathophysiology, current therapeutic approaches. *Gastrointestinal Pharmacology. Handbook of Experimental Pharmacology*, vol. 239, pp. 39–57. DOI: 10.1007/164_2016_108 (In English)
- Stakenborg, N., Wolthuis, A. M., Gomez-Pinilla, P. J. et al. (2017b) Abdominal vagus nerve stimulation as a new therapeutic approach to prevent postoperative ileus. *Neurogastroenterology & Motility*, vol. 29, no. 9, article e13075. DOI: 10.1111/nmo.13075 (In English)
- Stefan, H., Kreiselmeyer, G., Kerling, F. et al. (2012) Transcutaneous vagus nerve stimulation (t-VNS) in pharmaco-resistant epilepsies: A proof of concept trial. *Epilepsia*, vol. 53, no. 7, pp. e115–e118. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2012.03492.x (In English)
- Strack, A. M., Sawyer, W. B., Platt, K. B., Loewy, A. D. (1989) CNS cell groups regulating the sympathetic outflow to adrenal gland as revealed by transneuronal cell body labelling with pseudorabies virus. *Brain Research*, vol. 491, no. 2, pp. 274–296. DOI: 10.1016/0006-8993(89)90063-2 (In English)
- Targownik, L. E., Benchimol, E. I., Witt, J. et al. (2019) The effect of initiation of anti-TNF therapy on the subsequent direct health care costs of inflammatory Bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 25, no. 10, pp. 1718–1728. DOI: 10.1093/ibd/izz063 (In English)
- Torres, J., Ellul, P., Langhorst, J. et al. (2019) European Crohn's and colitis organisation topical review on complementary medicine and psychotherapy in inflammatory Bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, vol. 13, no. 6, pp. 673–685e. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjz051 (In English)
- Wang, H., Liao, H., Ochani, M. et al. (2004) Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis. *Nature Medicine*, vol. 10, no. 11, pp. 1216–1221. DOI: 10.1038/nm1124 (In English)
- Wang, H., Yu, M., Ochani, M. et al. (2003) Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature*, vol. 421, no. 6921, pp. 384–388. DOI: 10.1038/nature01339 (In English)
- Werner, M. F. P., Fraga, D., Melo, M. C. C. et al. (2003) Importance of the vagus nerve for fever and neutrophil migration induced by intraperitoneal LPS injection. *Inflammation Research*, vol. 52, no. 7, pp. 291–296. DOI: 10.1007/s00011-003-1174-8 (In English)
- Zagon, A. (2001) Does the vagus nerve mediate the sixth sense? *Trends in Neurosciences*, vol. 24, no. 11, pp. 671–673. DOI: 10.1016/s0166-2236(00)01929-9 (In English)

Патогенез дыхательной недостаточности при коронавирусной болезни (COVID-19)

Н. П. Александрова^{✉1}

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

Сведения об авторе

Нина Павловна Александрова,
SPIN-код: 4994-4591,
Scopus AuthorID: 56249021000,
ORCID: 0000-0002-5564-161X,
e-mail: naleks54@yandex.ru

Для цитирования:

Александрова, Н. П.
(2020) Патогенез дыхательной недостаточности при коронавирусной болезни (COVID-19). *Интегративная физиология*, т. 1, № 4, с. 285–293.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-285-293

Получена 8 сентября 2020;
прошла рецензирование
6 октября 2020;
принята 19 октября 2020.

Права: © Автор (2020).
Опубликовано Российским
государственным педагогическим
университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях
лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. В обзоре представлены результаты экспериментальных и клинических исследований и наблюдений, позволяющие сделать выводы о причинах и механизмах развития острой дыхательной недостаточности при тяжелом течении COVID-19. Приводятся общие сведения о коронавирусе SARS-CoV-2 в сравнении с вирусами MERS-CoV и SARS-CoV. Рассматривается роль ангиотензинпревращающего фермента 2 в патогенезе COVID-19, рассматриваются механизмы развития острого респираторного дистресс-синдрома и гипоксемии, неблагоприятные последствия гиперцитокинемии (цитокинового шторма), предполагаемый нейрогенный механизм дыхательной недостаточности. Подчеркивается, что неблагоприятные процессы, которые происходят в легких больных COVID-19, вызваны не столько прямым действием вируса, сколько гиперреактивностью иммунной системы. Приводятся данные о роли в развитии дыхательной недостаточности при COVID-19 способности SARS-CoV-2 к нейроинвазии, приводящей к распространению инфекции на ствол мозга и структуры дыхательного центра. В заключение на основании литературных данных делается вывод о том, что патогенез дыхательной недостаточности при COVID-19 имеет множественные причины и характеризуется диффузным и экссудативным поражением альвеол, ухудшением вентиляционно-перфузионных отношений, развитием фиброзов, образованием тромбов, гипоксемией. Подчеркивается, что исследование центральных, нейрогенных механизмов дыхательной недостаточности и анализ их корреляции с неврологическими симптомами способствуют более глубокому пониманию патогенеза COVID-19 и могут иметь существенное значение для профилактики и лечения респираторной недостаточности, вызванной SARS-CoV-2.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, дыхательная недостаточность, острый респираторный дистресс-синдром, цитокиновый шторм.

Pathogenesis of respiratory failure in coronavirus disease (COVID-19)

N. P. Aleksandrova✉¹

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

Author

Nina P. Aleksandrova,
SPIN: 4994-4591,
Scopus AuthorID: 56249021000,
ORCID: 0000-0002-5564-161X,
e-mail: naleks54@yandex.ru

For citation:

Aleksandrova, N. P.
(2020) Pathogenesis of respiratory failure in coronavirus disease (COVID-19). *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 4, pp. 285–293.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-285-293

Received 8 September 2020;
reviewed 6 October 2020;
accepted 19 October 2020.

Copyright: © The Author (2020).
Published by Herzen State Pedagogical University of Russia.
Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The review presents the results of experimental and clinical studies and observations. It allows to draw conclusions about the causes and mechanisms of the development of acute respiratory failure in severe COVID-19. The paper compares SARS-CoV-2, MERS-CoV and SARS-CoV. It explores the role of angiotensin-converting enzyme 2 in the pathogenesis of COVID-19, the mechanisms of the development of acute respiratory distress syndrome and hypoxemia, the adverse consequences of hypercytokinemia (cytokine storm), and the neurogenic mechanism of respiratory failure. It is emphasized that the adverse processes in the lungs of patients with COVID-19 are caused not so much by the direct action of the virus, but, rather, by the hyperreactivity of the immune system. The paper also focuses on the ability of SARS-CoV-2 for neuroinvasion, which leads to the spread of infection to the brain stem and structures of the respiratory center.

Finally, based on the literature data, it is concluded that the pathogenesis of respiratory failure in COVID-19 has multiple causes and is characterized by diffuse and exudative damage to the alveoli, deterioration of ventilation-perfusion relations, development of fibrosis, thrombus formation, and hypoxemia. It is emphasized that the study of the central, neurogenic mechanisms of respiratory failure as well as their correlation with neurological symptoms contributes to a deeper understanding of the pathogenesis of COVID-19 and may be essential for the prevention and treatment of respiratory failure caused by SARS-CoV-2.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, respiratory failure, acute respiratory distress syndrome, cytokine storm.

Введение

Коронавирусные инфекции являются наиболее распространенными в структуре сезонных острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ). Известно четыре круглогодично циркулирующих коронавируса (HCoV-229E, -OC43, -NL63, -HKU1), вызывающих заболевания верхних дыхательных путей легкой и средней тяжести (Fehr, Perlman 2015). Эти вирусы не представляют большой угрозы для человека. Однако в 2002, 2012 и 2019 годах появились новые серотипы коронавирусов, вызывающие опасные инфекционные заболевания нижних отделов дыхательных путей. Это, соответственно, коронавирусы SARS-CoV (возбудитель атипичной пневмонии), MERS-CoV (возбудитель ближневосточного респираторного синдрома) и SARS-CoV-2 (возбудитель коронавирусного заболевания COVID-19). Геномный анализ показывает, что новый коронавирус SARS-CoV-2 является одноцепочечным РНК-содержащим вирусом, имеющим 79%-ную идентичность геномной последовательности с SARS-CoV (Gorbalenya et al. 2020; Yu et al. 2020).

Новый коронавирус относится к роду *Betacoronavirus* (Beta-CoV) и имеет II группу патогенности, так же как вирусы SARS-CoV и MERS-CoV. В клинических рекомендациях Министерства здравоохранения Российской Федерации указано, что вирус передается воздушно-капельным, воздушно-пылевым и контактным путями. Установлено, что SARS-CoV-2 характеризуется низкой устойчивостью в окружающей среде. Он погибает под воздействием ультрафиолета, дезинфекционных средств, при нагревании (до 40 °C в течение 1 часа и до 56 °C в течение 30 минут). На поверхности предметов вирус сохраняет жизнеспособность от 2 до 48 часов при температуре 18–25° C.

Инфицирование коронавирусом SARS-CoV-2 вызывает опасное острое инфекционное заболевание COVID-19. Распространение вируса в легкие, центральную нервную систему и систему кровообращения вызывает системные нарушения, которые могут привести к органопатиям и смерти больных COVID-19. Различают легкие, средние и тяжелые формы болезни. В тяжелых случаях развивается пневмония с клиническими проявлениями и симптомами,

аналогичными тем, которые характерны и для SARS-CoV, и для MERS-CoV (Huang et al. 2020). Однако, в отличие от SARS-CoV, пациенты, инфицированные SARS-CoV-2, очень редко имеют выраженные симптомы со стороны верхних дыхательных путей. Это указывает на то, что клетки-мишени SARS-CoV-2 располагаются именно в нижних дыхательных путях. При тяжелой симптоматике характерным осложнением COVID-19 является острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), который может напрямую вести к дыхательной недостаточности, являющейся причиной смерти в 70 % смертельных случаев COVID-19. По мере прогрессирования болезни к вирусной инфекции подсоединяются вторичные бактериальные и грибковые инфекции (Chen et al. 2020). Кроме того, огромное высвобождение цитокинов клетками иммунной системы в ответ на вирусную или вторичную инфекции приводит к цитокиновому шторму и симптомам сепсиса, которые являются причиной смерти в 28 % смертельных случаев COVID-19 (Tay et al. 2020). При этом неконтролируемое воспаление вызывает полиорганное повреждение, ведущее к сердечной, печеночной и почечной недостаточности.

При заражении вирусом SARS-CoV-2 средний инкубационный период составляет 4–5 дней до появления первых симптомов. У пациентов с COVID-19 обычно наблюдаются жар и сухой кашель, реже — затрудненное дыхание, боль в мышцах и суставах, головная боль, головокружение, диарея, тошнота и кашель с кровью. Пик вирусной нагрузки при заражении SARS-CoV-2 достигается через 5–6 дней с момента появления симптомов заражения, т. е. значительно раньше, чем при инфицировании SARS-CoV, где пик вирусной нагрузки наблюдается примерно через 10 дней после появления симптомов. При тяжелом течении COVID-19 острый респираторный дистресс-синдром развивается в среднем уже через 8–9 дней после появления начальных симптомов (Tay et al. 2020).

Роль ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2) в патогенезе COVID-19

Установлено, что проникновение SARS-CoV-2 в клетки человека опосредуется клеточными рецепторами АПФ2, который экспрессируется в эпителии дыхательных путей человека, паренхиме легких, эндотелии сосудов, клетках почек и клетках тонкой кишки (Donoghue et al. 2000; Hamming et al. 2004; Harmer et al. 2002). Как из-

вестно, АПФ и АПФ2 участвуют в регуляции активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). Эти ферменты являются гомологами с разными ключевыми функциями в РААС. АПФ расщепляет ангиотензин I с образованием ангиотензина II, тогда как АПФ2 инактивирует ангиотензин II. АПФ2 — фермент, физиологически угнетающий активацию РААС, — является функциональным рецептором SARS-CoV-2. В респираторной системе основными клетками-мишенями для SARS-CoV-2 являются клетки альвеолярного эпителия, в цитоплазме которых происходит репликация вируса. После сборки вирионов они переходят в цитоплазматические вакуоли, которые мигрируют к мембране клетки и путем экзоцитоза выходят во внеклеточное пространство. Однако SARS-CoV-2 не только использует АПФ2 для проникновения в клетку, он также угнетает его дальнейшую экспрессию, что приводит к прекращению его органопротективного действия. Сразу после рецепции и прикрепления вируса начинается процесс последовательного снижения концентрации АПФ2 на поверхности мембраны. Установлено, что коронавирусная инфекция снижает экспрессию АПФ2 в клетках легких (Kuba et al. 2005). Угнетение активности АПФ2 в легких обуславливает первичную инфильтрацию нейтрофилов в ответ на инфицирование и может привести к чрезмерному неконтролируемому накоплению освободившегося от ингибирования ангиотензина II и местной активации РААС, которая опосредует повреждение легочной ткани при коронавирусной инфекции, усиливая воспаление и проницаемость сосудов в дыхательных путях. Это предположение подтверждается результатами экспериментального исследования, проведенного на мышах, в котором было показано, что АПФ2 и рецептор ангиотензина II типа 2 (AT2) защищают от тяжелого острого повреждения легких, вызванного аспирацией кислоты или сепсисом, тогда как другие компоненты ренин-ангиотензиновой системы, включая АПФ, ангиотензин II и рецептор ангиотензина II типа 1a (AT1a), способствуют развитию заболевания, вызывая отек легких и ухудшая легочную функцию (Imai et al. 2005).

В экспериментах на животных показано, что ингибирование АПФ лизиноприлом, а также блокирование рецепторов ангиотензина лозартаном — препаратами, используемыми при лечении гипертонической болезни, — повышают экспрессию генов и активность АПФ2 в 5 раз и в 3 раза соответственно (Ferrario et al. 2005). В связи с этим фактом высказывалось предположение, что прием данных гипотензив-

ных препаратов может повысить риск заражения коронавирусной инфекцией, т. к. увеличение экспрессии этого фермента теоретически может привести к увеличению количества клеточных рецепторов АПФ2, т. е. к увеличению числа мишеней для вируса. Однако впоследствии было показано, что подобные эффекты не наблюдаются у человека при использовании терапевтических доз препаратов (Hamming et al. 2004), к тому же ингибирование АПФ при клиническом применении непосредственно не влияет на активность АПФ2 (Wu 2020). Предполагается, что блокада рецепторов ангиотензина будет иметь скорее протективный, чем негативный эффект в отношении риска развития тяжелых осложнений при COVID-19 (Sommerstein et al. 2020; Yang et al. 2020). Рассматривается возможность использования рекомбинантного белка АПФ2 для лечения дыхательных расстройств. Предполагается, что циркулирующий в крови рекомбинантный АПФ2, находясь в плазме крови, а не на поверхности клетки, может связываться с вирусом и таким образом уменьшать вирусную нагрузку на клетки.

Респираторный дистресс-синдром и гипоксемия

У большинства пациентов с тяжелым течением COVID-19 на первой неделе заболевания развивается пневмония, осложнением которой является острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС). Синонимами респираторного дистресс-синдрома являются «шоковое», «влажное», «травматическое» легкое. ОРДС приводит к острой дыхательной недостаточности — патологическому состоянию, при котором не обеспечивается поддержание нормального газового состава крови либо оно достигается за счет более интенсивной работы аппарата внешнего дыхания, что приводит к снижению функциональных возможностей организма.

Несмотря на многообразие факторов, приводящих к ОРДС, в его основе лежат повреждения легочных структур (Chuchalin 2004). Повреждение эпителия альвеол вызывает выход фибрина и других белков в просвет альвеол и формирование вследствие этого гиалиновых мембран в альвеолах. Происходит утолщение аэрогематического барьера, затрудняется диффузия кислорода. Наблюдается также выход жидкости в альвеолярное пространство и нарушение сурфактантного слоя, выстилающего бронхиолы и альвеолы, что вызывает спадение альвеол. В результате часть легочного кровотока проходит по неventилируемым участкам

легких, шунтируется. Венозная кровь, притекающая к легким и попадающая в шунты, не изменяет свой газовый состав. На выходе из легких она встречается с кровью, оттекающей от нормально работающих альвеол. В результате смешивания этих двух потоков образуется артериальная кровь, напряжение кислорода в которой снижено из-за примеси венозной крови. Важно также отметить, что на начальной стадии COVID-19 PCO_2 артериальной крови, в отличие от PO_2 , остается на почти нормальном уровне (Baig 2020). Объяснить это может тот факт, что для CO_2 альвеолярный барьер является более проницаемым, чем для O_2 . Поэтому CO_2 удаётся диффундировать даже в альвеолы, заполненные жидкостью. Кроме того, компенсаторное увеличение частоты дыхания, которое часто наблюдается у пациентов на начальных стадиях заболевания, приводит к «вымыванию» CO_2 и развитию гипоксемии.

Заполнение альвеол жидкостью снижает воздушность легочной ткани. На снимках легких, полученных при компьютерной томографии грудной клетки больных COVID-19, эти повреждения проявляются в виде эффекта «матового стекла» (Chen et al. 2020). Здоровые легкие на снимке имеют черный цвет, при скоплении жидкости прозрачность легочной ткани уменьшается, поэтому эти участки легкого выглядят как мутные пятна. Симптом матового стекла, пропотевание, проявляется не только при инфицировании вирусами. Он может обнаруживаться и при пневмонии другого характера, при отеке легких, при сердечной недостаточности. Особенностью коронавирусной пневмонии является локализация этих очагов: чаще всего в нижних отделах, двусторонняя, периферическая (то есть ближе к грудной клетке).

Действие вируса вызывает также повышение проницаемости стенок легочных капилляров и усиленный транспорт жидкости, богатой альбумином, в интерстициальную ткань легкого. Развивается интерстициальный отек легких. Выход в интерстиций фибрина способствует фиброзированию легочной ткани, снижению ее эластичности. Вначале нормальная легочная ткань разрушается, а затем заменяется соединительной тканью. В результате в эластичной ткани образуются нерастяжимые участки, рубцы. Легкие становятся менее растяжимыми. Это увеличивает сопротивление дыханию и создает дополнительную нагрузку на дыхательные мышцы.

Таким образом, причиной тяжелой гипоксемии при COVID-19 является, прежде всего,

экссудативное и диффузное повреждение альвеол (Komorowski, Aberegg 2020), которое ведет к ухудшению перфузии легких; вносит свой вклад и гипоксическая вазоконстрикция. По мнению академика А. Г. Чучалина, те изменения легочной ткани, которые наблюдаются при COVID-19, — это скорее не пневмонии, а пневмониты с диффузным поражением альвеол и выпадением большого количества фибринов. Фиброзы легочной ткани, которые часто развиваются у пациентов, перенесших COVID-19, могут определяться рентгенологически даже через несколько месяцев после начала заболевания (Bateneva 2020).

Следует иметь в виду, что на газовый состав крови может оказывать влияние также мультиорганная недостаточность, которая развивается на поздней стадии COVID-19 (Leonard et al. 2018). Это повреждения надпочечников, поражение желудочно-кишечного тракта, нарушения коагуляции и метаболические нарушения.

Цитокиновый шторм

Наиболее актуальной проблемой при тяжелой форме коронавирусной инфекции COVID-19, протекающей с пневмонией и дыхательной недостаточностью, в настоящее время является гиперцитокинемия. Установлено, что неблагоприятные процессы, которые происходят в легких больных COVID-19, вызваны не прямым действием вируса, а гиперреактивностью иммунной системы. Интенсивность повреждения легких зависит не столько от интенсивности вирусной репродукции, сколько от неконтролируемой выработки провоспалительных цитокинов и чрезмерной инфильтрации тканей легкого клетками врожденного иммунитета. Именно с развитием цитокинового шторма, неконтролируемой воспалительной реакции, связаны летальные случаи этого заболевания. Цитокиновый шторм, или гиперцитокинемия, — это потенциально летальная реакция иммунной системы, характеризующаяся быстрой пролиферацией и повышенной активностью Т-клеток, макрофагов и естественных киллеров с высвобождением защитными клетками различных воспалительных цитокинов и химических медиаторов (Wong et al. 2017). Выработка большого количества медиаторов воспаления приводит к активации иммунных клеток и высвобождению последними новой порции медиаторов вследствие наличия неконтролируемой положительной обратной связи между этими процессами (Behrens et al. 2017). Возникает порочный круг, который вызывает разрушение тканей очага

воспаления, распространение реакции на соседние ткани, выход провоспалительных цитокинов в кровеносное русло. Воспаление приобретает системный, генерализованный характер, охватывая весь организм в целом.

Следствием развития цитокинового шторма является поликлональная активация клеток иммунной системы, т. е. потеря специфичности иммунитета, когда собственные клетки организма хозяина связываются противовирусными антигенами и уничтожаются в ходе дальнейшей реакции иммунного ответа. Разрушаются клетки неспецифического звена — нейтрофилы, высвобождается содержимое их гранул — протеолитические ферменты. Кроме того, при тяжелых инфекциях происходит гиперактивация системы комплемента — группы защитных белков, которые тоже являются протеолитическими ферментами. Они постоянно присутствуют в крови и участвуют в реализации иммунного ответа. При COVID-19 происходит слишком мощная активация системы комплемента, она становится сверхактивной и начинает воздействовать на собственные клетки организма. Протеолитические ферменты повреждают ткани, разрушают эритроциты и тромбоциты. Шведскими учеными из Уппсальского университета было установлено, что активация системы комплемента является ключевым механизмом образования тромбов при COVID-19. Причем основную роль при коронавирусной инфекции в этом процессе играет белок MBL — лектин. Исследования, проведенные в университетской больнице Уппсалы, показали, что у всех пациентов с тромбозом активность и уровни MBL были повышены (Eriksson et al. 2020). К настоящему времени установлено, что формирование внутри кровеносных сосудов сгустков крови, тромбов, является одним из самых распространенных осложнений при тяжелой форме COVID-19. Выброс большого количества биологически активных веществ при цитокиновом шторме приводит также к резкому повышению проницаемости мелких сосудов легких, накоплению транссудата в интерстиции и в альвеолах, к отеку альвеоло-капиллярной мембраны и нарушению газообмена. Развивается острый респираторный дистресс-синдром, приводящий к гипоксемии и дыхательной недостаточности.

Гиперреакция иммунной системы приводит к истощению работы иммунитета. В результате возникает вторичная реакция — иммунная недостаточность. Иммуносупрессивное состояние больного способствует развитию оппортунистических бактериальных и микотических ин-

фекций респираторного тракта. При исследовании легких умерших больных COVID-19, которые длительное время находились на искусственной вентиляции, в 50 % случаев обнаруживается заполнение альвеол различного вида грибами, преимущественно плесневыми, т. е. развивается вторичная грибковая (микотическая) пневмония.

От состояния иммунной системы человека зависит тяжесть течения заболевания COVID-19. У молодых людей с сильным иммунитетом оно протекает, как правило, в легкой форме. У пожилых пациентов с ослабленным иммунитетом чаще наблюдается чрезмерная иммунная реакция на коронавирус, которая может привести к цитокиновому шторму и неблагоприятному исходу болезни.

Нейрогенный механизм дыхательной недостаточности при COVID-19

По мере изучения новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 появляется все больше свидетельств участия в развитии дыхательной недостаточности при COVID-19 центральной нервной системы (ЦНС) (Li et al. 2020; Manganeli et al. 2020; Wu et al. 2020). Результаты клинических наблюдений согласуются с предположениями о поражении ствола мозга и в особенности дыхательного центра. SARS-CoV-2 считается нейротропным вирусом. Установлено, что действие коронавирусов не всегда ограничивается дыхательными путями, они также могут проникать в ЦНС, вызывая неврологические нарушения. Получены данные, указывающие на то, что распространение инфекции на ствол мозга может играть существенную роль в дыхательной недостаточности и, возможно, в высокой смертности пациентов с COVID-19 (Manganeli et al. 2020). Эта гипотеза исходит из модельных экспериментов на животных, инфицированных другими коронавирусами, которые показали, что ствол мозга и особенно дыхательный центр серьезно поражены при коронавирусной инфекции (Li et al. 2020).

Способность к нейроинвазии была зарегистрирована почти для всех β -коронавирусов. Точный путь, по которому SARS-CoV или MERS-CoV попадает в ЦНС, до сих пор не идентифицирован. Получены первые доказательства прямого распространения и присутствия SARS-CoV-2 в тканях головного мозга человека (Paniz-Mondolfi et al. 2020). Предполагается, что проникновение вирусов в ЦНС и, как следствие, вызванные им нейропатические эффекты могут осуществляться за счет гематогенной диссеми-

нации и через эндотелиальные клетки церебральных сосудов. Однако большинство исследователей считают, что гематогенный или лимфатический пути распространения коронавирусной инфекции маловероятны, особенно на ранней стадии заражения (Ding et al. 2004; Gu et al. 2005; Xu et al. 2005). Гораздо больше доказательств того, что коронавирусы могут проникать в ЦНС через периферические нервные окончания по синаптическому пути (Li et al. 2012; 2013; Matsuda et al. 2004). Экспериментальные исследования показали, что SARS-CoV и MERS-CoV, а также другие коронавирусы человека могут достигать ЦНС через обонятельные нервы или блуждающий нерв (Li et al. 2020). Вполне возможно, что SARS-CoV-2, имеющий высокую степень структурного сходства с SARS-CoV и MERS-CoV, также может проникать в ЦНС через черепные нервы, тем более что большая часть пациентов с COVID-19 рано жалуется на anosмию и агевзию (Lechien et al. 2020).

Предполагается, что SARS-CoV-2 способен распространяться от механорецепторов и хеморецепторов легких и дыхательных путей через аксональный транспорт, вдоль языкоглоточного и блуждающего нервов к сердечно-сосудистому и респираторному центру продолговатого мозга и инфицировать нейроны комплекса пре-Бетцингера и дорсальной респираторной группы (ДРГ), которые входят в состав дыхательного центра (Baig 2020; Li et al. 2020; Smith et al. 1991). В экспериментах на животных было показано, что при интраназальном заражении коронавирусной инфекцией вирусные антигены обнаруживаются в стволе мозга, где инфицированные области включают ядро одиночного тракта (место расположения ДРГ) и амбигуальное ядро. К нейронам ДРГ поступает вся сенсорная информация от механорецепторов и хеморецепторов легких и дыхательных путей (Kalia, Mesulam 1980; Hadziefendic, Nahhiu 1999). В свою очередь, эфферентные волокна от амбигуального ядра и ядра одиночного тракта обеспечивают иннервацию дыхательных мышц и гладких мышц дыхательных путей и кровеносных сосудов. Такие нейроанатомические взаимосвязи указывают на то, что смерть зараженных животных или пациентов с COVID-19 в определенной мере может быть связана с дисфункцией сердечно-сосудистого и дыхательного центров в стволе мозга (Khan et al. 2020; Li et al. 2020).

Нарушение в работе ядер ствола мозга, участвующих в центральной регуляции дыхания, может объяснить потерю способности у многих пациентов с COVID-19 самостоятельно дышать

после отлучения от инвазивной искусственной вентиляции легких. Нейрогенным механизмом, направленным на борьбу с гипоксией в результате плохой диффузии O_2 через альвеолярный барьер, объясняется также увеличение частоты дыхания (Baig et al. 2020). У пациентов с COVID-19 через 8–14 дней после появления симптомов часто развивается дыхательная недостаточность со слабой гипоксемией и высокой частотой дыхания (до 38 циклов/мин), вызывающей гипоканию (Millan-Oñate et al. 2020). В качестве механизма увеличения частоты дыхания при COVID-19 рассматривается гипоксическая стимуляция хеморецепторов, вызывающая активацию дыхательных нейронов комплекса пре-Бетцгенга (Millan-Oñate et al. 2020; Román et al. 2020).

В заключение следует еще раз подчеркнуть, что патогенез дыхательной недостаточности при COVID-19 имеет множественные причины и характеризуется диффузным и экссудативным поражением альвеол, ухудшением вентиляционно-перфузионных отношений, развитием фиброзов, образованием тромбов, гипоксемией. Кроме того, необходимо подчеркнуть, что исследование центральных, нейрогенных механизмов дыхательной недостаточности и выявление их корреляции с неврологическими симптомами открывают путь к более глубокому пониманию патогенеза COVID-19 и могут иметь существенное значение для профилактики и лечения респираторной недостаточности, вызванной SARS-CoV-2.

References

- Baig, A. M. (2020) Computing the effects of SARS-CoV-2 on respiration regulatory mechanisms in COVID-19. *ACS Chemical Neuroscience*, vol. 11, no. 16, pp. 2416–2421. DOI: 10.1021/acscemneuro.0c00349 (In English)
- Baig, A. M., Khaleeq, A., Ali, U., Syeda, H. (2020) Evidence of the COVID-19 virus targeting the CNS: Tissue distribution, host-virus interaction, and proposed neurotropic mechanisms. *ACS Chemical Neuroscience*, vol. 11, no. 7, pp. 995–998. DOI: 10.1021/acscemneuro.0c00122 (In English)
- Bateneva, T. (2020) Akademik Aleksandr Chuchalin rasskazal “RG” o tajnakh koronavirusa [Academician Alexander Chuchalin told “RG” about the secrets of the coronavirus]. *Rossiyskaya gazeta*, 19 April. [Online]. Available at: <https://rg.ru/2020/04/19/nauka-shag-za-shagom-otkryvaet-tajny-koronavirusa.html> (accessed 19.04.2020). (In Russian)
- Behrens, E. M, Koretzky, G. A. (2017) Review: Cytokine storm syndrome: Looking toward the precision medicine era. *Arthritis & Rheumatology*, vol. 69, no. 6, pp. 1135–1143. DOI: 10.1002/art.40071 (In English)
- Chen, N., Zhou, M., Dong, X. et al. (2020) Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study. *Lancet*, vol. 395, no. 10223, pp. 507–513. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7 (In English)
- Chuchalin, A. G. (2004) Tyazhelyj ostryj respiratornyj sindrom [Severe acute respiratory syndrome (SARS)]. *Terapevticheskiy arhiv — Therapeutic Archive*, vol. 79, no. 3, pp. 5–11. (In Russian)
- Ding, Y., He, L., Zhang, Q. et al. (2004) Organ distribution of severe acute respiratory syndrome (SARS) associated coronavirus (SARS-CoV) in SARS patients: Implications for pathogenesis and virus transmission pathways. *Journal of Pathology*, vol. 203, no. 2, pp. 622–630. DOI: 10.1002/path.1560 (In English)
- Donoghue, M., Hsieh, F., Baronas, E. et al. (2000) A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circulation Research*, vol. 87, no. 5, pp. e1–e9. DOI: 10.1161/01.res.87.5.e1 (In English)
- Eriksson, O., Hultström, M., Persson, B. et al. (2020) Mannose-binding lectin is associated with thrombosis and coagulopathy in critically ill COVID-19 patients. *Thrombosis and Haemostasis*. DOI: 10.1055/s-0040-1715835 (In English)
- Fehr, A. R., Perlman, S. (2015) Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis. In: H. Maier, E. Bickerton, P. Britton (eds.). *Coronaviruses. Methods in molecular biology*. Vol. 1282. New York: Humana Press, 23 p. DOI: 10.1007/978-1-4939-2438-7_1 (In English)
- Ferrario, C. M., Jessup, J., Chappell, M. C. et al. (2005) Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin-converting enzyme 2. *Circulation*, vol. 111, no. 20, pp. 2605–2610. DOI: 10.1161/circulationaha.104.510461 (In English)
- Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R. C. et al. (2020) The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: Classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, vol. 5, no. 4, pp. 536–544. DOI: 10.1038/s41564-020-0695-z (In English)
- Gu, J., Gong, E., Zhang, B. et al. (2005) Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS. *Journal of Experimental Medicine*, vol. 202, no. 3, pp. 415–424. DOI: 10.1084/jem.20050828 (In English)
- Hadziefendic, S., Haxhiu, M. A. (1999) CNS innervation of vagal preganglionic neurons controlling peripheral airways: A transneuronal labeling study using pseudorabies virus. *Journal of Autonomic Nerve System*, vol. 76, no. 2-3, pp. 135–145. DOI: 10.1016/s0165-1838(99)00020-x (In English)

- Hamming, I., Timens, W., Bulthuis, M. L. et al. (2004) Tissue distribution of ACE₂ protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *Journal of Pathology*, vol. 203, no. 2, pp. 631–637. DOI: 10.1002/path.1570 (In English)
- Harmer, D., Gilbert, M., Borman, R., Clark, K. L. (2002) Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme. *FEBS Letters*, vol. 532, no. 1-2, pp. 107–110. DOI: 10.1016/S0014-5793(02)03640-2 (In English)
- Huang, C., Wang, Y., Li, X. et al. (2020) Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, vol. 395, no. 10223, pp. 497–506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5 (In English)
- Imai, Y., Kuba, K., Rao, S. et al. (2005) Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature*, vol. 436, no. 7047, pp. 112–116. DOI: 10.1038/nature03712 (In English)
- Kalia, M., Mesulam, M. M. (1980) Brain stem projections of sensory and motor components of the vagus complex in the cat: II. Laryngeal, tracheobronchial, pulmonary, cardiac, and gastrointestinal branches. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 193, no. 2, pp. 467–508. DOI: 10.1002/cne.901930211 (In English)
- Khan, S., Ali, A., Siddique, R., Nabi, G. (2020) Novel coronavirus is putting the whole world on alert. *Journal of Hospital Infection*, vol. 104, no. 3, pp. 252–253. DOI: 10.1016/j.jhin.2020.01.019 (In English)
- Komorowski, M., Aberegg, S. K. (2020) Using applied lung physiology to understand COVID-19 patterns. *British Journal of Anaesthesia*, vol. 125, no. 3, pp. 250–253. DOI: 10.1016/j.bja.2020.05.019 (In English)
- Kuba, K., Imai, Y., Rao, S. et al. (2005) A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nature Medicine*, vol. 11, no. 8, pp. 875–879. DOI: 10.1038/nm1267 (In English)
- Lechien, J. R., Chiesa-Estomba, C. M., De Siati, D. R. et al. (2020) Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): A multicenter European study. *European Archive of Oto-Rhino-Laryngology*, vol. 277, no. 8, pp. 2251–2261. DOI: 10.1007/s00405-020-05965-1 (In English)
- Leonard, E. M., Salman, S., Nurse, C. (2018) Sensory processing and integration at the carotid body tripartite synapse: Neurotransmitter functions and effects of chronic hypoxia. *Frontiers in Physiology*, vol. 9, article 225. DOI: 10.3389/fphys.2018.00225 (In English)
- Li, Y. C., Bai, W. Z., Hashikawa, T. (2020) The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. *Journal of Medical Virology*, vol. 92, no. 6, pp. 552–555. DOI: 10.1002/jmv.25728 (In English)
- Li, Y. C., Bai, W. Z., Hirano, N. et al. (2012) Coronavirus infection of rat dorsal root ganglia: Ultrastructural characterization of viral replication, transfer, and the early response of satellite cells. *Virus Research*, vol. 163, no. 2, pp. 628–635. DOI: 10.1016/j.virusres.2011.12.021 (In English)
- Li, Y. C., Bai, W. Z., Hirano, N. et al. (2013) Neurotropic virus tracing suggests a membranous-coating-mediated mechanism for transsynaptic communication. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 521, no. 1, pp. 203–212. DOI: 10.1002/cne.23171 (In English)
- Manganelli, F., Vargas, M., Iovino, F. et al. (2020) Brainstem involvement and respiratory failure in COVID-19. *Neurological Sciences*, vol. 41, no. 6, pp. 1663–1665. DOI: 10.1007/s10072-020-04487-2 (In English)
- Matsuda, K., Park, C. H., Sunden, Y. et al. (2004) The vagus nerve is one route of transneuronal invasion for intranasally inoculated influenza A virus in mice. *Veterinary Pathology*, vol. 41, no. 2, pp. 101–107. DOI: 10.1354/vp.41-2-101 (In English)
- Millan-Oñate, J., Millan, W., Mendoza, L. A. et al. (2020) Successful recovery of COVID-19 pneumonia in a patient from Colombia after receiving chloroquine and clarithromycin. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, vol. 19, no. 1, article 16. DOI: 10.1186/s12941-020-00358-y (In English)
- Paniz-Mondolfi, A., Clare Bryce, Z., Grimes, R. E. (2020) Central nervous system involvement by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2). *Journal of Medical Virology*, vol. 92, no. 7, pp. 699–702. DOI: 10.1002/jmv.25915 (In English)
- Román, G. C., Spencer, P. S., Reis, J. et al. (2020) The neurology of COVID-19 revisited: A proposal from the Environmental Neurology Specialty Group of the World Federation of Neurology to implement international neurological registries. *Journal of the Neurological Sciences*, vol. 414, article 116884. DOI: 10.1016/j.jns.2020.116884 (In English)
- Smith, J. C., Ellenberger, H. H., Ballanyi, K. et al. (1991) Pre-Bötzinger complex: A brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science*, vol. 254, no. 5032, pp. 726–729. DOI: 10.1126/science.1683005 (In English)
- Sommerstein, R., Kochen, M. M., Messerli, F. H., Gräni, Ch. (2020) Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Do angiotensin-converting enzyme inhibitors/angiotensin receptor blockers have a biphasic effect? *Journal of the American Heart Association*, vol. 9, no. 7, article e016509. DOI: 10.1161/JAHA.120.016509 (In English)
- Tay, M. Z., Poh, C. M., Renia, L. et al. (2020) The trinity of COVID-19: Immunity, inflammation and intervention. *Nature Reviews Immunology*, vol. 20, no. 6, pp. 363–374. DOI: 10.1038/s41577-020-0311-8 (In English)
- Wong, J. P., Viswanathan, S., Wang, M. et al. (2017) Current and future developments in the treatment of virus-induced hypercytokinemia. *Future Medicinal Chemistry*, vol. 9, no. 2, pp. 169–178. DOI: 10.4155/fmc-2016-0181 (In English)

- Wu, Y., Xu, X., Chen, Z. et al (2020) Nervous system involvement after infection with COVID-19 and other coronaviruses. *Brain, Behavior, and Immunity*, vol. 87, pp. 18–22. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.03.031 (In English)
- Xu, J., Zhong, S., Liu, J. et al. (2005) Detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus in the brain: Potential role of the chemokine mig in pathogenesis. *Clinical Infectious Diseases*, vol. 41, no. 8, pp. 1089–1096. DOI: 10.1086/444461 (In English)
- Yang, G., Tan, Z., Zhou, L. et al. (2020) Effects of angiotensin II receptor blockers and ace (angiotensin-converting enzyme) inhibitors on virus infection, inflammatory status, and clinical outcomes in patients with COVID-19 and hypertension: A single-center retrospective study. *Hypertension*, vol. 76, no. 1, pp. 51–58. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15143 (In English)
- Yu, F., Du, L., Ojcius, D. M. et al. (2020) Measures for diagnosing and treating infections by a novel coronavirus responsible for a pneumonia outbreak originating in Wuhan, China. *Microbes and Infection*, vol. 22, no. 2, pp. 74–79. DOI: 10.1016/j.micinf.2020.01.003 (In English)

Физиологический континуум пластичности и патологии нервной системы

Н. В. Гуляева^{✉1, 2}

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

² Научно-практический психоневрологический центр имени З. П. Соловьева
Департамента здравоохранения города Москвы, 115419, Россия, г. Москва, ул. Донская, д. 43

Сведения об авторе

Гуляева Наталия Валерьевна,
SPIN-код: 4807-1036,
Scopus AuthorID: 35571299800,
ResearcherID: R-7959-2016,
ORCID: 0000-0002-5380-7954,
e-mail: nata_gul@ihna.ru

Для цитирования:

Гуляева, Н. В.
(2020) Физиологический
континуум пластичности
и патологии нервной системы.
Интегративная физиология,
т. 1, № 4, с. 294–302.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-
4-294-302

Получена 23 сентября 2020;
прошла рецензирование
20 октября 2020;
принята 28 октября 2020.

Финансирование:

Работа выполнена
при финансовой поддержке
РФФИ в рамках научного проекта
№ 19-015-00258.

Права: © Автор (2020).

Опубликовано Российским
государственным педагогическим
университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях
лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. В статье рассматривается концепция о континууме нейропластичности и нейропатологии с точки зрения интегративной физиологии. Общность и плеiotропность механизмов на молекулярном, синаптическом, клеточном и сетевом уровне ассоциирована с высокой адаптивной пластичностью отделов мозга (например, гиппокампа), ответственных за его интегративную функцию, в т. ч. обучение и память. Однако ценой высокой пластичности является селективная чувствительность этих структур к развитию патологических процессов. При этом, в зависимости от конкретной патологии, нейропластичность может снижаться (в результате гибели нейронов и снижения нейрогенеза, например, при нейродегенеративных заболеваниях) или повышаться (абerrантная пластичность при эпилептогенезе). Наряду с фундаментальным значением представления о континууме нейропластичности для понимания процессов, происходящих в мозге в норме и при патологии, концепция о континууме принципиально важна и с практической точки зрения, поскольку позволяет оценивать целесообразность вмешательства в конкретный процесс, вовлеченный как в патогенез заболевания мозга, так и в реализацию нормальной адаптивной пластичности.

Ключевые слова: интегративная физиология, мозг, нейропластичность, гиппокамп, молекулярные механизмы, патология.

Physiological continuum of plasticity and pathology of the nervous system

N. V. Gulyaeva ^{1, 2}

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

² Research and Clinical Center for Neuropsychiatry of Moscow Healthcare Department, 43 Donskaya Str., Moscow 115419, Russia

Author

Natalia V. Gulyaeva,
SPIN: 4807-1036,
Scopus AuthorID: 35571299800,
ResearcherID: R-7959-2016,
ORCID: 0000-0002-5380-7954,
e-mail: nata_gul@ihna.ru

For citation:

Gulyaeva, N. V.
(2020) Physiological continuum of plasticity and pathology of the nervous system. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 4, pp. 294–302. DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-294-302

Received 23 September 2020;
reviewed 20 October 2020;
accepted 28 October 2020.

Funding: The paper was supported by the Russian Foundation for Basic Research, Project No 19-015-00258.

Copyright: © The Author (2020).
Published by Herzen State Pedagogical University of Russia.
Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The paper explores the concept of neuroplasticity and neuropathology continuum from the perspective of integrative physiology. The commonality and pleiotropicity of the mechanisms at molecular, synaptic, cellular, and network levels is associated with high adaptive plasticity of brain regions involved in its integrative function, including learning and memory (e. g., the hippocampus). However, the price of high plasticity is the selective vulnerability of these structures to pathology. Depending on the pathology, neuroplasticity can decrease (as a result of neuronal death and neurogenesis decline, e.g. in neurodegenerative diseases) or increase (aberrant plasticity during epileptogenesis). Along with its fundamental significance for understanding processes in normal and pathological brain, the concept of neuroplasticity continuum is practically important since it allows to assess the rationale for interfering in a specific process involved in brain disease pathogenesis as well as its normal, adaptive plasticity.

Keywords: integrative physiology, brain, neuroplasticity, hippocampus, molecular mechanisms, pathology.

*Жизнь выше любой удачи в познании ремесла,
Поскольку она богаче названия и числа.
Жизнь выше паскудной страсти ее загонять в строк,
Как целое больше части, кипящей в своем соку.*
Д. Л. Быков. Блаженство (2014)

Введение.

Физиология как интегративная наука

Физиология представляет собой синтетическую область знаний, предметом которой является установление общих закономерностей функционирования и регуляции биологических систем разного уровня организации. Общебиологический и потенциально синтетический характер физиологии как фундаментального инструмента познания природы прослеживается и в ее названии (от греч. φύσις — природа и λόγος — знание, учение). Физиология включает в себя комплекс взаимосвязанных естественнонаучных дисциплин, которые, по сути, отражают все уровни и объекты исследования живого (жизнедеятельность целостного орга-

низма, функционирование отдельных систем и процессов, органов, клеток, клеточных структур, их развитие и взаимодействие с внешней средой). Используя для объяснения методы и понятия не только биологии, но и небиелогических дисциплин (физики, химии, математики, философии), физиология сама становится основой для других наук. Так, поскольку понимание закономерностей протекания физиологических процессов позволяет прогнозировать их изменения в различных условиях жизнедеятельности, появляется возможность при необходимости влиять на эти процессы, что делает физиологию базисом и философской платформой для общей биологии, медицины, ветеринарии, а также психологии, в условиях интеграции специализированных биологических дисциплин. При этом оценка изменения физиологических функций в различных ситуациях вызывает необходимость определения понятий нормы, отклонения от нормы и патологии. Иными словами, физиология является наукой

о закономерностях, пределах нормы жизненных процессов и болезненных отклонениях от нее.

Норма и патология как крайние точки единого континуума

В романе М. А. Степновой «Безбожный переулок» (2014) приводятся слова, сказанные когда-то Ипполитом Васильевичем Давыдовским (или приписываемые ему): «*Запомните, коллеги. Нет патологической физиологии. Есть патологические физиологи*»¹. Этой остроумной фразой выдающийся ученый выражал недоумение в связи с искусственным разделением единой физиологии на нормальную и патологическую. Действительно, развитие науки приводит к накоплению новых данных на всех уровнях организации живого, которые подтверждают неправомерность такого разделения единой, по сути, дисциплины, и при этом определение нормы зачастую оказывается едва ли не наиболее сложным вопросом. К сожалению, определения понятий биологической нормы, а также патологического состояния во многом остаются умозрительными и не применимыми универсально ко многим конкретным ситуациям. Подтверждением этому является, например, развитие концепции стресса и адаптации. Основоположник адаптологии в Советском Союзе, Ф. З. Меерсон, известный кардиолог и патофизиолог, пояснял свою концепцию адаптации в первую очередь на ярких примерах из наиболее близкой ему области (Меерсон 1973; 1981). В частности, гипертрофию левого желудочка, наблюдаемую как у больных гипертонической болезнью, так и у некоторых спортсменов, он объяснял компенсаторной физиологической долговременной адаптацией к соответствующим нагрузкам, но подразумевал, что на определенном этапе она уже не является нормой, хотя еще не является патологией. Отрицая (по нашему мнению, справедливо) используемый некоторыми учеными термин «патологическая адаптация», Ф. З. Меерсон ввел весьма полезное понятие «адаптация с высокой структурной ценой», подчеркивая структурный износ органа как цену за возможность необходимой для выживания адаптации (Меерсон 1986; Meerson et al. 1996). Несколько позже, не ссылаясь на концепцию Ф. З. Меерсона (видимо, в связи с недоступностью статей в советских журналах), Б. МакИвен сформулировал понятие аллостаза, используя сходную логику (McEwen, Stellar 1993;

McEwen 1998). Таким образом, очевидные примеры разнообразных адаптивных изменений на всех уровнях живого организма свидетельствуют о том, что физиологические состояния представляют собой континуум, в рамках которого, кроме весьма условных полюсов «нормы» и «патологии», реализуются состояния, которые ни к одному из вышеуказанных однозначно отнести нельзя. Это показывает, что от противопоставления предметов нормальной и патологической физиологии в парадигме «доктор Джекил/мистер Хайд» целесообразно перейти к анализу континуума «норма — патология». Неудивительно, что именно в тематиках, которые исследованы наиболее глубоко, можно видеть наличие такого континуума состояний. Чем менее исследован процесс, тем более простым и однонаправленным он представляется до того момента, как достигается критический объем объективных данных и появляется возможность увидеть множественность состояний. Норма и патология — крайние точки, между которыми не существует четкой границы, но имеется континуум состояний, который целесообразно рассматривать в рамках идеологии интегративной физиологии.

Континуум и общность механизмов нейропластичности и нейропатологии

Все вышесказанное особенно важно для исследования мозга. Существующая в рамках синтетической физиологии нейрофизиология посвящена исследованию нервной системы, а тесно связанная с нейрофизиологией физиология высшей нервной деятельности изучает высшие психические функции с использованием физиологических подходов. Одним из краеугольных понятий «нейробиологической» области физиологии является понятие пластичности, подразумевающее способность нервной системы к структурно-функциональной адаптации в условиях изменений среды (как внешней, так и внутренней среды организма), например к компенсаторным процессам при повреждении, а также к развитию и созреванию мозга при приобретении опыта. Принято считать, что нарушения нейропластичности ассоциированы с патологиями мозга (Mattson, Duan 1999). Необходимое для анализа клинических и экспериментальных данных разделение адаптивных изменений пластичности на структурную и функциональную адаптацию (Cohen et al. 2017) тем не менее представляется достаточно формальным по сути. Несомненно, в основе реализации любой функции заложена определенная

¹ Степнова, М. А. (2014) *Безбожный переулок*. М.: АСТ: Редакция Елены Шубиной, 384 с.

структура, однако не всегда структурные изменения очевидны и показаны. Например, если структурные изменения локализованы на уровне клеток, исследования, не предполагающие анализ на микроуровне, зачастую трактуют произошедшие пластические изменения как сугубо функциональные.

Определяя пластичность нервной системы (нейропластичность) как способность нервной системы изменять функционирование, обычно в ответ на внешний или внутренний стимул, П. А. Шварцкройн (Schwartzkroin 2001) подчеркивает в своем определении, что такие преобразования вызывают необходимость поведенческих изменений. При этом патологические состояния не обязательно ведут к снижению пластичности. При нейродегенеративных заболеваниях, связанных с дисфункцией и гибелью нейронов и, как правило, с параллельным подавлением нейрогенеза (болезнь Альцгеймера, другие типы деменции, болезнь Паркинсона), пластичность мозга действительно существенно снижается на разных уровнях (Mattson 1998). Однако эпилептогенез является прямым следствием усиленной, хотя и aberrантной пластичности (в т. ч. синаптического прунинга и спрутинга аксонов). Возникающая вследствие этого судорожная активность приводит к гибели нейронов и активации глии, которые, в свою очередь, стимулируют изменения структуры и функции нейронов, в том числе реорганизацию, которая направлена на компенсацию повреждения (Гуляева 2015; 2016; 2017). Традиционные представления о гибели нейронов при эпилептогенезе базировались на том, что потеря синаптического входа из гибнущего нейрона является критическим сигналом для индукции аксонального спрутинга и реорганизации синаптических сетей. Однако наиболее перспективной представляется гипотеза о том, что именно биохимические механизмы, вызывающие запрограммированную нейродегенерацию, а не сама по себе гибель нейронов, вызывают эпилептогенез (Cohen et al. 2017). Репрограммирование путей гибели нейронов (некроза, апоптоза, некроптоза, аутофагии, фагоцитоза, пироптоза) вносит существенный вклад в реализацию aberrантной пластичности, лежащей в основе эпилептогенеза (Dingledine et al. 2014). Ранее мы подробно проанализировали механизмы пластичности, которые лежат в основе перехода от эпилептогенеза (aberrантная суперпластичность) к резко ограниченной пластичности в период сформированной эпилепсии височной доли, сопровождающейся нейродегенерацией и склерозом гиппокампа (Гуляева 2017). Пла-

стичность и связанные с ней изменения возбудимости являются феноменами, демонстрирующими тесное переплетение пластичности и патологии (изменения пластичности вызывают патологические события и наоборот), и одним из рациональных объяснений этого является тот факт, что в основе пластичности и патологии лежат общие механизмы.

Ранее мы на основании результатов собственных исследований и данных литературы представили и обосновали концепцию об общности основных молекулярных механизмов нейропластичности и нейропатологии на разных уровнях (Балабан, Гуляева 2006). Основным триггером для нашей концепции послужили работы Дж. МакИхерна и К. Шоу (McEachern, Shaw 1996; 1999) о модели континуума «пластичность — патология» на основании данных, полученных в основном при исследовании длительной потенциации в гиппокампе. Очевидно, что в основе модификаций синаптической пластичности в ответ на физиологические или патологические стимулы лежат молекулярные изменения (Mattson 1998, Gulyaeva 2017). Принципиальным методологическим подходом является четкое представление о дуализме (т. е. способности как работать в норме, так и обуславливать патологию), а еще точнее, **плейотропности** базовых молекулярных механизмов, необходимых для нормального функционирования нейрона или принимающих участие в его повреждении и гибели. Основные молекулярные механизмы плейотропны в том смысле, что они опосредуют как нормальные функции нейрона, так и развитие патологических процессов (функциональные изменения, повреждение, гибель нейрона). Например, анализ данных литературы и результаты серии собственных исследований привели нас к выводу о том, что «апоптотические» каспазы в нервной системе взрослых млекопитающих выполняют функции, связанные с реализацией феноменов нейропластичности и не связанные с апоптозом и патологией (Gulyaeva 2003; Kudryashov et al. 2004; Kudryashova et al. 2009; Stepanichev et al. 2005; Yakovlev, Gulyaeva 2011). Таким образом, протеаза, позиционированная сотнями авторов как «палач клетки» на основании ее участия в апоптотической гибели нейронов, необходима в первую очередь для реализации нормальной пластичности, включая развитие мозга, обучение и память.

Достижения функциональной нейробиологии и молекулярной биологии убедительно свидетельствуют об общности основных молекулярных механизмов нейропластичности и нейропатологии (Балабан, Гуляева 2006). Иногда

проведение сигналов о выживании, изменении функционирования или гибели клетки реализуется по общему пути, а дивергенция происходит лишь в конце нейрохимического каскада. В других случаях один и тот же фактор может запускать разные механизмы сигналинга. Концепция об общности молекулярных механизмов нейропластичности и нейропатологии логично укладывается в представление о том, что в организме, как правило, **не заложено специальных механизмов**, реализующих патологию. Видимо, патологические изменения развиваются в результате нарушения «нормальных» механизмов, а изменения, как правило, заключаются в том, что функционирующие в норме механизмы реализуются с иным субстратом (про плейотропные ферменты упомянем ниже), в иной степени, в иной период, в иных клеточных или внеклеточных компартментах.

Плейотропные ферменты как ключевые компоненты континуума «нейропластичность/патология»

Во многих случаях переключение «норма — патология» определяется конкретными субстратами ключевых плейотропных (или «полисубстратных») ферментов: протеаз, протеинкиназ, протеинфосфатаз и др. (Gulyaeva 2003; Jaworski et al. 2019). По-видимому, именно в этом и состоит физиологический смысл низкой субстратной специфичности ключевых протеаз и протеинкиназ, который до сих пор не был в должной степени осмыслен теоретически. Нам представляется, что существование континуума функциональных состояний в существенной мере основано на функционировании таких плейотропных ферментов — переключателей путей сигнальной трансдукции за счет использования различных альтернативных субстратов. При этом даже если действующая молекула влияет абсолютно специфично на одну мишень (что само по себе представляется маловероятным), связи и взаимодействия этой мишени обеспечат изменения различных процессов на разных уровнях, вплоть до изменений нескольких, зачастую явно не связанных между собой фенотипических признаков. По сути, это и есть интегративная физиология, парадигма, в которой предусмотрены связи и взаимодействия на всех уровнях, от молекул, клеточных структур и клеток до целого организма.

Наряду с фундаментальным значением такого представления для понимания процессов, происходящих в мозге в норме и при патологии, эта концепция принципиально важна и с прак-

тической точки зрения. Представление о континууме пластичности и плейотропности молекулярных механизмов, необходимых для нормального функционирования нейрона или принимающих участие в его повреждении и гибели, дает в руки исследователя методологию для выявления звена, с которого начинаются патологические процессы. Это звено — потенциальная мишень для разработки научно обоснованных подходов к коррекции конкретных заболеваний (Балабан, Гуляева 2006). Неудачи в разработке «патогенетически направленных» подходов к терапии заболеваний нервной системы (в том числе инсульта, деменции, психических нарушений) связаны, в частности, с игнорированием общности молекулярных механизмов, лежащих в основе как нормального функционирования мозга, так и развития нейропатологии, что приводит к вмешательству именно в эти общие механизмы (блокада NMDA-рецепторов, ингибирование так называемых «апоптотических» протеаз и др.).

Единство и баланс нейропластичности и нейропатологии

Итак, нет сомнений в том, что нормальная нейропластичность и нейропатологии являются полярными точками в едином континууме согласованных и взаимоорганизованных клеточных механизмов, развившихся в результате эволюции и лежащих в основе сложной центральной нервной системы млекопитающих (Schwartzkroin 2001). Нормальная пластичность — сбалансированное состояние, требующее хорошо отрегулированного взаимодействия между механизмами возбуждения и торможения. На примере такого патологического состояния, как судорожная активность, видно, что этот баланс нарушен, несмотря на активно происходящие процессы пластичности. Почему же эволюция создала такую, на первый взгляд, нестабильную систему, дисфункция которой подвергает организм существенному риску? Подробный ответ на этот вопрос предполагает выходящее за рамки данной статьи обсуждение того, на каких принципах создана и как устроена центральная нервная система, главной функцией которой, по сути, и является оптимизация индивидуальной нейропластичности. В результате эволюции отточена нервная система, которая может быстро отвечать на различные внешние события и ситуации, способна обучаться и решать комплексные задачи в ответ на разнообразные вызовы, формировать новое поведение в ответ на изменяющуюся окружающую

щую среду, действуя вместе с другими системами организма, в первую очередь иммунной, и обеспечивать согласованное функционирование всех вовлеченных систем. Такая оптимизация пластических нейронных процессов и способность нейронных сетей к реорганизации имеет свою цену, и эта цена — внутренняя лабильность задействованных процессов. Чем выше потенциал пластичности, тем больше опасность нарушения регуляции процессов в системе, вплоть до ее полного отказа. Центральная нервная система отражает «компромиссный» дизайн, внутри которого есть разные субкомпоненты. Стабильные компоненты этой системы действительно устойчивы, но зато относительно не пластичны (например, основные вегетативные функции), в то время как другие легко модифицируемые компоненты демонстрируют выраженные пластические возможности (Schwartzkroin 2001). Именно к последним относятся «высшие функции мозга» и те области мозга, которые наиболее вовлечены в нормальную пластичность и подвержены наибольшим рискам развития патологии. По сути, это внутреннее единство и противоречие тесной связи между нормальной и патологической пластичностью является предметом не только интегративной физиологии, но и нейрофилософии.

Чувствительность к повреждению как обратная сторона высокой пластичности (на примере гиппокампа)

Ярким примером высокопластичного региона мозга, который ассоциирован как с когнитивной функцией, так и с эмоциями, является гиппокамп. Гиппокамп вовлечен в переработку когнитивной и эмоциональной информации, и эти различные функции топографически распределены вдоль дорсо-вентральной (септо-темпоральной) оси. С определенной степенью упрощения можно сказать, что дорсальный гиппокамп (септальная часть) в основном реализует когнитивную функцию (обучение, память), а вентральный гиппокамп (темпоральная часть) участвует в регуляции эмоций и форм поведения, связанных с тревожностью (Gulyaeva 2015). Гиппокамп является селективно чувствительным к действию стрессорных факторов различной природы и развитию нейровоспаления (Piskunov et al. 2016). Ранее мы обосновали гипотезу о дистантном повреждении гиппокампа как ключевом звене патогенеза когнитивных и психических расстройств в результате фокальных поражений мозга. В соответствии с этой гипотезой избыток кортикостероидов, секретиро-

ванных в кровь после фокального поражения мозга, особенно у индивидов с аномальным стрессорным ответом в связи с дисфункцией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, взаимодействует с кортикостероидными рецепторами гиппокампа и изменяет гиппокампальную пластичность, индуцируя сигнальные пути, стимулирующие нейровоспаление и последующие события, включая нарушения нейрогенеза (Gulyaeva 2019a; 2019b). Эти изменения способны вызывать модификации нейропластичности, как адаптивные, так и по «нейродегенеративному» или «эпилептическому» сценарию.

Анализируя свойства регионов, специализированных к формированию обучения/памяти (т. е. высшей формы пластичности), гиппокампа и неокортекса, Шварцкройн (Schwartzkroin 2001) рассматривает свойства этих областей мозга, которые реализуют как нормальную пластичность, так и эпилептогенность, отмечая их ламинарную организацию, а также рекуррентную аксональную коннективность, затрагивающую сети, как возбуждающие, так и тормозные. Высокая пластичность и склонность к судорожной активности характерны также для развивающейся нервной системы. Клеточные элементы и молекулы, формирующие нормальную пластичность (нейромедиаторы, каналы, рецепторы, вторичные посредники, внутриклеточный кальций, трофические факторы, цитокины и пр.), задействованы в эпилептогенезе, хотя они являются основой для модификаций структуры и функции, связанных как с нормальным, так и с эпилептическим мозгом. И это неудивительно. Поскольку пластичность является основой, ядром функции мозга, в ее формировании участвуют все без исключения многоуровневые процессы, и практически невозможно вычленить специфические для нормальной пластичности механизмы, отличные от задействованных в развитии патологий.

Э. Дж. Коэн и соавторы (Cohen et al. 2017) проанализировали существующие концепции нейропластичности и их значение для понимания ремоделирования нейронных сетей в различных патологических контекстах, предложив концепцию болезней пластичности (concept of plasticity diseases). В статье подробно рассматриваются функциональная пластичность (пластичность по Хеббу, гомеостатическая синаптическая пластичность), структурная пластичность (зависимые от активности формирование и элиминация синапсов, нейрогенез), ремоделирование сетей, клеточная пластичность на уровне возбуждающих нейронов, интерней-

ронов и глии, а также сетевые изменения за счет активации молчащих синапсов и синаптогенеза.

Заключение. Найти точку невозврата

Процессы пластичности на молекулярном, синаптическом, клеточном и сетевом уровнях образуют сложную пирамиду взаимосвязанных как вертикально, так и горизонтально механизмов (Гуляева 2016). Очевидно, что все модели нейропластичности упрощают реальность, поскольку при анализе сложных систем, таких как ЦНС, не удастся обойтись без редуccionистского подхода. По мнению Э. Дж. Коэна и соавторов (2017), анализируя патологические аспекты пластичности, зачастую более разумно рассматривать болезни пластичности *per se*, а не просто дезадаптационные изменения. Такая патология является результатом aberrантных путей и компонентов пластичности. Предложена модель «дезадаптивной пластичности» как

состояния, отличного от болезни пластичности. Преимущество такой интерпретации, по мнению автора, состоит в том, что разработка терапевтических подходов может осуществляться с учетом конкретных механизмов aberrантной пластичности (Cohen et al. 2017). Обсуждая вопрос о континууме пластичности и патологии (Балабан, Гуляева 2006), мы констатировали, что самое главное до сих пор неясно: в какой момент и каким образом общий для нормы и патологии процесс необратимо переключается на реализацию патологии и гибели нейрона. В общем случае и при абсолютном большинстве патологий мозга это остается неясным до сих пор, и ни одна из предложенных разными авторами моделей пока не смогла решить эту проблему. Однако именно выявление такого механизма переключения может дать возможность управлять течением патологических изменений пластичности и даже предотвратить «запрограммированную» дисфункцию и гибель нейронов.

Литература

- Балабан, П. М., Гуляева, Н. В. (2006) Общность молекулярных механизмов нейропластичности и нейропатологии: интегративный подход. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*, т. 92, № 2, с. 145–152.
- Гуляева, Н. В. (2015) Нейропластичность и эпилепсия: современные концепции и механизмы коморбидности эпилепсии и депрессии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*, т. 115, № 12, с. 148–153. DOI: 10.17116/jnevro2015115112148-153
- Гуляева, Н. В. (2016) Пластичность мозга и коннектопатии: механизмы коморбидности неврологических заболеваний и депрессии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*, т. 116, № 11, с. 157–162. DOI: 10.17116/jnevro2016116111157-162
- Гуляева, Н. В. (2017) Стадийность изменений нейропластичности при эпилептогенезе на примере височной эпилепсии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*, т. 117, № 9, с. 10–16. DOI: 10.17116/jnevro20171179210-16
- Меерсон, Ф. З. (1973) *Общий механизм адаптации и профилактики*. М.: Наука, 360 с.
- Меерсон, Ф. З. (1981) *Адаптация, стресс и профилактика*. М.: Наука, 278 с.
- Меерсон, Ф. З. (1986) О «цене» адаптации. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*, № 3, с. 9–19.
- Cohen, E. J., Quarta, E., Bravi, R. et al. (2017) Neural plasticity and network remodeling: From concepts to pathology. *Neuroscience*, vol. 344, pp. 326–345. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2016.12.048
- Dingledine, R., Varvel, N. H., Dudek, F. E. (2014) When and how do seizures kill neurons, and is cell death relevant to epileptogenesis? In: H. Scharfman, P. Buckmaster (eds.). *Issues in clinical epileptology: A view from the bench*. Dordrecht: Springer, pp. 109–122. (Advances in experimental medicine and biology. Vol. 813). DOI: 10.1007/978-94-017-8914-1_9
- Gulyaeva, N. V. (2003) Non-apoptotic functions of caspase-3 in nervous tissue. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 68, no. 11, pp. 1171–1180. DOI: 10.1023/b:biry.0000009130.62944.35
- Gulyaeva, N. V. (2015) Ventral hippocampus, stress and psychopathology: Translational implications. *Neurochemical Journal*, vol. 9, no. 2, pp. 85–94. DOI: 10.1134/S1819712415020075
- Gulyaeva, N. V. (2017) Molecular mechanisms of neuroplasticity: An expanding universe. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 82, no. 3, pp. 237–242. DOI: 10.1134/S0006297917030014
- Gulyaeva, N. V. (2019a) Biochemical mechanisms and translational relevance of hippocampal vulnerability to distant focal brain injury: The price of stress response. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 84, no. 11, pp. 1306–1328. DOI: 10.1134/S0006297919110087
- Gulyaeva, N. V. (2019b) Functional neurochemistry of the ventral and dorsal hippocampus: Stress, depression, dementia and remote hippocampal damage. *Neurochemical Research*, vol. 44, no. 6, pp. 1306–1322. DOI: 10.1007/s11064-018-2662-0
- Jaworski, T., Banach-Kasper, E., Gralac, K. (2019) GSK-3 β at the intersection of neuronal plasticity and neurodegeneration. *Neural Plasticity*, vol. 2019, article 4209475. DOI: 10.1155/2019/4209475

- Kudryashov, I. E., Yakovlev, A. A., Kudryashova, I. V., Gulyaeva, N. V. (2004) Inhibition of caspase-3 blocks long-term potentiation in hippocampal slices. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 34, no. 9, pp. 877–880. DOI: 10.1023/b:neab.0000042571.86110.28
- Kudryashov, I. V., Stepanichev, M. Yu., Gulyaeva, N. V. (2009) Natural activation of caspase-3 is required for the development of operant behavior in postnatal ontogenesis. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 39, no. 1, pp. 65–72. DOI: 10.1007/s11055-008-9097-z
- Mattson, M. P. (1998) Free radicals, calcium, and the synaptic plasticity-cell death continuum: Emerging roles of the transcription factor NF κ B. *International Review of Neurobiology*, vol. 42, pp. 103–168. DOI: 10.1016/s0074-7742(08)60609-1
- Mattson, M. P., Duan, W. (1999) “Apoptotic” biochemical cascades in synaptic compartments: Roles in adaptive plasticity and neurodegenerative disorders. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 58, no. 1, pp. 152–166. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4547(19991001)58:1<152::AID-JNR15>3.0.CO;2-V
- McEachern, J. C., Shaw, C. A. (1996) An alternative to the LTP orthodoxy: A plasticity-pathology continuum model. *Brain Research Reviews*, vol. 22, no. 1, pp. 51–92. DOI: 10.1016/0165-0173(96)00006-9
- McEachern, J. C., Shaw, C. A. (1999) The plasticity-pathology continuum: Defining a role for the LTP phenomenon. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 58, no. 1, pp. 42–61.
- McEwen, B. S. (1998) Stress, adaptation, and disease: Allostasis and allostatic load. *Annals of New York Academy of Sciences*, vol. 840, no. 1, pp. 33–44. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb09546.x
- McEwen, B. S., Stellar, E. (1993) Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. *Archives of Internal Medicine*, vol. 153, no. 18, pp. 2093–2101.
- Meerson, F. Z., Pshennikova, M. G., Malyshev, I. Yu. (1996) Adaptive defense of the organism. Architecture of the structural trace and cross protective effects of adaptation. *Annals of New York Academy of Sciences*, vol. 793, no. 1, pp. 371–385. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1996.tb33529.x
- Piskunov, A., Stepanichev, M., Tishkina, A. et al. (2016) Chronic combined stress induces selective and long-lasting inflammatory response evoked by changes in corticosterone accumulation and signaling in rat hippocampus. *Metabolic Brain Disease*, vol. 31, no. 2, pp. 445–454. DOI: 10.1007/s11011-015-9785-7
- Schwartzkroin, P. A. (2001) Mechanisms of brain plasticity: From normal brain function to pathology. *International Review of Neurobiology*, vol. 45, no. 1, pp. 1–15. DOI: 10.1016/s0074-7742(01)45004-5
- Stepanichev, M. Yu., Kudryashova, I. V., Yakovlev, A. A. et al. (2005) Central administration of a caspase inhibitor impairs shuttle-box performance in rats. *Neuroscience*, vol. 136, no. 2, pp. 579–591. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2005.08.010
- Yakovlev, A. A., Gulyaeva, N. V. (2011) Pleiotropic functions of brain proteinases: Methodological considerations and search for caspase substrates. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 76, no. 10, article 1079. DOI: 10.1134/S0006297911100014

References

- Balaban, P. M., Gulyaeva, N. V. (2006) Obschchnost' molekulyarnykh mekhanizmov neiroplastichnosti i neiropatologii: integrativnyi podkhod [Commonality of molecular mechanisms of neuroplasticity and neuropathology: Integrative approach]. *Rossiyskiy Fiziologicheskij Zhurnal imeni I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 92, no. 2, pp. 145–152. (In Russian).
- Cohen, E. J., Quarta, E., Bravi, R. et al. (2017) Neural plasticity and network remodeling: From concepts to pathology. *Neuroscience*, vol. 344, pp. 326–345. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2016.12.048 (In English)
- Dingledine, R., Varvel, N. H., Dudek, F. E. (2014) When and how do seizures kill neurons, and is cell death relevant to epileptogenesis? In: H. Scharfman, P. Buckmaster (eds.). *Issues in clinical epileptology: A view from the bench*. Dordrecht: Springer, pp. 109–122. (Advances in experimental medicine and biology. Vol. 813). DOI: 10.1007/978-94-017-8914-1_9 (In English)
- Gulyaeva, N. V. (2003) Non-apoptotic functions of caspase-3 in nervous tissue. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 68, no. 11, pp. 1171–1180. DOI: 10.1023/b:biry.0000009130.62944.35 (In English)
- Gulyaeva, N. V. (2015) Ventral hippocampus, stress and psychopathology: Translational implications. *Neurochemical Journal*, vol. 9, no. 2, pp. 85–94. DOI: 10.1134/S1819712415020075 (In English)
- Gulyaeva, N. V. (2015) Neiroplastichnost' i epilepsiya: sovremennyye kontseptsii i mekhanizmy komorbidnosti epilepsii i depressii [Neuronal plasticity and epilepsy: Modern concepts and mechanisms of epilepsy and depression comorbidity]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S. S. Korsakova — S. S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, vol. 115, no. 12, pp. 148–153. DOI: 10.17116/jnevro2015115112148-153 (In Russian)
- Gulyaeva, N. V. (2016) Plastichnost' mozga i konnektopatii: mekhanizmy komorbidnosti nevrologicheskikh zabozevanij i depressii [Cerebral plasticity and connectopathies: Mechanisms of comorbidity of neurological diseases and depression]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S. S. Korsakova — S. S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, vol. 116, no. 11, pp. 157–162. DOI: 10.17116/jnevro2016116111157-162 (In Russian)
- Gulyaeva, N. V. (2017) Molecular mechanisms of neuroplasticity: An expanding universe. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 82, no. 3, pp. 237–242. DOI: 10.1134/S0006297917030014 (In English)

- Gulyaeva, N. V. (2017) Stadijnost' izmenenij neiroplastichnosti pri epileptogeneze na primere visochnoj epilepsii [Staging of neuroplasticity alterations during epileptogenesis (temporal lobe epilepsy as an example)]. *Zhurnal neurologii i psikiatrii imeni S. S. Korsakova — S. S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, vol. 117, no. 9, pp. 10–16. DOI: 10.17116/jneuro20171179210-16 (In Russian)
- Gulyaeva, N. V. (2019a) Biochemical mechanisms and translational relevance of hippocampal vulnerability to distant focal brain injury: The price of stress response. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 84, no. 11, pp. 1306–1328. DOI: 10.1134/S0006297919110087 (In English)
- Gulyaeva, N. V. (2019b) Functional neurochemistry of the ventral and dorsal hippocampus: Stress, depression, dementia and remote hippocampal damage. *Neurochemical Research*, vol. 44, no. 6, pp. 1306–1322. DOI: 10.1007/s11064-018-2662-0 (In English)
- Jaworski, T., Banach-Kasper, E., Gralec, K. (2019) GSK-3 β at the intersection of neuronal plasticity and neurodegeneration. *Neural Plasticity*, vol. 2019, article 4209475. DOI: 10.1155/2019/4209475 (In English)
- Kudryashov, I. E., Yakovlev, A. A., Kudryashova, I. V., Gulyaeva, N. V. (2004) Inhibition of caspase-3 blocks long-term potentiation in hippocampal slices. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 34, no. 9, pp. 877–880. DOI: 10.1023/b:neab.0000042571.86110.28 (In English)
- Kudryashova, I. V., Stepanichev, M. Yu., Gulyaeva, N. V. (2009) Natural activation of caspase-3 is required for the development of operant behavior in postnatal ontogenesis. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 39, no. 1, pp. 65–72. DOI: 10.1007/s11055-008-9097-z (In English)
- Mattson, M. P. (1998) Free radicals, calcium, and the synaptic plasticity-cell death continuum: Emerging roles of the transcription factor NF κ B. *International Review of Neurobiology*, vol. 42, pp. 103–168. DOI: 10.1016/s0074-7742(08)60609-1 (In English)
- Mattson, M. P., Duan, W. (1999) “Apoptotic” biochemical cascades in synaptic compartments: Roles in adaptive plasticity and neurodegenerative disorders. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 58, no. 1, pp. 152–166. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4547(19991001)58:1<152::AID-JNR15>3.0.CO;2-V (In English)
- McEachern, J. C., Shaw, C. A. (1996) An alternative to the LTP orthodoxy: A plasticity-pathology continuum model. *Brain Research Reviews*, vol. 22, no. 1, pp. 51–92. DOI: 10.1016/0165-0173(96)00006-9 (In English)
- McEachern, J. C., Shaw, C. A. (1999) The plasticity-pathology continuum: Defining a role for the LTP phenomenon. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 58, no. 1, pp. 42–61. (In English)
- McEwen, B. S. (1998) Stress, adaptation, and disease: Allostasis and allostatic load. *Annals of New York Academy of Sciences*, vol. 840, no. 1, pp. 33–44. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb09546.x (In English)
- McEwen, B. S., Stellar, E. (1993) Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. *Archives of Internal Medicine*, vol. 153, no. 18, pp. 2093–2101. (In English)
- Meerson, F. Z. (1973) *Obshchii mekhanizm adaptatsii i profilaktiki [The general mechanism of adaptation and prophylaxis]*. Moscow: Nauka Publ., 360 p. (In Russian)
- Meerson, F. Z. (1981) *Adaptatsiya, stress i profilaktika [Adaptation, stress, and prophylaxis]*. Moscow: Nauka Publ., 278 p. (In Russian)
- Meerson, F. Z. (1986) O “tsene” adaptatsii [The “cost” of adaptation]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya — Pathological Physiology and Experimental Therapy*, no. 3, pp. 9–19. (In Russian)
- Meerson, F. Z., Pshennikova, M. G., Malyshev, I. Yu. (1996) Adaptive defense of the organism. Architecture of the structural trace and cross protective effects of adaptation. *Annals of New York Academy of Sciences*, vol. 793, no. 1, pp. 371–385. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1996.tb33529.x (In English)
- Piskunov, A., Stepanichev, M., Tishkina, A. et al. (2016) Chronic combined stress induces selective and long-lasting inflammatory response evoked by changes in corticosterone accumulation and signaling in rat hippocampus. *Metabolic Brain Disease*, vol. 31, no. 2, pp. 445–454. DOI: 10.1007/s11011-015-9785-7 (In English)
- Schwartzkroin, P. A. (2001) Mechanisms of brain plasticity: From normal brain function to pathology. *International Review of Neurobiology*, vol. 45, no. 1, pp. 1–15. DOI: 10.1016/s0074-7742(01)45004-5 (In English)
- Stepanichev, M. Yu., Kudryashova, I. V., Yakovlev, A. A. et al. (2005) Central administration of a caspase inhibitor impairs shuttle-box performance in rats. *Neuroscience*, vol. 136, no. 2, pp. 579–591. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2005.08.010 (In English)
- Yakovlev, A. A., Gulyaeva, N. V. (2011) Pleiotropic functions of brain proteinases: Methodological considerations and search for caspase substrates. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 76, no. 10, article 1079. DOI: 10.1134/S0006297911100014 (In English)

УДК 612.062+612.015

DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-303-316

Глипролины — регуляторные пептиды с интегративным действием

С. Е. Жуйкова✉¹

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

Сведения об авторе

Светлана Евгеньевна Жуйкова,
SPIN-код: 6982-1601,
Scopus AuthorID: 6602912010,
ResearcherID: AAX-7459-2020,
ORCID: 0000-0002-6095-0214,
e-mail: sveta-zh2005@yandex.ru

Для цитирования:

Жуйкова, С. Е.
(2020) Глипролины —
регуляторные пептиды
с интегративным действием.
Интегративная физиология,
т. 1, № 4, с. 303–316.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-
4-303-316

Получена 23 сентября 2020;
прошла рецензирование
7 октября 2020; принята
28 октября 2020.

Права: © Автор (2020).

Опубликовано Российским
государственным педагогическим
университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях
лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Глипролины (короткие пролин и глицин, содержащие пептиды) — новый тип регуляторных пептидов, представляющий интерес как с точки зрения фундаментальной физиологии, так и для их использования в медицинских целях. Основное преимущество глипролинов — их относительная устойчивость к биодеградации и интегративность воздействия на организм. Первоначально последовательность аминокислот Pro-Gly-Pro (PGP) была использована для повышения устойчивости такого нестабильного *in vivo* пептида, как адренокортикотропный гормон. Изучение собственных свойств PGP, а также его возможных метаболитов — GP и PG, показало, что все три пептида обладают широким спектром физиологических эффектов. В настоящее время биологическая активность показана также для N-ацетилизованного PGP, циклического пролил-гидроксипролина, циклопролилглицина, ди-, три- и тетрапептидов, содержащих пролин и глицин с дополнительным включением аргинина или лейцина в различных положениях, N-концевого фрагмента инсулиноподобного фактора роста-1 — Gly-Pro-Glu. Полученные данные позволили выделить короткие пролин- и глицинсодержащие пептиды в отдельный класс регуляторных пептидов — глипролины. Были обнаружены эндогенные PGP и циклопролилглицин. Их наиболее вероятными источниками в организме считаются коллаген и инсулиноподобный фактор роста-1. Глипролины обладают нейропротекторным эффектом, защищают слизистую оболочку желудка от повреждений, регулируют процессы воспаления и регенерации, положительно влияют на гемостаз, проявляют гиполипидемическое и нормогликемическое действие. В статье обсуждаются физиологические эффекты глипролинов, их возможные эндогенные и экзогенные источники, механизмы действия и перспективы использования в медицине.

Ключевые слова: глипролины, воспаление, регенерация, гастропротекторное действие, нейропротекторное действие, гиполипидемическое действие, нормогликемическое действие.

Glyprolines: Regulatory peptides with an integrative action

S. E. Zhuikova✉¹

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

Author

Svetlana E. Zhuikova,
SPIN: 6982-1601,
Scopus AuthorID: 6602912010,
ResearcherID: AAX-7459-2020,
ORCID: 0000-0002-6095-0214,
e-mail: sveta-zh2005@yandex.ru

For citation:

Zhuikova, S. E.
(2020) Glyprolines: Regulatory peptides with an integrative action. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 4, pp. 303–316.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-303-316

Received 23 September 2020;
reviewed 7 October 2020;
accepted 28 October 2020.

Copyright: © The Author (2020).
Published by Herzen State
Pedagogical University of Russia.
Open access under CC BY-NC
License 4.0.

Abstract. Glyprolines (short proline and glycine containing peptides) are a new type of regulatory peptides. They are of interest to both fundamental physiology and medicine (possible use for medical purposes). The main advantages of glyprolines are their relative resistance to biodegradation and the integrative effect on human body. Initially, the amino acid sequence Pro-Gly-Pro (PGP) was used to increase the stability of an *in vivo* unstable peptide such as adrenocorticotrophic hormone. The study of the intrinsic properties of PGP, as well as its possible metabolites — GP and PG — showed that all the three peptides have a wide range of physiological effects. Recently, biological activity has also been demonstrated for N-acetylated PGP, cyclic prolyl-hydroxyproline, cycloprolylglycine, di-, tri- and tetrapeptides containing proline and glycine with additional inclusion of arginine or leucine in various positions, as well as for the N-terminal fragment of the insulin-like growth factor-1 — Gly-Pro-Glu. The obtained data allowed classifying short proline and glycine containing peptides into a separate class of regulatory peptides — glyprolines. Endogenous PGP and cycloprolylglycine have been found. Collagen and insulin-like growth factor-1, respectively, are considered the most likely sources of these peptides in human body. Glyprolines have a neuroprotective effect, protect the gastric mucosa from damage, regulate inflammation and regeneration processes, have a positive effect on hemostasis, and exhibit hypolipidemic and normoglycemic effects. The article discusses the physiological effects of glyprolines, their possible endogenous and exogenous sources, mechanisms of action, and prospects for use in medicine.

Keywords: glyprolines, inflammation, regeneration, gastroprotective effect, neuroprotective effect, hypolipidemic effect, normoglycemic effect.

Введение

В мире ежегодно проводится большое число исследований физиологической активности различных эндогенных и искусственно синтезированных пептидов. Особое внимание к регуляторным пептидам (РП) вызвано в первую очередь их интегративным воздействием на организм. Показано, что биологическая активность РП связана с регуляцией практически всех физиологических функций. Почти каждый РП участвует в контроле от 3 до 20 биохимических и физиологических процессов, модулирует активность от 3 до 5 других РП, входит в одну или несколько каскадных цепей индукционных воздействий (Хавинсон 2020; Koroleva, Ashmarin 2002; Sikiric et al. 2016). Для некоторых олигопептидов методом молекулярного моделирования показана способность взаимодействовать с гистонами, что, возможно, изменяет доступность генов для транскрипции (Кузник и др. 2019).

Применение пептидных препаратов в медицине обычно ограничивается их быстрой био-

деградацией в организме. В связи с этим перед исследователями всегда остро стоит вопрос повышения их стабильности. При решении этого вопроса разработчики одного из ноотропных пептидных препаратов приняли во внимание знание о том, что многие экзо- и эндопептидазы не расщепляют последовательности, обогащенные пролиновыми остатками. Для повышения устойчивости такого нестабильного *in vivo* пептида, как адреноркотропный гормон (АКТГ), к С-концу его фрагмента АКТГ₄₋₇ (Met-Glu-His-Phe, МЕНФ) была присоединена последовательность аминокислот Pro-Gly-Pro (PGP). Наличие этой последовательности существенно увеличило время жизни пептида в организме и позволило оптимально решить проблему реализации его терапевтического потенциала, что привело к созданию лекарственного препарата, получившего название «Семакс» (МЕНФРР) (Ашмарин и др. 1997).

Всестороннее изучение действия семакса включало в себя также исследование биологических эффектов его возможных метаболитов, образующихся в организме: PGP, Pro-Gly (PG)

и Gly-Pro (GP), что привело к довольно неожиданному результату. Оказалось, что все они имеют собственные, причем очень разнообразные физиологические эффекты, которые будут описаны ниже. Кроме того, структурное сходство пролина с пираретамом побудило к исследованию дипептидных аналогов последнего и обнаружению собственной антиамнестической активности у циклопролилглицина (сPG) (Gudasheva et al. 1996). Это позволило академику РАМН Игорю Петровичу Ашмарину (1925–2007) говорить о возможном выделении коротких пептидов, содержащих остатки пролина и глицина, в особый класс РП, которые были названы глипролинами (Ашмарин и др. 1998; 2003).

Анализ прогресса в исследовании физиологических эффектов глипролинов, их возможных механизмов действия и перспективы использования в медицине является целью настоящего обзора.

Семейство глипролинов, их возможные экзогенные и эндогенные источники

Первоначально в группу глипролинов предлагалось включить короткие пептиды, содержащие пролин и глицин и имеющие широкий спектр биологической активности: PGP, GP, PG, сPG (Ашмарин и др. 1998; 2003). Сейчас список пептидов, которые, вероятно, можно отнести к семейству глипролинов, расширяется. Собственные физиологические эффекты были обнаружены у N-ацетилированного PGP (Ac-PGP) (Pfister et al. 1995; 1998; Vraber et al. 2011; Kwon et al. 2017; 2019). Предлагается называть аргининсодержащими и лейцинсодержащими глипролинами ди-, три- и тетрапептиды, содержащие пролин и глицин с дополнительным включением аргинина (Arg, R) или лейцина (Leu, L) в различных положениях. Они обладают как некоторыми эффектами PGP, так и собственной активностью (Ляпина и др. 2013; Мясоедов и др. 2013; Шабалина и др. 2015). В последнее время большой интерес сосредоточен также на коротких богатых пролином олигопептидах, полученных в результате деградации инсулиноподобного фактора роста-1 (insulin-like growth factor, IGF-1), в том числе N-концевом фрагменте этого белка — Gly-Pro-Glu (GPE) (Saura et al. 1999; Guan et al. 2013, 2014).

В начале изучения глипролинов только предполагали, что их возможным эндогенным источником может быть коллаген и эластин (Ашмарин и др. 1998). Сейчас экспериментально доказано, что эндогенный PGP действительно

представляет собой фрагмент коллагена, вырабатываемый под действием матриксных металлопротеиназ 1 и 9 и пролилэндопептидазы (O'Reilly et al. 2009; Wells et al. 2015). В мозге крыс был также обнаружен эндогенный сPG (Gudasheva et al. 1996). Наиболее вероятным его источником считается инсулиноподобный фактор роста-1 (Guan et al. 2014). Последовательность PGP входит в состав казоморфинов, энтеростатинов (Ашмарин и др. 2003), но прямых доказательств образования этого трипептида при их деградации нет.

Как отмечалось выше, последовательность PGP была использована для стабилизации АКТГ₄₋₇, а также тафцина, в результате чего были получены нейропротекторные лекарственные препараты семакс и селанк соответственно (Ашмарин и др. 1997). Остатки пролина и глицина и сейчас продолжают использовать для стабилизации искусственно синтезированных пептидных молекул. Например, идет активное изучение свойств нового препарата: стабилизированного PGP фрагмента АКТГ_{6,9} — His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro (HFRWPGP), а также пептида Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Gly (KKRRPG) (Bakaeva et al. 2020). Биодegradация таких пептидов в организме может приводить к образованию более коротких пролинсодержащих пептидов, состав которых зависит от способа введения препарата и от вида пептидаз, преобладающих в каждой конкретной ткани (Шевченко и др. 2019). Таким образом, эти препараты можно считать одним из экзогенных источников глипролинов.

Еще один возможный экзогенный источник глипролинов — богатые пролином пищевые белки, например желатин. Пероральное применение гидролизатов коллагена и желатина приводит к появлению в крови человека разнообразных олигопептидов, содержащих пролин и гидроксипролин (Ichikawa et al. 2010; Shigemura et al. 2018). Это открывает возможности использования обогащенных пролином и глицином белковых продуктов для профилактики и лечения заболеваний, «чувствительных» к действию глипролинов.

PGP устойчив к биодegradации. Он обнаруживается в неизменном виде в плазме крови при разных способах введения — внутрибрюшинном, внутрижелудочном и внутрикишечном — и сохраняется в ней в течение 3–5 часов (Zolotarev et al. 2003). В связи с этим возможно его применение самым удобным для человека способом: перорально.

Нейропротекторные эффекты глипролинов

Первые научные исследования глипролинов были в основном связаны с изучением их влияния на поведение животных. Как уже упоминали выше, предпосылкой к этому послужило структурное сходство пролина, сPG и PG с пираретамом. К первоначально обнаруженной антиамнестической активности сPG (Gudasheva et al. 1996) к настоящему времени добавились доказательства его анксиолитических (Seredenin et al. 2002), нейропротекторных (Колясникова и др. 2012) и антидепрессивноподобных эффектов (Ковалев и др. 2018).

К возможным механизмам нейропсихотропного действия сPG относят его способность разнонаправленно изменять содержание серотонина, норадреналина и дофамина в разных структурах мозга, как это было показано в экспериментах на мышах (Абдуллина и др. 2020), увеличивать содержание нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) в культуре нервных клеток (Gudasheva et al. 2016b). До сих пор не существует прямых доказательств связывания сPG с какими-либо рецепторами на нейронах, но продемонстрирована его способность изменять активность и/или плотность определенного типа рецепторов серотонина, глутамата и γ -аминомасляной кислоты. Так, показано, что двухнедельное введение пептида уменьшает плотность серотониновых 5-HT_{2A}-рецепторов в стриатуме и NMDA-рецепторов глутамата в гиппокампе и увеличивает плотность ГАМК_A-рецепторов γ -аминомасляной кислоты во фронтальной коре мозга мышей (Абдуллина и др. 2019). сPG способен также модулировать ионные токи AMPA-рецепторов глутамата (Gudasheva et al. 2016a).

Предполагается, что эндогенный сGP может быть метаболитом IGF-1 и регулировать его функции. Исследования, выполненные на линии эндотелиальных клеток микрососудов человека, показали, что сGP стимулирует активность IGF-1, когда она недостаточна, но подавляет активность IGF-1, когда она чрезмерна. С этим механизмом действия может быть связана эффективность сGP как в улучшении восстановления капилляров после ишемического повреждения мозга у крыс, так и в ингибировании роста лимфоидных новообразований у мышей (Guan et al. 2014).

сPG является также активным метаболитом разработанного в России ноотропного препарата «Ноопепт» (этиловый эфир N-фенилацетил-L-пролилглицина) (Бойко и др. 2018). Обнаружено, что ноопепт в результате гидрофобных

взаимодействий с токсичными амилоидными олигомерами α -синуклеина вызывает их быстрое связывание в более крупные фибриллярные амилоидные агрегаты, тем самым снижает их цитотоксичное действие на культуру клеток нейробластомы (Jia et al. 2011). В связи с этим могут являться перспективными исследования в этом ключе собственно сPG, а также, возможно, и других коротких пролинсодержащих пептидов.

Влияние остальных глипролинов на нервную систему животных изучено гораздо меньше. В конце прошлого столетия нейропротекторные свойства в условиях острых ишемических повреждений мозга были продемонстрированы для трипептида GPE, являющегося N-концевым фрагментом IGF-1 (Saura et al. 1999). Современные исследования связаны в основном с получением и изучением синтетических аналогов GPE с более длительным периодом полураспада, что, как предполагается, должно усилить нейропротекторные эффекты этого пептида (Guan et al. 2013; Marinelli et al. 2019). Известно, что GPE не связывается с рецепторами IGF-1 и, видимо, действуют через регуляцию таких процессов, как посттравматическое воспаление, астроцитоз и образование новых кровеносных сосудов (Guan et al. 2013).

Для PGP и GP было показано, что они снижают тревожность и нарушения ориентировочно-исследовательской активности у крыс, вызванные принудительным 10-минутным плаванием (Badmaeva et al. 2006) и внутрибрюшинным введением холецистокинина-4 (Edeeva et al. 2008). Эти работы не получили продолжения, поэтому остаются неясными мишени и механизмы действия этих пептидов при их влиянии на поведение животных.

Помимо описания нейропротекторных эффектов глипролинов, есть единичные сведения о возможном участии AcPGP в патологических процессах в нервной системе. Показаны увеличение количества AcPGP в мозге крыс после ишемического инсульта и его способность индуцировать апоптоз (Hill, Nemoto 2015).

Гастропротекторные эффекты глипролинов

Очень хорошо изучены гастропротекторные эффекты глипролинов. Показано, что пептиды PGP, AcPGP, PG, GP, WP, GPGG, RPPG в той или иной мере защищают слизистую оболочку желудка от повреждений, индуцированных этанолом, индометацином, уксусной кислотой, разными видами стресса (Samonina et al. 2000; Жуйкова и др. 2003a; 2003b; 2004; Bakaeva et al. 2016).

При этом PGP проявляет гастропротекторные свойства на всех использованных в экспериментах моделях эрозивно-язвенных повреждений слизистой оболочки желудка, тогда как действие других пептидов зависит от вида ulcerогенного фактора. Например, PG не влияет на площадь повреждений, вызванных стрессом, а GP — индуцированных этанолом (Жуйкова и др. 2003а; 2003б; 2004).

К возможным механизмам противоязвенного действия глипролинов можно отнести снижение PGP базальной и вызванной раздражением блуждающего нерва секреции соляной кислоты в желудке (Жуйкова и др. 2003с), восстановление PGP и PG (но не GP), желудочного кровотока, сниженного индометацином и этанолом (Самонина и др. 2001).

Возможно, что в гастропротекторный эффект глипролинов вносит вклад их антиоксидантная активность. Показано, что уменьшение язвообразования при профилактическом введении PGP и PG (но не GP) на этаноловой модели коррелировало со снижением активности супероксиддисмутазы, каталазы и количеством продуктов перекисного окисления липидов (Falalyeueva et al. 2010). PGP также снижал активность свободнорадикального окисления в слизистой оболочке желудка, увеличение которого было вызвано введением индометацина в ulcerогенных дозах (Fleishman et al. 2015).

На модели ацетатных язв показаны противовоспалительные свойства PGP, PG, AcPGP (но не GP), которые также могут вносить свой вклад в противоязвенные эффекты этих пептидов. Оценка степени выраженности воспалительного процесса в зоне язвенного дефекта показала, что на 5-й день после аппликации кислоты уменьшение площади повреждений на фоне действия пептидов сопровождалось уменьшением количества нейтрофилов в поврежденной ткани (Жуйкова и др. 2003б). Этот противовоспалительный эффект PGP и AcPGP может быть связан с их способностью снижать в тканях желудка индуцированную уксусной кислотой экспрессию информационной РНК и продукцию GRO/CINC-1 (growth related oncogene/cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1) — пептида, который служит хемоаттрактантом для нейтрофилов, привлекая их в зону повреждения (Bakaeva et al. 2016).

Сама возможность взаимодействия глипролинов с хемокинами, регулирующими миграцию лейкоцитов из крови в ткани, указывает на то, что они могут принимать участие в регуляции процессов воспаления не только в желудочно-кишечном тракте.

Влияние глипролинов на воспалительные и регенеративные процессы

Внимание зарубежных исследователей к глипролинам в последние годы связано в основном с их способностью влиять на процессы воспаления и регенерации на моделях заживления ран и восстановления поврежденных ишемией и инфекцией тканей. В этом русле исследуются в первую очередь Ac-PGP и PGP, которые могут быть продуктами разрушения коллагена внеклеточного матрикса при воспалении (Pfister et al. 1995; O'Reilly et al. 2009; Wells et al. 2015).

Показано, что Ac-PGP ускоряет заживление кожных ран (Kwon et al. 2017). Увеличение скорости роста фибробластов кожи мыши показано *in vitro* и для циклического пролилгидроксипролина (Shigemura et al. 2018).

Одним из механизмов более быстрого заживления кожных ран при введении Ac-PGP может являться ускорение образования новых кровеносных сосудов. Местное введение Ac-PGP на ложе кожной раны стимулирует миграцию в нее трансплантированных клеток предшественников эндотелия человека (hEPC), их приживание и ангиогенез (Kwon et al. 2017). Стимуляция образования новых кровеносных сосудов Ac-PGP показана и на модели ишемии задних конечностей мышей (Kwon et al. 2019).

В отношении PGP показано, что он способен хемотаксически привлекать нейтрофилы, но не кератиноциты, пролиферацию и миграцию которых он, наоборот, ингибирует (Ma et al. 2011).

Данные о влиянии глипролинов на воспалительные процессы противоречивы. Существует достаточно много работ, в которых показаны противовоспалительные эффекты PGP и его производных *in vitro* и *in vivo*. Показано, что PGP препятствует усилению секреторной активности тучных клеток брыжейки и подкожной клетчатки крыс, подвергшихся стрессу (Umarova et al. 2003). Противовоспалительное действие PGP продемонстрировано также при язвообразовании, индуцированном уксусной кислотой (Жуйкова и др. 2003б), на модели отека лап крысы, вызванного подкожным введением гистамина, и на модели перитонита (Bondarenko et al. 2017).

Выяснено, что *in vitro* PGP и Ac-PGP также снижают секреторную активность перитонических тучных клеток, секрецию ими гистамина, активированную синуктином и ацетилхолином (Куренкова и др. 2016; Umarova et al. 2003). Противовоспалительное действие PGP может быть также связано с его способностью предот-

вращать увеличение проницаемости сосудов (Bondarenko et al. 2017).

Бактерицидная активность за счет образования перекиси водорода, подавление воспаления легких и уменьшение апоптоза иммунных клеток были показаны для Ас-PGP на трех экспериментальных моделях сепсиса у мышей. Трипептид увеличивал продукцию интерферона- γ и подавлял продукцию такого провоспалительного цитокина, как фактор некроза опухоли- α , *in vivo* и *in vitro* (Kim et al. 2011).

С другой стороны, в последние 10–15 лет PGP и Ас-PGP рассматриваются как возможные виновники развития патологического воспалительного процесса у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), которая сопровождается разрушением внеклеточного матрикса и нейтрофильным воспалением дыхательных путей.

Еще в девяностых годах прошлого столетия на модели щелочного повреждения роговицы было показано, что воспаление может сопровождаться образованием Ас-PGP, обладающего хемотаксическим действием на нейтрофилы (Pfister et al. 1995), а инъекция Ас-PGP в нормальную роговицу воспроизводит нейтрофильное воспаление, наблюдаемое при щелочном повреждении глаза (Pfister et al. 1998). Аналогичная картина наблюдается и в случае с ХОБЛ. В мокроте больных ХОБЛ обнаруживаются Ас-PGP и PGP, что практически никогда не наблюдается у здоровых людей (O'Reilly et al. 2009). Аспирация Ас-PGP вызывает увеличение уровня провоспалительного хемокина CXCL1 и приток нейтрофилов в легкие мышей (Braber et al. 2011). Ас-PGP также оказывал хемотаксическое действие на нейтрофилы человека *in vitro*, непосредственно активировал этот тип клеток, что приводило к мобилизации цитозольного кальция и высвобождению интерлейкина-8, одного из основных провоспалительных хемокинов (Overbeek et al. 2011).

В связи с полученными экспериментальными данными об участии PGP и его ацетилированного производного в развитии и поддержании нейтрофильного воспаления активно обсуждается вопрос о том, является ли PGP просто маркером ХОБЛ или играет существенную патологическую роль в ее развитии.

С одной стороны, основной причиной ХОБЛ может являться дисбаланс в работе ферментов. Увеличение PGP в легких вызывается повышенной активностью пролилендопептидазы, матриксных металлопротеиназ 1 и 9 (O'Reilly et al. 2009). В норме после острой фазы воспаления он, по-видимому, должен расщепляться

лейкотриен-А4-гидролазой, которая ограничивает воспаление (Snelgrove et al. 2010). Таким образом, патологические процессы в легких при ХОБЛ могут быть связаны как с чрезмерной активностью ферментов, расщепляющих коллаген, так и с пониженной активностью лейкотриен-А4-гидролазы, расщепляющей PGP (что показано при действии основного фактора риска развития ХОБЛ — сигаретного дыма (Snelgrove et al. 2010)) или с обоими этими механизмами одновременно.

С другой стороны, сам Ас-PGP может активировать образование ферментов, разрушающих коллаген. Существуют экспериментальные данные о том, что стимуляция первичных эпителиальных клеток бронхов человека с помощью Ас-PGP приводила к увеличению высвобождения матричной металлопротеиназы-9 (Roda et al. 2019). В таком случае может создаться замкнутый круг: ферменты, разрушающие внеклеточный матрикс, увеличивают количество PGP и Ас-PGP, а они, в свою очередь, увеличивают количество этих ферментов. Это как раз и может привести к развитию хронического воспаления.

Вне зависимости от того, какие из описанных механизмов играют более важную роль в развитии ХОБЛ, представляется перспективным использование для лечения этой болезни веществ, нейтрализующих хемотаксическое, провоспалительное действие PGP. В связи с этим проведены исследования комплементарного PGP пептида Arg-Thr-Arg (RTR). Показано, что RTR непосредственно связывается с PGP, нейтрализуя его действие, предотвращая как миграцию, так и активацию им нейтрофилов, и полностью подавляет PGP-индуцированную эмфизему легких у мышей (van Houwelingen et al. 2008; Roda et al. 2019).

В отношении молекулярных механизмов действия PGP и его ацетилированной формы по литературным данным известно, что и положительные, и отрицательные их эффекты могут быть связаны с одним типом рецепторов — хемокиновыми рецепторами CXCR2.

Я. В. Квон и соавторы (Kwon et al. 2017; 2019) считают, что с этими рецепторами связано положительное влияние Ас-PGP на кровоток и ранозаживление. Активация этих рецепторов в костном мозге, по их мнению, вызывает активацию циркулирующих ангиогенных клеток. Блокаторы этих рецепторов снимают положительные эффекты трипептида (Kim et al. 2011).

Провоспалительные эффекты Ас-PGP, хемотаксическое действие на нейтрофилы также снимаются блокаторами хемокиновых рецепторов CXCR2 (Braber et al. 2011; Overbeek et al. 2011).

Можно предположить, что регуляция воспалительных процессов этим пептидом через CXCR2 имеет разные результаты в зависимости от типа тканей и/или продолжительности воздействия Ac-PGP на эти ткани.

Справедливости ради необходимо упомянуть о том, что существует работа П. де Круийф и соавторов (2010), которые утверждают, что в опытах *in vitro* Ac-PGP не активирует напрямую и не взаимодействует с хемокиновыми рецепторами CXCR2 и CXCR1 нейтрофилов и клеток линии НЕК293Т человека, экспрессирующих эти рецепторы, но эта работа единственная.

В отличие от Ac-PGP, для определения механизма действия которого в основном использовались блокаторы хемокиновых рецепторов, для PGP, меченого флуоресцеинизотиоцианатом, было показано прямое связывание с рецепторами CXCR2 (Kim et al. 2011). PGP даже использовался для модификации твердых липидных наночастиц, нагруженных байкалеином, для облегчения связывания с нейтрофилами в мозге при лечении депрессии (Chen et al. 2018).

Влияние глипролинов на гемостаз и обмен веществ

Изучение влияния глипролинов на гемостаз показало, что они *in vivo* и *in vitro* активируют функции противосвертывающей системы. *In vitro* GP, PGP и GPGG оказывали антиагрегационное влияние в образцах плазмы крови крыс, обогащенной тромбоцитами. Была выявлена также фибринолитическая активность этих пептидов и снижение ими фибрин-стабилизирующего фактора (XIIIa) (Ашмарин и др. 1996).

Все эти эффекты сохранялись при внутривенном введении GP, PGP и GPGG (Ашмарин и др. 1996). Перорально введенные PGP и PG также обладают антиагрегантным действием и уменьшают вес тромбов на различных моделях претромботического состояния и тромбоза у крыс (Pastorova et al. 2003).

Антикоагулянтно-фибринолитическое действие показано и для аргининсодержащих (RPGP, PGPR, PGR, RPG, GPR, PRG) (Ляпина и др. 2013; Grigorjeva et al. 2013), и для лейцинсодержащих (PGPL и LPGP) глипролинов (Ляпина и др. 2013; Мясоедов и др. 2013; Шабалина и др. 2015). Среди возможных механизмов действия И. П. Ашмарин и соавторами (Ашмарин и др. 1996; 2003) рассматривалась теория о том, что глипролины, образуясь при биодеградации коллагена, могут блокировать рецепторы,

на которые действует коллаген при активации им свертывания крови. Но эта теория не была подтверждена экспериментальными данными.

Глипролины способны нормализовать обмен веществ при диабете и нарушениях жирового обмена. PG и PGP, а также их аргинин- и лейцинсодержащие производные проявляли гипогликемический эффект, возвращая к норме содержание сахара в крови крыс на моделях с инсулинозависимым сахарным диабетом и стойкой гипергликемией, аналогичной развитию инсулиннезависимого сахарного диабета второго типа у людей (Ляпина и др. 2013).

У PGPL, наряду с нормогликемическими эффектами, обнаружена способность предупреждать развитие алиментарной гиперхолестеринемии и увеличение массы тела, нормализовать нарушение липидного профиля и уровня холестерина в крови у крыс, потреблявших жирную пищу с избытком насыщенных жирных кислот (Мясоедов и др. 2013). Для PGPL и LPGP показано гиполлипидемическое действие у пациентов с нарушениями липидного обмена (Шабалина и др. 2015).

Заключение

Глипролины — новый тип регуляторных пептидов, представляющий интерес как с точки зрения фундаментальной физиологии, так и использования их в медицинских целях. Основное преимущество глипролинов — их относительная устойчивость к биодеградации и интегративность воздействия на организм. Глипролины обладают нейропротекторным эффектом, защищают слизистую оболочку желудка от повреждений, регулируют процессы воспаления и регенерации, положительно влияют на гемостаз, проявляют гиполлипидемическое и нормогликемическое действие.

Особенно ярко важность использования препаратов с интегративным воздействием на организм демонстрируется при попытках справиться с такими полиэтиологическими заболеваниями, как язвенная болезнь желудка. Гастропротекторное действие глипролинов показано в разных моделях эрозивно-язвенных повреждений у крыс. Их защитное действие связано как с подавлением агрессивных, так и с активацией защитных факторов слизистой оболочки желудка (рис. 1).

Молекулярные механизмы эффектов глипролинов требуют дальнейшего изучения. Появились лишь первые сведения о возможности их влияния на хемокиновые рецепторы CXCR2 при ранозаживлении, ангиогенезе, регуляции

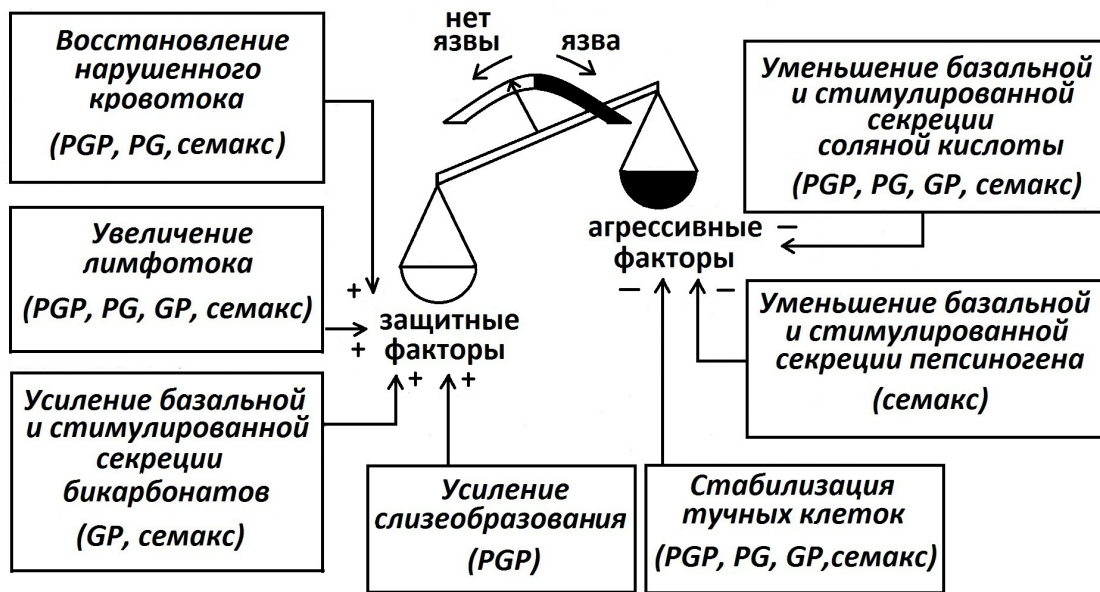


Рис. 1. Влияние глипролинов и семакса на поддержание целостности слизистой оболочки желудка

Fig. 1. Effect of glyprolines and semax on maintaining the integrity of the gastric mucosa

воспалительных процессов и о способности изменять активность и/или плотность определенного типа рецепторов серотонина, глутамата и γ -аминомасляной кислоты в связи с нейротропным действием.

Требуется внимания отмеченная в литературе возможность участия PGR и особенно его ацетилированной формы в развитии ХОБЛ. Но убедительно доказанные многочисленные

положительные эффекты глипролинов на гомеостаз и противоречивость данных об участии PGR и Ac-PGR в развитии хронического воспаления указывают на необходимость и перспективность продолжения исследований этих пептидов, обладающих интегративным действием на организм, в том числе и в качестве новых лекарственных препаратов.

Литература

- Абдуллина, А. А., Васильева, Е. В., Кондрахин, Е. А., Ковалев, Г. И. (2019) Участие серотониновых, глутаматных и ГАМК-рецепторов в проявлении антидепрессивноподобного эффекта циклопролилглицина. *Нейрохимия*, т. 36, № 3, с. 218–225. DOI: 10.1134/S1027813319030026
- Абдуллина, А. А., Васильева, Е. В., Кудрин, В. С. и др. (2020) Влияние циклопролилглицина и его аналогов на моноаминергические системы мозга мышей BALB/c. *Фармакокинетика и фармакодинамика*, № 1, с. 3–10. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-1-3-10
- Ашмарин, И. П., Бакаева, З. В., Васильевский, Б. В. и др. (2003) Высокостабильные регуляторные олигопептиды: опыт и перспективы применения. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*, № 4, с. 2–5.
- Ашмарин, И. П., Каразеева, Е. П., Ляпина, С. А., Самонина, Г. Е. (1998) Регуляторная активность простейших пролинсодержащих пептидов PG, GP, PGR, GPGR и возможные источники их биосинтеза. *Биохимия*, т. 63, № 2, с. 149–155.
- Ашмарин, И. П., Ляпина, Л. А., Пасторова, В. Е. (1996) Модуляция гемостатических реакций in vitro и in vivo представителями семейств регуляторных пептидов. *Вестник Российской академии медицинских наук*, № 6, с. 50–57.
- Ашмарин, И. П., Незавибатько, В. Н., Мясоедов, Н. Ф. и др. (1997) Ноотропный аналог адренотропного пептида 4-10-семакс (15-летний опыт разработки и изучения). *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*, т. 47, № 2, с. 420–430.
- Бойко, С. С., Жердев, В. П., Шевченко, Р. В. (2018) Фармакокинетика ноопепта и его активного метаболита циклопролилглицина у крыс. *Биомедицинская химия*, т. 64, № 5, с. 455–458. DOI: 10.18097/PBMC20186405455

- Жуйкова, С. Е., Бадмаева, К. Е., Бакаева, З. В. и др. (2004) Противоязвенные эффекты трипептида PGP и его возможных метаболитов — PG, GP, глицина и пролина — на разных моделях вызова язв у крыс. *Известия РАН. Серия биологическая*, № 5, с. 585–588.
- Жуйкова, С. Е., Бадмаева, К. Е., Самонина, Г. Е., Плесская, А. Г. (2003а) Семакс и некоторые глипролиновые пептиды ускоряют заживление ацетатных язв у крыс. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*, № 4, с. 88–92.
- Жуйкова, С. Е., Бакаева, З. В., Самонина, Г. Е. (2003б) Дифференцированные противоязвенные эффекты возможных метаболитов пептида PGP — PG и GP — на этаноловой и стрессорной моделях вызова язв у крыс. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*, № 2, с. 20–22.
- Жуйкова, С. Е., Хропычева, Р. П., Золотарев, В. А., Поленов, С. А. (2003с) Новые пептидные регуляторы желудочной секреции крыс (амилин, PGP, семакс). *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*, № 2, с. 86–90.
- Ковалев, Г. И., Абдуллина, А. А., Васильева, Е. В. и др. (2018) Антидепрессантоподобные свойства циклопролилглицина. *Экспериментальная и клиническая фармакология*, т. 81, № 11, с. 3–6. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-11-3-6
- Колясникова, К. Н., Гудашева, Т. А., Назарова, Г. А. и др. (2012) Сходство цикло-пролилглицина с пираретамом по антигипоксическому и нейропротекторному эффектам. *Экспериментальная и клиническая фармакология*, т. 75, № 9, с. 3–6. DOI: 10.30906/0869-2092-2012-75-9-3-6
- Кузник, Б. И., Давыдов, С. О., Поправка, Е. С. и др. (2019) Эпигенетические механизмы пептидной регуляции и нейропротекторный белок Fkbp1b. *Молекулярная биология*, т. 53, № 2, с. 339–348. DOI: 10.1134/S0026898419020095
- Куренкова, А. Д., Умарова, Б. А., Гаврилова, С. А. (2016) Влияние пролил-глицил-пролина (PGP) и его ацетилированной формы (N-ACPGP) на проницаемость сосудов кожи крыс. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*, т. 102, № 9, с. 1111–1119.
- Ляпина, Л. А., Мясоедов, Н. Ф., Григорьева, М. Е. и др. (2013) Современная концепция регуляторной роли пептидов семейства глипролинов в коррекции функции системы гемостаза при развитии сахарного диабета. *Известия РАН. Серия биологическая*, № 4, с. 453–462. DOI: 10.7868/S0002332913040103
- Мясоедов, Н. Ф., Шубина, Т. А., Оберган, Т. Ю. и др. (2013) Гипохолестеринемическое действие регуляторного пептида Pro-Gly-Pro-Leu. *Вопросы питания*, т. 82, № 5, с. 41–45.
- Самонина, Г. Е., Копылова, Г. Н., Сергеев, В. И. и др. (2001) Коррекция желудочного кровотока как один из возможных механизмов противоязвенных эффектов коротких пролинсодержащих пептидов. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*, т. 87, № 11, с. 1488–1492.
- Хавинсон, В. Х. (2020) Лекарственные пептидные препараты: прошлое, настоящее, будущее. *Клиническая медицина*, т. 98, № 3, с. 165–177. DOI: 10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177
- Шабалина, А. А., Ляпина, Л. А., Рочев, Д. Л. и др. (2015) Гиполипидемические и фибриндеполимеризационные эффекты регуляторных лейцинсодержащих глипролинов в крови человека *in vitro*. *Известия РАН. Серия биологическая*, № 1, с. 85–89. DOI: 10.7868/S0002332915010129
- Шевченко, К. В., Нагаев, И. Ю., Андреева, Л. А. и др. (2019) Устойчивость пролинсодержащих пептидов в биологических средах. *Биомедицинская химия*, т. 65, № 3, с. 180–201. DOI: 10.18097/PBMC20196503180
- Badmaeva, S. E., Kopylova, G. N., Abushinova, N. N. et al. (2006) Effects of glyprolines on stress-induced behavioral disorders in rats. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 36, no. 4, pp. 409–413. DOI: 10.1007/s11055-006-0032-x
- Bakaeva, Z. V., Sangadzhieva, A. D., Tani, S. et al. (2016) Glyprolines exert protective and repair-promoting effects in the rat stomach: Potential role of the cytokine GRO/CINC-1. *Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 67, no. 2, pp. 253–260.
- Bakaeva, Z. V., Surin, A. M., Lizunova, N. V. et al. (2020) Neuroprotective potential of peptides HFRWPGP (ACTH 6-9 PGP), KKRRPGP, and PyrRP in cultured cortical neurons at glutamate excitotoxicity. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, vol. 491, no. 1, pp. 62–69. DOI: 10.1134/S1607672920020040
- Bondarenko, N. S., Shneiderman, A. N., Guseva, A. A., Umarova, B. A. (2017) Prolyl-glycyl-proline (PGP) peptide prevents an increase in vascular permeability in inflammation. *Acta Naturae*, vol. 9, no. 1, pp. 52–55. DOI: 10.32607/20758251-2017-9-1-52-55
- Braber, S., Overbeek, S. A., Koelink, P. J. et al. (2011) CXCR2 antagonists block the N-Ac-PGP-induced neutrophil influx in the airways of mice, but not the production of the chemokine CXCL1. *European Journal of Pharmacology*, vol. 668, no. 3, pp. 443–449. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.03.025
- Chen, B., Luo, M., Liang, J. et al. (2018) Surface modification of PGP for a neutrophil-nanoparticle co-vehicle to enhance the anti-depressant effect of baicalein. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, vol. 8, no. 1, pp. 64–73. DOI: 10.1016/j.apsb.2017.11.012
- Edeeva, S. E., Kopylova, G. N., Bakaeva, Z. V. et al. (2008) Protective and therapeutic effects of glyprolines in psychoemotional stress induced by cholecystokinin-4 injection. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 145, no. 3, article 302. DOI: 10.1007/s10517-008-0076-8

- Falalyeyeva, T. M., Samonina, G. E., Beregovaya, T. V. et al. (2010) Effect of glyprolines PGP, GP, and PG on homeostasis of gastric mucosa in rats with experimental ethanol-induced gastric ulcers. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 149, no. 6, pp. 699–701. DOI: 10.1007/s10517-010-1028-7
- Fleishman, M. Yu., Tolstenok, I. V., Lebed'ko, O. A. et al. (2015) Effects of glyprolines on DNA synthesis and free radical oxidation in mouse gastric mucosa under physiological conditions and during therapy with oral non-steroid anti-inflammatory drugs. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 159, no. 4, pp. 502–504. DOI: 10.1007/s10517-015-3003-9
- Grigorjeva, M. E., Kazancheva, M. Kh., Lyapina, L. A. (2013) Anticoagulant effects of arginine-containing peptide Arg-Pro-Gly-Pro under conditions of immobilization stress. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 154, no. 6, pp. 723–727. DOI: 10.1007/s10517-013-2039-y
- Guan, J., Gluckman, P., Yang, P. et al. (2014) Cyclic glycine-proline regulates IGF-1 homeostasis by altering the binding of IGFBP-3 to IGF-1. *Scientific Reports*, vol. 4, article 4388. DOI: 10.1038/srep04388
- Guan, J., Mathai, S., Liang, H.-p., Gunn, A. J. (2013) Insulin-like growth factor-1 and its derivatives: Potential pharmaceutical application for treating neurological conditions. *Recent Patents on CNS Drug Discovery*, vol. 8, no. 2, pp. 142–160. DOI: 10.2174/1574889811308020004
- Gudasheva, T. A., Boyko, S. S., Akparov, V. Kh. et al. (1996) Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain. *FEBS Letters*, vol. 391, no. 1–2, pp. 149–152. DOI: 10.1016/0014-5793(96)00722-3
- Gudasheva, T. A., Grigoriev, V. V., Koliashnikova, K. N. et al. (2016a) Neuropeptide cycloprolylglycine is an endogenous positive modulator of AMPA receptors. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, vol. 471, no. 1, pp. 387–389. DOI: 10.1134/S160767291606003X
- Gudasheva, T. A., Koliashnikova, K. N., Antipova, T. A., Seredenin, S. B. (2016b) Neuropeptide cycloprolylglycine increases the levels of brain-derived neurotrophic factor in neuronal cells. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, vol. 469, no. 1, pp. 273–276. DOI: 10.1134/S1607672916040104
- Hill, J. W., Nemoto, E. M. (2015) Matrix-derived inflammatory mediator N-acetyl proline-glycine-proline is neurotoxic and upregulated in brain after ischemic stroke. *Journal of Neuroinflammation*, vol. 12, article 214. DOI: 10.1186/s12974-015-0428-z
- Ichikawa, S., Morifuji, M., Ohara, H. et al. (2010) Hydroxyproline-containing dipeptides and tripeptides quantified at high concentration in human blood after oral administration of gelatin hydrolysate. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, vol. 61, no. 1, pp. 52–60. DOI: 10.3109/09637480903257711
- Jia, X., Gharibyan, A. L., Öhman, A. et al. (2011) Neuroprotective and nootropic drug noopept rescues α -synuclein amyloid cytotoxicity. *Journal of Molecular Biology*, vol. 414, no. 5, pp. 699–712. DOI: 10.1016/j.jmb.2011.09.044
- Kim, S. D., Lee, H. Y., Shim, J. W. et al. (2011) Activation of CXCR2 by extracellular matrix degradation product acetylated Pro-Gly-Pro has therapeutic effects against sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 184, no. 2, pp. 243–251. DOI: 10.1164/rccm.201101-0004OC
- Koroleva, S. V., Ashmarin, I. P. (2002) Functional continuum of regulatory peptides (RPs): Vector model of RP-effects representation. *Journal of Theoretical Biology*, vol. 216, no. 3, pp. 257–271. DOI: 10.1006/jtbi.2002.2555
- Kruijf, P., Lim, H. D., Overbeek, S. A. et al. (2010) The collagen-breakdown product N-acetyl-Proline-Glycine-Proline (N- α -PGP) does not interact directly with human CXCR1 and CXCR2. *European Journal of Pharmacology*, vol. 643, no. 1, pp. 29–33. DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.06.017
- Kwon, Y. W., Heo, S. C., Lee, T. W. et al. (2017) N-acetylated proline-glycine-proline accelerates cutaneous wound healing and neovascularization by human endothelial progenitor cells. *Scientific Reports*, vol. 7, article 43057. DOI: 10.1038/srep43057
- Kwon, Y. W., Lee, S. J., Heo, S. C. et al. (2019) Role of CXCR2 in the ac-PGP-induced mobilization of circulating angiogenic cells and its therapeutic implications. *Stem Cells Translational Medicine Journal*, vol. 8, no. 3, pp. 236–246. DOI: 10.1002/sctm.18-0035
- Ma, Y., Kleinbeck, K., Kao, W. J. (2011) Extracellular matrix-derived tripeptide proline-glycine-proline inhibits keratinocyte proliferation and migration. *Wound Repair and Regeneration*, vol. 19, no. 6, pp. 718–726. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2011.00734.x
- Marinelli, L., Fornasari, E., Di Stefano, A. D. et al. (2019) Synthesis and biological evaluation of novel analogues of Gly-I-Pro-I-Glu (GPE) as neuroprotective agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 29, no. 2, pp. 194–198. DOI: 10.1016/j.bmcl.2018.11.057
- O'Reilly, P., Jackson, P. L., Noerager, B. et al. (2009) N-alpha-PGP and PGP, potential biomarkers and therapeutic targets for COPD. *Respiratory Research*, vol. 10, article 38. DOI: 10.1186/1465-9921-10-38
- Overbeek, S. A., Henricks, P. A. J., Srienc, A. I. et al. (2011) N-acetylated Proline-Glycine-Proline induced G-protein dependent chemotaxis of neutrophils is independent of CXCL8 release. *European Journal of Pharmacology*, vol. 668, no. 3, pp. 428–434. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.03.022
- Pastorova, V. E., Lyapina, L. A., Ashmarin, I. P. (2003) Prevention of thrombus formation with glyprolines on various models of prethrombotic state and thrombosis in rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 136, no. 4, pp. 319–322. DOI: 10.1023/b:beb.0000010940.80757.90

- Pfister, R. R., Haddox, J. L., Sommers, C. I. (1998) Injection of chemoattractants into normal cornea: A model of inflammation after alkali injury. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 39, no. 9, pp. 1744–1750. PMID: 9699566.
- Pfister, R. R., Haddox, J. L., Sommers, C. I., Lam, K. W. (1995) Identification and synthesis of chemotactic tripeptides from alkali-degraded whole cornea. A study of N-acetyl-proline-glycine-proline and N-methyl-proline-glycine-proline. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 36, no. 7, pp. 1306–1316. PMID: 7775108.
- Roda, M. A., Xu, X., Abdalla, T. H. et al. (2019) Proline-glycine-proline peptides are critical in the development of smoke-induced emphysema. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, vol. 61, no. 5, pp. 560–566. DOI: 10.1165/rcmb.2018-0216OC
- Samonina, G., Lyapina, L., Kopylova, G. et al. (2000) Protection of gastric mucosal integrity by gelatin and simple proline-containing peptides. *Pathophysiology*, vol. 7, no. 1, pp. 69–73. DOI: 10.1016/s0928-4680(00)00045-6
- Saura, J., Curatolo, L., Williams, C. E. et al. (1999) Neuroprotective effects of Gly-Pro-Glu, the N-terminal tripeptide of IGF-1, in the hippocampus in vitro. *NeuroReport*, vol. 10, no. 1, pp. 161–164. DOI: 10.1097/00001756-199901180-00031
- Seredenin, S. B., Gudashcheva, T. A., Boiko, S. S. et al. (2002) Endogenous dipeptide cycloprolylglycine shows selective anxiolytic activity in animals with manifest fear reaction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 133, no. 4, pp. 360–362. DOI: 10.1023/A:1016293904149
- Shigemura, Y., Iwasaki, Y., Tateno, M. et al. (2018) A pilot study for the detection of cyclic prolyl-hydroxyproline (Pro-Hyp) in human blood after ingestion of collagen hydrolysate. *Clinical Trial Nutrients*, vol. 10, no. 10, article 1356. DOI: 10.3390/nu10101356
- Sikiric, P., Seiwerth, S., Rucman, R. et al. (2016) Brain-gut axis and pentadecapeptide BPC 157: Theoretical and practical implications. *Current Neuropharmacology*, vol. 14, no. 8, pp. 857–865. DOI: 10.2174/1570159X13666160502153022
- Snelgrove, R. J., Jackson, P. L., Hardison, M. T. et al. (2010) A critical role for LTA₄H in limiting chronic pulmonary neutrophilic inflammation. *Science*, vol. 330, no. 6000, pp. 90–94. DOI: 10.1126/science.1190594
- Umarova, B. A., Kopylova, G. N., Smirnova, E. A. et al. (2003) Secretory activity of mast cell during stress: Effect of prolyl-glycyl-proline and Semax. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 136, no. 4, pp. 325–327. DOI: 10.1023/b:bebm.0000010942.14275.50
- van Houwelingen, A. H., Weathington, N. M., Verweij, V. et al. (2008) Induction of lung emphysema is prevented by L-arginine-threonine-arginine. *The FASEB Journal*, vol. 22, no. 9, pp. 3403–3408. DOI: 10.1096/fj.07-096230
- Wells, J. M., Gaggari, A., Blalock, J. E. (2015) MMP generated matrikines. *Matrix Biology*, vol. 44–46, pp. 122–129. DOI: 10.1016/j.matbio.2015.01.016
- Zolotarev, Yu. A., Zhuikova, S. E., Ashmarin, I. P. et al. (2003) Metabolism of PGP peptide after administration via different routes. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 135, no. 4, pp. 361–364. DOI: 10.1023/a:1024612831380

References

- Abdullina, A. A., Vasilyeva, E. V., Kondrakhin, E. A., Kovalev, G. I. (2019) Uchastie serotoninovykh, glutamatnykh i GAMK-retseptorov v proyavlenii antidepressivnopodobnogo efekta tsikloprolylglytsina [Participation of serotonin, glutamate, and GABA receptors in the manifestation of the antidepressant-like effect of cycloprolylglycine]. *Nejrokhimiya — Neurochemical Journal*, vol. 36, no. 3, pp. 218–225. DOI: 10.1134/S1027813319030026 (In Russian)
- Abdullina, A. A., Vasileva, E. V., Kudrin, V. P. et al. (2020) Vliyanie tsikloprolylglytsina i ego analogov na monoaminergicheskie sistemy mozga myshej BALB/c [The effects of cycloprolylglycine and its analogues on brain monoaminergic systems in BALB/c mice]. *Farmakokinetika i farmakodinamika — Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, no. 1, pp. 3–10. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-1-3-10 (In Russian)
- Ashmarin, I. P., Bakaeva, Z. V., Vaskovskij, B. V. et al. (2003) Vysokostabil'nye reguljatornye oligopeptidy: opyt i perspektivy primeneniya [Highly stable regulatory oligopeptides: Experience and application prospects]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya — Pathological Physiology and Experimental Therapy*, no. 4, pp. 2–5. (In Russian)
- Ashmarin, I. P., Karazeeva, E. P., Lyapina, P. A., Samorina, G. E. (1998) Reguljatornaya aktivnost' prostejshikh prolinsoderzhashchikh peptidov PG, GP, PGP, GPGG i vozmozhnye istochniki ikh biosinteza [The simplest proline containing peptides PG, GP, PGP AND GPGG as putative bioregulators and possible sources of their synthesis]. *Biokhimiya — Biochemistry (Moscow)*, vol. 63, no. 2, pp. 149–155. (In Russian)
- Ashmarin, I. P., Lyapina, L. A., Pastorova, V. E. (1996) Modulyatsiya gemostaticeskikh reaksij in vitro i in vivo predstaviteljami semejstv reguljatornykh peptidov [Modulation of hemostatic reactions in vitro and in vivo by representatives of the families of regulatory peptides]. *Vestnik Rossijskoj akademii meditsinskikh nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, no. 6, pp. 50–57. (In Russian)
- Ashmarin, I. P., Nezavibat'ko, V. N., Miasoedov, N. F. et al. (1997) Nootroponyj analog adrenokortikotropina 4-10-semaks (15-letnij opyt razrabotki i izucheniya) [A nootropic adrenocorticotropin analog 4-10-semax (15 years experience in its design and study)]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 47, no. 2, pp. 420–430. (In Russian)

- Badmaeva, S. E., Kopylova, G. N., Abushinova, N. N. et al. (2006) Effects of glyprolines on stress-induced behavioral disorders in rats. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 36, no. 4, pp. 409–413. DOI: 10.1007/s11055-006-0032-x (In English)
- Bakaeva, Z. V., Sangadzhieva, A. D., Tani, S. et al. (2016) Glyprolines exert protective and repair-promoting effects in the rat stomach: Potential role of the cytokine GRO/CINC-1. *Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 67, no. 2, pp. 253–260. (In English)
- Bakaeva, Z. V., Surin, A. M., Lizunova, N. V. et al. (2020) Neuroprotective potential of peptides HFRWPGP (ACTH 6-9 PGP), KKRRPGP, and PyrRP in cultured cortical neurons at glutamate excitotoxicity. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, vol. 491, no. 1, pp. 62–69. DOI: 10.1134/S1607672920020040 (In English)
- Boyko, S. S., Zherdev, V. P., Shevchenko, R. V. (2018) Farmakokinetika noopepta i ego aktivnogo metabolita tsikloprolilglitsina u krysa [Pharmacokinetics of noopept and its active metabolite cyclopropyl glycine in rats]. *Biomeditsinskaya khimiya*, vol. 64, no. 5, pp. 455–458. DOI: 10.18097/PBMC20186405455 (In Russian)
- Bondarenko, N. S., Shneiderman, A. N., Guseva, A. A., Umarova, B. A. (2017) Prolyl-glycyl-proline (PGP) peptide prevents an increase in vascular permeability in inflammation. *Acta Naturae*, vol. 9, no. 1, pp. 52–55. DOI: 10.32607/20758251-2017-9-1-52-55 (In English)
- Braber, S., Overbeek, S. A., Koelink, P. J. et al. (2011) CXCR2 antagonists block the N-Ac-PGP-induced neutrophil influx in the airways of mice, but not the production of the chemokine CXCL1. *European Journal of Pharmacology*, vol. 668, no. 3, pp. 443–449. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.03.025 (In English)
- Chen, B., Luo, M., Liang, J. et al. (2018) Surface modification of PGP for a neutrophil-nanoparticle co-vehicle to enhance the anti-depressant effect of baicalein. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, vol. 8, no. 1, pp. 64–73. DOI: 10.1016/j.apsb.2017.11.012 (In English)
- Edeeva, S. E., Kopylova, G. N., Bakaeva, Z. V. et al. (2008) Protective and therapeutic effects of glyprolines in psychoemotional stress induced by cholecystokinin-4 injection. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 145, no. 3, article 302. DOI: 10.1007/s10517-008-0076-8 (In English)
- Falalyeyeva, T. M., Samonina, G. E., Beregovaya, T. V. et al. (2010) Effect of glyprolines PGP, GP, and PG on homeostasis of gastric mucosa in rats with experimental ethanol-induced gastric ulcers. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 149, no. 6, pp. 699–701. DOI: 10.1007/s10517-010-1028-7 (In English)
- Fleishman, M. Yu., Tolstenok, I. V., Lebed'ko, O. A. et al. (2015) Effects of glyprolines on DNA synthesis and free radical oxidation in mouse gastric mucosa under physiological conditions and during therapy with oral non-steroid anti-inflammatory drugs. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 159, no. 4, pp. 502–504. DOI: 10.1007/s10517-015-3003-9 (In English)
- Grigorjeva, M. E., Kazancheva, M. Kh., Lyapina, L. A. (2013) Anticoagulant effects of arginine-containing peptide Arg-Pro-Gly-Pro under conditions of immobilization stress. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 154, no. 6, pp. 723–727. DOI: 10.1007/s10517-013-2039-y (In English)
- Guan, J., Gluckman, P., Yang, P. et al. (2014) Cyclic glycine-proline regulates IGF-1 homeostasis by altering the binding of IGFBP-3 to IGF-1. *Scientific Reports*, vol. 4, article 4388. DOI: 10.1038/srep04388 (In English)
- Guan, J., Mathai, S., Liang, H.-p., Gunn, A. J. (2013) Insulin-like growth factor-1 and its derivatives: Potential pharmaceutical application for treating neurological conditions. *Recent Patents on CNS Drug Discovery*, vol. 8, no. 2, pp. 142–160. DOI: 10.2174/1574889811308020004 (In English)
- Gudasheva, T. A., Boyko, S. S., Akparov, V. Kh. et al. (1996) Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain. *FEBS Letters*, vol. 391, no. 1–2, pp. 149–152. DOI: 10.1016/0014-5793(96)00722-3 (In English)
- Gudasheva, T. A., Grigoriev, V. V., Koliashnikova, K. N. et al. (2016a) Neuropeptide cyclopropylglycine is an endogenous positive modulator of AMPA receptors. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, vol. 471, no. 1, pp. 387–389. DOI: 10.1134/S160767291606003X (In English)
- Gudasheva, T. A., Koliashnikova, K. N., Antipova, T. A., Seredenin, S. B. (2016b) Neuropeptide cyclopropylglycine increases the levels of brain-derived neurotrophic factor in neuronal cells. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, vol. 469, no. 1, pp. 273–276. DOI: 10.1134/S1607672916040104 (In English)
- Hill, J. W., Nemoto, E. M. (2015) Matrix-derived inflammatory mediator N-acetyl proline-glycine-proline is neurotoxic and upregulated in brain after ischemic stroke. *Journal of Neuroinflammation*, vol. 12, article 214. DOI: 10.1186/s12974-015-0428-z (In English)
- Ichikawa, S., Morifuji, M., Ohara, H. et al. (2010) Hydroxyproline-containing dipeptides and tripeptides quantified at high concentration in human blood after oral administration of gelatin hydrolysate. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, vol. 61, no. 1, pp. 52–60. DOI: 10.3109/09637480903257711 (In English)
- Jia, X., Gharibyan, A. L., Öhman, A. et al. (2011) Neuroprotective and nootropic drug noopept rescues α -synuclein amyloid cytotoxicity. *Journal of Molecular Biology*, vol. 414, no. 5, pp. 699–712. DOI: 10.1016/j.jmb.2011.09.044 (In English)
- Khavinson, V. Kh. (2020) Lekarstvennye peptidnye preparaty: proshloe, nastoyashchee, budushchee [Peptide medicines: Past, present, future]. *Klinicheskaya meditsina — Clinical Medicine (Russian Journal)*, vol. 98, no. 3, pp. 165–177. DOI: 10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177 (In Russian)

- Kim, S. D., Lee, H. Y., Shim, J. W. et al. (2011) Activation of CXCR2 by extracellular matrix degradation product acetylated Pro-Gly-Pro has therapeutic effects against sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 184, no. 2, pp. 243–251. DOI: 10.1164/rccm.201101-0004OC (In English)
- Kolyasnikova, K. N., Gudasheva, T. A., Nazarova, G. A. et al. (2012) Skhodstvo tsiklo-prolilglitsina s piratsetamom po antigipoksicheskomu i nejroprotektivnomu efektam [Similarity of cyclopropylglycine to piracetam in antihypoxic and neuroprotective effects]. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya — Experimental and Clinical Pharmacology*, vol. 75, no. 9, pp. 3–6. DOI: 10.30906/0869-2092-2012-75-9-3-6 (In Russian)
- Koroleva, S. V., Ashmarin, I. P. (2002) Functional continuum of regulatory peptides (RPs): Vector model of RP-effects representation. *Journal of Theoretical Biology*, vol. 216, no. 3, pp. 257–271. DOI: 10.1006/jtbi.2002.2555 (In English)
- Kovalev, G. I., Abdullina, A. A., Vasileva, E. V. et al. (2018) Antidepressantopodobnye svoystva tsikloprolilglitsina [Antidepressant-like properties of cyclopropylglycine]. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya — Experimental and Clinical Pharmacology*, vol. 81, no. 11, pp. 3–6. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-11-3-6 (In Russian)
- Kruijff, P., Lim, H. D., Overbeek, S. A. et al. (2010) The collagen-breakdown product N-acetyl-Proline-Glycine-Proline (N- α -PGP) does not interact directly with human CXCR1 and CXCR2. *European Journal of Pharmacology*, vol. 643, no. 1, pp. 29–33. DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.06.017 (In English)
- Kurenkova, A. D., Umarova, B. A., Gavrilova, S. A. (2016) Vliyanie prolil-glitsil-prolina (PGP) i ego atsetilirovannoj formy (N-ACPGP) na pronitsaemost' sosudov kozhi krysa [Effect of the prolyl-glycyl-proline (PGP) and its acetylated form (N-ACPGP) on vascular permeability in rat skin]. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 102, no. 9, pp. 1111–1119. (In Russian)
- Kuznik, B. I., Davydov, S. O., Popravka, E. S. et al. (2019) Epigeneticheskie mekhanizmy peptidnoj regulyatsii i nejroprotektivnyj belok Fkbp1b [Epigenetic mechanisms of peptide-driven regulation and neuroprotective protein Fkbp1b]. *Molekularnaya biologiya — Molecular Biology*, vol. 53, no. 2, pp. 339–348. DOI: 10.1134/S0026898419020095 (In Russian)
- Kwon, Y. W., Heo, S. C., Lee, T. W. et al. (2017) N-acetylated proline-glycine-proline accelerates cutaneous wound healing and neovascularization by human endothelial progenitor cells. *Scientific Reports*, vol. 7, article 43057. DOI: 10.1038/srep43057 (In English)
- Kwon, Y. W., Lee, S. J., Heo, S. C. et al. (2019) Role of CXCR2 in the ac-PGP-induced mobilization of circulating angiogenic cells and its therapeutic implications. *Stem Cells Translational Medicine Journal*, vol. 8, no. 3, pp. 236–246. DOI: 10.1002/sctm.18-0035 (In English)
- Lyapina, L. A., Myasoedov, N. F., Grigor'eva, M. E. et al. (2013) Sovremennaya kontseptsiya regulatornoj roli peptidov semeystva gliprolinov v korrektsii funktsii sistemy gemostaza pri razvitii sakharnogo diabeta [The modern concept of the regulatory role of peptides of the glyproline family in the correction of hemostasis system function during development of diabetes mellitus]. *Izvestiya Rossijskoj akademii nauk. Seriya biologicheskaya — Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Biological Series*, no. 4, pp. 453–462. DOI: 10.7868/S0002332913040103 (In Russian)
- Ma, Y., Kleinbeck, K., Kao, W. J. (2011) Extracellular matrix-derived tripeptide proline-glycine-proline inhibits keratinocyte proliferation and migration. *Wound Repair and Regeneration*, vol. 19, no. 6, pp. 718–726. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2011.00734.x (In English)
- Marinelli, L., Fornasari, E., Di Stefano, A. D. et al. (2019) Synthesis and biological evaluation of novel analogues of Gly-l-Pro-l-Glu (GPE) as neuroprotective agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 29, no. 2, pp. 194–198. DOI: 10.1016/j.bmcl.2018.11.057 (In English)
- Myasoedov, N. F., Shubina, T. A., Obergan, T. Yu. et al. (2013) Gipokholesterinemicheskoe dejstvie regulatornogo peptida Pro-Gly-Pro-Leu [Cholesterol-lowering effect of the regulatory peptide Pro-Gly-Pro-Leu]. *Voprosy pitaniya — Problems of Nutrition*, vol. 82, no. 5, pp. 41–45. (In Russian)
- O'Reilly, P., Jackson, P. L., Noerager, B. et al. (2009) N-alpha-PGP and PGP, potential biomarkers and therapeutic targets for COPD. *Respiratory Research*, vol. 10, article 38. DOI: 10.1186/1465-9921-10-38 (In English)
- Overbeek, S. A., Henricks, P. A. J., Srienc, A. I. et al. (2011) N-acetylated Proline-Glycine-Proline induced G-protein dependent chemotaxis of neutrophils is independent of CXCL8 release. *European Journal of Pharmacology*, vol. 668, no. 3, pp. 428–434. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.03.022 (In English)
- Pastorova, V. E., Lyapina, L. A., Ashmarin, I. P. (2003) Prevention of thrombus formation with glyprolines on various models of prethrombotic state and thrombosis in rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 136, no. 4, pp. 319–322. DOI: 10.1023/b:bebm.0000010940.80757.90 (In English)
- Pfister, R. R., Haddox, J. L., Sommers, C. I. (1998) Injection of chemoattractants into normal cornea: A model of inflammation after alkali injury. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 39, no. 9, pp. 1744–1750. PMID: 9699566. (In English)
- Pfister, R. R., Haddox, J. L., Sommers, C. I., Lam, K. W. (1995) Identification and synthesis of chemotactic tripeptides from alkali-degraded whole cornea. A study of N-acetyl-proline-glycine-proline and N-methyl-proline-glycine-proline. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 36, no. 7, pp. 1306–1316. PMID: 7775108. (In English)
- Roda, M. A., Xu, X., Abdalla, T. H. et al. (2019) Proline-glycine-proline peptides are critical in the development of smoke-induced emphysema. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, vol. 61, no. 5, pp. 560–566. DOI: 10.1165/rcmb.2018-0216OC (In English)

- Samonina, G., Lyapina, L., Kopylova, G. et al. (2000) Protection of gastric mucosal integrity by gelatin and simple proline-containing peptides. *Pathophysiology*, vol. 7, no. 1, pp. 69–73. DOI: 10.1016/s0928-4680(00)00045-6 (In English)
- Samonina, G. E., Kopylova, G. N., Sergeev, V. I. et al. (2001) Korrektsiya zheludochnogo krovotoka kak odin iz vozmozhnykh mekhanizmov protivoyazvennykh effektiv korotkikh prolinsoderzhashchikh peptidov [Correction of gastric blood flow as one of the possible mechanisms of antiulcer effects of short proline-containing peptides]. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 87, no. 11, pp. 1488–1492. (In Russian)
- Saura, J., Curatolo, L., Williams, C. E. et al. (1999) Neuroprotective effects of Gly-Pro-Glu, the N-terminal tripeptide of IGF-1, in the hippocampus in vitro. *NeuroReport*, vol. 10, no. 1, pp. 161–164. DOI: 10.1097/00001756-199901180-00031 (In English)
- Seredenin, S. B., Gudasheva, T. A., Boiko, S. S. et al. (2002) Endogenous dipeptide cycloprolylglycine shows selective anxiolytic activity in animals with manifest fear reaction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 133, no. 4, pp. 360–362. DOI: 10.1023/A:1016293904149 (In English)
- Shabalina, A. A., Lyapina, L. A., Rochev, D. L. et al. (2015) Gipolipidemicheskie i fibrindepolymerizatsionnye efekty regulatorynykh lejtsinsoderzhashchikh gliprolinov v krovi cheloveka in vitro [In vitro lipid-lowering and fibrinolytic effects of regulatory leucine-containing glyprolines in human blood]. *Izvestiya Rossijskoj akademii nauk. Seriya biologicheskaya — Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Biological Series*, no. 1, pp. 85–89. DOI: 10.7868/S0002332915010129 (In Russian)
- Shevchenko, K. V., Nagaev, I. Yu., Andreeva, L. A. et al. (2019) Ustojchivost' prolinsoderzhashchikh peptidov v biologicheskikh sredakh [Stability of prolin-containing peptides in biological media]. *Biomeditsinskaya khimiya*, vol. 65, no. 3, pp. 180–201. DOI: 10.18097/PBMC20196503180 (In Russian)
- Shigemura, Y., Iwasaki, Y., Tateno, M. et al. (2018) A pilot study for the detection of cyclic prolyl-hydroxyproline (Pro-Hyp) in human blood after ingestion of collagen hydrolysate. *Clinical Trial Nutrients*, vol. 10, no. 10, article 1356. DOI: 10.3390/nu10101356 (In English)
- Sikiric, P., Seiwerth, S., Rucman, R. et al. (2016) Brain-gut axis and pentadecapeptide BPC 157: Theoretical and practical implications. *Current Neuropharmacology*, vol. 14, no. 8, pp. 857–865. DOI: 10.2174/1570159X13666160502153022 (In English)
- Snelgrove, R. J., Jackson, P. L., Hardison, M. T. et al. (2010) A critical role for LTA₄H in limiting chronic pulmonary neutrophilic inflammation. *Science*, vol. 330, no. 6000, pp. 90–94. DOI: 10.1126/science.1190594 (In English)
- Umarova, B. A., Kopylova, G. N., Smirnova, E. A. et al. (2003) Secretory activity of mast cell during stress: Effect of prolyl-glycyl-proline and Semax. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 136, no. 4, pp. 325–327. DOI: 10.1023/b:bebm.0000010942.14275.50 (In English)
- van Houwelingen, A. H., Weathington, N. M., Verweij, V. et al. (2008) Induction of lung emphysema is prevented by L-arginine-threonine-arginine. *The FASEB Journal*, vol. 22, no. 9, pp. 3403–3408. DOI: 10.1096/fj.07-096230 (In English)
- Wells, J. M., Gaggar, A., Blalock, J. E. (2015) MMP generated matrikines. *Matrix Biology*, vol. 44–46, pp. 122–129. DOI: 10.1016/j.matbio.2015.01.016 (In English)
- Zhuikova, S. E., Badmaeva, K. E., Bakaeva, Z. V. et al. (2004) Protivoyazvennye efekty tripeptida PGP i ego vozmozhnykh metabolitov — PG, GP, glitsina i prolina — na raznykh modelyakh vyzova yazv u kryss [Antiulcer effects of PGP tripeptide and its possible metabolites — PG, GP, glycine and proline — in different models of ulceration in rats]. *Izvestiya Rossijskoj akademii nauk. Seriya biologicheskaya — Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Biological Series*, no. 5, pp. 585–588. (In Russian)
- Zhuikova, S. E., Badmaeva, K. E., Samonina, G. E., Plesskaya, L. G. (2003a) Semaks i nekotorye gliprolinovye peptidy uskoryayut zazhivlenie atsetatnykh yazv u kryss [Semax and certain glyproline peptides accelerate acetate ulcer healing in rats]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya — Experimental & Clinical Gastroenterology*, no. 4, pp. 88–92. (In Russian)
- Zhuikova, S. E., Bakaeva, Z. V., Samonina, G. E. (2003b) Differentsirovannye protivoyazvennye efekty vozmozhnykh metabolitov peptida PGP — PG i GP — na etanolovoj i stressornoj modelyakh vyzova yazv u kryss [Differentiated antiulcer effects of possible PGP peptide metabolites — PG and GP — in ethanol and stress models of ulcer induction in rats]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya*, no. 2, pp. 20–22. (In Russian)
- Zhuikova, S. E., Khropycheva, R. P., Zolotarev, V. A., Polenov, S. A. (2003c) Novye peptidnye regulatory zheludochnoj sekretsii kryss (amilin, PGP i semaks) [New peptide regulators of gastric secretion in rats (amylin, PGP and semax)]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya — Experimental & Clinical Gastroenterology*, no. 2, pp. 86–90. (In Russian)
- Zolotarev, Yu. A., Zhuikova, S. E., Ashmarin, I. P. et al. (2003) Metabolism of PGP peptide after administration via different routes. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 135, no. 4, pp. 361–364. DOI: 10.1023/a:1024612831380 (In English)

Лаборатории сравнительной генетики поведения — 70 лет

Н. Г. Лопатина^{✉1}, Н. Г. Камышев¹

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

Сведения об авторах

Нина Георгиевна Лопатина,
SPIN-код: 2856-6180,
Scopus AuthorID: 35526198700,
ORCID: 0000-0003-1392-4002,
e-mail: lopatina_ng@infran.ru

Николай Григорьевич Камышев,
SPIN-код: 4461-9955,
Scopus AuthorID: 6603773316,
ORCID: 0000-0002-3611-7417,
e-mail: kamyshevng@infran.ru

Для цитирования:

Лопатина, Н. Г., Камышев, Н. Г.
(2020) Лаборатории
сравнительной генетики
поведения — 70 лет.
Интегративная физиология, т. 1,
№ 4, с. 317–329.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-
4-317-329

Получена 2 июля 2020;
прошла рецензирование 18 июля
2020; принята 4 августа 2020.

Права: © Авторы (2020).
Опубликовано Российским
государственным педагогическим
университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях
лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Статья посвящена 70-летию юбилею одной из генетических лабораторий Института физиологии им. И. П. Павлова — лаборатории сравнительной генетики поведения, на протяжении 70 лет неоднократно менявшей свое название: от лаборатории по переделке безусловных рефлексов (1 августа 1950 года), лаборатории физиологии низших животных и, наконец, с 1965 года и поныне — лаборатории сравнительной генетики поведения. В статье освещен неоценимый научный теоретический вклад руководителей лаборатории — М. Е. Лобашева и В. В. Пономаренко. Это новые главы в учении И. П. Павлова «Биология и генетика условного рефлекса», по-новому раскрывшие значение механизма условного рефлекса в интеграции и координации процессов клеточной и тканевой дифференциации внутри многоклеточного организма; в онтогенетической адаптации к экстремальным факторам внешней среды, уводящей организм от элиминации естественным отбором; сигнальной наследственности, передачи индивидуального опыта между поколениями живых существ. Это концепция системной нейроэндокринной регуляции генетических и цитогенетических процессов, позволившая выделить особую роль состояния нервной системы (уровень ее возбудимости, тонуса по И. П. Павлову) в реализации генетической информации в отношении поведенческих признаков по принципу обратной связи в соответствии с текущими нуждами организма, влиянием условий внешней среды и индивидуальным опытом. Это использование мутаций гомологичных генов у представителей животного мира, стоящих на разных ступенях филогенетического развития, с целью изучения малоисследованных эндогенных нейроактивных соединений, таких как кинуренины. Мутации генов, контролирующих метаболизм цАМФ, были получены в лаборатории с использованием химического мутагенеза (Е. В. Савватеева, Н. Г. Камышев). Наконец, это выявление с использованием Р-инсерционного мутагенеза новых генов, контролирующих когнитивную и моторную деятельность, и изучение механизмов их влияния. Для этого создана современная методическая и приборная молекулярно-генетическая база, собственное программное обеспечение (Н. Г. Камышев), полная автоматизация регистрации поведения насекомых.

Ключевые слова: биология и генетика условного рефлекса, онтогенетическая адаптация, сигнальная наследственность, концепция системной регуляции генетических и цитогенетических процессов, мутации генов, исторический аспект.

The 70th anniversary of the Laboratory of Comparative Behavioral Genetics

N. G. Lopatina^{✉1}, N. G. Kamyshev¹

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

Authors

Nina G. Lopatina,
SPIN: 2856-6180,
Scopus AuthorID: 35526198700,
ORCID: 0000-0003-1392-4002,
e-mail: lopatina_ng@infran.ru

Nikolai G. Kamyshev,
SPIN: 4461-9955,
Scopus AuthorID: 6603773316,
ORCID: 0000-0002-3611-7417,
e-mail: kamyshevng@infran.ru

For citation:

Lopatina, N. G., Kamyshev, N. G. (2020) The 70th anniversary of the Laboratory of Comparative Behavioral Genetics. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 4, pp. 317–329. DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-317-329

Received 2 July 2020;
reviewed 18 July 2020;
accepted 04 August 2020.

Copyright: © The Authors (2020).
Published by Herzen State
Pedagogical University of Russia.
Open access under CC BY-NC 4.0.

Abstract. The article is dedicated to the 70th anniversary of the Laboratory of Comparative Behavioral Genetics of the Pavlov Institute of Physiology. For 70 years, the laboratory has repeatedly changed its name: Laboratory of Unconditioned Reflexes Rearrangement (1 August 1950); Laboratory of Lower Animals Physiology, and finally, from 1965 to date, Laboratory of Comparative Behavioral Genetics. The laboratory heads — M. E. Lobashev and V. V. Ponomarenko — elaborated the Pavlov's paradigm of biology and genetics of the conditioned reflex. They displayed the new significance of conditioned reflex mechanism in a range of areas: the integration and coordination of cellular and tissue differentiation; the ontogenetic adaptation to extreme environmental factors preventing an organism from elimination by natural selection; the signal heredity and the transfer of individual experience between generations of living creatures. The research at the laboratory focuses on systemic neuroendocrine regulation of genetic and cytogenetic processes. It highlights the special role of the nervous system state (according to I. P. Pavlov — level of excitability, tone) in gene expression regarding behavioral traits. Gene expression relies on a feedback mechanism which analyses the current needs of an organism, external conditions and individual experience. Another area of research is the usage of homologous genes mutations in different animals at different branches of a phylogenetic tree with an aim to explore endogenous neuroactive compounds — kynurenines. Chemical mutagenesis allowed to produce the cAMP metabolism gene mutations (E. V. Savvateeva, N. G. Kamyshev). Finally, P-insertional mutagenesis conducted by the laboratory allowed to identify and study new genes controlling cognitive and motor activity. For this purpose, the laboratory developed a modern instrumental molecular genetic base, its own software (N. G. Kamyshev), and a fully automatic registration of insect behavior.

Keywords: biology and genetics of the conditioned reflex, ontogenetic adaptation, signal heredity, the concept of systemic regulation of genetic and cytogenetic processes, gene mutations, historical aspect.

Для одной из лабораторий Института физиологии им. И. П. Павлова РАН, лаборатории сравнительной генетики поведения, 2020 год — юбилейный. 1 августа 2020 года со дня основания лаборатории исполнилось 70 лет. Ее основателем и, соответственно, первым заведующим был генетик, профессор, доктор биологических наук Михаил Ефимович Лобашев.

В Институт эволюционной физиологии и патологии высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова АМН СССР (ныне Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, далее в тексте «Институт») Михаила Ефимовича пригласил в 1949 году директор Института академик Леон Абгарович Орбели, спасая его таким образом от безработицы. Безработным Михаил Ефимович оказался после знаменитой августовской сессии ВАСХНИЛ им. В. И. Ленина

1948 года, разгромившей в СССР классическую («формальную») генетику. Михаила Ефимовича, сотрудника кафедры генетики и экспериментальной зоологии, декана биологического факультета Ленинградского университета им. А. А. Жданова (ЛГУ), уволили из университета как приверженца классической генетики. В те годы быть менделистом-морганистом, то есть следовать учению Грегора Менделя и Томаса Морганна, считалось чуть ли не преступлением.

В надежде получить в будущем лабораторию в Институте Михаил Ефимович сразу же начал разрабатывать план исследований на стыке физиологии и генетики, стараясь сочетать интересы и той, и другой науки. Сочетание генетического и физиологического мышления, впитавшего идеи и размышления Дмитрия

Николаевича Насонова (Насонов, Александров 1940) о субстанциональных изменениях, происходящих в клетках в ответ на действие факторов внешней среды (теория паранекроза), было не чуждо Михаилу Ефимовичу (Лобашев 1946; 1947), что впоследствии принесло прекрасные научные плоды. Об этом можно судить по докторской диссертации Михаила Ефимовича, посвященной изучению физиологических, паранекротических механизмов мутационного процесса, и по сформулированной тогда же гипотезе системной регуляции генетических и цитогенетических процессов.

Под флагом борьбы за чистоту учения И. П. Павлова на сессии двух Академий — Медицинской и Академии наук СССР — в 1950 году был лишен поста директора Института академик Л. А. Орбели.

Однако, к счастью, Михаил Ефимович уцелел. Представленный им план исследований был принят новым директором Института академиком Константином Михайловичем Быковым, и 1 августа 1950 года Михаил Ефимович стал заведующим вновь созданной лаборатории, которая поначалу носила приличествующее тому времени название «лаборатории по переделке безусловных рефлексов». Предполагалось повышение продуктивности кур, уток, медоносных пчел и шелковичного червя. Первоначально лаборатория располагалась в здании ветеринарного пункта на территории вивария, по соседству с лающими собаками, мяукающими кошками и др. Это здание было снесено в 1983 году. В 50-е годы оно сразу же обросло новыми постройками — фанерными домиками, где поселились куры и утки. Весь этот комплекс получил название «деревня Лобашевка». Для пропитания шелковичных червей в парке Института была высажена по склону, параллельному «лиственничной» аллее, плантация шелковицы — тутового дерева. Весьма прожорливые шелковичные черви жили в теплицах на стеллажах внутри лаборатории. Пасека (несколько ульев) располагалась под окнами ветпункта.

В одном здании с лабораторией Лобашева размещались лаборатория физиологии сельскохозяйственных животных профессора Ивана Афанасьевича Барышникова и медицинский склад (зав. — Лидия Александровна Кокко).

Первыми сотрудниками лаборатории были старший научный сотрудник, кандидат биологических наук Анна Капитоновна Воскресенская, младший научный сотрудник Ираида Антоновна Никитина, ранее окончившая кафедру генетики и экспериментальной зоологии ЛГУ, и студент 4-го курса Володя Савватеев.

А. К. Воскресенская, любимая и любящая ученица Леона Абгаровича, вернулась под крыло своего учителя, как только представилась тому возможность (60-е годы). Володя Савватеев, генетик по призванию, с 1948 года по совету Михаила Ефимовича доучивался на кафедре общей и сравнительной физиологии, руководимой академиком Дмитрием Николаевичем Насоновым. Лаборантами были Агриппина Яковлевна Вильканец, превосходно владеющая гистологическими методиками, Мария Ивановна Мананкова, Александра Никандровна Волкова, техник Владимир Иванович Аверьянов и лабораторная служительница Ольга Ивановна Спиридонова. В составе лаборатории был и пчеловод — Константин Николаевич Болоховский, ранее состоявший в той же должности у И. П. Павлова (в память об увлечении Ивана Петровича пчелами на террасе здания, где он работал и отдыхал, стоит стеклянный наблюдательный улей). Вскоре по рекомендации Володи Савватеева к работе лаборатории присоединилась и Н. Г. Лопатина — студентка 5-го курса ЛГУ по кафедре общей и сравнительной физиологии. Естественно, лаборатория постепенно разрасталась, пополняясь новыми научными сотрудниками, среди которых были Валентина Васильевна Пономаренко, также окончившая кафедру Д. Н. Насонова, Галина Петровна Смирнова, Елена Георгиевна Чеснокова, Владимир Георгиевич Маршин и др., а также студентами из южных республик СССР (Азербайджан, Средняя Азия), Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Петрозаводского государственного университета и, конечно, ЛГУ.

Несмотря на сугубо авторитарный стиль руководства Михаила Ефимовича, в лаборатории всегда царил удивительно теплая атмосфера, располагающая к работе «не за страх, а за совесть».

К концу 50-х — началу 60-х руководство страны сменило по отношению к генетике гнев на милость, что позволило М. Е. Лобашеву легализовать исследования, ведущиеся в лаборатории, открыто признать их вклад в генетику поведения. В то же время М. Е. Лобашев покинул Институт физиологии и вернулся в Ленинградский университет, возглавив в 1957 году кафедру генетики и селекции. ВРИО заведующего лабораторией, а затем группы физиологии низших животных на небольшой промежуток времени стала с. н. с., к. б. н. Н. Г. Лопатина.

В 1965 году при директоре академике Владимире Николаевиче Черниговском группа вновь обрела статус лаборатории, но уже лаборатории

сравнительной генетики поведения. Под этим названием она функционирует по сию пору. Заведующей лабораторией стала Валентина Васильевна Пономаренко. В 2000 году в связи с кончиной Валентины Васильевны лабораторию возглавил д. б. н. Николай Григорьевич Камышев — выпускник кафедры генетики и селекции ЛГУ, выполнявший дипломную, а затем и кандидатскую, и докторскую работы в этой лаборатории.

Таким образом, за 70 лет своего существования лаборатория неоднократно меняла свое название в соответствии с основным направлением научных исследований: август 1950 г. — 1951 г. — «лаборатория по переделке безусловных рефлексов», 1951–1965 г. — «лаборатория физиологии низших животных», с 1965 г. по настоящее время — «лаборатория сравнительной генетики поведения».

В 50-е годы с целью подтверждения/опровержения высказанного И. П. Павловым положения об универсальности условного рефлекса (временной связи) (Павлов 1951) в ряде лабораторий института широким планом проводили исследования особенностей закономерности условно-рефлекторной деятельности (УРД) у животных, стоящих на разных уровнях филогенетического развития нервной системы. Лаборатория М. Е. Лобашева подключилась к этому направлению исследований. Объектами исследования, так же как в других лабораториях, были рыбы, птицы и, кроме того, насекомые. Избирая объекты исследования, Михаил Ефимович преследовал сразу несколько целей: изучение особенностей УРД у низших животных, практическую пользу, которую они могли бы принести, но главное, задел для будущей генетики поведения. В том, что такое время наступит, Михаил Ефимович не сомневался. В связи с этим УРД изучали у кур, но не просто у кур, а у разных их пород (леггорны, русские белые, австралорпы и др.), у уток разных пород (пекинские, украинские серые), у медоносных пчел разных географических рас (итальянские, краинские, грузинские, среднерусские и др.), у близких видов осетровых рыб (осетр куринский, осетр сибирский, шип, стерлядь). Естественно, потребовалась большая изобретательность для адаптации методик, разработанных И. П. Павловым и его сотрудниками для собак с целью изучения свойств нервных процессов и особенностей УРД, для представителей других форм животного мира.

Первые оценки содеянного прозвучали в фольклоре — частушках, которые сотрудники весело распевали под гармонь В. И. Аверьянова.

Там были, например, такие слова: «И обычные куры не такие уж дуры», или «Вот зажегся красный свет, но осетр нам сразу — нет, не дурак я, не пойду — мотыля там не найду». А успехи на пчелах настраивали на лирический лад. Действительно оказалось, что маленькая пчелка совершенно спокойно, легко (с одного сочетания) может вырабатывать условный рефлекс на раздражители многих модальностей, и на одиночные, и на цепи раздражителей, и при пищевом, и при оборонительном подкреплении. Пчелы могут по условному сигналу высунуть хоботок или жало, встать в специфическую позу для вентилирования крыльями. Удавалось легко выработать условные рефлексы 2-го порядка, дифференцировочные, запаздывательные, следовые, эстраполяционные. Удивительно, но если у пчел в помещении лаборатории в плексигласовой коробочке выработать определенный стереотип посещения цветных раздражителей, а затем выпустить пчел в природные условия, где будут расставлены цветные щиты, то пчелы после краткого ориентировочного облета начнут посещать их в выработанной в лаборатории последовательности (перенос опыта). Это были первые опыты, за ними последовали многие другие, выполненные отечественными (Мазохин-Поршняков 1965) и зарубежными авторами (Howard et al. 2019), показавшие сложность высшей нервной деятельности у этих насекомых. А. К. Воскресенская (Воскресенская 1957) впервые показала роль грибовидных тел мозга в УРД пчелы. Чтобы расстаться с пчелиной темой, сообщим, что дальнейшие исследования сотрудников лаборатории (И. А. Никитиной, Е. Г. Чесноковой, Н. Г. Лопатиной) показали, насколько востребована способность пчел к образованию условных связей в их жизнедеятельности, пищедобывательной и другой — в ориентации в пространстве, в сигнализации и др. Полученные данные полностью меняли представление об инстинктивной деятельности насекомых как исключительно врожденных, почти автоматических актах поведения. Результаты этих исследований подытожены в кандидатских диссертациях сотрудников, в докторской диссертации и монографии (Лопатина 1975).

Научным итогом этого этапа исследований стал большой цикл теоретических статей и положений, высказанных М. Е. Лобашевым. Главнейшим из них несомненно является смелое на тот момент заявление о параллелизме в развитии основных свойств высшей нервной деятельности в филогенезе первично- и вторичноротых животных на генетической основе,

общей у исходных предков обоих этих рядов (Лобашев 1960).

Проведенные исследования позволили М. Е. Лобашеву значительно расширить границы понимания биологического и физиологического значения механизма условного рефлекса (Лобашев 1964). М. Е. Лобашев пророчески усматривал молекулярное единство процессов, лежащих в основе внутри- и межклеточных взаимодействий и при формировании рефлекторной связи. Помимо механизма приспособления к меняющимся условиям внешней среды (активного уравнивания), Михаил Ефимович видел роль условного рефлекса в качестве механизма интеграции и координации процессов тканевой и клеточной дифференциации внутри многоклеточного организма, с одной стороны, и в качестве механизма передачи индивидуального опыта между поколениями живых существ, с другой (сигнальная наследственность) (Лобашев 1961). При этом из сформулированного М. Е. Лобашевым представления о сигнальной наследственности был сделан такой нетривиальный вывод: каждый человек должен отдавать людям все свои способности для увеличения общего духовного достояния — только так каждый неповторимый человеческий индивидуум может оставить свой след в обществе. Особое значение М. Е. Лобашев придавал условному рефлексу как механизму, в основе которого лежит установление связи между двумя очагами возбуждения в нервной системе, позволяющего увеличивать размах онтогенетической адаптации организма и таким образом выводить его из-под контроля естественного отбора. Этот механизм делает мозг пластичным и в современных условиях широко используется психологами, психотерапевтами и невропатологами для восстановления работы мозга после любого рода повреждений (Дойдж 2010). М. Е. Лобашев впервые в нашем отечестве показал эту роль условного рефлекса. Двухфазный ритм освещения у кур в сочетании с пищевым подкреплением приводил и к изменению ритма откладки яиц, и к усилению сумеречного зрения. Сочетание сверхсильного звукового раздражителя с основным пищевым подкреплением приводило к существенному увеличению стрессоустойчивости у кур. В. В. Пономаренко показала, что этот способ повышения адаптивных возможностей организма универсален. Сочетая высокую температуру с пищей, ей удалось расширить границы температурной адаптации у гидры. Важно подчеркнуть, что при этом она наблюдала повышение возбудимости сомы гидры. Эта часть исследований подробно

освещена в кандидатской диссертации и монографии В. Б. Савватеева (совместно с М. Е. Лобашевым), талантливейшего ученика и сотрудника Михаила Ефимовича, преждевременно погибшего в автокатастрофе 28 октября 1959 года (Лобашев, Савватеев 1959).

Как уже упоминалось выше, в конце 50-х — начале 60-х отношение к генетике изменилось...

С этого момента лаборатория уже совершенно открыто стала развивать генетическую компоненту в физиологических исследованиях поведения, благо база для этого была создана всем предыдущим этапом работы лаборатории.

Тем не менее сотрудникам лаборатории — физиологам необходимо было пройти курсы по повышению квалификации по генетике, что и было сделано. Сюда входило посещение общих лекций по генетике и разнообразных практикумов на кафедре генетики и селекции ЛГУ.

Новым объектом исследования в лаборатории стала плодовая мушка-дрозофила — излюбленный генетический объект. Создание нужных условий ее содержания потребовало больших усилий. Здесь необходимо отдать должное младшему научному сотруднику Галине Петровне Смирновой, которая вместе с лаборантом Ниной Николаевной Фомичевой и другими сотрудниками наладила этот процесс на высочайшем уровне. Надо отметить, что эта высокая планка поддерживается в лаборатории до сих пор уже другим поколением сотрудников. Переоборудование лаборатории шло уже в другом помещении — в половине вновь построенного для изоляции животных здания. Оно размещалось по левую руку от так называемого 2-го Лабораторного корпуса Института. Этот корпус изначально строился для трех лабораторий, так или иначе связанных с сельскохозяйственными объектами исследования, — лаборатории физиологии сельскохозяйственных животных (зав. — д. б. н. Иван Афанасьевич Барышников), лаборатории физиологии низших животных (зав. — д. б. н. Михаил Ефимович Лобашев) и лаборатории экологической физиологии (зав. — д. б. н. Абрам Данилович Слоним). Сотрудники активно трудились над проектом, где были предусмотрены и климатокамеры, и многое другое. Но... В конце 50-х умирает академик К. М. Быков. Директором Института становится академик Владимир Николаевич Черниговский, и, соответственно, меняются приоритеты: на первый план выступают исследования космического масштаба, создаются новые лаборатории, которые и размещаются в новом лабораторном корпусе.

Несмотря на весьма скромные условия существования, работа в лаборатории после того, как ее покинул М. Е. Лобашев, продолжается с прежним энтузиазмом и оптимистическим настроением всех без исключения сотрудников.

В завершение этапа сравнительного изучения особенностей УРД у указанных выше представителей низших животных были проведены реципрокные и другие необходимые типы скрещиваний. Это дало возможность сделать вывод о матроклинном характере наследования целого ряда адаптивных, связанных с биологической специализацией, свойств, включая физиологические и поведенческие особенности у птиц, рыб, насекомых. Исследования свидетельствовали также о наличии генетических корреляций между параметрами процесса возбуждения: ряд нейрофизиологических признаков, характеризующих процесс возбуждения, наследуется совместно по материнской линии (Пономаренко 1976).

Проведенная Валентиной Васильевной Пономаренко большая работа по изучению оптимальных условий содержания осетровых рыб дала возможность впоследствии предложить для разведения на рыбзаводе в Киришах наиболее перспективного гибрида — белошипа. Активное участие в этой работе принимал и к. т. н. Юрий Исаевич Левкович. К сожалению, эта работа была прекращена вскоре после кончины В. В. Пономаренко (2000 год) и не получила промышленного выхода. Работы проводили совместно с Азербайджаном (Рафик Юнусович Касимов — бывший аспирант лаборатории).

Дальнейшая работа лаборатории проистекала в русле мировой тенденции, а именно изучения конкретных физиологических и биохимических механизмов действия гена на поведение («от гена к поведению»). При этом В. В. Пономаренко, одна из немногих физиологов-генетиков, придерживалась теоретического положения о необходимости функционирования генов не только в период эмбрионального развития организма, но и на протяжении всей его последующей жизни. Валентина Васильевна охотно делилась своими мыслями с физиологическим сообществом, выступая с докладами, лекциями на физиологических съездах, конгрессах, симпозиумах, собирая при этом огромные аудитории.

Специфический для лаборатории характер мышления — эволюционный — приводил к необходимости поиска таких физиологических признаков, которые бы определяли работу нервной системы на всех ее уровнях и на всем протяжении животного мира — генов, детер-

минирующих лимиты функциональной активности нервной системы и ее основного показателя — возбудимости (тонуса нервной системы по И. П. Павлову). Возбудимость обеспечивает оптимальную деятельность нервной системы и проявление специфических видов поведения, включая обучение.

Проведенные исследования подтвердили правильность избранного курса исследований. Исследования проводили на традиционных для лаборатории объектах, включая дрозофилу, с использованием как сравнительного, так и селекционного и мутационного методов. Они выявили высокий уровень корреляций между нейрональной и поведенческой активностью, а также активностью генетического аппарата и, в частности, такого сложного феномена, как кроссинговер (частоты генных рекомбинаций) (Пономаренко 1976). Селекционный эксперимент по предложению В. В. Пономаренко был осуществлен уже в другой лаборатории — генетики высшей нервной деятельности (ВНД), ведущей которой в феврале 1973 года стала д. б. н. Н. Г. Лопатина, сменив на этом посту погибшего в автокатастрофе профессора, д. б. н., лауреата премии И. П. Павлова Виктора Константиновича Федорова. Селекцию линий крыс по порогу возбудимости большеберцового нерва проводил (и до сих пор поддерживает линии) д. б. н. Александр Иванович Вайдо, реализовав в этих линиях крайние варианты популяционной нормы. Многолетний селекционный эксперимент (с 1973 года до наших дней), о результатах которого будет кратко сообщено ниже, впервые был подытожен в главе Руководства по физиологии (Лопатина, Пономаренко 1987), и в целом подтвердилось существование той же закономерности, выявленной с помощью сравнительно-генетического и мутационного методов исследования. Дивергенция линий крыс по порогу возбудимости периферического нерва привела к однонаправленной дивергенции по порогу возбудимости других, в том числе центральных, районов нервной системы, к повышению общей нейрональной активности (тонуса), а также, с одной стороны, к дивергенции поведенческой активности (способности к обучению и сохранению в памяти приобретаемого опыта, стратегии поведения в нормальных и стрессовых обстоятельствах, адаптивных ресурсов), с другой стороны — к изменениям в работе генетического аппарата (состояние хроматина и его эпигенетические модификации, активность ретротранспозонов и др.).

Это позволило В. В. Пономаренко сделать поистине революционное заключение о суще-

ствовании обратной связи, то есть о взаимном влиянии генов на работу нервной системы и обратно — нервной системы на реализацию содержащейся в генах информации. По В. В. Пономаренко, одной из существенных функций нервной системы является регуляция активности генетического аппарата по принципу обратной связи в соответствии с текущими нуждами организма, требованиями среды и его индивидуальным опытом. Это положение было мгновенно усвоено физиологами и сейчас встречается в физиологических работах без ссылки на автора. Хорошо запомнился тот день, когда Валентина Васильевна после бессонной ночи поделилась своими взволновавшими всех мыслями. Было найдено недостающее звено — нейроэндокринное — в гипотезе Лобашева о системной регуляции генетических и цитогенетических процессов. Теперь она приобрела стройный вид.

Вторым направлением исследований лаборатории было изучение роли конкретных генов с известным биохимическим проявлением в детерминации деятельности нервной системы и поведении. Выбор был остановлен на генах, контролирующих кинурениновый путь обмена триптофана в организме. Изучение нейроактивной роли кинуренинов в тот период времени (60-е годы) еще только зарождалось. В нашей стране пионером в этой области исследований был профессор д. б. н. Изяслав Петрович Лапин (Лапин 2004). Объектом исследований его и других зарубежных авторов служили позвоночные животные — грызуны. В. В. Пономаренко предложила использовать в качестве инструмента исследования мутационный метод — мутаций гомологичных генов дрозофилы и пчелы, контролирующих у насекомых синтез зрительных пигментов оммохромов. Оммохромы — конечное звено обмена триптофана по кинурениновому пути. Использование природных мутаций генов нейроактивных соединений для изучения их физиологического значения — это тоже новаторский прием. Даже М. Е. Лобашев не сразу оценил это предложение В. В. Пономаренко. Очень многими отечественными физиологами эти работы были встречены в штыки, поскольку термин «мутация» ассоциировался с чем-то очень вредным.

Мутации генов, блокируя активность соответствующих ферментов, приводят либо к избытку, либо к недостатку того или иного кинуренина и так или иначе отражаются на цвете глаз насекомого. Возможно, в связи с этим соответствующая цепочка мутаций ранее всех была выявлена и описана биологами. Нам оста-

валось только брать насекомое, несущее в своем генотипе ту или иную мутацию, и изучать действие того или иного кинуренина на поведение и нейрологические признаки. Однако если получить и разводить мутантных особей дрозофилы не составило большого труда, то для получения мутантных особей пчелы потребовалась большая помощь наших зарубежных коллег (Н. Laidlaw, USA; F. Ruttner, Germany; J. Woynke, Polska), за что мы им глубоко благодарны. Доктор Гарри Лейдлоу, доктор Фридрих Руттнер, доктор Ежи Войке передавали нам мутантных пчелиных маток, бесценный материал, тем или иным способом — легальным, через таможню, или нелегальным, из рук в руки, на съездах пчеловодов — в течение многих лет. Разводить их у себя нам оказалось не под силу. Исследования на дрозофиле обобщены в кандидатской, а затем и в докторской диссертациях Н. Г. Камышева. Исследования на пчеле — в главе монографии «Неврозы» (Лопатина и др. 1989), обобщающих статьях Лопатиной, Пономаренко (Лопатина и др. 2004; 2007). Важно подчеркнуть, что исследования, проведенные на насекомых, позволили выявить такие стороны действия кинуренинов, которые почти невозможно изучить у позвоночных животных из-за большей продолжительности жизни. Так, было показано влияние кинуренинов как на скорость созревания функциональных возможностей нервной системы, так и на процесс старения, двойственный характер воздействия на эти признаки 3-гидроксикинуренина. Возбуждающее действие кинуренина также впервые было показано на пчеле, а затем подтверждено в исследованиях И. П. Лапина и других авторов на позвоночных животных. В настоящее время с. н. с., к. б. н. Александр Владимирович Журавлев в лаборатории нейрогенетики, отпочковавшейся от лаборатории сравнительной генетики поведения и лаборатории генетики ВНД в конце прошлого века (зав. лаб. — д. б. н. Елена Владимировна Савватеева-Попова), проводит работу по выявлению рецепции кинуренинов, почти совсем не изученной.

В феврале 1973 года Н. Г. Лопатина прошла по конкурсу на заведование лабораторией генетики ВНД. Вплоть до 2000 года работа лаборатории продолжала развиваться под руководством В. В. Пономаренко в трех направлениях. Это (1) исследования, направленные на доказательство нейрогормональной регуляции генетических и цитогенетических процессов, (2) матроклинное наследование поведенческих признаков (в основном исследования на межвидовых гибридах осетровых рыб) и (3) изучение

поведенческих эффектов мутаций с известным биохимическим проявлением. Последнее направление продолжало развиваться наиболее интенсивно. Исследования влияния мутаций кинуренинового пути обмена триптофана на поведение дрозофилы проводили Г. П. Смирнова и Н. Г. Камышев (Камышев и др. 1988). Влияние этих же мутаций на нейрофизиологические признаки у пчелы исследовали Е. Г. Чеснокова и В. Б. Смирнов. Несмотря на то, что Н. Г. Лопатина стала заведовать лабораторией генетики ВНА, всеми исследованиями на пчеле продолжала руководить именно она. Вскоре идея изучать мутации с известным биохимическим проявлением обогатилась новой линией исследований. Е. В. Савватеева (в то время — сотрудник лаборатории генетики ВНА, руководимой Н. Г. Лопатиной) и Н. Г. Камышев провели скрининг мутаций дрозофилы, затрагивающих метаболизм цАМФ. Активное участие в дальнейшем изучении этих мутантов приняли сотрудники лаборатории А. В. Медведева и А. И. Переслени. Наиболее известным оказался мутант по гену *CG1848* для LIM-киназы 1 локуса *agnostic*, регулирующей ремоделирование актина, синаптогенез и формирование структур мозга. В силу того, что многие когнитивные расстройства имеют общее звено — нарушение функционирования актинового цитоскелета, изучением этого мутанта в качестве модели геномных и нейродегенеративных заболеваний до сих пор успешно занимаются в лаборатории нейрогенетики (зав. — д. б. н. Е. В. Савватеева-Попова) (Савватеева-Попова и др. 2002).

При исследовании мутантов кинуренинового пути обмена триптофана Г. П. Смирновой и Н. Г. Камышевым было обнаружено, что влияние мутаций на поведение самок дрозофилы очень сильно зависит от того, как содержали мух до опыта — в группе или поодиночке (социальное поведение). Поэтому были проведены опыты на особях дикого типа, в которых также принимали участие Е. А. Камышева, И. В. Парафенюк и О. Е. Никифоров. Так было выяснено, что у самок в группе происходит выработка инструментального условного рефлекса (оперантное обучение), при котором активность мухи наказывается ударами от других особей, а покой позволяет избежать наказания (Камышев и др. 1994). Более того, было обнаружено, что в гетерогенной среде, где скопления мух образуются только в определенных местах, к этому добавляется выработка классического условного рефлекса: попав в такое место, муха снижает свою активность даже после изъятия из группы (контекстное обучение) (Камышев и др. 2000).

Оперантное взаимообучение особей в группе было предложено в качестве теста для выделения мутантов с нарушениями способности к выработке инструментального условного рефлекса (Н. Г. Камышев, Е. А. Камышева, Г. О. Иванова).

В последние годы изучение социального поведения дрозофилы было продолжено. Было установлено, что временное содержание самцов дрозофилы в группе приводит к существенным модификациям их последующего поведения (причем отличных от тех, что наблюдаются у самок): снижению локомоторной активности, если тестировать самцов поодиночке, и подавлению ухаживания в тесте с самкой (Гончарова и др. 2016). Эти две модификации поведения самцов основаны на разных физиологических механизмах, детали которых сейчас изучают.

Примерно в то же время, когда В. В. Пономаренко предложила изучать мутации с известным биохимическим проявлением, Сеймур Бензер провозгласил программу «от гена к поведению», которая предполагала выделение (скрининг) мутантов дрозофилы с измененным поведением (подход прямой генетики), идентификацию мутантных генов и дальнейшее изучение путей влияния конкретного гена на поведение. Общим для этих двух подходов было то, что в обоих случаях изучали действие отдельных конкретных генов.

Бензер и его последователи, используя химический мутагенез, преуспели в выделении мутантов с нарушениями самых разных форм поведения. В отличие от Бензера, сотрудники лаборатории сравнительной генетики поведения в своих исследованиях использовали инсерционный мутагенез, когда мутация возникает из-за случайного внедрения в геном транспозона (мобильного генетического элемента), в нашем случае — Р-элемента с известной последовательностью ДНК. Это позволило достаточно быстро секвенировать прилегающие к нему фрагменты геномной ДНК и идентифицировать ген-мишень.

Для выделения новых мутантов по обучению и памяти использовали естественную форму обучения у дрозофилы — условнорефлекторное подавление ухаживания. После ухаживания за нерцептивной оплодотворенной самкой самец снижает интенсивность ухаживания за всеми последующими самками: и девственными, и оплодотворенными. Ю. В. Брагина, К. Г. Илиади, Н. Г. Камышев впервые ввели в широкое употребление тест с оплодотворенной самкой (Kamyshev et al. 1999) и выделили четырех мутантов с нарушениями обучения или памяти

(Камышев и др. 1999; Брагина, Камышев 2001). На основе полученных данных был установлен вклад в процессы обучения и памяти генов *netu* (Kamyshev et al. 2002) и *Ent2* (Молотова (Беседина) и др. 2009).

Подход прямой генетики нашел продолжение и в следующем исследовании (Ю. В. Брагина, С. А. Федотов, Н. Г. Беседина, А. В. Даниленкова, Е. А. Камышева, Н. Г. Камышев). На сей раз с целью выявления генов, участвующих в регуляции работы центральных генераторов моторного паттерна, был проведен скрининг мутантов с нарушениями параметров локомоторного поведения и песни ухаживания самцов дрозофилы. По различным критериям было выделено и идентифицировано более 40 генов. Подробному изучению пока подвергнуты два из них: ген *fipi* (Fedotov et al. 2018) и ген *Dgp-1* (Fedotov et al. 2019).

В настоящее время в исследованиях на дрозофиле в лаборатории, кроме традиционных методов регистрации поведения, применяют современные генетические методы с использованием бинарной генетической системы GAL/UAS, позволяющие исследовать последствия нокаута гена в конкретных тканях и областях мозга, активировать или, наоборот, подавлять активность определенных групп нейронов. Используемые инструментальные методы включают секвенирование ДНК, нозерн-блоттинг, ОТ-ПЦР в реальном времени, конфокальную микроскопию с иммуноокрашиванием тканей. Указанный арсенал современных методов исследования направлен на изучение механизмов, определяющих влияние гена на поведение, когнитивную и моторную деятельность.

В 2000 году к лаборатории присоединился д. б. н. Д. А. Жуков, в сфере интересов которого также находится социальное поведение. Однако его экспериментальные работы выполнены не на дрозофиле, а на крысах. Одна из его наиболее интересных находок состоит в том, что социальный стресс по-разному переживается особями с наследственно обусловленными активной и пассивной стратегиями приспособления. При этом крысы с пассивной стратегией часто имеют преимущество перед доминирующими особями.

В настоящее время в Институте работают три генетических лаборатории (генетики высшей нервной деятельности, нейрогенетики, сравнительной генетики поведения), а используют генетические методы для изучения физиологических проблем очень многие лаборатории института (регуляции функций нейронов мозга, нейроэндокринологии, физиологии питания,

кортико-висцеральной физиологии и др.). Сейчас уже никого не шокирует использование сугубо генетической терминологии в докладах на физиологических заседаниях. Лаборатории продолжают работать, основываясь на теоретическом фундаменте, заложенном учением И. П. Павлова и М. Е. Лобашева — В. В. Пономаренко (универсальная роль условного рефлекса, тонуса нервной системы в адаптации организма, гомологии генов, теории системной (нейро-эндокринной) регуляции генетических и цитогенетических процессов). Все три лаборатории, каждая по-своему, вносят свой вклад в изучение сложнейшей физиолого-генетической проблемы памяти, стараясь совместить теоретические фундаментальные решения с запросами практики.

В традиционном направлении — от гена к поведению — продолжает работать лаборатория сравнительной генетики поведения, руководимая д. б. н. Н. Г. Камышевым. В лаборатории генетики ВНД (зав. — д. б. н. Н. А. Дюжикова) продолжают исследования на линиях крыс, селективированных по возбудимости нервной системы (Вайдо и др. 2009; Вайдо и др. 2018; Дюжикова и др. 2015; Дюжикова, Даев 2018). Исследования позволили заключить, что крайние варианты нормы представляют собой факторы риска в развитии и характере долгосрочного течения нейропатологии (посттравматическое стрессовое расстройство, компульсивное расстройство, невровоспаление), при этом специфически связанные с уровнем возбудимости нервной системы. Стоит подчеркнуть, что эта специфика проявляется на поведенческом, анатомическом, эндокринном и молекулярном уровнях. Углубленный анализ молекулярно-генетических процессов составляет предмет дальнейших исследований, которые внесут вклад в развитие персонализированной медицины. Изучение особенностей физиологических и молекулярно-генетических механизмов формирования памяти проводятся также на беспозвоночных животных (медоносная пчела). Лаборатория нейрогенетики (зав. — д. б. н. Е. В. Савватеева-Попова) осуществила настоящий прорыв, поднявшись в своих исследованиях на ступеньку выше, вступив в область геномики — изучения роли динамичной пространственной организации генома нейрона. Работу генома нейрона рассматривают как систему, перестройки которой ведут к изменению пространственной организации хромосом ядра, изменению транскрипционной активности (экспрессии) одного или многих генов и в результате этого — к созданию предпосылок

для долговременного хранения следа памяти при обучении, постстрессорных и посттравматических синдромах и возникновения «геномных болезней» — спорадических синдромов с множественными, в том числе когнитивными нарушениями.

Благодарности

Авторы глубоко благодарны д. б. н. Н. А. Дюжиковой и к. б. н. А. В. Медведевой за ценные замечания при обсуждении рукописи и подготовке статьи к печати.

Литература

- Брагина, Ю. В., Камышев, Н. Г. (2001) Сравнительное изучение четырех Р-инсерционных мутантов дрозофилы с дефектами памяти. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*, т. 87, № 6, с. 801–809. PMID: 11534206.
- Вайдо, А. И., Дюжилова, Н. А., Ширяева, Н. В. и др. (2009) Системный контроль молекулярно-клеточных и эпигенетических механизмов долгосрочных последствий стресса. *Генетика*, т. 45, № 3, с. 342–348.
- Вайдо, А. И., Ширяева, Н. В., Павлова, М. Б. и др. (2018) Селектированные линии крыс с высоким и низким порогом возбудимости: модель для изучения дезадаптивных состояний, зависимых от уровня возбудимости нервной системы. *Лабораторные животные для научных исследований*, № 3, с. 12–22. DOI: 10.29296/2618723X-2018-03-02
- Воскресенская, А. К. (1957) О роли грибовидных тел надглоточного ганглия в условных рефлексах медоносной пчелы. *Доклады Академии наук СССР*, т. 112, с. 964–967.
- Гончарова, А. А., Брагина, Ю. В., Федотов, С. А., Камышев, Н. Г. (2016) Влияние группового содержания на половое поведение самцов *Drosophila melanogaster*. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, т. 52, № 6, с. 405–412.
- Дойдж, Н. (2010) *Пластичность мозга: потрясающие факты о том, как мысли способны менять структуру и функции нашего мозга*. М.: ЭКСМО, 544 с.
- Дюжилова, Н. А., Даев, Е. В. (2018) Геном и стресс-реакция у животных и человека. *Экологическая генетика*, т. 16, № 1, с. 4–26. DOI: 10.17816/ecogen1614-26
- Дюжилова, Н. А., Скоморохова, Е. Б., Вайдо, А. И. (2015) Эпигенетические механизмы формирования постстрессорных состояний. *Успехи физиологических наук*, т. 46, № 1, с. 47–75.
- Камышев, Н. Г., Илиади, К. Г., Брагина, Ю. В. и др. (1999) Выявление мутантов дрозофилы, проявляющих дефекты памяти после выработки условнорефлекторного подавления ухаживания. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*, т. 85, № 1, с. 84–92.
- Камышев, Н. Г., Камышева, Е. А., Смирнова, Г. П. и др. (1994) Взаимообучение особей дрозофилы в групповой ситуации методом проб и ошибок. *Журнал общей биологии*, т. 55, № 6, с. 737–747.
- Камышев, Н. Г., Смирнова, Г. П., Камышева, Е. А. и др. (2000) Пластичность социального поведения у дрозофилы. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*, т. 86, № 11, с. 1426–1434. PMID: 11195209.
- Камышев, Н. Г., Смирнова, Г. П., Пономаренко, В. В. (1988) Влияние мутаций, блокирующих последовательные этапы метаболического пути триптофан-ксантомматин, на двигательную активность *Drosophila melanogaster*. *Журнал общей биологии*, т. 49, № 4, с. 501–511.
- Лапин, И. П. (2004) *Стресс, тревога, депрессия, алкоголизм, эпилепсия (нейрокинурениновые механизмы и новые подходы к лечению)*. СПб.: Изд-во ДЕАН, 224 с.
- Лобашев, М. Е. (1946) *О природе действия внешних условий на динамику мутационного процесса. Тезисы диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук*. Л.: ЛГУ, 3 с.
- Лобашев, М. Е. (1947) Физиологическая (паранекротическая) гипотеза мутационного процесса. *Вестник Ленинградского университета*, № 8, с. 10–29.
- Лобашев, М. Е. (1960) О параллельных-аналогичных и гомологичных рядах развития свойств высшей нервной деятельности в филогенезе животных. В кн.: *Материалы 2-го научного совещания, посвященного памяти Л. А. Орбели*. М.; Л.: Изд-во АН СССР, с. 16–23.
- Лобашев, М. Е. (1961) Сигнальная наследственность. В кн.: *Исследования по генетике. Вып. 1*. Л.: Изд-во ЛГУ, с. 3–11.
- Лобашев, М. Е. (1964) О проблеме эволюции временной связи. В кн.: *Эволюция временных связей: материалы симпозиума*. Сухуми: Алашари, с. 7–9.
- Лобашев, М. Е., Савватеев, В. Б. (1959) *Физиология суточного ритма животных*. Л.: Изд-во АН СССР, 258 с.
- Лопатина, Н. Г. (1975) *Сигнальная деятельность в семье медоносной пчелы*. Л.: Наука, 271 с.
- Лопатина, Н. Г., Зачепило, Т. Г., Чеснокова, Е. Г., Савватеева-Попова, Е. В. (2007) Мутации структурных генов ферментов метаболизма триптофана по кинурениновому пути в модуляции звеньев сигнального каскада — рецепторы глутамата-актин цитоскелета. *Генетика*, т. 43, № 10, с. 1396–1401.
- Лопатина, Н. Г., Пономаренко, В. В. (1987) Исследование генетических основ высшей нервной деятельности. В кн.: А. С. Батуев (ред.). *Физиология поведения. Нейробиологические закономерности*. Л.: Наука, с. 9–59.

- Лопатина, Н. Г., Пономаренко, В. В., Чеснокова, Е. Г. (1989) Нейроактивность кинуренина и его дериватов как наследственно-обусловленных факторов риска невротической патологии. В кн.: В. В. Захаржевский, Н. Ф. Суворов (ред.). *Неврозы. Экспериментальные и клинические исследования*. Л.: Наука, с. 7–21.
- Лопатина, Н. Г., Чеснокова, Е. Г., Смирнов, В. Б. и др. (2004) Кинурениновый путь обмена триптофана и его значение в нейрофизиологии насекомых. *Энтомологическое обозрение*, т. 83, № 1, с. 3–22.
- Мазохин-Поршняков, Г. А. (1965) *Зрение насекомых*. М.: Наука, 264 с.
- Молотова (Беседина), Н. Г., Илиади, Н. Н., Брагина, Ю. В. и др. (2009) Новые мутации, нарушающие память у дрозофилы: поведенческая характеристика Р-инсерционного мутанта по локусу *Ent2*. *Генетика*, т. 45, № 1, с. 50–58.
- Насонов, Д. Н., Александров, В. Я. (1940) *Реакция живого вещества на внешние воздействия: Денатурацион. Теория повреждения и раздражения*. М.: Изд-во АН СССР, 252 с.
- Павлов, И. П. (1951) *Полное собрание сочинений: в 6 т. Т. 3: в 2 кн.* 2-е изд. Л.: Изд-во АН СССР, 439 с.
- Пономаренко, В. В. (1976) Генетика поведения. В кн.: М. Е. Лобашев, С. Г. Инге-Вечтомов (ред.). *Физиологическая генетика*. Л.: Медицина, с. 350–381.
- Савватеева-Попова, Е. В., Переслени, А. И., Шарагина, Л. М. и др. (2002) Комплексное изучение мутантов дрозофилы по локусу *agnostic*: модель для сопряжения нарушений архитектуры генома и когнитивных функций. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, т. 38, № 6, с. 557–577.
- Fedotov, S. A., Besedina, N. G., Bragina, J. V. et al. (2019) Over-expression of isoform B of *Dgp-1* gene enhances locomotor activity in senescent *Drosophila* males and under heat stress. *Journal of Comparative Physiology A*, vol. 205, no. 6, pp. 897–910. DOI: 10.1007/s00359-019-01378-6
- Fedotov, S. A., Bragina, J. V., Besedina, N. G. et al. (2018) Gene *CG15630 (fipi)* is involved in regulation of the interpulse interval in *Drosophila* courtship song. *Journal of Neurogenetics*, vol. 32, no. 1, pp. 15–26. DOI: 10.1080/01677063.2017.1405000
- Howard, S. R., Avarguès-Weber, A., Garcia, J. E. et al. (2019) Achieving arithmetic learning in honeybees and examining how individuals learn. *Communicative & Integrative Biology*, vol. 12, no. 1, pp. 166–170. DOI: 10.1080/19420889.2019.1678452
- Kamyshev, N. G., Iliadi, K. G., Bragina, J. V. (1999) *Drosophila* conditioned courtship: Two ways of testing memory. *Learning & Memory*, vol. 6, no. 1, pp. 1–20. PMID: 10355520.
- Kamyshev, N. G., Iliadi, K. G., Bragina, J. V. et al. (2002) Novel memory mutants in *Drosophila*: Behavioral characteristics of the mutant *nemy^{p153}*. *BMC Neuroscience*, vol. 3, article 9. DOI: 10.1186/1471-2202-3-9

References

- Bragina, Yu. V., Kamyshev, N. G. (2001) Sravnitel'noe izuchenie chetyrekh R-insertsionnykh mutantov drozofily s defektami pamyati [Comparative study of four P-insertional memory-deficient *Drosophila* mutants]. *Rossiyskij fiziologicheskij zhurnal imeni I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 87, no. 6, pp. 801–809. PMID: 11534206. (In Russian)
- Doidge, N. (2010) *The brain that changes itself: Stories of personal triumph from the frontiers of brain science*. Moscow: EKSMO Publ., 544 p. (In Russian)
- Dyuzhikova, N. A., Daev, E. V. (2018) Genom i stress-reaktsiya u zhivotnykh i cheloveka [Genome and stress-reaction in animals and humans]. *Ekologicheskaya genetika — Ecological Genetics*, vol. 16, no. 1, pp. 4–26. DOI: 10.17816/ecogen1614-26 (In Russian)
- Dyuzhikova, N. A., Skomorokhova, E. B., Vaido, A. I. (2015) Epigeneticheskiye mekhanizmy poststressornykh sostoyanij [Epigenetic mechanisms in post-stress states]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*, vol. 46, no. 1, pp. 47–75. (In Russian)
- Fedotov, S. A., Besedina, N. G., Bragina, J. V. et al. (2019) Over-expression of isoform B of *Dgp-1* gene enhances locomotor activity in senescent *Drosophila* males and under heat stress. *Journal of Comparative Physiology A*, vol. 205, no. 6, pp. 897–910. DOI: 10.1007/s00359-019-01378-6 (In English)
- Fedotov, S. A., Bragina, J. V., Besedina, N. G. et al. (2018) Gene *CG15630 (fipi)* is involved in regulation of the interpulse interval in *Drosophila* courtship song. *Journal of Neurogenetics*, vol. 32, no. 1, pp. 15–26. DOI: 10.1080/01677063.2017.1405000 (In English)
- Goncharova, A. A., Bragina, Yu. V., Fedotov, S. A., Kamyshev, N. G. (2016) Vliyaniye gruppovogo sodержaniya na polovoe povedenie samtsov *Drosophila melanogaster* [Influence of group rearing on sexual behavior of *Drosophila melanogaster* males]. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii — Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 52, no. 6, pp. 405–412. (In Russian)
- Howard, S. R., Avarguès-Weber, A., Garcia, J. E. et al. (2019) Achieving arithmetic learning in honeybees and examining how individuals learn. *Communicative & Integrative Biology*, vol. 12, no. 1, pp. 166–170. DOI: 10.1080/19420889.2019.1678452 (In English)
- Kamyshev, N. G., Iliadi, K. G., Bragina, J. V. (1999) *Drosophila* conditioned courtship: Two ways of testing memory. *Learning & Memory*, vol. 6, no. 1, pp. 1–20. PMID: 10355520. (In English)

- Kamyshev, N. G., Iliadi, K. G., Bragina, J. V. et al. (2002) Novel memory mutants in *Drosophila*: Behavioral characteristics of the mutant *nemy^{P153}*. *BMC Neuroscience*, vol. 3, article 9. DOI: 10.1186/1471-2202-3-9 (In English)
- Kamyshev, N. G., Iliadi, K. G., Bragina, Yu. V. et al. (1999) Vyyavlenie mutantov drozofily, proyavlyayushchikh defekty pamyati posle vyrabotki uslovnoreflektornogo podavleniya ukhazhivaniya [Isolating *Drosophila* mutants deficient in memory in the conditioned courtship suppression paradigm]. *Rossiyskij fiziologicheskij zhurnal imeni I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 85, no. 1, pp. 84–92. (In Russian)
- Kamyshev, N. G., Kamysheva, E. A., Smirnova, G. P. et al. (1994) Vzaimoobuchenie osobej drozofily v gruppovoj situatsii metodom prob i oshibok [The reciprocal training of *Drosophila* individuals in a group situation by the trial-and-error method]. *Zhurnal obshej biologii — Journal of General Biology*, vol. 55, no. 6, pp. 737–747. (In Russian)
- Kamyshev, N. G., Smirnova, G. P., Kamysheva, E. A. et al. (2000) Plastichnost' sotsial'nogo povedeniya u *Drosophila* [Plasticity of the social behavior in *Drosophila*]. *Rossiyskij fiziologicheskij zhurnal imeni I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 86, no. 11, pp. 1426–1434. PMID: 11195209. (In Russian)
- Kamyshev, N. G., Smirnova, G. P., Ponomarenko, V. V. (1988) Vliyanie mutatsij, blokiryuyushchikh posledovatel'nye etapy metabolicheskogo puti triptofan-ksantommatin, na dvigatel'nyuyu aktivnost' *Drosophila melanogaster* [Influence of mutations blocking successive stages of tryptophan-xanthommatin metabolic pathway on locomotor activity of *Drosophila melanogaster*]. *Zhurnal obshej biologii — Journal of General Biology*, vol. 49, no. 4, pp. 501–511. (In Russian)
- Lapin, I. P. (2004) *Stress, trevoga, depressiya, alkogolizm, epilepsiya (nejrokinureninovyie mekhanizmy i novye podkhody k lecheniyu)* [Stress, anxiety, depression, alcoholism, epilepsy (neurokinurenine mechanisms and new approaches to treatment)]. Saint Petersburg: DEAN Publ., 224 p. (In Russian)
- Lobashev, M. E. (1946) *O pripode deystviya vneshnikh uslovij na dinamiku mutatsionnogo protsessa* [On the nature of the action of external conditions on the dynamics of a mutation process]. Thesis for PhD dissertation (Biology). Leningrad, Leningrad State University, 3 p. (In Russian)
- Lobashev, M. E. (1947) Fiziologicheskaya (paranekroticheskaya) gipoteza mutatsionnogo protsessa [The physiological (paranecrotic) hypothesis of the mutational process]. *Vestnik Leningradskogo universiteta*, no. 8, pp. 10–29. (In Russian)
- Lobashev, M. E. (1960) O parallel'nykh-analogichnykh i gomologichnykh ryadakh razvitiya osnovnykh svoystv vysshej nervnoj deyatel'nosti v filogeneze zhivotnykh [On parallel-analogous and homologous series of development of the properties of higher nervous activity in animal phylogenesis]. In: *Materialy 2-go nauchnogo soveshchaniya, posvyashchennogo pamyati L. A. Orbeli* [Proceedings of the 2nd scientific meeting dedicated to the memory of L. A. Orbeli]. Moscow; Leningrad: USSR Academy of Sciences Publ., pp. 16–23. (In Russian)
- Lobashev, M. E. (1961) Signal'naya nasledstvennost' [Signal heredity]. In: *Issledovaniya po genetike* [Genetics studies]. Iss. 1. Leningrad: Leningrad State University Publ., pp. 3–11. (In Russian)
- Lobashev, M. E. (1964) O probleme evolyutsii vremennoj svyazi [On the problem of the evolution of a temporary connection]. In: *Evolyutsiya vremennykh svyazey: Materialy simpoziuma* [The evolution of temporary relations: Proceedings of a symposium]. Sukhumi: Alashari Publ., pp. 7–9. (In Russian)
- Lobashev, M. E., Savvateev, V. B. (1959) *Fiziologiya sutochnogo ritma zhivotnih* [Physiology of the circadian rhythm of animals]. Leningrad: USSR Academy of Sciences Publ., 258 p. (In Russian)
- Lopatina, N. G. (1975) *Signal'naya deyatel'nost' v sem'ye medonosnoj pchely* [Signal activity in the honey bee colony]. Leningrad: Nauka Publ., 271 p. (In Russian)
- Lopatina, N. G., Chesnokova, E. V., Smirnov, V. B. et al. (2004) Kinureninovyj put' obmena triptofana i ego znachenie v nejrofiziologii nasekomykh [Kynurenine pathway of tryptophan metabolism and its significance in neurophysiology of insects]. *Entomologicheskoe obozrenie — Entomological Review*, vol. 83, no. 1, pp. 3–22. (In Russian)
- Lopatina, N. G., Ponomarenko, V. V. (1987) Issledovanie genicheskikh osnov vysshej nervnoj deyatel'nosti [Study of the genetic basis of higher nervous activity]. In: A. S. Batuev (ed.). *Fiziologiya povedeniya. Nevrobiologicheskie zakonomernosti* [Physiology of behavior. Neurobiological regularities]. Leningrad: Nauka Publ., pp. 9–59. (In Russian)
- Lopatina, N. G., Ponomarenko, V. V., Chesnokova, E. G. (1989) Nejroaktivnost' kinurenina i ego derivatov kak nasledstvenno-obuslovlennykh faktorov riska nevroticheskoy patologii [Neuroactivity of kinurenine and its derivatives as hereditary-related risk factors for neurotic pathology]. In: V. V. Zakharzhevskij, N. F. Suvorov (eds.). *Nevrozy. Eksperimental'nye i klinicheskie issledovaniya* [Neuroses. Experimental and clinical studies]. Leningrad: Nauka Publ., pp. 7–21. (In Russian)
- Lopatina, N. G., Zachepilo, T. G., Chesnokova, E. G., Savvateeva-Popova, E. V. (2007) Mutatsii strukturnykh genov fermentov metabolizma triptofana po kinureninovomu puti v modulyatsii zven'ev signal'nogo kaskada — retseptory glutamata-aktin tsitoskeleta [Mutations in structural genes of tryptophan metabolic enzymes of the kynurenine pathway modulate some units of the l-glutamate receptor-actin cytoskeleton signaling cascade]. *Genetika — Russian Journal of Genetics*, vol. 43, no. 10, pp. 1396–1401. (In Russian)
- Masokhin-Porshnyakov, G. A. (1965) *Zrenie nasekomykh* [Vision of insects]. Moscow: Nauka Publ., 264 p. (In Russian)

- Molotova (Besedina), N. G., Iliadi, N. N., Bragina, J. V. et al. (2009) Novye mutatsii, narushayushchie pamyat' u drozofily: povedencheskaya kharakteristika P-insertsionnogo mutanta po lokusu *Ent2* [Novel memory mutants in drosophila: Behavioral characteristics of the p-insertional mutant *Ent2*]. *Genetika — Russian Journal of Genetics*, vol. 45, no. 1, pp. 50–58. (In Russian)
- Nasonov, D. N., Alexandrov, V. Ya. (1940) *Reaktsiya zhivogo veshchestva na vneshnie vozdeystviya: Denaturatsion. Teoriya povrezhdeniya i razdrazheniya* [Reaction of living matter to external influences: Denaturation. Theory of damage and irritation]. Moscow: USSR Academy of Sciences Publ., 252 p. (In Russian)
- Pavlov, I. P. (1951) *Polnoe sobranie sochineniy* [Full composition of writings]: In 6 vols. Vol. 3: In 2 books. 2nd ed. Leningrad: USSR Academy of Sciences Publ., 439 p. (In Russian)
- Ponomarenko, V. V. (1976) Genetika povedeniya [Genetics of behavior]. In: M. E. Lobashev, S. G. Inge-Vechtomov (eds.). *Fiziologicheskaya genetika* [Physiological genetics]. Leningrad: Meditsina Publ., pp. 350–381. (In Russian)
- Savvateeva-Popova, E. V., Peresleni, A. I., Scharagina, L. M. et al. (2002) Kompleksnoe izuchenie mutantov drozofily po lokusu *agnostic*: model' dlya sopryazheniya narushenij arkhitektury genoma i kognitivnykh funktsij [Complex study of Drosophila mutants in the *agnostic* locus: Model for connecting chromosomal architecture and cognitive functions]. *Journal evolyutsionnoj biokhimii i fiziologii — Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 38, no. 6, pp. 557–577. (In Russian)
- Vaido, A. I., Dyuzhikova, N. A., Shiryayeva, N. V. et al. (2009) Sistemnyj kontrol' molekulyarno-kletochnykh i epigeneticheskikh mekhanizmov dolgosrochnykh posledstvij stressa [Systemic control of the molecular, cell, and epigenetic mechanisms of long-lasting consequences of stress]. *Genetika — Russian Journal of Genetics*, vol. 45, no. 3, pp. 342–348. (In Russian)
- Vaido, A. I., Shiryayeva, N. V., Pavlova, M. B. et al. (2018) Selektirovannye linii krysa s vysokim i nizkim porogom vzbudimosti: model' dlya izucheniya dezadaptivnykh sostoyanij, zavisimykh ot urovnya vzbudimosti nervnoj sistemy [Selected rat strains HT, LT as a model for the study of dysadaptation states dependent on the level of excitability of the nervous system]. *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovanij — Laboratory Animals for Science*, no. 3, pp. 12–22. DOI: 10.29296/2618723X-2018-03-02 (In Russian)
- Voskresenskaya, A. K. (1957) O roli gribovidnykh tel nadglotochnogo gangliya v uslovnykh refleksakh medonosnoj pchely [On the role of the mushroom bodies of the supopharyngeal ganglion in conditioned reflexes of a honey bee]. *Doklady Akademii nauk SSSR*, vol. 112, pp. 964–967. (In Russian)

Фонды мемориального музея И. П. Павлова: открывая новые страницы

А. И. Громова✉¹

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

Сведения об авторе

Людмила Ивановна Громова,
SPIN-код: 2195-4202,
e-mail: museum@infran.ru

Для цитирования:

Громова, А. И.
(2020) Фонды мемориального
музея И. П. Павлова: открывая
новые страницы. *Интегративная
физиология*, т. 1, № 4, с. 330–350.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-
4-330-350

Получена 12 октября 2020;
прошла рецензирование
14 октября 2020; принята
28 октября 2020.

Права: © Автор (2020).

Опубликовано Российским
государственным педагогическим
университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях
лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. В фондах Мемориального музея-квартиры академика И. П. Павлова хранится большое число фотографий, документов, подлинных писем, написанных родными Павлова, его коллегами, друзьями. В статье автор знакомит читателей с наиболее интересными из них. Это письма жены Павлова Серафимы Васильевны, отправленные из Стокгольма в 1904 году, когда она сопровождала мужа во время торжеств по поводу вручения ему Нобелевской премии. Они адресованы детям, оставшимся в Санкт-Петербурге, подробно описывают многие детали пребывания Павловых в столице Швеции, что прекрасно дополняет официальные сведения об этом событии. Впервые опубликован подлинный учетно-воинский билет И. П. Павлова и письмо к Ивану Петровичу начальника Военно-медицинской академии (ВМА) профессора В. Н. Тонкова от 7 июля 1925 года. Павлов был тогда уволен из ВМА по собственному желанию в знак протеста против запрета приема в академию детей священнослужителей. Особое место занимает подборка писем членов семьи Павловых, написанных в годы Великой Отечественной войны. В этих подлинных документах можно найти множество деталей жизни людей в то тяжелое время. Это письма Владимира Ивановича Павлова и членов его семьи из эвакуации, письма Серафимы Васильевны и Веры Ивановны Павловых из Колтушей, где в годы войны продолжал свою деятельность Институт эволюционной физиологии и патологии высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова (сейчас — Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН), и где им удалось пережить блокаду Ленинграда. Все представленные в статье материалы из фондов музея публикуются впервые.

Ключевые слова: И. П. Павлов, Нобелевская премия И. П. Павлова, история физиологии, история России, история Великой Отечественной войны, исторические документы.

The collection of Ivan Pavlov's Memorial Museum: Opening new pages

L. I. Gromova ¹

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

Author

Liudmila I. Gromova,
SPIN: 2195-4202,
e-mail: museum@infran.ru

For citation:

Gromova, L. I.
(2020) The collection of Ivan Pavlov's Memorial Museum: Opening new pages. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 4, pp. 330–350.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-330-350

Received 12 October 2020;
reviewed 14 October 2020;
accepted 28 October 2020.

Copyright: © The Author (2020).
Published by Herzen State
Pedagogical University of Russia.
Open access under CC BY-NC
License 4.0.

Abstract. The collections of the Memorial Museum Apartment of Academician I. P. Pavlov contain a large number of photographs, documents, and original letters written by Pavlov's colleagues, family and friends. The article features the highlights of the collection. Among them are the letters from Pavlov's wife, Serafima, sent from Stockholm in 1904, where she accompanied her husband at the Nobel Prize ceremonies. The letters, addressed to their children who stayed in Saint Petersburg, provide many details of the Pavlovs' trip to and stay in Stockholm, which makes a perfect addition to the official information about the event. Pavlov's military ID and a letter he received from Professor V. N. Tonkov, Head of the Military Medical Academy (MMA), Saint Petersburg, dated 7 July 1925, are published for the first time. It was then that Pavlov took a voluntary redundancy from the MMA in protest against the ban on the admission of clergy children to the academy. Of special value is the selection of letters from the members of the Pavlov's family written during the Great Patriotic War. Among them are the letters from Vladimir Ivanovich Pavlov and his family from the evacuation, letters from Serafima Vasilyevna and Vera Ivanovna Pavlov from Koltushi, where during the war years the Institute of Evolutionary Physiology and Pathology of Higher Nervous Activity named after I. P. Pavlov (now the Institute of Physiology named after I. P. Pavlova RAS) continued its work, and where they managed to survive the Siege of Leningrad. All the materials presented in the article are published for the first time.

Keywords: I. P. Pavlov, I. P. Pavlov's Nobel Prize, history of physiology, history of Russia, history of the Great Patriotic War, historical documents.

Вместо предисловия

Мемориальный музей-квартира академика И. П. Павлова, который был открыт в 1949 году в его последней квартире Дома академиков в Санкт-Петербурге, известен уникальной подлинностью своей экспозиции. Здесь сохранилось не только убранство интерьеров, бытовые мелочи, украшавшие жизнь семьи Павловых, но и энтомологические коллекции Ивана Петровича, и большое число произведений живописи русских художников-реалистов из его личного собрания. Не меньшую ценность представляют собой и фонды музея, в которых хранится множество фотографий, документов, как самого ученого, так и членов его семьи. Особый интерес вызывают многочисленные подлинные письма, написанные родными Павлова, его коллегами, друзьями.

В этой публикации нам хочется познакомить читателей с некоторыми, наиболее интересными из них, опираясь на высказывание известного писателя В. В. Вересаева. В 1938 году он

в ответном письме к Серафиме Васильевне Павловой по поводу ее воспоминаний, присланных ему для оценки, писал: «Я давно уже склоняюсь к мысли, что воспоминания о действительной жизни куда интереснее вязкой беллетристики... Я очень порадовался, узнав, что Вы пишете воспоминания... эпоха, в которую Вы жили, и люди, с которыми, вероятно, встречались, не говоря уже об Иване Петровиче — интересны исключительно...» (Книга поступлений № 3, № 67/3). Подлинные письма, на наш взгляд, еще ярче, точнее, правдивее, нежели специально написанные мемуары, раскрывают суть происходивших событий, передают неповторимый вкус эпохи. Все приведенные в статье письма публикуются впервые.

Нобелевская премия

Начать, наверное, стоит с Нобелевской премии И. П. Павлова, которую он получил за работы по физиологии пищеварения в 1904 году (рис. 1).



Рис. 1. Нобелевский диплом И. П. Павлова

Fig. 1. Nobel diploma of Ivan P. Pavlov

Об этом важном для российской науки событии написано много статей и даже монографий, так что интересующимся физиологией читателям не составит труда проследить путь Павлова к этому символу мирового научного признания. Пожалуй, трудно что-либо добавить к этим публикациям. Но в фондах музея хранятся несколько подлинных писем жены ученого Серафимы Васильевны, написанных домой из Стокгольма, когда она сопровождала мужа во время торжеств по поводу вручения ему этой высочайшей награды. Они адресованы детям Владимиру, Вере, Виктору и Всеволоду, и в них очень откровенно, эмоционально и подробно описаны многие детали пребывания Павловых в столице Швеции. Эти письма, как нам кажется, дополняют официальные сведения об этом событии личными, «из первых рук» впечатлениями самого близкого Ивану Петровичу человека. Эти рукописные документы потребовали тщательной расшифровки, т. к. Серафима Васильевна обладала таким неразборчивым почерком, что ее письма часто не могли полностью прочитать даже близкие. Нам тоже не удалось понять некоторые слова, они обозначены в тексте вставкой «(неразборчиво)».

Павлов был приглашен приехать в Стокгольм к 10 декабря, о чем ему сообщил в письме ректор Каролинского института Карл Мёрнер. Для своего доклада Иван Петрович из предложенных

ему европейских языков (английский, немецкий, французский) выбрал немецкий. Но выехал он в Швецию с сопровождавшей его женой гораздо раньше, так как их пригласил погостить у себя в Гельсингфорсе (Хельсинки) известный финский физиолог Р. Тигерштедт.

Письма Серафимы Васильевны Павловой из Стокгольма

Первое письмо Серафимы Васильевны, хранящееся в фондах музея, датировано 24 ноября. Оно написано на бланке Гранд-Отеля в Стокгольме (рис. 2).

Вот текст письма (тексты писем здесь и далее приведены в соответствие с современной орфографией русского языка):

«24 ноября 1904 г.

Только сегодня вышло время написать Вам, мои дорогие и любимые детки! До сих пор все идет у нас отлично. До Гельсингфорса мы отлично спали, на таможне нас даже не будили. Утром постранировали по гостиницам, пока, наконец, в пятой нашли комнату. Теперь открывается сейм, и потому съезд небывалый. Комнату получили хорошую, но высоко. Умывшись и приведя себя в порядок, отправились в университет, где нашли Тигерштедта; у него была лекция, и он попросил нас поехать к нему. Жена его просто одна радость: кругленькая, маленькая (меньше меня и толще), веселая хлопотунья. У них мы провели целый день



Рис. 2. Письмо С.В. Павловой детям из Стокгольма от 24 ноября 1904 г. (фонд музея, инв. № 236/3)

Fig. 2. Letter from Serafima V. Pavlova to her children from Stockholm dated 24 November 1904 (Museum collection, inv. no. 236/3)

до 2 часов ночи, только папа ходил смотреть новое здание лаборатории. Погода была отчаянная — лил проливной дождь, а я (неразборчиво). Тигерштедты отнесли к нам как к родным: обласкали, упитали и устроили в честь папы вечер. Собрались лучшие профессора с ректором, все считали за честь познакомиться с папой и страшно благодарили его за то, что он им прочел речь, которую будет читать в Каролинском институте. Если бы Вы видели, как все почтенные люди относились к папе! Как они возрадовались, что, наконец, присудили папе премию! Они говорили, что с первого года только этого и добивались. Удивительно, как все любят папу! Это были скромные торжества, а теперь предстоят официальные. На другой день мы осматривали город (к счастью, дождя не было), я купила вам марок больше чем на 5 р.; обедали опять у Тигерштедта, и в 5 часов они нас проводили на вокзал, куда пришел и ректор пожелать папе счастливого пути. В 10 часов мы приехали в Гангс, где чуть не

упустили пароход. Пока мы расспрашивали, что делать с багажом, один человек взял у меня квитанции, чтобы отправить багаж на пароход (я и не знала, кто он), а другие чуть не в шею втолкнули нас в поезд, который и довез нас к этому пароходу. Выехали в 11 вечера, качало 2 раза, когда шли открытым морем, а между островами было тихо. Папа говорил мне: «Вставай в 9 ½ ч.», но я не могла поднять головы, и мы с ним встали в 11 ½ ч., а в 3 ½ ч. приехали в Стокгольм. Пароход был чудный. На пароходе пассажиры узнали, что папа получает премию, и поздравляли его. Теперь чуть все пальцами не показывают на нас и сообщают «Нобель прайс». На таможне только сказали за нас «Нобель прайс», так и не смотрели ничего. Да, теперь (неразборчиво). Отель роскошный. Комната стоит 7 р., а обед для одного 2 р. 50 к. из 5 блюд. Зал чудный, обедают в светлых платьях, и все время играет оркестр. За обедом под конец дали каждому из нас стеклянные полоскательницы маленькие с теплой водой и кусочком лимона, а также маленькую салфеточку. Угадайте для чего? Мы не могли понять. Если полоскать рот, то куда выливать воду? Оказалось, что лимоном натирают пальцы и обмывают их водой, а салфеточкой вытирают. Что ни город, то норв. Завтра идем с вещами к Мёрнер, а там папа дальше по программе, а я смотреть город. Здесь нам покровительствует молодой Тигерштедт. Вот Вам и все. Последнее письмо пишите не позднее 28-го, мы вернемся непременно тем же путем. В такую погоду никто не советует путешествовать. Не знаю, привезем ли что-нибудь? Папа не хочет останавливаться в Гельсингфорсе, а тут не знаю, что и купить. Как то у Вас дела? Слушаете ли Волю¹? Хорошо ли занимаетесь? Все мне говорят: «наверно, у Вас замечательные дети», а я говорю: «нет, они в меня, а не в отца». Как беспокоюсь о Вас, Вы себе и представить не можете. Что, как у Вас? Никто Вас не журит? Здоровы ли? Надеюсь сегодня получить письмо в 8 ч., почему и не пошла гулять с папой. Никого не пускайте в квартиру, если придут насчет электричества. Целую Вас всех крепко, крепко за себя и за папу. Наталье Ник., Наталье Мих. и Вере Вас. дорогой кланяюсь. Тетю и дядю целую. Марьяшке и Маше кланяюсь. Вас еще целую. Ваша мама» (Книга поступлений № 3, инв. № 236/3).

Ответ детей родителям был отправлен уже на следующий день, 25 ноября. Все четверо написали его на одном листе почтовой бумаги:

¹ Старший сын Павловых Владимир, ему в это время 20 лет.

«25 ноября 1904 г.

Все у нас благополучно, меня никто не спрашивал, только по немецкому поставили 5. Вчера в среду у нас в гимназии была генеральная репетиция. Я с Виктором ходил, все играли очень хорошо. На представление не пойдём, билетов нет. Сегодня само представление, поэтому завтра уроков нет, мы остаемся дома. Больше писать нечего. Крепко целую Вас, Ваш Всеволод²».

Ниже приписано другой рукой (скорее всего сестры Веры): «Врешь, получил еще сегодня четверть».

«Дорогие папа и мама, писать почти не о чем. Вчера мальчишки были на репетиции в гимназии. Пришли очень поздно, за что Воля сделал им строгий выговор. Я праздную мое рождение 28-го, т. к. в субботу Таня будет и Ксения П. А мальчишки в это воскресенье пойдут к Берггольц. В следующее у Всевы будут гости, а я пойду к Кате Кезевич. 6-го обедаем у Каменских. Сегодня у Воли “une zoiree” (вечеринка. — Прим. автора). Т. Н. вам кланяется. Целую вас, Вера³».

«Дорогие мама и папа!

У нас все благополучно. Вчера меня спрашивали по русскому рассказывать и поставили 5. Сегодня Всеволод получил свою четверть: у него за внимание, прилежание и поведение по пяти, по закону 5, по русскому 4, по естественной истории и по математике по 5, по истории и по географии по 5, по немецкому 5, по французскому 5 и по рисованию 4. Вчера у нас в гимназии была генеральная репетиция. Все играли очень хорошо, Малышев и Сергей Васильев играли хуже, чем мы ожидали: у них слишком пискливый голос. Погода у нас плохая, вчера весь день шел дождь, и было 3 градуса тепла, вечером было даже маленькое наводнение. Сегодня немного подмерзло, и утром был 1 градус тепла. Завтра у нас пять уроков, хотели сделать экскурсию, но почему-то не сделали, так что я собираюсь завтра утром идти в институт, посмотреть, как там идут дела, и в субботу напишу обо всем. Наш учитель истории Александр Иванович Глореман уходит от нас, и у нас будет преподавать другой. Пишите нам подробнее о поездке на пароходе. Вам поклон

² Младший сын Павловых Всеволод, ему 16 ноября исполнилось 11 лет.

³ Дочь Павловых Вера, 26 ноября ей должно было исполниться 14 лет.

от Татьяны Николаевны. Крепко целую Вас. Ваш Витя⁴».

«Дорогие папа и мама!

Мы за Вас очень беспокоимся, так как прочли в газете, что в день Вашего морского путешествия бушевал шторм. Как то Вы доехали? Мы все здоровы и ведем себя хорошо: аккуратно готовим уроки и играем на рояле. Нас почти каждый день кто-нибудь навещает: были тетя Оля, тетя Кия, а завтра собирается Вера Васильевна. Папа может немножко порадоваться: завтра в консерватории идет не “Риголетто” с Фигнер и Каменским, а “Кармен” с неважным составом. На всякий случай напишу перечень марок, каких мне не достает:

Швеция 1856 г. черная, 1855. 3 skill зеленая, синяя, 6 sk серая, 24 sk красная. 1861. серожелтая. 1858 лиловая, 1866 фиолетовая 1876. 1886.

Норвегия. 1854. 4 skilling синяя без зубчик. 1863–66 г. 2 skill желтая 3 skill лиловая. 1867–68 г. 3 skill лиловая 1872–73. Синяя 1878 синяя.

Дания. 1851 г. 2 bigsk.-sk синяя (без зубч.), серо желтая (без зубч.), 1852 зеленая (граф. фон) б.з. 1863 16 sk лиловая, 1870–71 лиловая, рамка коричневая. Целую Вас, Воля» (Книга поступлений № 3, № 241/3).

Следующее письмо от 26 ноября Серафима Васильевна адресовала дочери Вере (рис. 3).

Вот его содержание:

«26-го ноября 1904.

Спешу написать тебе, моя дорогая Верочка, и милому Мурчущке⁵ поздравление. Целую Вас горячо за себя и за папу и горячо желаю Вам обоим здоровья, веселья, успехов в учебе и всякого счастья! Что-то Витя не написал, как обещал? Я так надеялась получить письмо по приезде сюда, а теперь раньше субботы ничего не может быть, так как пароход из России приходит только в суб., воскр. и среду. Не пишите позже воскресенья. До сих пор все идет как по маслу, но ничего важного еще не было. Вот завтра начнется передряга. Вчера мы с папой сделали визит графине Мёрнер, она очень простая и приветливая дама, говорит по-немецки неважно, и я себя чувствовала с ней отлично. Папа с Мёрнером (неразборчиво), а я отправилась смотреть город. Город небольшой, мостовые отличные, чистота редкая, но ничего особенного — очень мало роскошных зданий или красивых памятников. Всю красоту составляет

⁴ Среднему сыну Павловых Виктору в это время 12 лет.

⁵ Имеется в виду младший сын Всеволод.

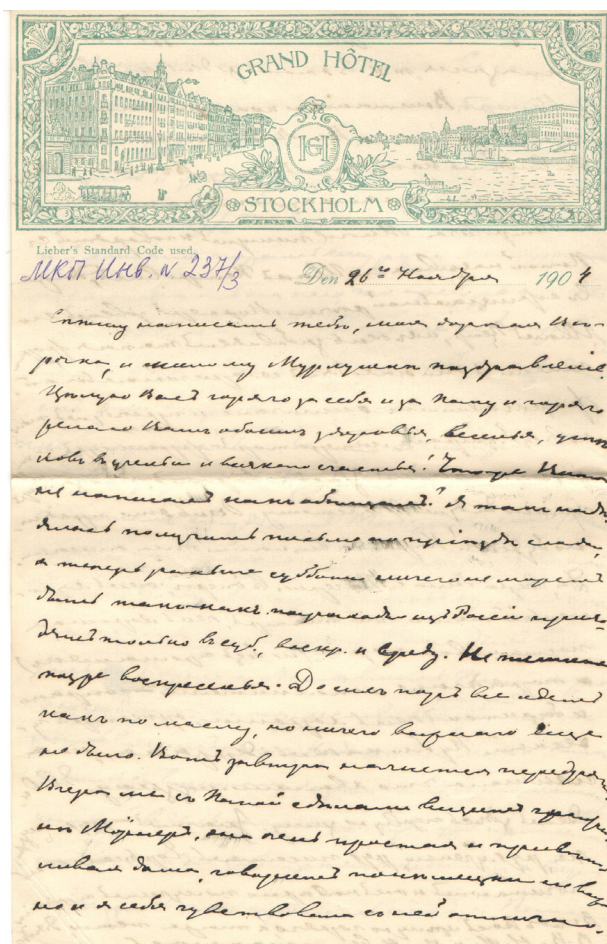


Рис. 3. Письмо С. В. Павловой детям из Стокгольма от 26 ноября 1904 г. (фонд музея, инв. № 237/3)

Fig. 3. Letter from Serafima V. Pavlova to her children from Stockholm dated 26 November 1904 (Museum collection, inv. no. 237/3)

обилие воды и возвышенности. Кругом электричество и телефоны, прислугу надо звать по телефону, но мы с папой не решаемся и обходимся посредством нашего коридорного, говорящего по-немецки. Решительно не знаю, что Вам привезти, т. к. магазины на вид очень неважные, да и вообще город и жители очень скромного вида. Тут в отеле все очень важно и очень дорого — обед по 2 р. с персоны без питья. При каждом номере отдельная умывальная с горячей водой, громадным зеркалом и прочими принадлежностями. На улицах везде дамские уборные, очень чистые и красивые. Пирожные очень дорогие в лучшей кондитерской, покупать не пробовали, но на вид неважные. Папа наш побледнел и похудел, голова болит у него, и раздражен он до крайности. С утра ему нет покоя: то его снимают (каждый дурачок желает иметь его фотографию, и фото-

графы приходят к нам в гостиницу), то просят его автограф, то хотят пожать ему руку, то просто посмотреть на него, то приезжают с приглашениями!!! Можете себе представить, какво Папе без разговора. Ведет он эти отрывочные смешные разговоры преуморительно. Часто мне приходится его выручать. При нас состоит один (неразборчиво) студент Тигерштедта (очень скромный и милый мальчик), а с Папой ездит всюду Мёрнер. Сейчас ожидаю посланника, у которого Папа был вчера (он должен представить Папу королю завтра на торжестве) и который пожелал сегодня нанести визит мне. Надо сегодня мне и Папе ехать с визитом к здешнему математику, который в день нашего приезда уже пригласил нас к себе на завтрак письмом, а вчера приезжал сам просить нас, а Папа отказался, т. к. в этот день мы обедали у Мёрнер. Внимания и комплиментов уж чересчур много! Вы бы были очень счастливы видеть, как чтут Папу. В семье у Тигерштедта прямо культ какой-то “Ивана Петровича”. Многие пишут и говорят с папой, называя его Иваном Петровичем, даже в официальной речи Мёрнер зовет его Иван Петр., нас очень забавляет такая форма имени, и они находят ее оригинальной. Физик и химик — англичане и приедут только в субботу утром, литератор — француз и, кажется, не приедет. Здесь говорят, что за мир премию дадут Толстому.⁶ Очень это приятно будет! Кажется, все наши дела описала. Да, вчера были с Тигерш. в опере, очень хорошенький маленький театр, очень хорошая постановка оперы (не без промашек) и порядочные исполнители — сопрано и баритон очень хороши; оркестр чудесный. Публика очень сдержана, но я слышала, что хвалили музыку. Ев. Он⁷ идет здесь первую зиму. Значит — рус. музыка, рус. ученый, рус. писатель. Горького очень почитают, и он недаром получил премию.⁸ Всех Вас целую горячо, а также тетю, дядю, В. В., Н. М. и Н. Н. Всем кланяюсь. Погода чудная — хорошая осень» (Книга поступлений № 3, инв. № 237/3).

Следующее письмо детям было написано через три дня. Вот его содержание:

⁶ Нобелевская премия мира была присуждена в 1904 году Институту международного права.

⁷ Павловы были в опере на представлении «Евгения Онегина», о чем в своих воспоминаниях Серафима Васильевна отзывалась следующим образом: «Видели мы в Стокгольме оперу “Евгений Онегин”. Постановка была “чисто русская”. Евгений Онегин был одет испанцем, а гости на балу у Лариных выглядели настоящими полотерами. Когда меня просили рассказать содержание пьесы, то всех буквально очаровали слова: “Но я другому отдана и буду век ему верна”».

⁸ В 1904 году Максим Горький получил Грибоедовскую премию за пьесу «На дне».

«29 ноября 1904.

Ну-с, мои милочки! Получила вчера Ваше второе письмо, за которое крепко вас целую за себя и за папу. Начну по порядку. В пятницу, после письма к Вам не было ничего особенного, мы с Папой гуляли вечером, и город нам очень понравился. В субботу утром приехал Эммануил Людвигович Нобель, познакомил меня со своей сестрой, которая замужем здесь за профессором геологии, и мы имели удовольствие говорить по-русски. Вместе с Анной Людвиговичной и профессором Йохансоном осматривали Национальный музей и набережную; в музее очень характерная новейшая школа — они большие артисты на лица, свет, очень экспрессивны и отлично отделаны. Вернувшись в 3 ½ часа, потребовали к себе в номер легкую закуску с чаем. Папа разделся и отдохнул. В 7 час. мы торжественно облачились и в карете поехали с проф. Мёрнером (Папин ангел-хранитель) в музыкальную академию. В первом ряду перед эстрадой был ковер, посреди кресло золоченое высокое для короля и по обе стороны по два поменьше для наследника, принцессы и 2-х принцев (вся королевская семья). Около них направо — 5 мест для получивших премию (за литературу получили 2 пополам), а налево члены Нобелевского комитета. Публика очень нарядная, зала красиво убрана и всё чрезвычайно торжественно. Я сидела сбоку, около Папы, рядом с леди Рамзай (она была декольте, хотя старше меня). Сначала пел хор (как только приехал король), потом читал свою речь физик и восхвалял Рэлей, после окончания Рэлей подошел к королю (очень красивый старик огромного роста), который поздравил его по-английски, пожал ему руку и дал медаль и диплом, в котором вложен и чек. Затем опять пение, затем похвальная речь для химика, опять хор, похвальная речь Папе, которую Мёрнер к нашему удивлению закончил очень красивыми русскими фразами, а король, пожимая Папе руку, сказал “как Ваше здоровье?”. Потом опять хор и речи для литераторов, награды получили за них посланники. Затем народный гимн, и все поехали на банкет. Ну, дети мои, тут пошла настоящая переделка! Несколько чудных гостиных наполнились самыми роскошными дамами, принц-наследник, принц Карл с женой и принц Евгений (художник); меня и Папу представили им, и все сказали нам несколько ласковых слов, спросив, на каком языке мы предпочитаем говорить, и извиняясь, что не могут говорить с нами по-русски. Затем наследник предложил руку принцессе, принц Карл мне, принц Евгений

леди Рамзай, Папа мадам Мёрнер, Рамзай мадам Зиденблат и т. д., и все отправились в столовую. Убранство красивое, масса цветов. Сели за стол в том же порядке, налево от меня принц Карл, а направо франц. министр Маршан. Говорили речи за всех получателей, и они все отвечали. Во время речей все вставали (даже наследник) и потом пили на здоровье. Папа сказал хорошо, только начал тихо. Мои оба соседа во время вставаний своими длинными руками опрокинули мои бокалы (принц очень высок и худ), принц начал, я переставила второй бокал на другую сторону — Маршан его даже разбил, и оба они беспокоились за мое платье. После ужина опять под руку все вернулись в гостиные, где принцы пробыли до часу, мы до 2-х, разговаривая на всех языках. Так закончился торжественный день. В воскресенье в 10 ½ мы поехали за город на завтрак к здешнему математику⁹, было нас 50 человек (я была в черном со стекларусом). Здесь опять большой тон: леди Рамзай вел хозяйин, папа хозяйку, а меня здешний министр иностранных дел. Всё были маленькие столики на 4–2 человека. Папа сел с путешественником Сведеном, который жил в Баку и много путешествовал по нашим азиатским владениям, с ним Папа отвел душу, говоря по-русски, а я была в большой переделке, т. к. леди Рамзай плохо говорит по-французски, и отдувалась я. Хозяин опять прославлял своих гостей и благодарил за честь, а гости ему отвечали. Папа сказал всего несколько слов, я же так засыпала хозяйину, что он на другой день прислал мне свою работу для Воли и сказал, что будет счастлив видеть Волю в числе своих учеников! Обстановка чисто артистическая, а библиотека одна из обширнейших и редчайших. В его кабинете бюст Ковалевской и ее картины, она была очень дружна с ними. Вернулись домой в 4. Переоделись и вместе с Э. Л. Нобелем поехали к Мёрнерам. У графини я была в черном с легким лифом. Опять торжественность — обедали профессора и академики, всего 40 человек. Опять застольные речи, и Папа здесь меня поразил — говорил так хорошо и живо, что ему много хлопали, говорил экспромтом. Вот Вам и немец! Папа сидел между графиней и леди Рамзай, а я между графом и Э. Л. Нобелем. Только за кофе вышли дети — 6 человек и один лучше другого. Мальчишки очень решительно вступили с нами в перепалку для обмена марками. Так прошел

⁹ Имеется в виду М. Г. Миттаг-Леффлер (Mittag-Leffler) — видный шведский математик, член Шведской королевской академии наук.

второй чудный день. Теперь на исходе третий. В 12 Папа читал лекцию в Академии, народу было немного, т. к. мало кто понимает немецкую речь; читал Папа хорошо — громко, ясно, живо. После Папа поехал получать деньги, а я осматривать новую народную школу. Чудное по своему удобству и простоте здание; затем я пила чай, и меня угощали конфетами от Røegin у директора Нобеля. Теперь 5 часов. Папа одевается, чтобы поехать к королю на обед, а я поеду пить чай к профессору Сантессону, чтобы не оставаться одной в гост. Должна кончать, т. к. надо одеваться, чтобы быть готовой, когда профессор придет за мной. Крепко целую Вас всех моих милочек. Папа чуть не рвет перо у меня. Волнуется очень-очень. Выезжаем в субботу 4-го в 11 ч. вечера» (Книга поступлений № 3, инв. № 239/3).

Последнее из писем, написанных Серафимой Васильевной детям из Стокгольма, датировано 2 декабря:

«2-го Декабря Четверг.

Вчера утром получила Ваше письмо, мои ненаглядные, так боялась за моего Мурчущку, что даже всплакнула, проводив Папу в Академию, имея час времени для моего туалета. Это последнее мое письмо — в субботу 4-го в 11 ч. вечера выезжаем, наконец, домой, и в понедельник (6-го) утром будем дома; если выйдет перемена, то буду телеграфировать. Последнее Ваше письмо меня сильно обрадовало и успокоило. Лишь бы Вы были здоровы! Сегодня последнее торжество — обед у барона Шталя фон Гольдштейн, замечательного нашего посла, и тогда маленькая передышка, и прощальные визиты. На подарки не надейтесь — деньги плывут, а главное нет времени. С утра и до вечера спешу и меньше 2-х раз не переодеваюсь, т. к. здесь очень строго на туалеты. Если есть ½ часа передышки, то должна подумать, куда в чем ехать, кому послать карточку, куда ехать самой, кому что сказать интересное, дописать уже письма и т. д. и т. д. Вчера перед 20-ю дамами держала целую речь и немного смутилась! Каково! Знаете, дети, мы так устали, так тяжело для нас — “не путешествовать, а триумфально шествовать”. Ведь здесь каждый за честь считает видеть нас у себя. На улице и то ведь: “по улице водили нас, как будто напоказ”. Да, тяжела ты, шапка Мономаха! Не только мы, но даже привычные англичане уже спились, и вчера, на вечере у профессора сэра Петерсона один из них, старичок Роллей, подремывал и говорил: “совсем сиятельный, пора домой”. Папа преуспевает: выходит

первый из экипажа и подает мне руку, дамам отваливает комплименты! Целую горячо всех Вас, моих голубчиков, Веру Вас., тетю Олю, дядю Сережу, Кию, Н. М., Н. Н. и пр. Деньги брать не принято — все (неразборчиво) перевели в Петербург. Ну, вот и все. Здесь зима, 5–6 мороза. Папа и я только и мечтаем об отдыхе. Ваши папа и мама. Всем кланяюсь — Марьюшке, Маше, Ивану» (Книга поступлений № 3, инв. № 238/3).

Уход И. П. Павлова из Военно-медицинской академии

Другим интересным документом, хранящимся в музейных фондах, является подлинный учетно-воинский билет И. П. Павлова (Книга поступлений № 3, инв. № 301/3) — небольшая книжечка размером 15,5 x 11,5 см, состоящая из 16 страниц и обложки из тонкой пожелтевшей бумаги (рис. 4 - 6).

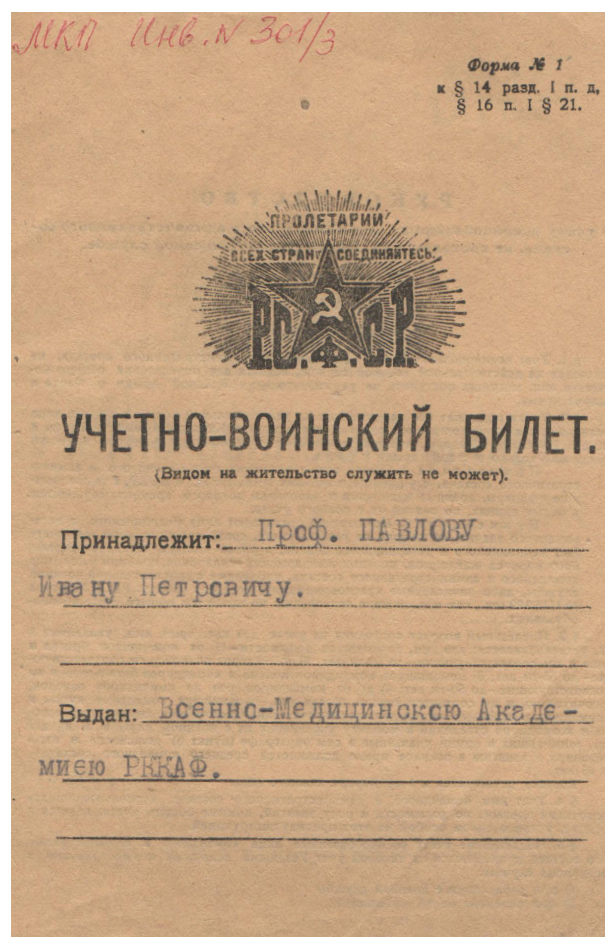


Рис. 4. Учетно-воинский билет И. П. Павлова (фонд музея, инв. № 301/3)

Fig. 4. Ivan P. Pavlov's Military ID (Museum collection, inv. no. 301/3)

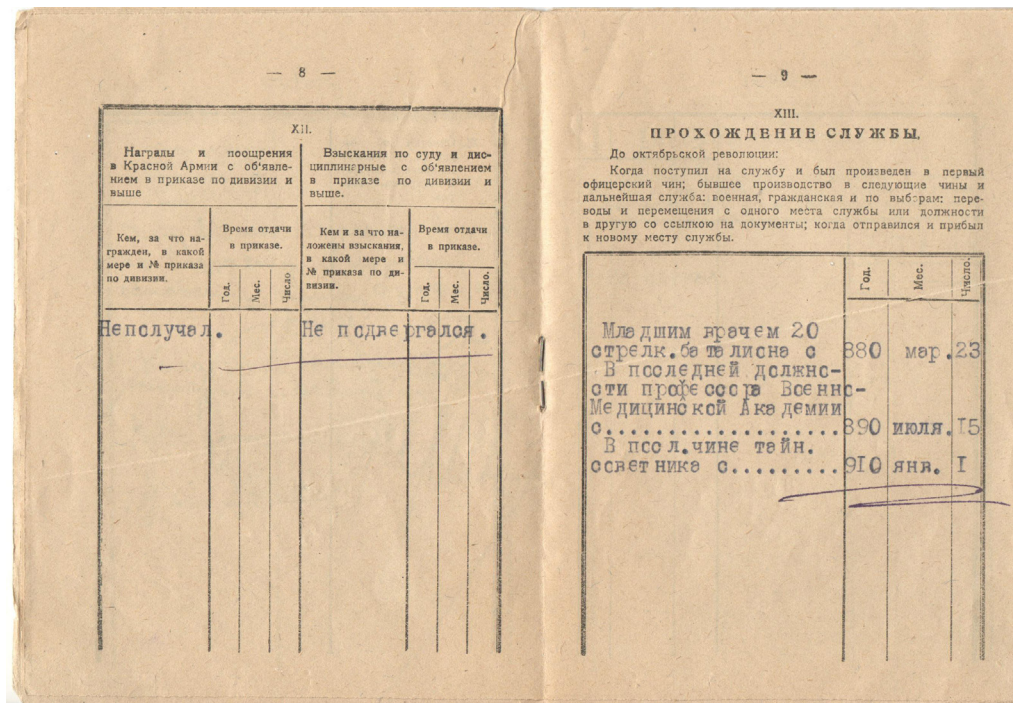


Рис. 5. Восьмая и девятая страницы учетно-воинского билета И. П. Павлова (фонд музея, инв. № 301/3)

Fig. 5. Pages 8 and 9 of Ivan P. Pavlov's Military ID (Museum collection, inv. no. 301/3)

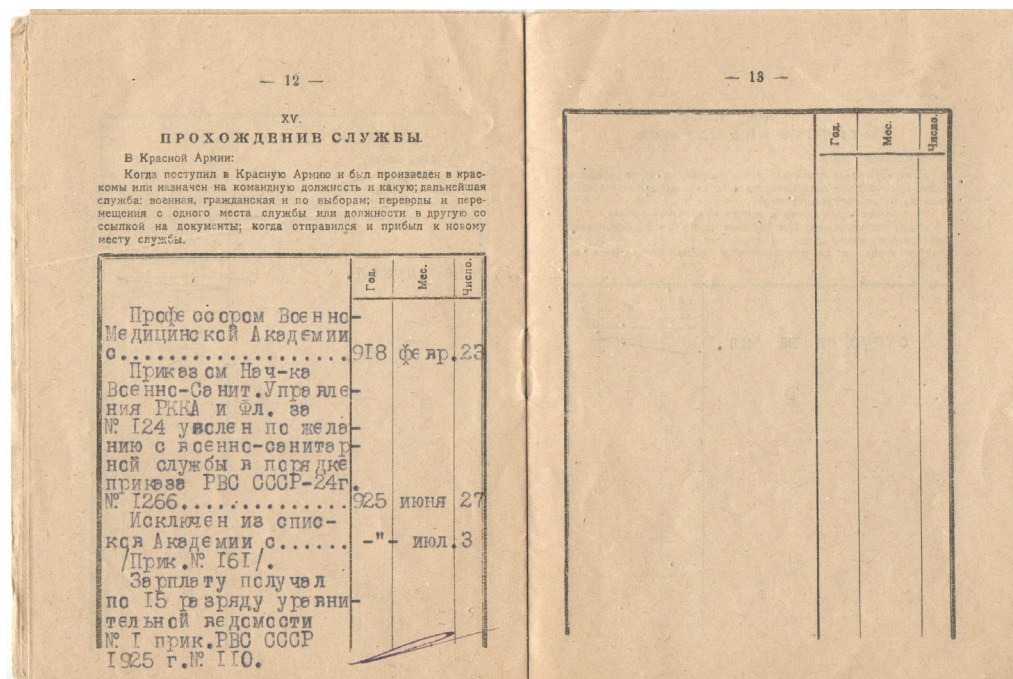


Рис. 6. Двенадцатая страница учетно-воинского билета И. П. Павлова (фонд музея, инв. № 301/3)

Fig. 6. Page 12 of Ivan P. Pavlov's Military ID (Museum collection, inv. no. 301/3)

В нее занесены довольно формальные сведения о военной службе Ивана Петровича: указано его образование (в разделе «Общее образование» написано «Окончил гимназию», почему-то нет сведений об окончании Санкт-Петербургского университета). В разделе «Военное высшее» указана Военно-медицинская академия (ВМА), которую Павлов окончил в 1879 г. Далее идут сведения о жене и детях, а на шестой странице стоит отметка о снятии его с воинского учета военных врачей по возрасту на основании приказа РВСР № 1638 от 1922 г.

Девятая страница повествует о прохождении Павловым службы в период до Октябрьской революции (рис. 5), а двенадцатая — о прохождении службы в Красной Армии (рис. 6).

На последней шестнадцатой странице указано, что Павлов не принимал участия в военных «походах и делах против неприятеля». Номер воинского билета Павлова — 16778. Последняя запись датируется 5 августа 1925 года.

Иван Петрович, блестяще окончивший Военно-медицинскую (тогда еще Медико-хирургическую) академию в 1879 году, был оставлен при ней как один из лучших выпускников, работал в экспериментальной лаборатории у профессора С. П. Боткина, был направлен академией на стажировку в Германию к известным европейским физиологам К. Людвигу и Р. Гейденгайну, получил, наконец, в 1890 году кафедру фармакологии, а затем (в 1895 году) и кафедру физиологии, о которой так мечтал. Поистине, Военно-медицинская академия была его *alma mater*, но в 1924–1925 учебном году он решает проститься со службой в академии в знак протеста принятому тогда постановлению о запрете приема на обучение детей т. н. «лишенцев», среди которых числились и дети священнослужителей. Будучи сам сыном священника, он счел для себя невозможным продолжать свою научную и педагогическую деятельность в академии. Поданное им заявление об уходе долго не подписывали, но от этого решимость Павлова не уменьшалась, и, наконец, военные власти решили уступить его желанию. К присланному Павлову учетно-воинскому билету прилагается сопроводительное письмо, датированное 14 августа 1925 года, а также уведомление от налогового управления об освобождении его от уплаты «налога по совокупности доходов за I полугодие 1924/1925 г.». Кроме того, в конверт вложено письмо начальника ВМА профессора В. Н. Тонкова, написанное на личном бланке № 15139 от 7 июля 1925 г. (рис. 7).

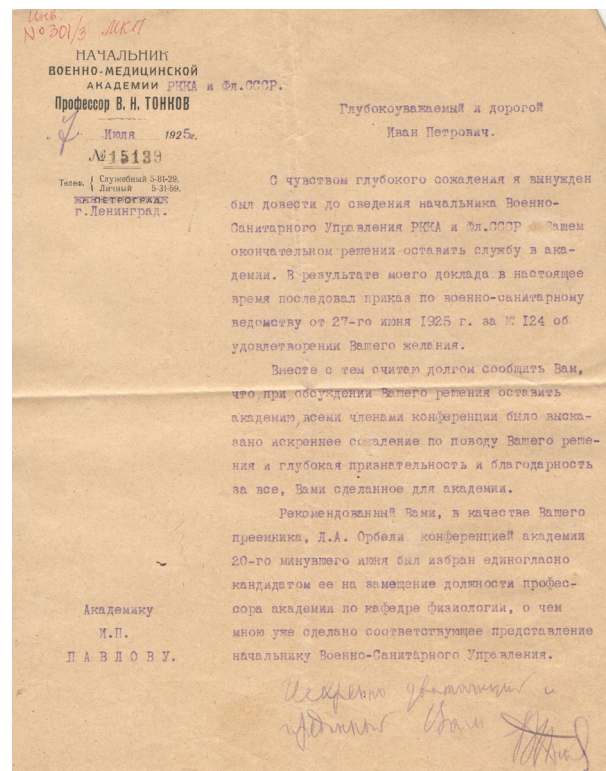


Рис. 7. Письмо И. П. Павлову от начальника Военно-медицинской академии профессора В. Н. Тонкова № 15139 от 7 июля 1925 г. (фонд музея, инв. № 301/3)

Fig. 7. A letter Ivan P. Pavlov received from Professor V. N. Tonkov, Head of the Military Medical Academy, Saint Petersburg, No. 15139, dated 07 July 1925 (Museum collection, inv. no. 301/3)

Он пишет:

«Глубокоуважаемый и дорогой Иван Петрович!

С чувством глубокого сожаления я вынужден был довести до сведения начальника Военно-Санитарного Управления РККА и Фл. СССР о Вашем окончательном решении оставить службу в академии. В результате моего доклада в настоящее время последовал приказ по военно-санитарному ведомству от 27-го июня 1925 г. за № 124 об удовлетворении Вашего желания.

Вместе с тем считаю долгом сообщить Вам, что при обсуждении Вашего решения оставить академию, всеми членами конференции было высказано искреннее сожаление по поводу Вашего решения и глубокая признательность и благодарность за все, Вами сделанное для академии.

Рекомендованный Вами, в качестве Вашего преемника, Л. А. Орбели конференцией академии 20-го минувшего июня был избран единогласно кандидатом ее на замещение должности профессора академии по кафедре физиологии,

о чем мною уже сделано соответствующее представление начальнику Военно-Санитарного Управления.

Искренне уважающий и преданный Вам

В. Тонков» (Книга поступлений № 3, инв. № 301/3).

Письма военного времени

Есть в фондах музея целая подборка неизвестных писем, относящихся к Великой Отечественной войне. Это письма, написанные Владимиром Ивановичем Павловым и членами его семьи из эвакуации. Они адресованы Серафиме Васильевне Павловой и датируются 1941–1942 гг. И снова со страниц этих частных писем живо встают события того времени. Как известно, институты Академии наук и многие другие научные учреждения Ленинграда вместе с оборудованием и сотрудниками были эвакуированы в Казань и ее окрестности. В. И. Павлов был известным физиком, с 1921 г. — профессором кафедры физики Химико-технологического института в Ленинграде. Занимался исследованиями в области молекулярной физики и электроники. Изучал проблемы возбуждения атомов электронными ударами, механизмы этого возбуждения, определял значения критических потенциалов. Позже занимался исследованием явлений, связанных с бомбардировкой положительными ионами металлических поверхностей и изучением электролиза через последовательно расположенные две среды, одной из которых является газ. Написал учебники для вузов «Оптика» и «Курс электричества и магнетизма». Вторым браком он был женат на Татьяне Николаевне Орешниковой, с которой прожил до конца своих дней. У них родилось трое детей: Людмила (1928 г. р.), Мария (1930 г. р.) и Иван, который появился на свет накануне войны (1940 г.) и к ее началу был еще совсем маленьким. В. И. Павлов был эвакуирован в Казань вместе с институтом, Татьяна Николаевна ехала в эвакуацию одна с детьми. Ниже приводятся первые из ее сохранившихся в фондах музея писем 1941 года, адресованных свекрови С. В. Павловой и посланных из поселка Борок Ярославской области:

«20 воскр. Дорогие мои Серафима Васильевна и Наташа!¹⁰

Вчера получила Вашу открытку, из нее вижу, что Вы мое письмо не получили, где я подробно описывала наши муки, именно хождение

по мукам. Вторично повторять все, что было написано, нет ни сил, ни желания. Скажу только одно, что никогда в жизни не прощу я себе той глупости, которую сделала, а именно, уехала с детьми из города, уехала второпях, взяв с собой почти что ничего. Не знаю ничего о Воле, где он и приедет ли к нам. Писала ему и молнии, и открытки, и письма; вчера приехала одна знакомая к нам и сказала, что Воля получил только одну молнию и Милочкино письмо. Наверное, почта плохо налажена, и письма не доходят. Мы здесь живем совсем оторванные от мира в деревенской глуши в 28 верстах от станции; радио нет, газет, так что приход почтальона — событие. Устроились мы отдельно от других — мне предоставили либо комнату в большом доме, где размещены все ребята 85 ч. Либо отдельно — баня и около крошечная кухня. Я остановилась на последнем.

Обстановка у нас такая — Ванюша спит в деревянной кровати, которую дали добрые люди. Милуша спит прямо на полу на куче сена, покрытом одеялом, мы с Маней на деревянной скамейке — утром безумно болит спина и ноет все тело. Ребята похудели, но вид бодрый, первые дни мы с Милушей много плакали, теперь попривыкли и обжились, к нам сейчас переехала Людмила Сергеевна с Олечкой и Павликом, и нам стало куда уютней и веселей, обедаем и вообще кушаем мы дома, т. е. берем готовую еду и едим в своей баньке, а не в общей столовой, где ужасная грязь. Правда, и мы суп едим из двух глиняных тарелок, но все же это не так противно. Еда у нас очень и очень однообразная, утром чай без сахара с куском хлеба без масла (масло очень редко), в 2 часа обед, суп брандахлыст и каша. Вечером каша со стаканом молока. Я у крестьян купила картофель, мед, яйца и каждый день беру 2 л. чудного молока. Ванюша приспособился и меньше всех ощущает лишения, ест за двоих, бегаёт весь день на улице, падает, играет с палками и мажется в грязи. Жаль мне моего крошечку до слез, пришлось сбрить ему волосы. Я ему по утрам варю толокно, выглядит он неплохо, очень вырос, начинает говорить новые слова, дай, на, нет. Ведь у него бедного нет ни одной игрушечки, и конфетки кончаются. Господи хоть бы скорей домой, а главное известия от Воли. Как тяжело и тоскливо на душе. Как то Вы все живете? Пишите, родные, обо всех, а главное о себе. Крепко всех Вас обнимаю и целую,

Ваша Таня» (Книга поступлений № 3, инв. № 137/3-1).

Два следующих коротких письма написаны на простых почтовых карточках:

¹⁰ У Павловых в Ленинграде в это время жила племянница Серафимы Васильевны — Наталия Николаевна Сикорская (в замужестве Эльш).

«Дорогие мои Серафима Васильевна и Наташа. Вчера получили Вашу открытку. Вы ничего не пишете, сколько получили от нас писем. Я написала Вам 2 письма и 2 открытки. Воля все еще не приехал, но я от него имею известия уже из Казани, ждем его со дня на день. Не знаю, что мы решим, как быть дальше, мне лично, да и всем нашим страшно хочется вернуться домой. Неужели это неосуществимо. Ребята здоровы, правда все переболели ангиной, у Ванюши даже температура была 40. У Милочки было 2 легких приступа аппендицита. Питаемся мы теперь очень хорошо, единственно бытовые условия ужасны, нет света, стульев, столов, кроватей, спим на сене, едим из одной плошки, но все это ерунда, живем дружно и надеемся скоро увидеть всех Вас родных.

Крепко целуем, Ваша Таня» (Книга поступлений № 3, инв. № 137/3-4).

«17-ое.

Дорогие мои! На днях получила письмо от Воли, он устроился в Казани и во вторник приедет за нами. Как мы там устроимся, не знаю, только бы скорее быть вместе и делить радости и горе пополам. Воля пишет, что бабушка обижена, отчего мы ей не пишем? Я регулярно каждые пять дней отправляю открытку, письма идут дольше, а часто и вообще не доходят. От Вас имею только 2 открытки. Я уже послала 11. Мы пока все здоровы. Ребята переболели ангиной, а у Милуши нет да нет, а повторяются приступы аппендицита, это конечно из-за грубой пищи и черного хлеба, скорей бы в город. Я очень боюсь за ребят, да и сама я измучилась и физически, и морально. Пишу Марусе¹¹, чтобы забрала все зимние вещи и мои платья, я взяла только 2, и ехала бы к нам в Казань.

Будьте здоровы. Крепко целуем, Таня» (Книга поступлений № 3, инв. № 137/3-7).

Одно из писем, по-детски оптимистичное, написано С. В. Павловой старшей внучкой тринадцатилетней Милой:

«Дорогая Бабуленька!

Почему ты нам не пишешь? Как твоё здоровье? Мы о тебе очень беспокоимся. Ждем папу, он уже не далеко. О нас не беспокойся. Мы живем по-старому. Ванюра потолстел. Вероятно, скоро увидимся, мы рассчитываем приехать к школе. Пришли, пожалуйста, бумаги — у нас вся кончилась. Мы часто ходим гулять на Волгу. Я записалась в ботанический кружок и занима-

юсь. Но все-таки скучно — нет книг, если можешь, пришли. Сейчас идем обедать. Целую много раз и мечтаю увидеться. Мила» (Книга поступлений № 3, инв. № 137/3-2).

Следующее письмо от 15.08.1941 г. прислано В. И. Павловым из Казани:

«г. Казань, Пароходная пристань, 15-ое Августа, Пятница, 12 ч. дня.

Дорогая мамочка!

Получил от тебя открытку от 31-го как раз в день твоих именин. Она запоздала, т. к. адрес был написан не очень разборчиво, и я сам указал на нее барышне, разбиравшей почту. «Довостребования» нужно писать особенно четко! Пишите теперь мне прямо на Институт (адрес на конверте)¹².

Очень рад, что у Вас все благополучно, и что ты, наконец, получила известия от девочек. Вместе с твоим письмом и я получил первое письмо от Тани (даже сразу два!). На пристани я нахожусь потому, что получил от Института командировку съездить за семьей и привезти ее сюда. Здесь условия, во всяком случае, лучше, чем по их письмам у них в Борке. Девочек я уже определил в самую лучшую школу № 19 гор. Казани, которая, кстати, не очень далеко от моего Института. Как только приедут — начнут заниматься, хотя и с некоторым опозданием (начало занятий 20-ое авг., а вернусь я с ними не раньше 25-го). Иностраный язык будет немецкий. В этом отношении все как будто устраивается хорошо. Несколько хуже с квартирой, хотя, конечно, достаточно удачно. В Институте комната достаточная, с кроватями, отоплением, водопроводом, ну конечно без плиты и без ванны. Баня здесь очень хорошая и недалеко от Института. Рынок тоже имеет удобное трамвайное сообщение. Наш Институт расположен в лучшей части города на горе — сухо, много зелени и близко от знаменитой реки Казанки, по которой, впрочем, «сизый селезень» теперь не плавает, и добрые молодцы вдоль ее не ходят. Вчера встретил здесь Марусю Орбели, которая приехала сюда с Рад. Инст.¹³, и Тоню Сперанскую, которая живет здесь с сыном, матерью и Настенькой. Какнибудь найду их навестить. Знакомых у меня здесь никого нет, только со своими Институтскими сошлись ближе, а с некоторыми и разошлись больше! Трех дамам, для испытания их сочувствия нашей семье, я оставил три жестяных банки из-под халвы для наполнения их к моему приезду белой мукой,

¹¹ Маруся — сестра Татьяны Николаевны, Мария Николаевна Щепанская (ур. Орешникова), оставалась в Комарово под Ленинградом, в доме, купленном И. П. Павловым еще в 1930 году. Во время эвакуации она вместе со своими двумя детьми погибнет при бомбардировке.

¹² «От проф. В. И. Павлова, г. Казань, ул. Карла Маркса д. 68, Каз. Хим.-Техн. Институт, кафедра физики».

¹³ Мария Леоновна Орбели — дочь Л. А. Орбели, физик-ядерщик, научный сотрудник Радиевского института АН СССР.

медом и топленным маслом. Посмотрим, которая из трех перейдет от слов к делу и заполнит соответствующую банку! Здесь ожидается улучшение снабжения, т. к. Наркомпищепром переехал сюда — во всяком случае, управленческий аппарат. Мы надеемся, что за “Главкондитером” появятся сладости, а за “Главконсервом” и консервы. Вообще говоря, здесь все можно достать, но главным образом не в магазинах, а на рынках, включая знаменитую толкучку, которая здесь именуется “Сорочкой”.

Как видишь, дела наши здесь не плохи, лишь бы мне благополучно доставить сюда мой ценный материал (даже драгоценный) из Рыбинска.¹⁴ Впрочем, оснований для беспокойства нет, т. к. поездка на пароходе (посадка и выгрузка) не представляет особых трудностей, особенно при наличии разного рода удостоверений, которыми я запасся.

Ну вот, кажется, сообщил тебе все самое важное. Пока что — все очень хорошо! Будь здорова, моя милая бабушка, и спокойна за судьбу своих любимых внучат. Желаю и Вам всякого благополучия. Крепко целую тебя, Веру, Наташу — Жене, Маше и Догелям шлю поклон.

Крепко тебя любящий сын Воля» (Книга поступлений № 3, инв. № 137/3-5).

Следующее письмо (почтовая открытка) написано 23.08.1941 г. из Рыбинска уже после воссоединения семьи:

«23 суббота.

Дорогая наша бабуленька! Благополучно добрались до Рыбинска, через пару часов едем дальше, к сожалению, только до Горького, там опять пересадка уже до конца. Все мы бесконечно счастливы, что, наконец, вместе, и нашему путешествию виден конец. Все мы здоровы и бодры, только очень устали. Ванечка в восторге от пароходов и окружающей обстановки. Сейчас были с ним в буфете, где он поел манной каши и свежих щей. Мысленно мы все время со всеми Вами, какие у Вас планы? Надеемся, что все здоровы и благополучны. Пишите чаще. Крепко Вас всех целуем.

Воля, Таня, Мила, Маня и Ваня» (Книга поступлений № 3, инв. № 137/3-6).

В следующем письме уже из Казани Владимир и его жена Татьяна более подробно описывают детали своего путешествия:

«Суббота 30-ое Августа 1941 г. г. Казань.

Дорогие мамочка, Вера и Наташа!

Я редкостно удачно съездил за детишками в Борки и вывез их из этого “банного жилища”.

Из Борка до станции мы ехали на грузовике. На станции до 4-ех ч. ночи спали в домике стрелочника. Он нас и посадил на поезд в Рыбинск. В Рыбинске, откуда Таня послала тебе открытку, мы сели на пароход (1ый класс!) до Горького, где опять же в тот же день погрузились на пароход (1ый класс!) до Казани. В Казань прибыли в 9 ч. вечера 27-го и сразу со всем багажом прибыли в Институт. По сравнению с баней моя комната показалась во всех отношениях “дворцом”. Доставил я всех в добром здоровье, а сам на следующий день обнаружил сильнейшее расстройство желудка, от которого меня избавил прием бактериофага. Сегодня я первый день встал с постели. Таня пока несет всю тяжесть забот о питании. Есть все, но томительны очереди. Девочки уже полны школьных интересов — мед. осмотр, учебники, тетради и т. д. Ваня много гуляет и буйнит дома. Очень рад, что у Вас все сравнительно благополучно. Желаю поправки Вере и Жене. Крепко целую. Любящий Вас Воля».

«30/VIII Дорогая моя Серафима Васильевна!

Вот мы и добрались до Казани. Путешествие наше длилось около пяти дней. В Рыбинске пришлось ждать пароход с 7 утра до 6 вечера, но зато получили каюту двойную Люкс. На пароходе же и обедали. Кормили вполне прилично, Ванюша чувствовал себя превосходно, с ним путешествовать одно удовольствие. Во время пути была настолько сильная буря, что смыло матроса с палубы, и он утонул. В Горьком пришлось пересест, но тут мы ждали 2 часа, и тоже получили 2 каюты первого класса, везде помогла Волина протекция. Пароходы набиты до отказа, спят на палубе, в коридорах в салонах. Масса детишек — все эвакуированные. В Казань приехали в 9 ½ вечера, Воля взял двух носильщиков, и они нас проводили до самого дома. Комнатка у нас небольшая, но в ней же раковина и большое количество штепселей. В Институте можно получать обеды, хлеб, чай, иногда сахар и конфеты. Рынок близко, на нем все есть, но очень дорого. Молоко 4 р., помидоры 10, карт. 4 и т. д., мясо 30 р. В столовой мы берем каждый день гречневую кашу и мясное блюдо, зелень покупаем на базаре и супы варим сами. Детишки очень заняты, все бегают по очередям и в школу. Она начинается 1-го. Обе приняты и уже завели себе подруг из приехавших и живущих здесь девочек. Я с Ванюшей хожу на базар, готовлю обед, стираю и убираю. Ложимся рано,

¹⁴ Владимир имеет в виду свою семью, которая в то время должна была быть уже в Рыбинске.

но и встаем рано. Чувствую себя бодро, но очень устаю. Ванюшка на следующий день приезда прихворнул и сейчас все еще лежит. Сильное расстройство, даже с повышением температуры, пришлось ему вызвать врача, сказал — легкое отравление. Сидит на строгой диете. Не будет ли у Вас случая послать нам наши вещи, я уже писала об этом Марусе, с просьбой самой приехать, но Воля думает, что ее не отпустят. И потом ехать одной с вещами немислимо. Надо постараться отправить их с каким-нибудь учреждением, а нас предупредить телеграммой, чтобы мы могли встретить. Сейчас мы блаженствуем — сидим на стульях и спим на мягких кроватях, правда по 2 человека (у Ванюши своя), но полтора месяца мы лежали на полу и сидели на крыльчке. Как Вы все поживаете? Где все знакомые? Кланяйтесь от нас, пожалуйста, всем, всем. Вас крепко, крепко целуем и надеемся скоро увидеться. Ваша Таня» (Книга поступлений № 3, инв. № 137/3-8).

К сожалению, переписки членов павловской семьи друг с другом за 1942 год нет в фондах музея. Но сохранилось письмо Владимира Павлова из Казани сестре Вере Ивановне. Оно было отправлено 29 октября 1943 года в Колтуши, куда к тому времени перебрались из блокадного Ленинграда Вера и Серафима Васильевна Павловы. Здесь в годы войны продолжал свою деятельность Институт эволюционной физиологии и патологии высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова (сейчас — Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН). Многие сотрудники его были призваны на фронт, многие — эвакуированы в Казань, где под руководством Л. А. Орбели велась работа по организации научно-практической помощи армии и флоту. Небольшой состав научных сотрудников, оставшихся в Колтушах, также вел работу в этом направлении: здесь был организован военный госпиталь на 300 коек, где применялись перспективные методы лечения боевых травм, организованы курсы медицинских сестер, было налажено производство витаминного напитка из хвои, которым снабжалось не только местное население, но и воинские части. Благодаря смонтированной своими силами электрической станции имелись освещение и телефонная связь, работали лаборатории, баня, прачечные. В Колтушах размещались два штаба крупных соединений армии, в мастерских института ремонтировали военную технику и вооружение.

Очень выручало жителей подсобное хозяйство, площади которого выросли в два раза по сравнению с довоенными. Они обеспечивали сельхозпродуктами не только местное население, но и сотрудников института, оставшихся в Ленинграде. Так что Вера Ивановна, которая была сотрудником института, и Серафима Васильевна Павловы смогли пережить здесь тяжелые годы блокады.

Письмо Владимира Павлова к сестре в Колтуши приводится ниже:

«29 октября 1943 г. Ул. Карла Маркса д. 68, к. 38.

Дорогая Вера!

Очень был обрадован третьего дня, увидев знакомый почерк на конверте и штамп Колтушей. Большое тебе спасибо за подробное и вразумительное изложение интересующих нас дел и Вашего житья-бытья. Твои огородные достижения заслужили одобрение даже у избалованных казанцев, у которых обычный урожай картофеля сам-десять! Про нашу семью и говорить нечего — мы в этом году не принимали участия в огородной компании, т. к. к моменту раздела земли и ее обработки все были больны. За это нам теперь придется поплатиться закупкой нескольких пудов по рыночной цене (15 р. килограмм). Кроме того, по академическому пайку мы получаем 15 кг. ежемесячно. Очень приятно было узнать, что у Вас предвидится настоящее отопление и электрический свет. У нас первое должно начаться на днях, а второе и для бытовых целей (плитки), и для освещения было все время, а со вчерашнего дня дано на улицах (главных), что особенно радует меня, как пострадавшего от падения в темноте. Наверное, Мила описала тебе эту историю с комичной стороны, но на меня это подействовало удручающе. Годы берут свое (мне ведь пошел 60-й год!), и я здорово постарел, хотя духом и бодр. Радостно было от тебя получить хорошие, успокоительные данные о мамином здоровье. Ведь мы все только и мечтаем о свидании с ней и о том, какое развлечение доставит ей компания Ванюши. Он будет ее внимательным слушателем и занимательным собеседником. Нас всех он теперь изводит бесконечными вопросами и непрерывными, и весьма громкими разговорами во время прогулок (деловых конечно — его приходится всюду таскать с собой!) на улицах. Он у нас дитя механизированного века, только

и знает, что машина, прицепки, кузова, детали и т. д. Вчера он мне рассказывал, что в Ленинграде у него есть “Эка”, он будет шофером и сидеть у руля, я буду помощником шофера и сидеть рядом с ним, а всех остальных посадим назад. Л. Абг.¹⁵ он называет “Орбелев” и всюду ищет его “голубой ЗИС”, на котором Л. Абг. его несколько раз катал по городу. Физически Ваня очень окреп, вырос и вместе с Манечкой (отличницей и в новой школе!) они делают честь казанскому режиму. Таня по-прежнему скелетно худа, несмотря на впрыскивания мышьяка, а Мила уже целый месяц температурит, и еще не ходила в 8-й класс. На днях устроили консультацию хирургов, и я думаю согласиться на операцию. У меня очень интересная тема работы, которая обещает развиваться в новую и своеобразную химию жидкостей. На днях мои опыты в течение 2-ух часов смотрели акад. Порай-Кошиц и чл.-корр. Ак. наук Гринберг. После этого они пошли вместе со мной к директору Института и испросили для меня специального химика-аналитика и уменьшения учебной нагрузки, мотивируя это большим научным значением моей работы!

Надеюсь, что ты скоро сможешь разгрузиться в школе и снова вернуться к любимой работе с собаками. Вероятно Л. Абг., который был у Вас, поможет тебе в этом деле. Крепко Вас с мамочкой целую и благодарю тебя за все заботы, которые весьма и весьма трудны в настоящих обстоятельствах. Будьте здоровы и готовьтесь полюбить маленького Ивана Павлова. Ваш Воля» (Книга поступлений № 3, инв. № 68/3-1).

В тот же конверт вложено и письмо старшей дочери Владимира — пятнадцатилетней Милы: «Дорогая тетя Вера!

Мы получили твое письмо, и все несказанно обрадовались ему. Большое спасибо за все, что ты для нас сделала. Очень обрадовало меня то, что и ты и бабуля здоровы. Я не могу, к сожалению, похвастаться этим драгоценным качеством. У меня все время повышенная температура, причем ничего не болит. Просвечивание показало, что в легких все благополучно. Врачи до сих пор не могут найти причины этой загадочной температуры. В школу я пока не хожу. Занимаюсь дома. В этом году это труднее, так как у меня не все учебники. Маня регулярно

ходит в школу. Она очень устает, уходит в 1 ч. и приходит в 7 ч. Возвращаться приходится в полной темноте (у нас затемнение), школа далеко. Она отличница, мы живем в одной комнате, но когда она делает уроки — не знаю. Мама очень много работает, но так как мы сейчас очень хорошо питаемся, она чувствует себя хорошо. Папочка наш очень постарел. Вечером мы одного его никуда не пускаем. Однажды он упал в душе на спину, очень ушибся и еле-еле пришел домой. Недавно он упал на улице и в кровь разбил себе лицо. Теперь это все прошло, но вечером он не выходит. Он ведет сейчас очень интересную исследовательскую работу и углубился в нее с головой, даже к обеду опаздывает (чего с ним раньше не случалось). Ванек очень растет. Его головка и плечи массивно возвышаются над столом. Воспитывать его очень трудно, но все же он нас слушается. Он очень любит музыку (как я) и заставляет всех нас петь. Однажды он пришел к папе в лабораторию, когда там демонстрировались опыты, и попросил: “Любименький папочка, спой мне про птичку”. Меня научили пряхть. Я пряду самую настоящую шерсть, правда, самым допотопным образом. Вяжу я тоже хорошо, только вязок мало знаю (восьмерки и веночки надоели). Читать здесь нечего, библиотека очень бедная. Иностранными языками заниматься не с кем. Целую тебя и бабулю крепко. Когда приедем (весной) наговоримся. Ванек целует “тетю Веху и бабулю”. Твоя Мила» (Книга поступлений № 3, инв. № 68/3-2).

К сожалению, музей не располагал какими-либо подлинными свидетельствами о жизни Колтушей в военное время. Но любезный дар правнучки И. П. Павлова Марины Анатольевны Соболевской (Балмасовой) в 2012 году восполнил этот пробел. Она подарила музею 42 подлинных письма, адресованных другу семьи Павловых Валентине Николаевне Садиковой и ее дочери Наталии Владимировне. 36 писем написаны Серафимой Васильевной и 6 — Верой Ивановной Павловыми из Колтушей в период 1942–1944 гг.

В. Н. Садикова — жена Владимира Сергеевича Садикова, доктора химических наук, крупного ученого, профессора Ленинградского государственного университета и большого друга семьи Павловых. Его работы широко известны и у нас, и за рубежом. Кроме множества статей (более 140), из-под его пера вышли монографии

¹⁵ Леон Абгарович Орбели.

«Курс биологической химии», «Химия жизни», «Строение белковых веществ» и другие. С 1938 года он работал в Физиологическом институте им. И. П. Павлова. Во время блокады Ленинграда исполнял обязанности заместителя директора Института и одновременно продолжал свои научные исследования: разработал новый комплекс использования белковых дрожжей в условиях военного времени. Предложенный им способ обработки дрожжей позволял получать дрожжевую муку, жиры, дрожжевой экстракт, богатый гликогенами и витаминами группы «В», и другие продукты (Соболев 1966, 62). О результатах своих исследований ученый докладывал весной 1942 г. на научной сессии, посвященной памяти академика И. П. Павлова (Садииков 1942, 63). В 1942 году из блокадного Ленинграда Садииков вместе с женой был эвакуирован в с. Шеланга Татарской АССР, где, к сожалению, в том же году скончался от дистрофии миокарда (Папка «Великая Отечественная война», с. 34).

Серафима Васильевна Павлова близко сошлась с Валентиной Николаевной Садииковой по очень печальному поводу — у той и у другой погибли сыновья. Обе были православными верующими, а с потерей сыновей особенно часто стали ходить в церковь, читать и обсуждать Евангелие и другую православную литературу. Этим, по словам Серафимы Васильевны, они «часто утешали друг друга».

Дочь Садииковых Наталья Владимировна (в семье ее называли Натуся или Туся, так ее называет в своих письмах и С. В. Павлова) также была химиком, работала в Биогеохимической лаборатории АН СССР (БИОГЕЛ), основанной в 1928 году В. И. Вернадским для изучения элементного химического состава живого вещества и его геохимической роли. Наталья Владимировна выполняла обязанности референта Вернадского до июня 1935, когда БИОГЕЛ АН СССР был переведен в Москву. С 1935 г. она работала вместе с отцом в его лаборатории, в 1940 г. защитила кандидатскую диссертацию, затем преподавала в ЛГУ. Во время блокады она оставалась в Ленинграде, родители же провели в осажденном городе только 1941 год, а в 1942 году, как уже говорилось выше, были эвакуированы. Первое письмо написано С. В. Павловой из Колтушей еще до их отъезда из Ленинграда (рис. 8):

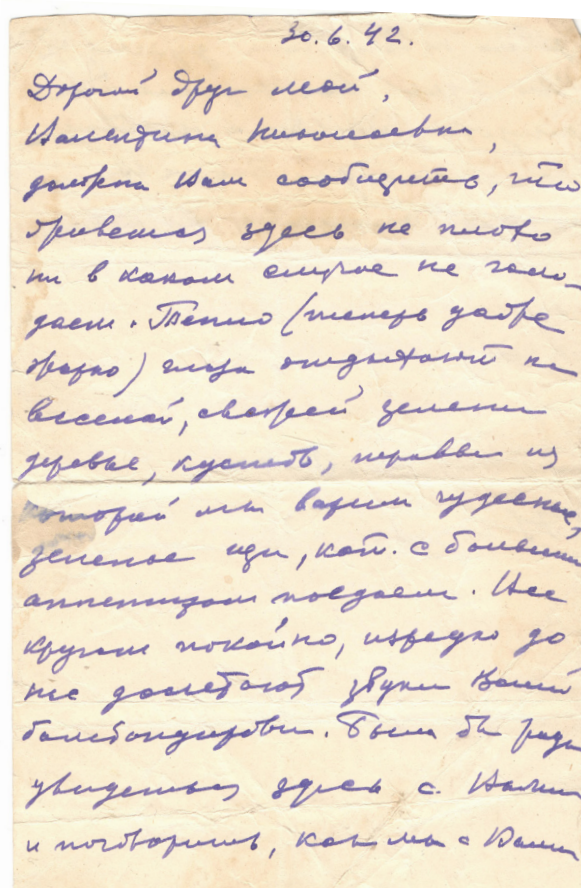


Рис. 8. Письмо С. В. Павловой к В. Н. Садииковой от 30 июня 1942 г. (фонд музея, инв. № 120/4-1)

Fig. 8. A letter from Serafima V. Pavlova to V. N. Sadikova dated 30 June 30 1942 (Museum collection, inv. no. 120/4-1)

«30.06.42. Дорогой друг мой, Валентина Николаевна, должна Вам сообщить, что живется здесь неплохо, ни в каком случае не голодаем. Тепло (теперь даже жарко), глаза отдыхают на весенней свежей зелени деревьев, кустов, травы, из которой мы варим чудесные зеленые щи, которые с большим аппетитом поедаем. Все кругом покойно, изредка до нас долетают звуки Вашей бомбардировки. Была бы рада увидиться здесь с Вами и поговорить, как давно не беседовали; думаю, что Вы здесь все хорошо бы отдохнули, что необходимо не только для Вас и Вашей нервной системы, но и для Владимира Сергеевича, и для Туси. Здесь очень теплые и сердечные люди.

Всей душой любящая Вас

С. Павлова.

Р. S. Привет всем Вашим» (Книга поступлений № 4, инв. № 120/4-1).

Второе письмо, адресованное Садиковой, Серафима Васильевна написала, уже узнав о смерти ее мужа, который скончался в эвакуации 14 августа 1942 года. Письмо написано на простой почтовой открытке, имеющей штамп «Просмотрено военной цензурой. Ленинград 57»:

«1942 г. Мой крепко любимый и дорогой друг Валентина Николаевна. Сердце мое жаждет крепче обнять Вас, прижать к себе и вместе со смирением повторять: “Бог терпел и нам терпеть велел”. Вас, как и меня, постиг неожиданный удар из ясного неба. Доставляет мне утешение, что я хорошо простилась с моим дорогим другом, полным торжествующей радостью своей законченной работой. Недаром он так спешил, не жалея своих сил, а мы еще укоряли его. Кто бы без него мог закончить этот большой труд! Верьте, родная, что всегда плачу вместе с Вами. Всей душой Ваша, верный друг, Павлова.

Лен. область. Колтуши. Биостанция. ул. Ак. Павлова. С. В. Павлова». (Книга поступлений № 4, инв. № 120/4-2).

Тогда же было написано письмо и оставшейся в Ленинграде дочери Садиковых — Наталии Владимировне:

«Ленинград, Вас. Остров, 1-я линия, д. 34, кв. 25. Наталии Владимировне Садиковой — п/о Колтуши. Лен. обл. С. В. Павлова.

31 авг. 42. Моя ненаглядная Тусенька. Всем сердцем, горячо разделяю Ваше тяжелое горе, так неожиданно обрушившееся на Вашу молодую еще не отдохнувшую голову. Первое время прямо не могла поверить такой безвременной кончине. Хорошо, что теперь при маме находится Наталия Николаевна¹⁶. Если Вам нужны деньги, то возьмите их у Дуни, я же буду в городе или на этой неделе в субботу, или в следующий понедельник. Маме Вашей сегодня уже буду писать в Казань. Сильно надеюсь на Вашу привычку всей душой отдаваться работе, как бы хотелось повидаться с Вами. Любящая Вас С. Павлова» (Книга поступлений № 4, инв. № 121/4-1).

Письмо со словами соболезнования отправила Н. В. Садиковой и Вера Павлова. Оно написано на листке с изображением солдата и лозунгом: «Да здравствует наша родная геро-

ическая Красная Армия, Военно-Морской Флот, доблестные Сталинские соколы!» (рис. 9):

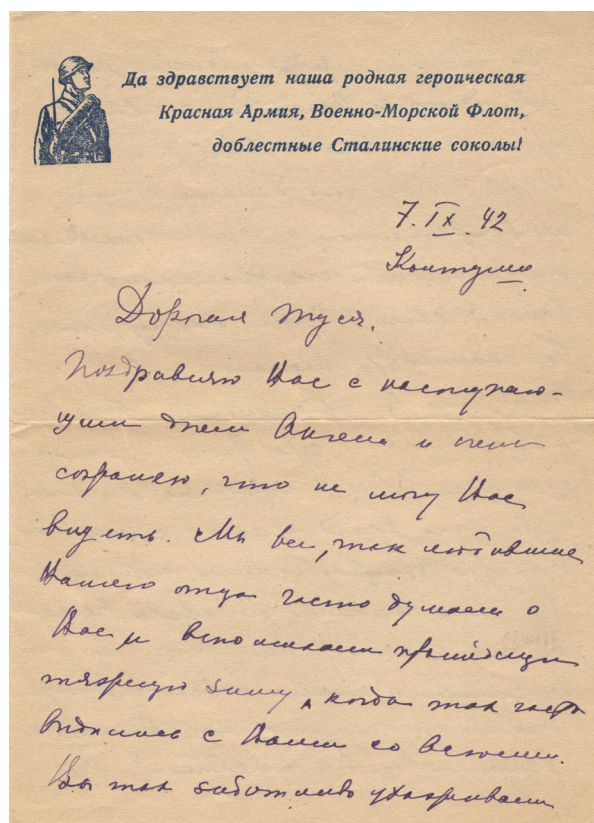


Рис. 9. Письмо В. И. Павловой к Н. В. Садиковой от 7 сентября 1942 г. (фонд музея, инв. № 122/4-2)

Fig. 9. A letter from Vera I. Pavlova to N. V. Sadikova dated 7 September 1942 (Museum collection, inv. no. 122/4-2)

«7.IX.42. Колтуши. Дорогая Туся.

Поздравляю Вас с наступающим днем Ангела и очень сожалею, что не могу Вас видеть. Мы все, так любившие Вашего отца, часто думаем о Вас и вспоминаем прошедшую тяжелую зиму, когда так часто виделись с вами со всеми. Вы так заботливо ухаживали за Вашими родителями, что наблюдать за Вами было прямо приятно. Мама, Евг. Сер.¹⁷ и я — мы в отчаянии, что больше никогда не встретимся с Влад. Сергеевичем, не услышим его увлеченных разговоров о своей работе. Может быть, Вы напишете несколько строк о том, что Вы предполагаете делать, и направите их через ФИН. Я иногда, очень редко бываю в городе по делам и при этом всегда связана с машиной, которую должна

¹⁷ В Колтушах кроме Серафимы Васильевны и Веры Ивановны Павловых находилась в блокадные дни Евгения Сергеевна, вдова младшего сына Павловых Всеволода, работавшая в институте агрономом.

¹⁶ Наталия Николаевна Эльш, племянница С. В. Павловой.

ловить, потому зайти к Вам не по своей вине никак не могу. Напишите, что Вы знаете и какие известия получали от родителей. Как Валентина Николаевна, где она сейчас? Буду Вам очень благодарна за сведения. Сейчас больна плевритом наша помощница по хозяйству, и я буквально не имею свободной ни минуты. Большую часть дня провожу у плиты, но делаю большие успехи в кулинарии. Больная поправляется медленно, и из боязни возврата ей прописали большую осторожность. Ношу еду ей 2 раза в день, что тоже отнимает порядком времени. Прямо не представляю себе, что будет, когда я смогу отдохнуть. Ев. Сер. тоже носится по хозяйству в роли агронома. Не успевает есть и спать. Мама в неплохом состоянии, но тяжело переживает потерю Влад. Сер., к которому всегда питала большое дружеское расположение. Несмотря на большую занятость, наслаждаюсь каждым лучом солнца и довольна тем, что я не в городе. Пока установка такая, что мы будем зимовать здесь, что получится — сказать трудно. Пишите, как дела у Софии Гавриловны, давно ничего о ней не знаем. Уехала ли она и как ее здоровье? Как дети? Что с Марией Гавриловной? Могу себе представить, какая масса у Вас дел, но очень все же рассчитываю, что черкнете несколько строк о себе. Туся, я страшно жалею, что Вы не поехали с родителями, ведь это может быть было бы большой поддержкой для Вл. Сер. Мы все страшные эгоисты и лишиться Вашего отца сейчас для нас огромная потеря, мы так всегда наслаждались встречей с ним. Всего Вам доброго, дорогая Туся, от всех нас.

Любящая Вас В. Павлова» (Книга поступлений № 4, инв. № 122/4-2).

Следующее письмо Серафимы Васильевны к В. Н. Садиковой датировано ноябрем 1942 года:

«9.11.42. Колтуши.

Дорогая, голубушка Валентина Николаевна, если бы Вы знали, как за последние дни мне хочется быть с Вами и разделить Ваше горе и Ваши тяжелые мысли! Помните, как в свое время мы переживали потерю наших сыновей. Как часто мы останавливались на одних и тех же изречениях Евангелия. Недаром мы с Вами так сошлись душевно! Я понимаю, какво Вам жить в одной комнате — шестой (!), да еще среди совершенно чужих людей. Я твержу себе: «Бог терпел и нам терпеть велел».

У нас началась зима, морозы до 15 гр., и я не высовываю носа из своей маленькой теплой комнатки. Вера на днях пробыла три дня в го-

роде, и жизнь там показалась ей очень тяжелой, а Ваша Туся справляется там молодцом — она и находчива, и выдержана.

Поверите ли, что я часто вечером забываю то, что говорила утром. Вот Вам и моя блестящая память. Пожалуйста, напишите мне, как Вы находите здоровье моего сына, его жены и детей, ради которых я желаю сохранить и здоровье, и зрение. С кем из наших общих знакомых Вы встретились в Казани? Думаете ли проехать в «Боровое», хотя, пожалуй, для такого путешествия Вы упустили время, я же от одного вида разоренного гнезда — обливаюсь слезами.

Горячо Вас целую и обнимаю,

Ваш старый верный друг С. Павлова» (Книга поступлений № 4, инв. № 120/4-3).

Вообще эти письма 83-летней Серафимы Васильевны к В. Н. Садиковой — короткие, написанные на почтовых карточках, чаще всего не столько содержат какую-то новую важную информацию, сколько наполнены словами утешения, заботы, пожеланиями здоровья и благополучия своему другу, ее родным и знакомым. Они — тонкая ниточка душевного родства, протянутая между любящими, понимающими друг друга близкими людьми, что было так необходимо в то тяжелое время. Правда, в одном из них имеются сведения о том, что при бомбежке разрушена Колтушская церковь (рис. 10).



Рис. 10. Фотокопия картины художницы М. Л. Тиховой «Колтуши» с изображенной на ней колтушской церковью, разрушенной в годы войны (фонд музея, инв. № 77/4)

Fig. 10. A photocopy of *Koltushi*, a painting by M. L. Tikhova. The painting features the Koltushi church destroyed during the war (Museum collection, inv. no. 77/4)

Эта открытка и несколько последующих написаны другим почерком, что говорит о том, что Серафима Васильевна, у которой к тому времени совсем испортилось зрение, диктовала свои письма:

«Казань, ул. Комлева д. 9, комн. 5. В. Н. Садиковой.

21/VI 1943. Дорогая голубушка, Валентина Николаевна.

Больно, очень больно было мне перенести лишение церковной службы в торжественные дни; и трудно глядеть на развалины нашей милой старой церкви, которая теперь смотрит, по словам моей няни, ни Богу свечкой, ни черту кочергой. Как-то вы чувствуете себя в новых условиях? Посещаете ли церковь? Имеете ли знакомых? Можете ли пользоваться библиотекой? Всегда, всегда о Вас помню, и чувствую Вашу неожиданную потерю. Любящая Вас С. Павлова». На письме стоит печать «Просмотрено военной цензурой. Ленинград 55» (Книга поступлений № 4, инв. № 120/4-8).

В других посланиях С. В. Павловой можно по крупицам собирать какие-то сведения об общих знакомых, друзьях семьи Павловых, каких-то бытовых мелочах военного времени.

В письме от 7 апреля 1943 года, адресованном Н. В. Садиковой, Серафима Васильевна интересуется судьбой семьи большого друга И. П. Павлова — художника Н. Н. Дубовского. Письмо написано на почтовой карточке, на которой стоит печать «Просмотрено военной цензурой. Ленинград 118»:

«Ленинград, Васильевский остров, 1-я линия, д. 34, кв. 25. Наталии Владимировне Садиковой. — п/о Колтуши Лен. обл. Всеволожского р-на Институт им. ак. Павлова. С. В. Павлова.

7/IV- 43. Милая и дорогая Наташенька!

Очень и очень прошу Вас ответить на следующие интересные для меня вопросы: знаете ли Вы, а если не знаете, то постарайтесь узнать для меня. Кто остался в квартире Дубовских — В. О. 5-я линия д. 20 кв. 8. Как то Вы самиживаете? Часто ли пишет Вам Ваша мама, как на Вас действуют весенние дни, полные тумана, сырости и грязи? Чем вполне наслаждаемся мы. Как здоровье Софьи Гавриловны и Бобика? Пожелав Вам здоровья и благополучия, любящая Вас С. Павлова» (Книга поступлений № 4, инв. № 121/4-5).

«4/VII 43 Колтуши.

Моя милая и дорогая Наташенька. Как-то Вы переносите свое одиночество? Но при Вашей хозяйственности Вам, наверное, не хватает даже времени, я не говорю уже о службе, на все Ваши домашние работы. Вот завтра мне обещали до-

ставить книгу соч. Маршака. Его книги по печати доступны моим глазам. Если я не пришлю Вам скоро денег, то выдайте, пожалуйста, из своих 100 руб. Фаминциной. С. Павлова». На письме стоит печать «Просмотрено военной цензурой Ленинград 126» (Книга поступлений № 4, инв. № 121/4-6).

«24/VII 43. Колтуши.

Большое, большое спасибо, дорогая Наташенька, за исполнение моей просьбы! Если мой знакомый передаст ей такую же сумму, как и Вы, то сообщите мне об этом, пожалуйста. Почему-то она стесняется мне писать, а я знаю, как тяжело ей жить с больной ногой и непослушным сыном. Целую Вас. С. Павлова». На письме — печать «Просмотрено военной цензурой Ленинград 126» (Книга поступлений № 4, инв. № 121/4-7).

Короткие открытые письма отправлялись Серафимой Васильевной Садиковым регулярно, примерно раз в две недели. Форма открытого письма, видимо, способствовала более быстрому их прохождению до адресата, т. к. цензорам не нужно было возиться с конвертом, чтобы их прочитать.

Перед новым 1944 годом отправила письмо Н. В. Садиковой и Вера Павлова. Оно написано на специальном бланке, на лицевой стороне которого надпись: «Все силы на разгром врага», и, как всегда, на письме стоит печать «Просмотрено военной цензурой 10883»:

«28.XII. 43. Колтуши

Дорогая Наталия Владимировна, поздравляю Вас с Новым годом и желаю сохранить свою теперешнюю энергию и бодрость. Очень радуемся, что Вы увлекаетесь своей работой. Благодарю Вас, что Вы не забываете Сер. Вас., которая всегда с интересом следит за Вашими успехами. Она все ждет, когда встретится опять с В. Н. и наговорится досыта. Очень хотелось бы с Вами побеседовать, но в городе теперь не бываю.

Всего лучшего от Ев. Сер. и меня» (Книга поступлений № 4, инв. № 122/4-4).

Наконец, в письмах, датированных 1944 годом, начинают проскальзывать оптимистические ноты:

«16/II-44. Дорогая Наташенька. Делишки мои понемногу поправляются, и я собралась, наконец, с силами поговорить с Вами и с Вашей ненаглядной матушкой. Как-то Вы себя чувствуете, не болели ли за это время? У нас было очень много больных. Не удивительно, ведь все работали через меру. Как здоровье Софьи Гавриловны и моего крестника? Будьте все здоровы и благополучны. Любящая С. Павлова» (Книга поступлений № 4, инв. № 121/4-14).

«20/III-44. Дорогая Наташенька!

Благодарю Вас за память и постоянное внимание ко мне. В моих обстоятельствах мне очень дорого, и я ценю каждое воспоминание о давно уплывших годах, когда наши покойники дружно пожимали руки и сообщали друг другу о своих успехах в науке. И каждый радовался успеху другого. От всей души желаю я Вам успеха во всех Ваших занятиях. Ваша любящая Вас С. Павлова» (Книга поступлений № 4, инв. № 121/4-15).

«24/IV-44 г. Дорогая Наташенька!

Давно не получала от Вас известий. Какживаете, как себя чувствуете? Мы все трое чувствуем исправно и стараемся протянуть время до возвращения в город Владимира Ивановича. Из окон у нас снега уже не видно. Будьте здоровы и благополучны. Любящая Вас С. Павлова». На письме — печать «Просмотрено военной цензурой 10859» (Книга поступлений № 4, инв. № 121/4-16).

Память о войне

Переписка Веры Ивановны Павловой с Наталией Владимировной Садиковой продолжалась и в послевоенные годы. Из этих писем в фондах музея сохранилось два, но содержание их, на наш взгляд, очень интересно и много говорит о том, как важна была память о тех тяжелых годах для В. И. Павловой:

«11. II. 61. Дорогая Наташа, посылаю листки, о которых говорила с Вами. Буду очень признательна за их заполнение. Когда это сделаете, то верните тем же путем, как я посылаю эти.

У меня понемногу собралась целая коллекция высказываний, которые представляют интереснейший материал, дающий вполне очерченный тип нашего поколения.

Надеюсь, что здоровье Валентины Николаевны врач нашел удовлетворительным. Рассчитываю повидаться с Вами через короткое время.

Всего доброго. Привет В. Н. Ваша В. Павлова.

Р. S. Писать на листках можно с обеих сторон, поставьте подпись и дату» (Книга поступлений № 4, инв. № 122/4-5).

«Ленинград. Ул. Халтурина д. 27 кв. 52. Наталии Владимировне Садиковой. Павлова В. И. В. О. 7 лин. д. 2

19.IV/62. Ленинград. Дорогая Наташа, с удовольствием принимаю Ваше предложение относительно имеющихся у Вас писем и благодарю Вас за это.

В эту зиму чувствовала себя плохо, а сейчас как-то совсем ослабела. Завтра на месяц еду в Крым. В середине мая, когда вернусь, созвонюсь с Вами, если Вы будете в городе.

Желаю бодрости и удовлетворения в работе.

Любящая Вас В. Павлова (Книга поступлений № 4, инв. № 122/4-6) (рис. 11).

19. IV. 62
Ленинград.

Дорогая Наташа,

С удовольствием принимаю Ваше предложение относительно имеющихся у Вас писем и благодарю Вас за это.

В эту зиму чувствовала себя плохо, а сейчас как-то совсем ослабела. Завтра на месяц еду в Крым. В середине мая, когда вернусь, созвонюсь с Вами, если Вы будете в городе.

Желаю бодрости и удовлетворения в работе.

Любящая Вас
В. Павлова.

Рис. 11. Письмо В. И. Павловой к Н. В. Садиковой от 19 апреля 1962 г. (фонд музея, инв. № 122/4-6)

Fig. 11. A letter from Vera I. Pavlova to N. V. Sadikova dated 19 April 1962

(Museum collection, inv. no. 122/4-6)

Таким образом, благодаря стараниям Веры Ивановны Павловой, переписка с Садиковыми оказалась в семье Павловых, а затем М. А. Соболевская передала ее в музей. Теперь с этими письмами, хранящими живые свидетельства о тяжелейшем для нашей страны времени, смогли познакомиться и наши читатели.

Литература

Книга поступлений № 3. (1981) Фонд Мемориального музея-квартиры академика И. П. Павлова. 68 с.

Книга поступлений № 4. (1983–2015) Фонд Мемориального музея-квартиры академика И. П. Павлова. 200 с.

- Папка «Великая Отечественная война». Научно-вспомогательный фонд Мемориального музея-квартиры академика И. П. Павлова. 96 с.
- Садиков, В. С. (1942) Новый метод комплексного использования дрожжей в условиях военного времени. В кн.: *Труды научной сессии, посвященной памяти академика И. П. Павлова: В связи с 93-летием со дня его рождения 27–28 сент. 1942 г.* Л.: Ленинградское газетно-журнальное и книжное издательство, с. 62–63.
- Соболев, Г. Л. (1966) *Ученые Ленинграда в годы Великой Отечественной войны. 1941–1945 гг.* Л.: Наука, 171 с.

References

- Kniga postupleniy № 3 [Arrivals book No. 3]. (1981) *Fond Memorial'nogo muzeya-kvartiry akademika I. P. Pavlova [Fund of Academician Ivan P. Pavlov's Museum-apartment]*. 68 p. (In Russian)
- Kniga postupleniy № 4 [Arrivals book No. 4]. (1983–2015) *Fond Memorial'nogo muzeya-kvartiry akademika I. P. Pavlova [Fund of Academician Ivan P. Pavlov's Museum-apartment]*. 200 p. (In Russian)
- Папка “Velikaya Otechestvennaya voyna” [Folder “Great Patriotic War”]. *Nauchno-vspomogatel'nyj fond Memorial'nogo muzeya-kvartiry akademika I. P. Pavlova [Scientific support fund of Academician Ivan P. Pavlov's Museum-apartment]*. 96 p. (In Russian)
- Sadikov, V. S. (1942) Novyj metod kompleksnogo ispol'zovaniya drozhzhej v usloviyakh voennogo vremeni [A new method for the integrated use of yeast in wartime conditions]. In: *Trudy nauchnoj sessii, posvyashchennoj pamyati akademika I. P. Pavlova: V svyazi s 93-letiem so dnya ego rozhdeniya 27–28 sent. 1942 g. [Proceedings of the Scientific session dedicated to the memory of academician I. P. Pavlov: In connection with the 93rd anniversary of his birth, 27–28 September 1942]*. Leningrad: Leningradskoe gazetno-zhurnal'noe i knizhnoe izdatel'stvo Publ., pp. 62–63. (In Russian)
- Sobolev, G. L. (1966) *Uchenye Leningrada v gody Velikoj Otechestvennoj vojny. 1941–1945 gg. [Scientists of Leningrad during the Great Patriotic War. 1941–1945]*. Leningrad: Nauka Publ., 171 p. (In Russian)

Чрескожная электрическая стимуляция спинного мозга в двигательной реабилитации пациентов с травмой спинного мозга

Т. Р. Мошонкина^{✉1}, М. А. Погольская^{1,2}, З. В. Виноградская², П. К. Лихачева²,
Ю. П. Герасименко¹

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

² ООО «ЭйрМЕД», 197136, Россия, Санкт-Петербург, ул. Всеволода Вишневецкого, д. 10

Сведения об авторах

Татьяна Ромульевна Мошонкина,
SPIN-код: 8537-6871,
ResearcherID: Q-2141-2018,
ORCID: 0000-0002-8934-5253,
e-mail: moshonkina@infran.ru

Мария Алексеевна Погольская,
e-mail: info@eirmed.ru

Злата Всеволодовна
Виноградская,
e-mail: info@eirmed.ru

Полина Константиновна
Лихачева,
e-mail: info@eirmed.ru

Юрий Петрович Герасименко,
SPIN-код: 1433-9271,
ResearcherID: A-3655-2017,
e-mail: gerasimenko@infran.ru

Для цитирования:

Мошонкина, Т. Р.,
Погольская, М. А.,
Виноградская, З. В. и др.
(2020) Чрескожная электрическая
стимуляция спинного мозга
в двигательной реабилитации
пациентов с травмой спинного
мозга. *Интегративная
физиология*, т. 1, № 4, с. 351–365.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-
4-351-365

Получена 5 сентября 2020;
прошла рецензирование
18 сентября 2020; принята
9 ноября 2020.

Права: © Авторы (2020).
Опубликовано Российским
государственным педагогическим
университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях
лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Ранее было показано, что метод чрескожной электрической стимуляции спинного мозга (ЧССМ), разработанный для фундаментальных исследований спинного мозга здорового человека, может быть использован для увеличения мышечной силы, инициации и улучшения произвольных движений у пациентов с хроническим повреждением спинного мозга. В настоящей работе приведены результаты использования ЧССМ в двигательной реабилитации пациентов, репрезентативно представляющие совокупность пациентов с травмой спинного мозга (ТСМ). Представлены результаты одной процедуры ЧССМ у 60 пациентов с ТСМ вследствие травмы позвоночника на верхнешейном (n = 6), на шейно-грудном (n = 23), на грудном (n = 28) и пояснично-крестцовом (n = 3) уровнях. Все пациенты имели серьезные двигательные нарушения, у многих были осложнения ТСМ. Стимуляция в области шейного и поясничного утолщений спинного мозга одиночными и ритмическими (15–50 Гц) импульсами у 59 пациентов вызывала двигательные реакции (движения пальцев стоп и/или рук, сокращение мышц ног и др.). Наблюдали также изменение спастичности, увеличение кожного кровотока, уменьшение хронической боли, появление чувствительности. 50 из 60 пациентов прошли курс двигательной реабилитации с применением ЧССМ (~12 процедур по ~2 ч). Для каждого пациента была определена реабилитационная цель (сидеть без опоры, увеличить силу захвата кисти, пересаживаться с инвалидной коляски на кушетку и т. д.). В результате улучшение двигательных функций было зарегистрировано у всех пациентов, реабилитационная цель достигнута у 70 % пациентов. В статье описаны клинические случаи пациентов с разной тяжестью двигательных нарушений; для них показаны записи кинематики движений, демонстрирующие значительную нормализацию функции поддержания позы сидя и стоя после курса. В результате показано, что реабилитация с использованием ЧССМ приводит к восстановлению утраченных двигательных навыков. Также зарегистрированы значительные изменения висцеральных функций, что требует дополнительного исследования.

Ключевые слова: электрическая стимуляция, травма спинного мозга, реабилитация, двигательные навыки, трансляционная медицина.

Transcutaneous spinal cord electrical stimulation in motor rehabilitation of patients with spinal cord injury

T. R. Moshonkina^{✉1}, M. A. Pogolskaya^{1,2}, Z. V. Vinogradskaya², P. K. Likhacheva², Yu. P. Gerasimenko¹

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

² EirMED LLC, 10 Vsevolod Vishnevsky Str., Saint Petersburg 197136, Russia

Authors

Tatiana R. Moshonkina,
SPIN: 8537-6871,
ResearcherID: Q-2141-2018,
ORCID: 0000-0002-8934-5253,
e-mail: moshonkina@infran.ru

Maria A. Pogolskaya,
e-mail: info@eirmed.ru

Zlata V. Vinogradskaya,
e-mail: info@eirmed.ru

Polina K. Likhacheva,
e-mail: info@eirmed.ru

Yuri P. Gerasimenko,
SPIN: 1433-9271,
ResearcherID: A-3655-2017,
e-mail: gerasimenko@infran.ru

For citation:

Moshonkina, T. R.,
Pogolskaya, M. A.,
Vinogradskaya, Z. V. et al.
(2020) Transcutaneous spinal cord electrical stimulation in motor rehabilitation of patients with spinal cord injury. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 4, pp. 351–365.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-351-365

Received 5 September 2020;
reviewed 18 September 2020;
accepted 9 November 2020.

Copyright: © The Authors (2020).
Published by Herzen State
Pedagogical University of Russia.
Open access under CC BY-NC
License 4.0.

Abstract. It was previously demonstrated that the transcutaneous electrical spinal cord stimulation (TESCS) can be used to increase muscle strength, to initiate and improve voluntary movements in patients with chronic spinal cord injury (SCI). The paper focuses on the use of TESCS in motor rehabilitation of SCI patients. It presents the results of a single TESCS treatment in a representative sample 60 patients with SCI after a spinal injury at the upper cervical, cervicothoracic, thoracic, and lumbosacral levels. All patients had severe movement disorders, and many had SCI complications. The stimulation above the cervical and lumbar thickening of the spinal cord by single and rhythmic impulses resulted in motor reactions in 59 patients (movements of toes and / or fingers, contraction of leg muscles, etc.). Changes in spasticity, an increase in cutaneous blood flow, chronic pain decrease, and sensitivity improvement were also observed. 50 out of 60 patients underwent a course of motor rehabilitation with TESCS. A rehabilitation goal was defined for each patient (sitting without support, increased handgrip strength, moving from a wheelchair to a couch, etc.). Motor function improvements were recorded for all the patients, while 35 patients achieved the rehabilitation goal. The paper presents case reports of patients with different severity of movement disorders. The study includes records of the kinematics of movements demonstrating normalization of the sitting and standing posture after the course. As a result, the study has shown that the rehabilitation with TESCS facilitates the restoration of motor skills. The study has also revealed significant changes in visceral functions, which requires additional research.

Keywords: electrical stimulation, spinal cord injury, rehabilitation, motor skills, translational medicine.

Введение

В фундаментальных исследованиях с участием пациентов с травмой спинного мозга (ТСМ) доказано, что у человека в спинном мозге существует нейронная сеть, способная инициировать шагательные движения (Dimitrijevic et al. 1998). Это открытие легло в основу концепции спинальной регуляции локомоции — внешнего управления активностью локомоторной нейронной сети с помощью ее неспецифической активации, фармакологической модуляции сенсорно-моторного обучения (Gerasimenko et al. 2008). Основным методом исследования был метод электрической эпидуральной стимуляции

спинного мозга; все данные, которые стали основой концепции, были получены в клинических исследованиях на пациентах с ТСМ.

Для изучения регуляции нейронных спинальных сетей здорового человека был разработан метод неинвазивной чрескожной электрической стимуляции спинного мозга (ЧССМ) (Gorodnichev et al. 2012). Было показано, что ЧССМ с частотой 5–30 Гц в области T11–T12 позвонков вызывает непровольные шагательные движения. Позднее были опубликованы результаты исследования, в котором показано, что у пациентов с двигательным параличом в течение 2–6 лет вследствие ТСМ ЧССМ в области T11–L1 позвонков вызывает шагательные дви-

жения, а после 4-недельного курса реабилитации с применением ЧССМ у 5 пациентов из 5 наблюдали значительное облегчение вызванных шагательных движений при произвольных усилиях (Gerasimenko et al. 2015). Этот результат показал хорошие перспективы для использования ЧССМ в реабилитации пациентов с параличом вследствие ТСМ и способствовал трансляции новых знаний о функционировании нейронных сетей спинного мозга человека в сферу клинических исследований.

В обзоре (Megía García et al. 2020) проанализированы 13 публикаций о клинических исследованиях эффективности ЧССМ в двигательной реабилитации пациентов с ТСМ. Общая выборка составила 55 пациентов. Численность пациентов в каждом исследовании — от 1 до 15 человек (среднее 4, медиана 3). Уровень ТСМ — от С2 до L1. Функциональные возможности пациентов — от минимальной утраты двигательных функций ниже уровня травмы до полного паралича. В обзоре не проанализированы две последние публикации на эту тему, в которых показана хорошая эффективность использования ЧССМ в восстановлении двигательных навыков (Al'joboori et al. 2020) и мышечной активности (Sharikova et al. 2020), которые были выполнены с участием 5 и 19 пациентов соответственно. Авторы (Megía García et al. 2020) не включили в обзор аналогичные русскоязычные публикации (Мошонкина и др. 2016; Виссарионов и др. 2016; Савенкова и др. 2019; Баиндурашвили и др. 2020). В русскоязычных исследованиях общее число пациентов, проходивших реабилитацию с использованием ЧССМ — 19, число пациентов в каждом исследовании — от 1 до 10 (среднее и медиана — 4). Уровень ТСМ — от Т5 до L1. Функциональные возможности пациентов — от минимальной утраты двигательных функций до паралича. Все клинические исследования продемонстрировали инициацию двигательной активности в нижних и верхних конечностях при расположении стимулирующих электродов между позвонками Т11–Т12 и С4–С7 (над поясничным и шейным утолщениями спинного мозга) соответственно. Во всех исследованиях сообщалось о возникновении или увеличении произвольной двигательной реакции, об увеличении силы мышц после курса с использованием ЧССМ. Таким образом, в разных исследовательских центрах на небольших группах пациентов продемонстрировано, что нейромодуляторное свойство ЧССМ может быть использовано для увеличения мышечной силы, инициации и улучшения произвольных движе-

ний у пациентов с хроническим повреждением спинного мозга.

Задачей настоящей работы было сделать экспертную оценку использования ЧССМ в практике двигательной реабилитации пациентов с ТСМ на стадии амбулаторной реабилитации. Показано, что более 70 % пациентов с ТСМ страдают множественными травмами, что способствует высокому уровню сопутствующих осложнений в долгосрочной фазе лечения (Hebert, Burnham 2000). В настоящем исследовании проанализированы результаты реабилитации пациентов, репрезентативно представляющие совокупность пациентов с ТСМ, у которых проблемы недостаточности движений, вызванные травмой, осложнены сопутствующими заболеваниями.

Методы и материалы

Проанализированы результаты реабилитации пациентов, которые проходили лечение в реабилитационном центре «ЭйрМЕД» (Санкт-Петербург) с ноября 2018 до декабря 2019. Медицинскую помощь пациентам оказывали амбулаторно, в помещениях реабилитационного центра, а также выездной бригадой дома у пациента. Выборка состояла из пациентов, самостоятельно обратившихся в реабилитационный центр с целью улучшения двигательных функций, соответствовавших критериям проведения реабилитационных процедур с использованием ЧССМ и не имевших абсолютных противопоказаний для ЧССМ.

Критерии оказания реабилитационной помощи с применением ЧССМ: ТСМ с давностью от полугода и дольше, затруднения в движении вследствие ТСМ, мотивированность пациента и/или его родственников на восстановление самостоятельных движений, наличие реабилитационного потенциала, выявленного по записям в медицинских документах и при осмотре во время комплексного первичного приема (КПП) с использованием ЧССМ.

Абсолютные противопоказания к использованию ЧССМ: острая соматическая патология или обострение хронического заболевания, эпилепсия в анамнезе, психические заболевания, повреждение кожных покровов (незажившие пролежни, язвы) в местах наложения электродов, гнойные воспалительные процессы.

Относительные противопоказания: ЧССМ одиночными импульсами не вызывает двигательный ответ, уровень спастичности 4–5 баллов по шкале Эшворта, имплантированные стимуляторы. Возможность пренебречь относитель-

ными противопоказаниями, определялась в процессе КПП. В частности, если степень спастичности уменьшалась на фоне стимуляции, то пациенту назначали реабилитацию с ЧССМ.

В процессе КПП для каждого пациента определяли реабилитационную цель (научиться сидеть без опоры, или увеличить силу захвата кисти, или научиться пересаживаться с инвалидной коляски на кушетку и т. п.); проводили неврологический осмотр, при необходимости подбирали технические средства реабилитации (ТСР), используемые для компенсации или устранения стойких ограничений жизнедеятельности; назначали, если необходимо, дополнительные исследования и консультации у специалистов, без решения которых невозможно достичь реабилитационной цели; определяли режимы стимуляции ЧССМ и направления работы с ЛФК.

Режимы и локусы стимуляции ЧССМ выбирали в зависимости от реабилитационных целей с учетом результатов всех опубликованных ранее исследований (Megía García et al. 2020; Мошонкина и др. 2016; Виссарионов и др. 2016; Савенкова и др. 2019; Баиндурашвили и др. 2020).

Для активации работы рук катод размещали в области С5–С6 позвонков, пару анодов — над ключицами. Для активации мышц туловища — катоды в области С5–С6 и/или Т11–Т12, аноды над гребнями подвздошных костей. Для активации мышц ног — катоды в области Т11–Т12 и/или L1–L2 позвонков, пару анодов — над гребнями подвздошных костей. Если место стимуляции спинного мозга, соответствующее ранее описанному в публикациях, совпадало с местом травмы и/или там располагалась фиксирующая металлоконструкция, то подбирали иное место, при стимуляции которого можно было вызвать двигательную реакцию.

Первичную ЧССМ начинали одиночными прямоугольными импульсами длительностью 1 мс при положении пациента лежа на спине. Частота следования импульсов < 0,5 Гц. Интенсивность тока постепенно увеличивали от 0 мА, наблюдая за двигательными и иными реакциями.

Определив минимальную интенсивность тока, вызывающую двигательный ответ (пороговый ток) на одиночные импульсы, подбирали параметры ЧССМ для непрерывной ритмической стимуляции. Задача — подобрать режим, оптимально соответствующий реабилитационной цели. Ритмическую ЧССМ проводили монополярными или биполярными прямоугольными импульсами с частотой следования импульсов — 5 кГц, частотой модуляции — 15–50 кГц.

При выборе частоты модуляции ориентировались на опубликованные ранее данные (Megía García et al. 2020; и др.); частоту модуляции уменьшали относительно выбранной, если с такой частотой увеличивалась спастичность. Интенсивность стимуляции — пороговая или надпороговая, вызывающая субмаксимальный двигательный ответ.

Для ЧССМ использовали стимулятор Нео-Стим-5 (ООО Косима), электроды (WFB02 QWER, Китай; BF4, LEAD-LOC, Inc., США). Катоды круглые, диаметром 2,5–3 см, с адгезивным токопроводящим слоем. Аноды прямоугольные, с адгезивным токопроводящим слоем, размером 5 × 10 см². Подробно техника ЧССМ описана ранее (Савенкова и др. 2019).

Курс реабилитации состоял из 11–19 процедур (среднее и медиана 12) длительностью до 2-х часов. Процедуры проходили ежедневно, 5–6 раз в неделю. Процедура состояла из ЛФК, ЧССМ в сочетании с ЛФК, эрготерапии, периодов отдыха между воздействиями. Длительность ЧССМ варьировала от 20 мин до 1 ч и увеличивалась в течение курса. Параметры ЧССМ, подобранные во время первой процедуры, корректировали, оставаясь в диапазоне параметров, при которых ЧССМ вызывала субмаксимальный двигательный ответ. Если стимуляция в процессе ЛФК вызывала болезненные ощущения, стимулировали с подпороговой интенсивностью. ЛФК состояла из упражнений, готовящих к выполнению навыков, выбранных в качестве реабилитационной цели. При проведении ЛФК в помещении реабилитационного центра использовали комплекс «Хабилект» (ООО «Хабилект»), который позволяет корректировать движения пациента при помощи зрительной обратной связи. Также этот комплекс использовали для количественной оценки кинематики движений, которые проводили до и после курса.

Результаты реабилитации определяли на следующий день после завершения всех процедур: проводили неврологический осмотр, определяли степень достижения реабилитационной цели, формулировали следующую реабилитационную цель, обучали пациента самостоятельным упражнениям ЛФК для закрепления достигнутой цели, назначали, при необходимости, ТСР.

Статистический анализ всех полученных данных был невозможен из-за неоднородности сравниваемых групп (по количеству, по уровню и степени тяжести травмы, по давности травмы и т. д.), многие показатели не были нормально распределены. Нормальность распределения величин пороговых токов и токов

непрерывной стимуляции была проверена, для статистического анализа этих значений был применен критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Пациенты

Представлены результаты 60 пациентов с ТСМ вследствие травмы позвоночника на верхнешейном (СI–СIV), на шейно-грудном (CV–CVIII и TII–TIII), на грудном (TII–ТХII) и пояснично-крестцовом (LI–LV, SI–SII) уровнях. Численность групп была неоднородной. Доля пациентов с травмой на уровне СI–СIV составляла 10 % от общего числа пациентов, на уровне CV–TII — 38 %, на уровне TII–ТХII — 47 %, на уровне LI–SII — 5 % (табл. 1). Такое распределение соответствует частоте встречаемости травм в разных отделах позвоночника, описанной для России (Норкин и др. 2014) и США (Chen et al. 2016). Травмы позвоночника на двух уровнях имели 8 пациентов (рис. 1А). Металлоконструкции, стабилизирующие позвоночник, были установлены у 45 пациентов (рис. 1А). Хирургические операции, как правило, были проведены в короткие сроки после ТСМ:

в группе пациентов с травмой на уровне СI–СIV медиана составляла 4 дня после ТСМ, в группе CV–TII — 1 день, в группе TII–ТХII — 2 дня, в группе LI–SII — 1 день.

Численность мужчин в каждой группе составляла не меньше ½ (табл. 1). Средний возраст пациентов составил 32 года (диапазон 15–52 года), средний срок после травмы — 4,8 года (диапазон 0,5–23 года) (рис. 1В, 1С). Самые частые причины травмы: ДТП, ныряние на мелководье, падение с высоты.

Основная причина, из-за которой пациенты обратились в реабилитационный центр, была связана с серьезной двигательной дисфункцией, среди частых диагнозов — тетрапарез разной степени, верхний парапарез, нижняя параплегия, нарушение глубокой и поверхностной чувствительности (табл. 1). Средний уровень спастичности мышц нижних конечностей во всей группе пациентов — ~1,5 балла по шкале Эшворта, минимальная спастичность была у пациентов с травмой на уровне LI–SII (< 1 балла), в остальных группах спастичность заметно не отличалась (рис. 1D).

Функционально значительные неврологические нарушения у разных пациентов проявлялись

Табл. 1. Клинические характеристики пациентов
Table 1. Clinical characteristics of patients

Уровень травмы (n ¹ /m ²)	Диагнозы	Функциональные ограничения
СI–СIV (6/5)	Верхний смешанный парапарез, нижняя параплегия; нарушение глубокой и поверхностной чувствительности; НФТО ³	Отсутствие самостоятельной ходьбы, отсутствие позы стоя, самостоятельное поддержание позы сидя, ограничение функций верхних конечностей, ограничение самообслуживания; ощущение позыва за минуту до мочеиспускания; НФТО
CV–TII (23/16)	Тетрапарез легкой степени; верхний вялый парапарез, нижняя спастическая параплегия; нижний парапарез; нарушение глубокой и поверхностной чувствительности; НФТО	Отсутствие самостоятельной ходьбы, отсутствие позы стоя, возможно самостоятельное поддержание позы сидя без опоры или отсутствие удержания позы сидя без опоры, ограничение функций верхних конечностей, ограничение самообслуживания; НФТО
TII–ТХII (28/22)	Нижний парапарез; нижняя параплегия; нарушение глубокой и поверхностной чувствительности; НФТО	Отсутствие самостоятельной ходьбы, отсутствие позы стоя, НФТО
LI–SII (3/2)	Нижняя параплегия; нижний парапарез; контрактуры голеностопных суставов; гипотрофия мышц голени; НФТО	Самостоятельная ходьба только с ТСР ⁴ ; затруднение ходьбы; разница в длинах ног; отсутствие функций голеностопных суставов; функции малого таза снижены

¹ n — пациентов в группе

² m — мужчин в группе

³ НФТО — недостаточность функций тазовых органов

⁴ ТСР — техническое средство реабилитации

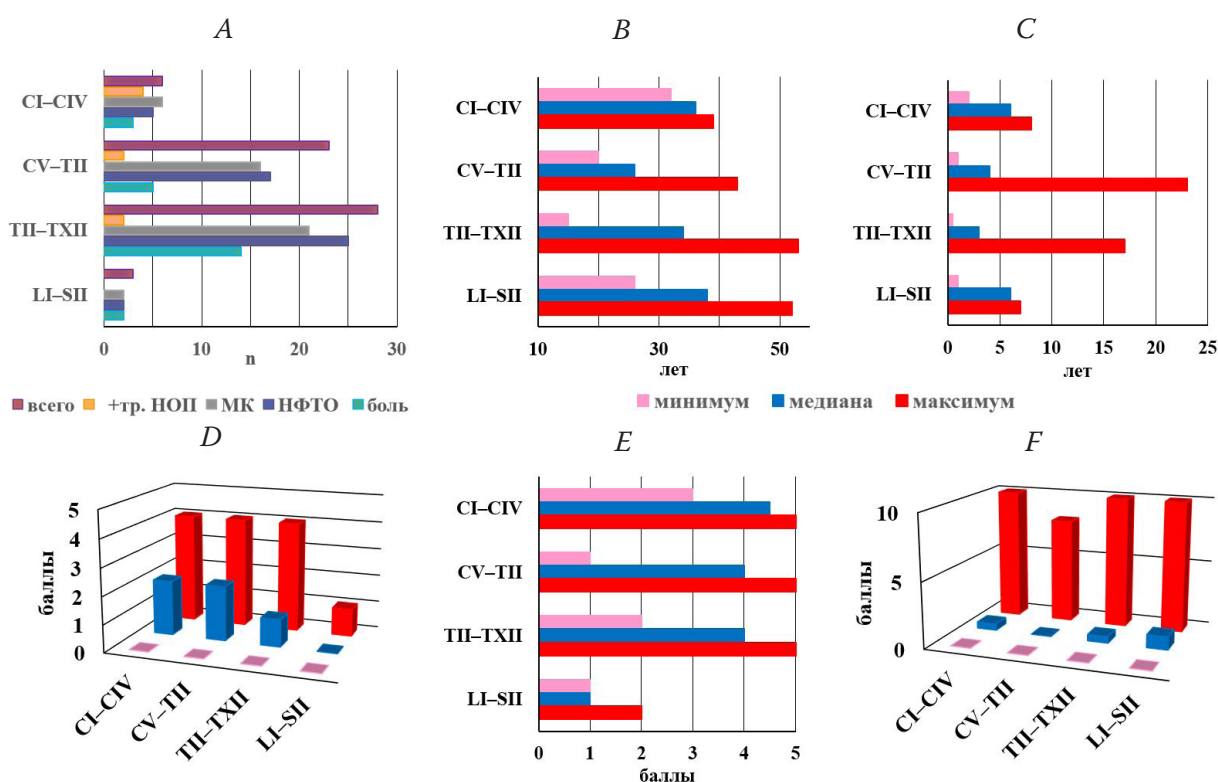


Рис. 1. Клинико-демографические характеристики пациентов (N = 60) в зависимости от уровня травмы спинного мозга. CI–CIV, CV–TH, TH–TXII, LI–SII — позвонки. А: число пациентов с ТСМ на указанном уровне (всего), с дополнительной травмой в нижележащем отделе позвоночника (+ тр. НОП), со стабилизирующей позвоночник металлоконструкцией (МК), с нарушением функций тазовых органов (НФТО), с хронической болью (боль). В: возраст. С: срок после травмы. D: спастичность мышц нижних конечностей по шкале Эшворта. E: степень инвалидизации по шкале Рэнкина. F: интенсивность боли по 10-балльной шкале.

Fig. 1. Clinical and demographic characteristics of patients (N = 60) relative to the level of spinal cord injury. CI–CIV, CV–TH, TH–TXII, LI–SII — vertebrae. A: the number of patients with SCI at the indicated level (total), multilevel injury (+L), with spine stabilization devices (SD), with the pelvic organs dysfunction (PO), with chronic pain (pain). B: age. C: period after injury. D: spasticity of the muscles of the lower extremities, Ashworth scale. E: the disability degree, Rankin scale. F: pain, a 10-point scale.

по-разному: в отсутствии или затрудненности самостоятельной ходьбы, в отсутствии позы стоя, невозможности поддержания позы сидя, в ограничении функций верхних конечностей и т. п. (табл. 1). Функциональные ограничения приводили к серьезным затруднениям в самообслуживании. Средняя степень инвалидизации среди пациентов составила ~3,6 баллов по шкале Рэнкина, наименьшая инвалидизация (~1 балла) была в группе пациентов с травмой на уровне LI–SII, в остальных группах степень инвалидизации заметно не отличалась (рис. 1E).

Все пациенты ранее проходили курсы комплексной реабилитации, были мотивированы на восстановление самостоятельных движений, их поддерживали родственники.

У 82 % пациентов ТСМ была осложнена нарушением функций тазовых органов (НФТО)

(рис. 1A). Это в ~3 раза превышает число таких осложнений у пациентов с ТСМ, указанное в одном из исследований (Норкин и др. 2014), где учтены пациенты, которые проходили лечение в стационарных условиях в крупном медицинском центре. Вероятно, различия в частоте осложнений в виде НФТО у пациентов связаны с разными причинами поступления пациентов в этот центр и в реабилитационный центр, на базе которого проведено настоящее исследование.

24 пациента испытывали хроническую боль, среднее ~4 баллов по 10-балльной аналоговой шкале боли (рис. 1A, 1F). Боль проявлялась при нагрузке, или присутствовала постоянно, или возникала во время ночного сна. Локализация боли: предплечья, ноги, поясница.

Все предшествовавшие исследования были проведены с участием небольших групп паци-

ентов, отобранных по жестким критериям включения и исключения, у них не было осложнений ТСМ, в то время как осложнения, как правило, сопровождают хроническую ТСМ (Hebert, Burnham 2000). Кроме серьезных двигательных нарушений, вызванных ТСМ, у них не было других заболеваний, влияющих на качество жизни и существенно ограничивающих возможности самообслуживания. Впервые мы исследуем возможность применения ЧССМ в двигательной реабилитации пациентов с хронической ТСМ, осложненной травмой в нижележащем отделе, с НФТО, с хронической болью.

Результаты единичной процедуры ЧССМ

Стимуляция одиночными импульсами у 59 пациентов из 60 вызвала двигательные реакции. Пороговый ток варьировал от пациента к пациенту, все значения находились в диапазоне 6–130 мА, для большинства пациентов одиночные импульсы интенсивностью ~30 мА вызвали двигательную реакцию (рис. 2А).

Характер двигательных реакций зависел от уровня стимуляции. В случае расположения катода в проекции шейного утолщения, анодов — над ключицами в ответ на каждый импульс наблюдали движения пальцев рук, или сокращения мышц рук, или сочетание этих двигательных реакций. При расположении катода над проекцией поясничного утолщения, а анодов — над гребнями подвздошных костей наблюдали сокращения мышц ног, или движения в голеностопных суставах, или подергивания одного или нескольких пальцев ног, или комбинацию этих движений. Весь спектр двигательных реакций в ответ на ЧССМ одиночными импульсами представлен в табл. 2.

Величина пороговых токов зависела от позиций электродов (рис. 2В). При расположении катода в области С1–С4 и С5–Т1 позвонков, а анодов над ключицами пороговые токи для активации мышц верхних конечностей составляли $21 \pm 6,5$ и $36 \pm 23,4$ мА соответственно.

При расположении катода в области С5–Т1, Т1–Т12 и L1–S2 позвонков, а анодов — над гребнями подвздошных костей, пороговые токи для активации мышц нижних конечностей составляли $23 \pm 14,6$, $34 \pm 21,3$ и $32 \pm 23,1$ мА соответственно.

При расположении анодов над гребнями подвздошных костей значения пороговых токов достоверно меньше ($p < 0,05$) при стимуляции в зоне С5–Т1 позвонков, чем при стимуляции в зоне Т1–Т12 и L1–S2. Также достоверно меньше пороговые токи в комбинации электродов «катод — С5–Т1, аноды — гребни подвздошных костей», чем в комбинации «катод — С5–Т1, аноды — ключицы». Мы связываем

ответы в мышцах ног при стимуляции шейного, верхнегрудного уровня со стимуляцией бедренного нерва под анодами.

Ритмическая ЧССМ с частотой 15–50 Гц вызвала движения в тех же суставах или сокращения тех же групп мышц, что и ЧССМ одиночными импульсами. Как было указано в разделе «Методика», для ритмической стимуляции подбирали параметры тока, при которых наблюдали субмаксимальный двигательный ответ. Интенсивность тока варьировала в диапазоне 10–90 мА, для большинства пациентов рабочие токи были ~40 мА (рис. 2С).

Кроме двигательных эффектов стимуляции, наблюдали изменение спастичности мышц, изменение температуры и цвета кожных покровов,

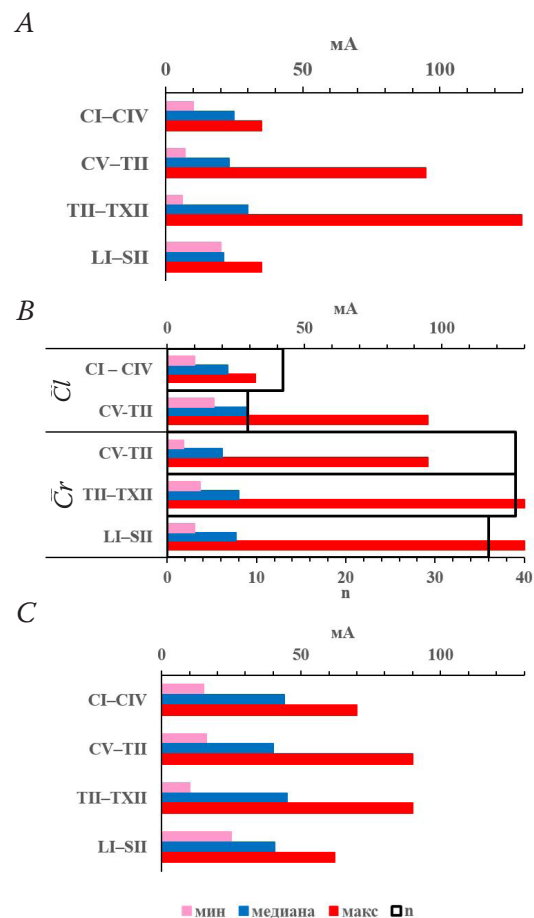


Рис. 2. Интенсивность тока при ЧССМ в зависимости от уровня травмы (А, С) и уровня стимуляции (В). С1–С4, С5–Т1, Т1–Т12, L1–S2 — позвонки. А, С: С1–S2 — уровни ТСМ. В: С1–S2 — положение катода; С1 — аноды на уровне ключиц; Сr — катоды на уровне гребней подвздошных костей; n — число случаев.

Fig. 2. The TESCS current relative to the injury level (A, C) and the stimulation level (B). С1–С4, С5–Т1, Т1–Т12, L1–S2 — vertebrae. А, С: С1–S2 — SCI level. В: С1–S2 — cathode position; С1 — anodes at the level of the clavicles, Сr — anodes at the level of the iliac crests; n — the number of cases.

Табл. 2. Результаты единичной процедуры ЧССМ

Table 2. The results of a single TESCO treatment

Уровень травмы позвоночника	Уровни ЧССМ ⁵	Реакции на ЧССМ	
		двигательные	иные
СI–СIV	С2, С6, Т5, Т12, L1	Движения пальцев стоп и/или рук, сокращение мышц бедра	Уменьшение спастичности; потепление стоп и кистей; уменьшение боли
CV–ТII	С4–С5, С7–Т1, Т12–L1, L1–L2	Сокращения разгибателей предплечья, сокращение мышц брюшного пресса; движение большого пальца правой руки; двигательный ответ мышц бедра; двигательная реакция крупных мышц одной ноги	Усиление спастичности мышц ног; исчезновение болевых ощущений; ощущения пальцев стоп; ощущение полностью ног; ощущение ладоней
ТII–ТХII	С7–Т1, Т12–L1, L3–L4, L5–S1	Движения в ГЛС ⁶ ; движения пальцев стоп; движения пальца стопа; сокращение мышц голени и поочередное сгибание пальцев стоп; синхронная двигательная реакция крупных мышц ног	Снижение спастичности мышц голени; ощущение жжения от поясницы и ниже до ягодичной зоны, ощущение левой ноги; ощущение стоп и пальцев стоп; появление перистальтики кишечника
LI–SII	С7, Т5, Т11, L1, S1	Двигательный ответ пальца/пальцев ног	Теплее стали голени, появление чувствительности до середины голени или до ГЛС

⁵ Позвонки, на уровне которых помещали катоды

⁶ ГЛС — голеностопный сустав

уменьшение или исчезновение хронической боли, появление чувствительности (табл. 2). Следовательно, процедура ЧССМ воздействует не только на соматические, но и на висцеральные функции.

У пациента с ТСМ на уровне С7–Т1 и давностью травмы 2 года ритмическая стимуляция вызвала увеличение спастичности мышц ног, это было расценено как нежелательное явление, поэтому пациенту не проводили реабилитационные процедуры с ЧССМ. Также не рекомендовали спинальную стимуляцию и пациенту (ТСМ на уровне С6, давность травмы 2 года), у которого ЧССМ одиночными импульсами не вызвала двигательные реакции при всех возможных позициях стимулирующих электродов.

Результаты курса реабилитации с использованием ЧССМ

Реабилитационный курс с применением ЧССМ прошли 50 человек из всех пациентов, которые прошли КПП. Группа уменьшилась не только за счет 2 пациентов, которым была назначена реабилитация без ЧССМ, но и за счет 8 пациентов, которые по личным причинам отложили реабилитацию на более поздний срок. Из исследования выбыл 1 пациент с травмой

на уровне СI–СIV, 3 — на уровне CV–ТII, 5 — на уровне ТII–ТХII и 1 — на уровне LI–SII; все выбывшие — мужчины. У 12 % пациентов, прошедших реабилитационный курс, ТСМ была на двух уровнях (рис. 3). НФТО были у 4, 16, 20 и 2 пациентов из групп с травмой на уровне СI–СIV, CV–ТII, ТII–ТХII и LI–SII соответственно.

У всех пациентов, независимо от уровня ТСМ, в результате курса было получено улучшение двигательных функций по сравнению с результатами, зарегистрированными во время КПП (табл. 3). Это улучшение проявилось в увеличении мышечной силы, увеличении длительности выполнения значимых поз (поза сидя без опоры на руки, вертикальная стойка), изменении качества выполнения поз (например, замыкание коленных суставов в вертикальной стойке с возможностью баланса в стойке). Реабилитационных целей (табл. 3) достигли 65–100 % пациентов в зависимости от уровня ТСМ (рис. 3). Для достижения целей они восстановили двигательные навыки: переход из положения лежа на спине в положение сидя, ходьба на четвереньках, в положении сидя без опоры взять бутылку воды и пить без посторонней помощи, в вертикальной стойке перенос центра тяжести с одной ноги на другую с поочередным

Табл. 3. Результат реабилитационного курса с применением ЧССМ в зависимости от уровня травмы спинного мозга (изменения относительно результата, полученного во время первой процедуры)

Table 3. The result of the TESCOs rehabilitation relative to the injury level (changes in comparison with the results obtained after the first TESCO treatment)

Уровень травмы позвоночника	Цели реабилитации	Двигательные результаты	Изменения функций малого таза	Восстановленные навыки
С1–С4	Улучшение координации верхних конечностей; увеличение мышечной силы рук и туловища; удержание позы сидя с опорой / без опоры на руки; замыкание коленей в положении стоя; расширение зон чувствительности	Увеличение мышечной силы рук и ног; увеличение выносливости: длительность выполнения упражнений возросла в ~2 раза	Появление ощущения позывов к мочеиспусканию, дефекации	Поза сидя с опорой на руки до 1 мин 10 с; перемещение из положения сидя на полу, ноги прямые вперед, в положение сидя на полу, ноги согнутые; удержание вертикальной позы без опоры до 50 с
С5–Т1	Самостоятельные перевороты лежа; поза сидя с опорой на руки; поза сидя с прямой спиной без опоры на руки; ходьба на четвереньках; пересаживание с кушетки на коляску; улучшение позы стоя без опоры; ходьба с одной тростью	Удержание стабильной позы сидя без опоры увеличилась с 5–10 с до 50 с; удержание в позе стоя на коленях — с 10 с до ~2 мин; удержание вертикальной позы без опоры — с 2 до 20 мин; уменьшение спастичности на 1–2 балла	Учащение стула с 1 раза в 10 дней до 1 раза в 1–2 дня	Переход из положения лежа на спине в положение сидя; удержание позы сидя в корсете без опоры до 2 мин 40 с; ходьба на четвереньках вперед и назад; самостоятельно взять бутылку воды и пить без посторонней помощи
Т1–Т11	Перевороты лежа; удержание позы сидя без опоры; удержание позы на четвереньках; вертикальная поза стоя с опорой; замыкание коленей или одного колена в вертикальной стойке; ходьба с опорой на месте; ходьба по ровной поверхности с опорой на ходунки; снижение уровня спастичности; улучшение ощущения органов малого таза	Удержание позы сидя без опоры до 5 мин; уменьшение длительности ходьбы на четвереньках на 115 см с 6 мин до 2 мин 45 с; замыкание коленных суставов в позе стоя; увеличение длительности удержания позы сидя с упором ног в пол и без опоры на руки с 35 с до > 5 мин; увеличение длительности вертикальной стойки у шведской стенки с 5 с до 10 мин; увеличение длительности ходьбы с ходунками с 3 до 7 мин	Появление ощущения позывов к мочеиспусканию, дефекации	Может самостоятельно менять положение тела; поза сидя с ровной спиной без опоры на руки; ходьба на четвереньках до 15 мин; вертикальная стойка без опоры до 1 мин; перенос веса тела с одной ноги на другую в вертикальной стойке с попеременным замыканием коленных суставов
Л1–Л11	Укрепление мышц спины и нижних конечностей; поза стоя без опоры с замкнутыми коленями	Отрыв пятки от пола во время приседаний; появились движения в 1 пальце и 1 плюснефаланговом суставе ноги		Удержание баланса на одной ноге без опоры (5–10 мин)

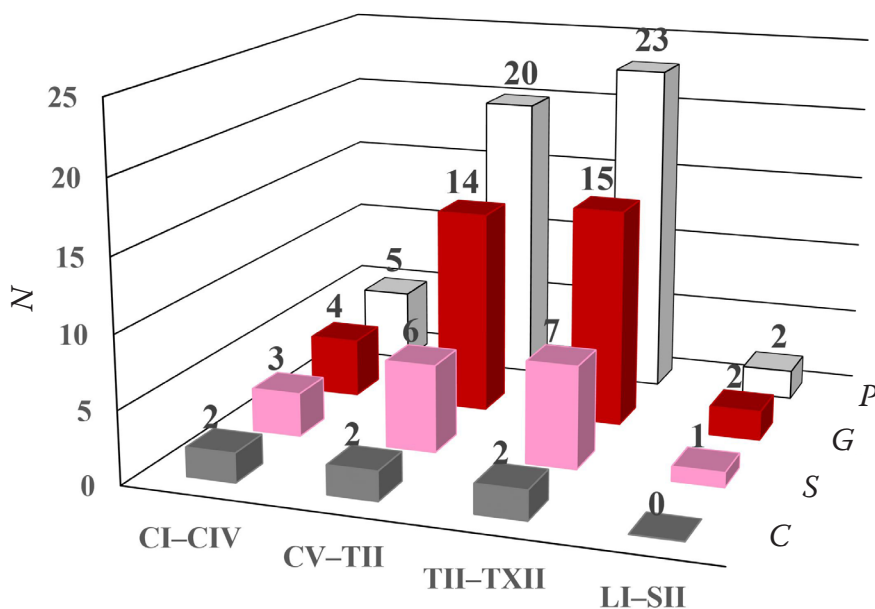


Рис. 3. Результат реабилитационного курса с применением ЧССМ в зависимости от уровня травмы спинного мозга (N = 50). Дополнение к табл. 3. Уровни ТСМ: как на рис. 1. P: количество пациентов с травмой в указанном отделе позвоночника, в том числе с сочетанной травмой в нижележащем отделе позвоночника (C). S: количество пациентов с диагностированным расширением зон чувствительности после курса. G: количество пациентов, у которых реабилитационная цель достигнута.

Fig. 3. The result of the TSCS rehabilitation relative to the injury level (N = 50). Supplement to Table 3. SCI levels as in Fig. 1. P: the number of patients with trauma in the specified spine level, including those with concomitant trauma in the lower spine (C). S: the number of patients diagnosed improvements in sensitivity after the rehabilitation. G: the number of patients who have achieved the rehabilitation goal.

замыканием коленных суставов и другие навыки (табл. 3).

Таким образом, использование ЧССМ для реабилитации тяжелых пациентов с ТСМ, у которых проблемы недостаточности движений, вызванные травмой, осложнены сопутствующими заболеваниями, приводит к восстановлению у них утраченных двигательных навыков, что улучшает их качество жизни, так как делает менее зависимыми от помощи окружающих.

Уменьшение спастичность мышц нижних конечностей после курса наблюдали у 2 пациентов с ТСМ на уровне CVI–TIII (с 2 до 1 балла по шкале Эшворта) и у 1 пациента с ТСМ на уровне TII–TXII (с 4 до 3 баллов).

У 34 % пациентов после курса отмечено улучшение поверхностной и глубокой чувствительности (рис. 3).

По 2 пациента из групп с ТСМ на уровнях CI–CIV и TII–TXII стали ощущать позывы к мочеиспусканию и дефекации. У 1 пациента с последствиями ТСМ на уровне CVI–TIII (давность травмы 23 года) в ходе курса отмечено значительное учащение дефекации и мочеиспускания (табл. 3).

Следовательно, двигательная реабилитация с применением ЧССМ приводит к существенным изменениям не только соматических, но и висцеральных функций, что требует дополнительного изучения. Такое развитие событий соответствует идеологии трансляционной медицины — стремление к излечению должно дополняться стремлением понять человеческие болезни и их сложности, и одним из важных аспектов трансляционной медицины является возвращение от «постели больного» в научные лаборатории для получения новых знаний (Mankoff et al. 2004).

В ходе курса было зарегистрировано 1 нежелательное явление. У пациента с ТСМ на уровне T5–T7 с 6 по 9 процедуру наблюдали увеличение спастичности с 2 до 3 баллов по шкале Эшворта. При выяснении обстоятельств пребывания пациента вне реабилитационного центра оказалось, что, начиная с 6 процедуры, пациент проходит курс иглорефлексотерапии по назначению других специалистов. В связи с этим трудно определить причину увеличения спастичности. Реабилитацию с применением ЧССМ остановили после 9 процедуры.

Клинические случаи

На примере трех пациентов показано, что использование ЧССМ в двигательной реабилитации, нацеленной на решение индивидуальных двигательных задач, приводит к решению этих задач. Клинические случаи представлены в порядке уменьшения тяжести двигательных нарушений, от пациента, неспособного самостоятельно без опоры сидеть, до пациента, не удерживающего физиологически нормальную вертикальную стойку и неспособного физиологически правильно идти. В каждом случае инструментальными методами продемонстрировано, что реабилитационные цели были достигнуты.

Пациент 1

История болезни № 036/19. Женщина, 26 лет, состояние после закрытого перелома остистых отростков С6–С7 и осложненного компрессионного перелома-вывиха Т6, Т7 вследствие ДТП, ушиб и сдавление спинного мозга на уровне Т6–Т7, множественные переломы поперечных отростков грудного отдела давностью 2,5 года. Прооперирована на 10 сутки, произведена резекция тел позвонков Т6–Т7, металлоостеосинтез раздвижным имплантатом и задняя комбинированная фиксация. Нижняя параплегия, нарушение поверхностной и глубокой чувствительности, НФТО. Функционально: трудности в поддержании позы сидя без опоры (< 1,5 мин), отсутствие возможности пересаживаться в коляску, отсутствие активных движений нижних конечностей. Спастичность отсутствует. Степень инвалидизации 4 балла по шкале Рэнкина.

Первая процедура ЧССМ. Катоды между позвонками С7–Т1, Т12–L1 и аноды — над гребнями подвздошных костей. Двигательная реакция на одиночные импульсы от мышц голени и стоп, пороговый ток 13 и 23 мА (С7 и Т12 соответственно). Реакция на ритмическую ЧССМ (20 мин) — видимое сокращение мышц голени и стопы, более выраженное справа. Максимальный ответ при ЧССМ с параметрами 16 мА, 10 Гц, биполярная форма импульсов на уровне С7 и 30 мА, 10 Гц, монополярная форма импульсов на уровне Т12.

12 процедур с целью укрепления мышц спины и пресса, с тренировкой навыка поддержания самостоятельной позы сидя без опоры с прямой спиной, без запрокидывания головы, с прямыми ногами на кушетке или с ногами с опорой в пол. В результате увеличено время удержания позы сидя без опоры на руки с ногами в пол

до 4 мин. Стабилометрическое исследование демонстрирует (рис. 4А) стабилизацию позы сидя после курса (уменьшение площади статокинезиограммы (ПС) в ~3 раза и уменьшение смещения центра давления (ЦД) вправо с ~10 см до ~1 см). Появились самостоятельные приведения и отведения бедра правой нижней конечности в позе сидя с порой на руки и ногами, вытянутыми перед собой. Совершила 2 самостоятельных пересаживания с кушетки в коляску с использованием доски для пересаживания. Расширение зоны глубокой чувствительности по задней поверхности до уровня середины бедра и до нижней трети бедра по передней поверхности.

Пациент 2

История болезни № 0103/19. Мужчина, 42 года, состояние после компрессионного перелома С6–С7 позвонков, давность травмы 5 лет. Прооперирован в день травмы, произведен передний спондилодез С6–С7, металлоостеосинтез С5–С7. Нижняя спастическая параплегия, слабо выраженный парез пальцев кисти, нарушение поверхностной и глубокой чувствительности, НФТО. Функционально: трудности в поддержании стабильной позы сидя без опоры (< 20 сек), снижена мелкая моторика, ограничено самостоятельное перемещение в виде пересаживания в коляску с кровати, пересаживания на пол или мат для выполнения упражнений, может стоять, держась за опору (> 30 мин) с гиперизгибами позвоночника. Спастичность мышц нижних конечностях 3 балла по шкале Эшворта. Степень инвалидизации 4 балла по шкале Рэнкина.

Первая процедура ЧССМ. Катоды между позвонками С3–С4 и Т12–L1, аноды — над гребнями подвздошных костей. Реакция на одиночные импульсы — сокращение мышц бедра, пороговый ток ~20 мА. Реакция на непрерывную ЧССМ (20 Гц, 20 мин) — последовательное сокращение мышц сверху вниз.

12 процедур с тренировкой навыка поддержания самостоятельной позы сидя без опоры на руки с ногами в пол и вертикализацией. Увеличена длительность удержания позы сидя без опоры на руки с ногами в пол в > 7 раз (до 140 сек). Стабилометрическое исследование позы сидя (рис. 4В) показывает увеличение устойчивости позы (смещение ЦД вправо уменьшилось с ~20 см до ~1 см). Достигнуто качественное улучшение баланса в позе сидя без опоры (может оказывать сопротивление на внешние толчки), что расширило возможности самообслуживания во время одевания/

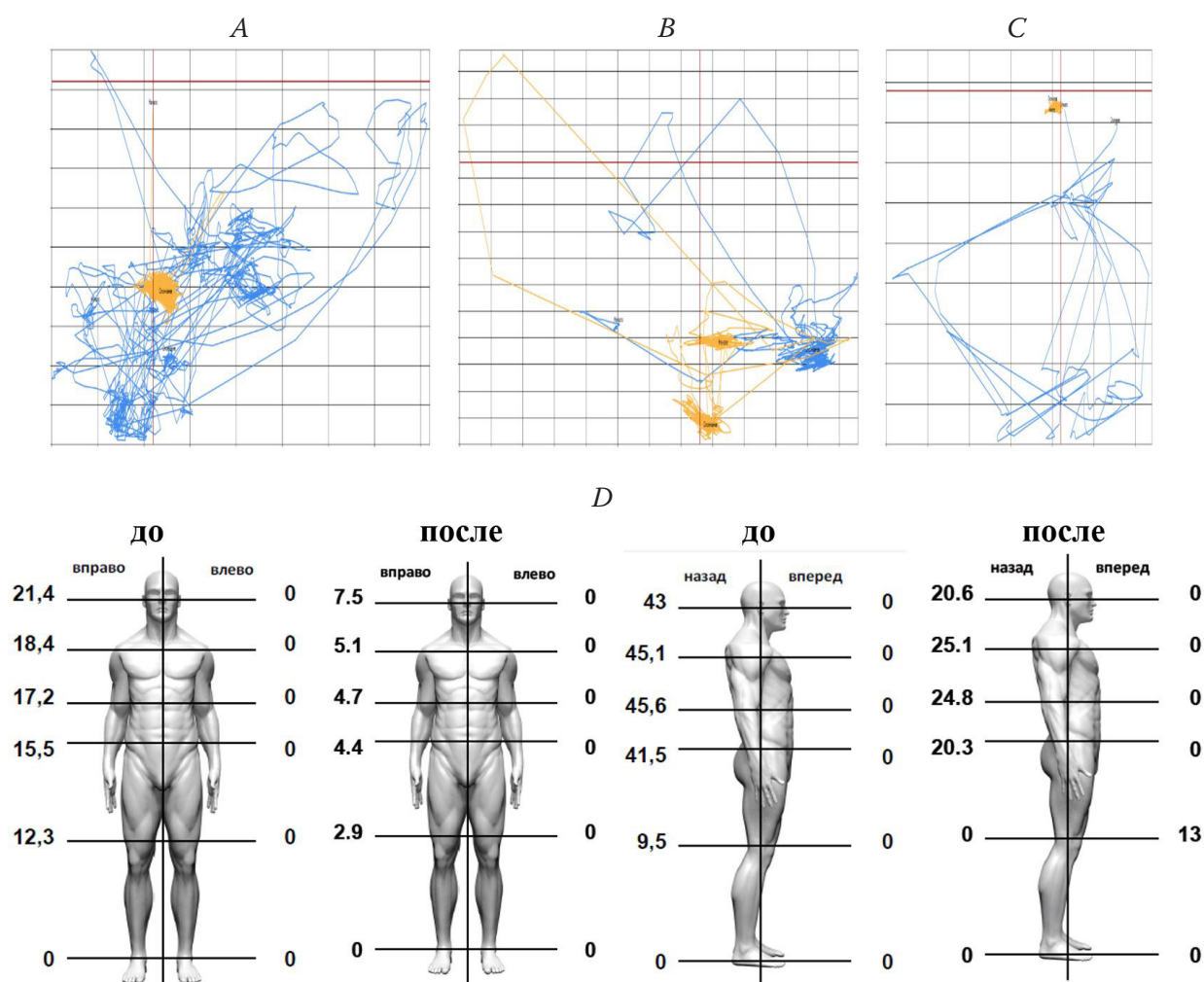


Рис. 4. Визуализация изменений позы пациентов до и после реабилитационного курса. А, В, С: стабилограммы до (синий) и после (желтый) курса; регистрация в положении сидя, ступни в пол, руки прямо перед собой у пациентов 1 и 2 (А и В соответственно) и в вертикальной стойке с опорой на ходунки у пациента 3 (С): длительность регистрации ~150 с; сетка 5 × 5 см²; красные линии: проекции сагиттальной и фронтальной плоскостей, проходящих посередине между стопами и через межлодыжечную линию соответственно (по: Скворцов 2010); смещение вперед соответствует верху на рисунке. D: среднее смещение положения тела (см) пациента 2 в вертикальной стойке; длительность регистрации 180 с (до) и 166 с (после).

Fig. 4. Visualization of changes in the patient posture before and after the rehabilitation. A, B, C: stabilograms before (blue) and after (yellow) the course; records in a sitting position, feet on the floor, hands straight in front of oneself in patients 1 and 2 (A and B, respectively) and in an upright stand with a walker in patient 3 (C); records ~150 s; scale grid 5×5 cm²; red lines: projections of the sagittal and frontal planes passing in the middle between the feet and across the interloar line, respectively (Skvortsov 2010); the forward shift is the top of the figure. D: average displacement of the body position (cm) of patient 2 in an upright stand; records for 180 s (before) and 166 s (after).

раздевания и проведения бытовых манипуляций. Получено качественное улучшение позы стоя, держась за опору, с компенсацией гиперизгибов позвоночника без изменения длительности стойки (рис. 4D). Спастичность мышц нижних конечностей снижена до 1,5 баллов.

Пациент 3

История болезни № 059/19. Мужчина, 33 года, состояние после взрывного перелома тела

и задних элементов Т8 позвонка с отрывом головок ребер слева. Компрессионно-оскольчатый перелом тела Т12 с сужением позвоночного канала. Прооперирован в первые сутки, металлоостеосинтез на уровне Т7–Т10. Давность 14 месяцев. Нижний парапарез, НФТО. Функциональные ограничения: умеренно-выраженная трудность контроля активных движений нижних конечностей в области тазобедренных суставов, интенсивно выраженная трудность активных

движений коленных суставов и отсутствие контролируемых движений стоп. Поза стоя с опорой на ходунки с компенсацией удержания баланса за счет усиления грудного кифоза, переразгибания поясничного лордоза и помощи движениями головой, при исправлении компенсирующего положения пациент теряет равновесие и падает, шаг с опорой на ходунки производится за счет компенсирующих движений в поясничном отделе позвоночника и поворота таза, без сгибания/разгибания тазобедренных суставов. Спастичность мышц нижних конечностях 1 балл по шкале Эшворта. Степень инвалидизации 3 балла по шкале Рэнкина.

Первая процедура ЧССМ. Катоды между позвонками С7–Т1, Т12–L1 и L1–L2, аноды — над гребнями подвздошных костей. Реакция на одиночные импульсы — двигательный от мышц стоп, сгибание/разгибание первых-вторых пальцев стоп. Пороговый ток ~30 мА на всех уровнях стимуляции. Реакция на непрерывную ЧССМ (20 Гц, 20 мин) — сокращение мышц нижних конечностей целиком и ощущение пациентом «мурашек» на стопах.

12 процедур с тренировкой навыка поддержания позы стоя с опорой на ходунки, ровной спиной и контролем баланса положения тела, а также тренировка управляемых движений голени и стопами. В результате: устойчивая поза стоя с опорой на ходунки с ровной спиной и центральным положением головы. Результат стабилметрического исследования в позе стоя (рис. 4С) — уменьшение ПС в ~5 раза и умень-

шение смещения ЦД назад с ~15 см до ~2 см. Достигнута способность ходьбы на месте без потери контроля положения, с движениями в тазобедренных суставах.

Выводы

Впервые показано, что ЧССМ может быть использована в курсе двигательной реабилитации тяжелых пациентов с осложнениями после ТСМ.

Использование ЧССМ в краткосрочном курсе двигательной реабилитации позволяет восстанавливать двигательные навыки, утраченные вследствие ТСМ.

Использование ЧССМ, разработанной для исследования локомоторных нейронных сетей спинного мозга человека, поднимает на новый уровень реабилитацию после ТСМ.

ЧССМ в процедуре двигательной реабилитации приводит к существенным изменениям не только соматических, но и висцеральных функций.

Необходимо получение новых знаний о механизмах регуляции висцеральных функций с помощью неинвазивной электрической стимуляции спинного мозга.

Благодарности

Авторы благодарят Наталью Крутикову, генерального директора ООО «ЭйрМЕД», за помощь в организации исследования и Алексея Козлова, генерального директора ООО «Хабилект», за помощь в демонстрации стабилотрамм.

Литература

- Баиндурашвили, А. Г., Виссарионов, С. В., Белянчиков, С. М. и др. (2020) Комплексное лечение пациента с осложненной травмой грудного отдела позвоночника с использованием методики чрескожной электрической стимуляции спинного мозга (клиническое наблюдение). *Гений ортопедии*, т. 26, № 1, с. 79–88. DOI: 10.18019/1028-4427-2020-26-1-79-88
- Виссарионов, С. В., Солохина, И. Ю., Икоева, Г. А. и др. (2016) Двигательная реабилитация пациента с последствиями позвоночно-спинномозговой травмы методом неинвазивной электростимуляции спинного мозга в сочетании с механотерапией. *Хирургия позвоночника*, т. 13, № 1, с. 8–12. DOI: 10.14531/ss2016.1.8-12
- Мошонкина, Т. Р., Шапкова, Е. Ю., Сухотина, И. А. и др. (2016) Исследование сочетания неинвазивной электрической стимуляции спинного мозга и активации серотониновых рецепторов у пациентов с хроническим поражением спинного мозга. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, т. 161, № 6, с. 700–705.
- Норкин, И. А., Баратов, А. В., Федонников, А. С. и др. (2014) Значимость анализа медико-социальных параметров травм позвоночника в организации специализированной медицинской помощи. *Хирургия позвоночника*, № 3, с. 95–100. DOI: 10.14531/ss2014.3.95-100
- Савенкова, А. А., Сарана, А. М., Щербак, С. Г. и др. (2019) Неинвазивная электрическая стимуляция спинного мозга в комплексной реабилитации больных со спинномозговой травмой. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*, т. 96, № 5, с. 11–18. DOI: 10.17116/kurort20199605111
- Сворцов, Д. В. (2010) *Стабилметрическое исследование: краткое руководство*. М.: Маска, 172 с.
- Al'joboori, Y., Massey, S. J., Knight, S. L. et al. (2020) The effects of adding transcutaneous spinal cord stimulation (tSCS) to sit-to-stand training in people with spinal cord injury: A pilot study. *Journal of Clinical Medicine*, vol. 9, no. 9, article 2765. DOI: 10.3390/jcm9092765

- Chen, Y., He, Y., DeVivo, M. J. (2016) Changing demographics and injury profile of new traumatic spinal cord injuries in the United States, 1972–2014. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, vol. 97, no. 10, pp. 1610–1619. DOI: 10.1016/j.apmr.2016.03.017
- Dimitrijevic, M. R., Gerasimenko, Yu., Pinter, M. M. (1998) Evidence for a spinal central pattern generator in humans. *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 860, no. 1, pp. 360–376. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb09062.x
- Gerasimenko, Yu. P., Lu, D. C., Modaber, M. et al. (2015) Noninvasive reactivation of motor descending control after paralysis. *Journal of Neurotrauma*, vol. 32, no. 24, pp. 1968–1980. DOI: 10.1089/neu.2015.4008
- Gerasimenko, Yu., Roy, R. R., Edgerton, V. R. (2008) Epidural stimulation: Comparison of the spinal circuits that generate and control locomotion in rats, cats and humans. *Experimental Neurology*, vol. 209, no. 2, pp. 417–425. DOI: 10.1016/j.expneurol.2007.07.015
- Gorodnichev, R. M., Pivovarova, E. A., Puhov, A. et al. (2012) Transcutaneous electrical stimulation of the spinal cord: A noninvasive tool for the activation of stepping pattern generators in humans. *Human Physiology*, vol. 38, no. 2, pp. 158–167. DOI: 10.1134/S0362119712020065
- Hebert, J. S., Burnham, R. S. (2000) The effect of polytrauma in persons with traumatic spine injury: A prospective database of spine fractures. *Spine*, vol. 25, no. 1, pp. 55–60. DOI: 10.1097/00007632-200001010-00011
- Mankoff, S. P., Brander, C., Ferrone, S., Marincola, F. M. (2004). Lost in translation: Obstacles to translational medicine. *Journal of Translational Medicine*, vol. 2, no. 1, article 14. DOI: 10.1186/1479-5876-2-14
- Megía García, A., Serrano-Muñoz, D., Taylor, J. et al. (2020) Transcutaneous spinal cord stimulation and motor rehabilitation in spinal cord injury: A systematic review. *Neurorehabilitation and Neural Repair*, vol. 34, no. 1, pp. 3–12. DOI: 10.1177/1545968319893298
- Shapkova, E. Y., Pismennaya, E. V., Emelyannikov, D. V., Ivannenko, Y. (2020) Exoskeleton walk training in paralyzed individuals benefits from transcutaneous lumbar cord tonic electrical stimulation. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 14, article 416. DOI: 10.3389/fnins.2020.00416

References

- Al'joboori, Y., Massey, S. J., Knight, S. L. et al. (2020) The effects of adding transcutaneous spinal cord stimulation (tSCS) to sit-to-stand training in people with spinal cord injury: A pilot study. *Journal of Clinical Medicine*, vol. 9, no. 9, article 2765. DOI: 10.3390/jcm9092765 (In English)
- Baindurashvili, A. G., Vissarionov, S. V., Belyanchikov, S. M. et al. (2020) Kompleksnoye lecheniye patsiyenta s oslozhnennoy travmoy grudnogo otdela pozvonochnika s ispol'zovaniyem metodiki chreskozhnoy elektricheskoy stimulyatsii spinnogo mozga (klinicheskoye nablyudeniye) [Comprehensive treatment of a patient with complicated thoracic spine injury using percutaneous electrical spinal cord stimulation (case report)]. *Genij ortopedii*, vol. 26, no. 1, pp. 79–88. DOI: 10.18019/1028-4427-2020-26-1-79-88 (In Russian)
- Chen, Y., He, Y., DeVivo, M. J. (2016) Changing demographics and injury profile of new traumatic spinal cord injuries in the United States, 1972–2014. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, vol. 97, no. 10, pp. 1610–1619. DOI: 10.1016/j.apmr.2016.03.017 (In English)
- Dimitrijevic, M. R., Gerasimenko, Yu., Pinter, M. M. (1998) Evidence for a spinal central pattern generator in humans. *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 860, no. 1, pp. 360–376. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb09062.x (In English)
- Gerasimenko, Yu. P., Lu, D. C., Modaber, M. et al. (2015) Noninvasive reactivation of motor descending control after paralysis. *Journal of Neurotrauma*, vol. 32, no. 24, pp. 1968–1980. DOI: 10.1089/neu.2015.4008 (In English)
- Gerasimenko, Yu., Roy, R. R., Edgerton, V. R. (2008) Epidural stimulation: Comparison of the spinal circuits that generate and control locomotion in rats, cats and humans. *Experimental Neurology*, vol. 209, no. 2, pp. 417–425. DOI: 10.1016/j.expneurol.2007.07.015 (In English)
- Gorodnichev, R. M., Pivovarova, E. A., Puhov, A. et al. (2012) Transcutaneous electrical stimulation of the spinal cord: A noninvasive tool for the activation of stepping pattern generators in humans. *Human Physiology*, vol. 38, no. 2, pp. 158–167. DOI: 10.1134/S0362119712020065 (In Russian)
- Hebert, J. S., Burnham, R. S. (2000) The effect of polytrauma in persons with traumatic spine injury: A prospective database of spine fractures. *Spine*, vol. 25, no. 1, pp. 55–60. DOI: 10.1097/00007632-200001010-00011 (In English)
- Mankoff, S. P., Brander, C., Ferrone, S., Marincola, F. M. (2004). Lost in translation: Obstacles to translational medicine. *Journal of Translational Medicine*, vol. 2, no. 1, article 14. DOI: 10.1186/1479-5876-2-14 (In English)
- Megía García, A., Serrano-Muñoz, D., Taylor, J. et al. (2020) Transcutaneous spinal cord stimulation and motor rehabilitation in spinal cord injury: A systematic review. *Neurorehabilitation and Neural Repair*, vol. 34, no. 1, pp. 3–12. DOI: 10.1177/1545968319893298 (In English)
- Moshonkina, T. R., Shapkova, E. Yu., Sukhotina, I. A. et al. (2016) Issledovanie sochetaniya neinvazivnoy elektricheskoy stimulyatsii spinnogo mozga i aktivatsii serotoninovykh retseptorov u patsientov s khronicheskim porazheniem spinnogo mozga [Effect of combination of non-invasive spinal cord electrical stimulation and serotonin receptor

- activation in patients with chronic spinal cord lesion]. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny*, vol. 161, no. 6, pp. 700–705. (In Russian)
- Norkin, I. A., Baratov, A. V., Fedonnikov, A. S. et al. (2014) Znachimost' analiza mediko-sotsial'nykh parametrov travm pozvonochnika v organizatsii spetsializirovannoj meditsinskoj pomoshchi [The importance of analysis of medical and social parameters of traumatic spine injuries for organization of specialized medical care]. *Hirurgiâ pozvonočnika — Spine Surgery*, no. 3, pp. 95–100. DOI: 10.14531/ss2014.3.95-100 (In Russian)
- Savenkova, A. A., Sarana, A. M., Shcherbak, S. G. et al. (2019) Neinvazivnaya elektricheskaya stimulyatsiya spinnogo mozga v kompleksnoj rehabilitatsii bol'nykh so spinnomozgovoj travmoj [Noninvasive spinal cord electrical stimulation in the complex rehabilitation of patients with spinal cord injury]. *Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoi fizicheskoi kultury — Problems of Balneology, Physiotherapy, and Exercise Therapy*, vol. 96, no. 5, pp. 11–18. DOI: 10.17116/kurort20199605111 (In Russian)
- Shapkova, E. Y., Pismennaya, E. V., Emelyannikov, D. V., Ivannenko, Y. (2020) Exoskeleton walk training in paralyzed individuals benefits from transcutaneous lumbar cord tonic electrical stimulation. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 14, article 416. DOI: 10.3389/fnins.2020.00416 (In English)
- Skvortsov, D. V. (2010) *Stabilometricheskoe issledovanie: kratkoe rukovodstvo [Stabilometric study: A short guide]*. Moscow: Maska Publ., 172 p. (In Russian)
- Vissarionov, S. V., Solokhina, I. Yu., Ikoeva, G. A. et al. (2016) Dvigatel'naya rehabilitatsiya patsienta s posledstviyami pozvonochno-spinnomozgovoj travmy metodom neinvazivnoj elektrostimulyatsii spinnogo mozga v sochetanii s mekhanoterapij [Motor rehabilitation of patients with consequences of spinal cord injury using noninvasive electrical stimulation of the spinal cord combined with mechanotherapy]. *Hirurgiâ pozvonočnika — Spine Surgery*, vol. 13, no. 1, pp. 8–12. DOI: 10.14531/ss2016.1.8-12 (In Russian)

Нейроны, экспрессирующие ген *factor of interpulse interval (fipi)*, вовлечены в регуляцию поведения ухаживания самцов *Drosophila melanogaster*

С. А. Федотов^{✉1,2}, Н. Г. Беседина¹, Ю. В. Брагина¹,
Л. В. Даниленкова¹, Е. А. Камышева¹, Н. Г. Камышев¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН,
199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6
² Санкт-Петербургский государственный университет,
199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9

Сведения об авторах

Сергей Александрович Федотов,
SPIN-код: 8766-3012,
ResearcherID: L-2467-2017,
Scopus AuthorID: 55765206600,
ORCID: 0000-0002-7428-120X,
e-mail: serg900@yandex.ru

Наталья Геннадьевна Беседина,
ORCID: 0000-0003-0603-9486,
e-mail: nbesedina21@infran.ru

Юлия Валерьевна Брагина,
ORCID: 0000-0003-0432-0063,
e-mail: julia_bragina@infran.ru

Лариса Владимировна
Даниленкова,
ORCID: 0000-0001-7826-6106,
e-mail: danilenkova@infran.ru

Елена Аркадьевна Камышева,
ORCID: 0000-0001-8527-8842,
e-mail: kamyshevaea@infran.ru

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

Для цитирования:

Федотов, С. А., Беседина, Н. Г.,
Брагина, Ю. В. и др.
(2020) Нейроны,
экспрессирующие ген *factor
of interpulse interval (fipi)*,
вовлечены в регуляцию
поведения ухаживания самцов
Drosophila melanogaster.
Интегративная физиология,
т. 1, № 4, с. 366–379.
DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-
4-366-379

Получена 15 июня 2020; прошла
рецензирование 4 августа 2020;
принята 4 августа 2020.

Аннотация. Ранее нами описан ген *factor of interpulse interval (fipi)*, он же *CG15630*, снижение экспрессии которого в нервной системе приводит к изменениям параметров импульсной песни ухаживания самцов дрозофилы, в частности к укорочению межимпульсного интервала (Fedotov et al. 2014). В настоящей работе мы описали структуры нервной системы, в которых происходит экспрессия гена *fipi*, а также исследовали роль этого гена в реализации поведения ухаживания, включая его модификацию в результате предшествующего опыта ухаживания за нерцептивной оплодотворенной самкой. Известно, что такой опыт (обучение) снижает интенсивность последующих ухаживаний самца за другими самками. Экспрессия маркерного белка GFP под контролем промотора гена *fipi* была обнаружена в локальных интернейронах антеннальных долей, в гамма-нейронах Кеньона и зрительных нейронах оптических долей. Блокирование синаптической передачи от *fipi*-нейронов снижало эффективность подавления ухаживания, а усиление возбудимости этих нейронов способствовало более длительному сохранению эффекта подавления. Нокадаун гена *fipi* не вызывал отклонений в подавлении ухаживания, однако увеличивал интенсивность ухаживания у самцов без обучения. Полученные результаты показывают, что *fipi*-нейроны вовлечены в регуляцию поведения ухаживания, и позволяют предположить, что экспрессия гена *fipi* в гамма-нейронах грибовидных тел участвует в механизмах формирования краткосрочной памяти в данной форме обучения.

Ключевые слова: дрозофила, половое поведение, краткосрочная память, гамма-нейроны, подавление ухаживания, обонятельные сигналы.

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 годы (ГП-14, раздел 63) и программы кадровой поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых СПбГУ (грант постдока № 34799261, научная лаборатория биологии амилоидов, проект «Трансляционная биомедицина в СПбГУ»).

Права: © Авторы (2020). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

The involvement of neurons expressing gene *factor of interpulse interval (fipi)* in regulation of courtship behavior of *Drosophila melanogaster* males

S. A. Fedotov^{✉1,2}, N. G. Besedina¹, J. V. Bragina¹,
L. V. Danilenkova¹, E. A. Kamysheva¹, N. G. Kamyshev¹

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

² Saint-Petersburg State University, 7/9 Universitetskaya Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Authors

Sergey A. Fedotov,
SPIN: 8766-3012,
ResearcherID: L-2467-2017,
Scopus AuthorID: 55765206600,
ORCID: 0000-0002-7428-120X,
e-mail: serg900@yandex.ru

Natalia G. Besedina,
ORCID: 0000-0003-0603-9486,
e-mail: nbesedina21@infran.ru

Julia V. Bragina,
ORCID: 0000-0003-0432-0063,
e-mail: julia_bragina@infran.ru

Larisa V. Danilenkova,
ORCID: 0000-0001-7826-6106,
e-mail: danilenkova@infran.ru

Elena A. Kamysheva,
ORCID: 0000-0001-8527-8842,
e-mail: kamyshevaea@infran.ru

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

For citation:

Fedotov, S. A., Besedina, N. G.,
Bragina, J. V. et al.
(2020) The involvement of neurons
expressing gene *factor of interpulse*

Abstract. Previously, we described gene *factor of interpulse interval (fipi)*, aka *CG15630*, whose decreased expression in the nervous system led to the changes in the parameters of a pulse song — a component of courtship in *Drosophila* males, in particular, to the reduction of the interpulse interval (Fedotov et al. 2014). In this study, we describe the structures of the nervous system, where the *fipi* gene is expressed. We also examine the role of this gene in courtship behavior, including its modification as a result of previous experience of a male courting a non-receptive fertilized female. It is known that such experience (learning) reduces the intensity of subsequent courtship of a male as regards other females. The expression of the GFP marker protein under control of the *fipi* gene promoter was detected in local interneurons of the antennal lobes, in Kenyon gamma-neurons, and in visual neurons of the optical lobes. The blocking of synaptic transmission from *fipi* neurons reduced the efficiency of courtship suppression, and increased the excitability of these neurons, which resulted in a longer retention of the suppression effect. The knockdown of the *fipi* gene did not cause abnormalities in the courtship suppression, instead, it increased courtship intensity in males with no experience. The results show that *fipi* neurons are involved in the regulation of courtship behavior, and suggest that the expression of the *fipi* gene in gamma-neurons of mushroom bodies is involved in the formation of a short-term memory in this form of learning.

Keywords: *Drosophila*, sexual behavior, short-term memory, gamma neurons, courtship suppression, olfactory signals.

interval (fipi) in regulation of courtship behavior of *Drosophila melanogaster* males. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 4, pp. 366–379. DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-366-379

Received 15 June 2020;
reviewed 4 August 2020;
accepted 4 August 2020.

Funding: This study was supported by the Program of Fundamental Scientific Research of State Academies for 2013–2020 (GP-14, Section 63) and the program of personal support for scientific research conducted under the guidance of leading scientists of Saint Petersburg State University (postdoc grant No. 34799261, scientific laboratory of amyloid biology, Translational Biomedicine Project, Saint Petersburg State University).

Copyright: © The Authors (2020).
Published by Herzen State Pedagogical University of Russia.
Open access under CC BY-NC License 4.0.

Введение

Изучение функций генов, от которых зависит работа нейронных сетей, ответственных за реализацию и регуляцию различных форм поведения, представляет собой важный аспект современной нейрогенетики. Поведение ухаживания самцов дрозофилы интересно тем, что оно представляет собой комплекс фиксированных действий (ритуал ухаживания), который подвержен модификациям в результате приобретения индивидуального опыта. Кроме того, такой компонент ритуала ухаживания, как брачная песня самцов, может изучаться не только путем наблюдения за поведением, но и путем анализа звукозаписи, что дает представление о запуске, остановке и интенсивности работы центрального генератора моторного паттерна импульсной песни. Интенсивность его работы отражается в межимпульсном интервале: чем он короче, тем интенсивнее работает генератор. Ранее нами был описан ген *factor of interpulse interval (fipi)*, он же *CG15630*, снижение экспрессии которого в нервной системе приводит к изменениям параметров импульсной песни ухаживания самцов дрозофилы, в частности к укорочению межимпульсного интервала (Fedotov et al. 2014). Анализ эффектов локального нокдауна *fipi* в различных типах нейронов

позволил заключить, что данный ген вовлечен в обработку ольфакторных сигналов, регулирующих межимпульсный интервал в песне ухаживания (Fedotov et al. 2018). В настоящей работе мы описали структуры нервной системы, в которых происходит экспрессия гена *fipi*, а также исследовали роль этого гена в реализации поведения ухаживания, включая его модификацию в результате предшествующего содержания с нерцептивной оплодотворенной самкой.

Ритуал ухаживания представляет собой врожденную последовательность действий, которые самец дрозофилы совершает перед попытками копуляции с самкой (Spieth 1974). При зрительном обнаружении самки он сближается с ней на расстояние 1–2 размеров тела (ориентация), идентифицируя вид, пол и рецептивность самки по обонятельным и вкусовым хемосигналам. Пусковым сигналом для дальнейшего ухаживания является детекция видоспецифичных афродизиаков (кутикулярных углеводов) на теле самки вкусовыми рецепторами передних лапок самца. Далее самец вибрирует отставленным крылом, генерируя при этом импульсную песню ухаживания (вибрация). Если самка убегает, то самец преследует ее (преследование), в том числе продолжая вибрировать крылом (вибрация на бегу). Восприятие самкой видо-

специфичной песни самца усиливает ее рецептивность и снижает скорость ее передвижения. В финальной стадии ритуала самец облизывает гениталии самки и совершает попытки копуляции, которые в конце концов завершаются успешным спариванием, если это зрелая девственная самка. Оплодотворенные и незрелые девственные самки нерцептивны, т. е. копуляция с ними невозможна.

Предварительное содержание самца с оплодотворенной самкой в течение 30–60 минут снижает интенсивность последующего ухаживания самца как за девственной (Siegel, Hall 1979), так и за оплодотворенной самкой (Tomprkins 1984; Kamyshev et al. 1999). При сравнении прошедших такую тренировку самцов с наивными, т. е. не имеющими предшествующего опыта ухаживания, самцами сниженный уровень ухаживания у тренированных самцов сохранялся до 3 часов, если тест проводился с девственной самкой, и по крайней мере до 8 часов, если объектом ухаживания была другая (не та, с которой проводили тренировку) оплодотворенная самка (Kamyshev et al. 1999). При этом степень подавления ухаживания в тесте с оплодотворенной самкой всегда была выше, чем в тесте с девственной. Что касается теста с девственной самкой, то с самых ранних работ этот эффект трактовался как условнорефлекторное подавление ухаживания (conditioned courtship suppression, или courtship conditioning). Стимулирующие ухаживание самца раздражители, исходящие от оплодотворенной самки, в ходе тренировки ассоциировались со стимулами, подавляющими ухаживание, в частности, с запахом антифродизиака цис-вакценил ацетата (цВА), который присутствует у самок только после их оплодотворения. В последующем тесте с девственной самкой запах цВА так же, как и другие аверсивные стимулы оплодотворенной самки, отсутствовал, т. е. подавление ухаживания происходило в результате выработки условного рефлекса. На основании экспериментальных данных в качестве механизма рассматривался преимущественно классический павловский условный рефлекс (ассоциация между стимулами), хотя против возможной выработки ассоциации стимул — действие — результат (самка — ухаживание — невозможность спаривания), соответствующей парадигме инструментального условного рефлекса, также никто не возражал. Аргументы в пользу ассоциативной природы этой модификации поведения суммированы в работе Л. С. Гриффит и А. Эдзимы (Griffith, Ejima 2009). В случае теста с оплодотворенной самкой, который мы использовали в данном

исследовании, к причинам подавления ухаживания добавляется неассоциативное обучение, сенситизация — увеличение чувствительности к цВА в ходе ухаживания за оплодотворенной самкой (Keleman et al. 2012), а также такой фактор, как перенос обучения, ведь тест с оплодотворенной самкой, по сути, является тестом повторного обучения (Kamyshev et al. 1999).

На сегодняшний день у дрозофилы детально описаны нейроны и их связи, через которые осуществляется запуск и регуляция поведения ухаживания (Auer, Benton 2016; Yamamoto et al. 2014; Zhang et al. 2019), а также его подавление в случае, если самец не смог добиться копуляции при ухаживании за самкой (Keleman et al. 2012; Zhao et al. 2018). Однако изучение на клеточном уровне молекулярных факторов, вовлеченных в реализацию данной формы поведения и его модификацию с учетом предыдущего опыта, отстает от описания нейронных сетей и необходимо для описания процессов, протекающих в этих сетях.

Ген *fipi* экспрессируется преимущественно в центральной нервной системе (Chintapalli et al. 2007) и кодирует ассоциированный с мембранами белок (Khanna et al. 2010), который относится к суперсемейству иммуноглобулинов, молекул клеточной адгезии и содержит 3 иммуноглобулиновых домена и домен фибронектина типа III (<https://www.uniprot.org/uniprot/Q9VR25>). У млекопитающих наибольшая гомология с геном *fipi* обнаруживается с генами нейрональных молекул клеточной адгезии NCAM (pantherdb.org), посттрансляционные модификации которых обеспечивают процессы нейронального ремоделирования и синаптической пластичности, в том числе в обонятельных луковицах и нейронах гиппокампа (Bonfanti, Theodosis 2009; Muller et al. 1996).

Материалы и методы

Линии мух

Во всех экспериментах использовали самцов *Drosophila melanogaster*. Условия содержания мух описаны ранее (Goncharova et al. 2016). Линия дикого типа *Canton-S* получена из Bloomington *Drosophila* Stock Center (BDSC, США). Трансгенные линии мух, которые экспрессировали ген транскрипционного активатора GAL4 под контролем регуляторных областей, стоящих в геноме перед геном *fipi*, были созданы нами по схеме, описанной в работе Б. Д. Пфайффер с соавт. (Pfeiffer et al. 2008). Во всех экспериментах использовали потомство от скрещивания

самок линии 2M2 (драйвер *fipi-GAL4*, генотип $y1\ w67c23; P\{y[+t7.7]\ w[+mC]=fipi672-GAL4\}attP2$) с самцами, несущими тот или иной трансген под контролем промотора UAS (upstream activating sequence). Связывание GAL4 с UAS запускает экспрессию трансгена, стоящего за UAS (Duffy 2002). В контрольных скрещиваниях вместо 2M2 брали линию 1M1 (отрицательный контроль, генотип $y1\ w67c23; P\{y[+t7.7]\ w[+mC]=pBPGw\}attP2$), в которой трансген *GAL4* не экспрессировался ввиду отсутствия промотора. Были использованы следующие линии с UAS-трансгенами из BDSC: #32186 ($w[*]; P\{w[+mC]=10XUAS-IVS-mCD8::GFP\}attP40$), далее GFP, для маркирования клеток белком GFP, #28838 ($w[*]; P\{w[+mC]=UAS\textit{TeTxLC.tnt}\}G2$, далее TNT) для блокирования синаптической передачи легкой цепью столбнячного токсина, #28839 ($w[*]; P\{w[+mC]=UAS\textit{TeTxLC.(-)Q}\}A2$, далее TNT*) с мутантным геном легкой цепи столбнячного токсина, не блокирующей синаптическую передачу, #9467 ($y[1]\ w[*]; P\{w[+mC]=UAS\textit{NaChBac-EGFP}\}1/TM3, Sb[1]$, далее *NaChBac*) для усиления возбужденности нейронов экспрессией бактериального натриевого канала. Для нокдауна гена *fipi* в скрещиваниях с самцами *fipi-GAL4* была использована линия мух #107797 ($y\ w[11118]; P\{KK107002\}VIE-260B$, далее RNAi), полученная из Vienna Drosophila RNAi Center (VDRC, Австрия). Данная линия содержит UAS-трансген, кодирующий интерферирующую РНК (hpRNA) к гену *fipi*.

Конфокальная микроскопия

Пятисуточных самцов обездвигивали на льду и извлекали ЦНС и антенны в фосфатном буфере (ФБ) путем механического препарирования (Fore et al. 2011; Karim et al. 2014). Образцы фиксировали в 4%-ном формальдегиде и инкубировали с антителами. Были использованы первичные моноклональные антитела к GFP (338001, BioLegend, крыса, 1:1000) и к Fas2 (1D4, DSHB, мышь, 1:100) и вторичные поликлональные антитела к IgG крысы с красителем Alexa Fluor 488 (112–545-003, Jackson, козел, 1:500) и к IgG мыши с красителем Alexa Fluor 647 (ab150115, Abcam, козел, 1:500). Для окраски ядер во вторую порцию отмывки добавляли краситель DAPI (4', 6-diamidino-2-phenylindole) в концентрации 300 нг/мл. После отмывки образцы помещали в среду GDP (70%-ный глицерин, 2,5 % DABCO в ФБ) для хранения и сканирования флуоресцентного сигнала на конфокальном микроскопе.

Анализ флуоресценции проводили на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM 710 (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) в коллективном центре пользования «Конфокальная микроскопия» Института физиологии им. И. П. Павлова. Анализ и редактирование полученных изображений выполнялся в свободно распространяемой версии ZEN 2011 (black edition, 64 bit, Carl Zeiss).

Оценка уровня экспрессии

Оценка уровня экспрессии гена *fipi* осуществлялась как описано ранее (Fedotov et al. 2014). Вкратце, из самцов выделяли тотальную РНК, из которой в реакции обратной транскрипции получали образцы кДНК, вносимые в пробы полимеразно-цепной реакции с детекцией в режиме реального времени (реал-тайм ОТ-ПЦР) с помощью флуоресцентного красителя EvaGreen® (Biotium, VT-31000). В реакции использовали праймеры к первому и второму экзонам *fipi* (5'-ATTTCGTTGAGATTCTCGCAA TGCG-3', 5'-CGGCGATTTC CAATGGAGCT-3'). В качестве внутреннего контроля количества матрицы использовался рибосомальный ген *RpL32*. Статистическая обработка данных выполнялась рандомизационным тестом с уровнем значимости $\alpha = 0,05$ в программе REST 2009 методом $\Delta\Delta C_t$ (Pfaffl et al. 2002).

Тестирование и анализ поведения ухаживания самцов

Тестирование поведения ухаживания подробно описано в работе Гончаровой с соавт. (Goncharova et al. 2016). Экспериментальных самцов содержали поодиночке в течение 3 суток после вылупления. В день опыта самцов помещали на 1 час в экспериментальную камеру (диаметр 15 мм, высота 5 мм) с оплодотворенной самкой (тренировка). После этого проводили тест с другой оплодотворенной самкой в новой камере либо сразу после тренировки, либо через 1 час (в течение этого времени самцов содержали в стаканчике с питательной средой). Контролем служили мухи того же генотипа, которых перед тестом помещали на 1 час в камеру без самки (ложная тренировка). Этограмму поведения самцов регистрировали в течение 300 секунд, фиксируя время начала отдельных элементов ухаживания (ориентация, вибрация крыла в покое и на бегу, касание брюшка самки передними ногами, лизание, попытка копуляции), а также элементов, не связанных с ухаживанием (побежка, прининг, покой). Каждый эксперимент выполнялся минимум в двух повторностях

по 10 мух в каждой. Для регистрации поведения, анализа данных и статистической обработки использовали компьютерную программу «Drosophila Courtship» (автор Н. Г. Камышев). Для каждого самца вычисляли частоту разных элементов ухаживания и сеансов ухаживания в целом — число инициаций за 100 с. Сравнение средних значений проводили тестом рандомизации (Edgington 1995) при уровне значимости $\alpha = 0,05$. Доверительные интервалы средних значений оценивали методом бутстрэппинга с коррекцией смещения и акселерации в программном обеспечении IBM SPSS Statistics 20 (10000 итераций) (Efron, Tibshirani 1993).

Дополнительно рассчитывали доли переходов от каждого элемента поведения к другим элементам: число переходов конкретного типа относили к сумме всех переходов от данного элемента. Парное сравнение долей выполняли с помощью калькулятора в Statistica 8.0 (двусторонний тест, $\alpha = 0,05$). Расчет стандартных ошибок для долей проводили по формуле ст. ош. = $\sqrt{p * (1 - p) / n}$, где p — доля конкретного перехода, n — число всех переходов от данного элемента.

Результаты и обсуждение

Анализ экспрессии GFP под контролем промотора гена *fipi*

Согласно литературным данным, ген *fipi* экспрессируется практически исключительно в ЦНС (Chintapalli et al. 2007). Для описания структур ЦНС, в которых экспрессируется ген *fipi*, был проанализирован паттерн экспрессии GFP в мозге и грудобрюшном ганглии (ГБГ) мух *D. melanogaster* с набором трансгенов *fipi-GAL4/UAS-GFP*. Трансген *fipi-GAL4* (драйвер) содержит ген транскрипционного активатора GAL4 под контролем промоторной области гена *fipi*. Трансген *UAS-GFP* кодирует ген белка GFP, экспрессия которого запускается при связывании активатора GAL4 с промотором UAS (upstream activating sequence). Так как синтез GAL4 управляется промотором *fipi*, то клеточные структуры, в которых экспрессируется *fipi*, маркируются белком GFP (рис. 1). В контрольных мухах, у которых трансген *GAL4* не содержал промоторной области гена *fipi*, GFP не выявлялся (см. «Методы»).

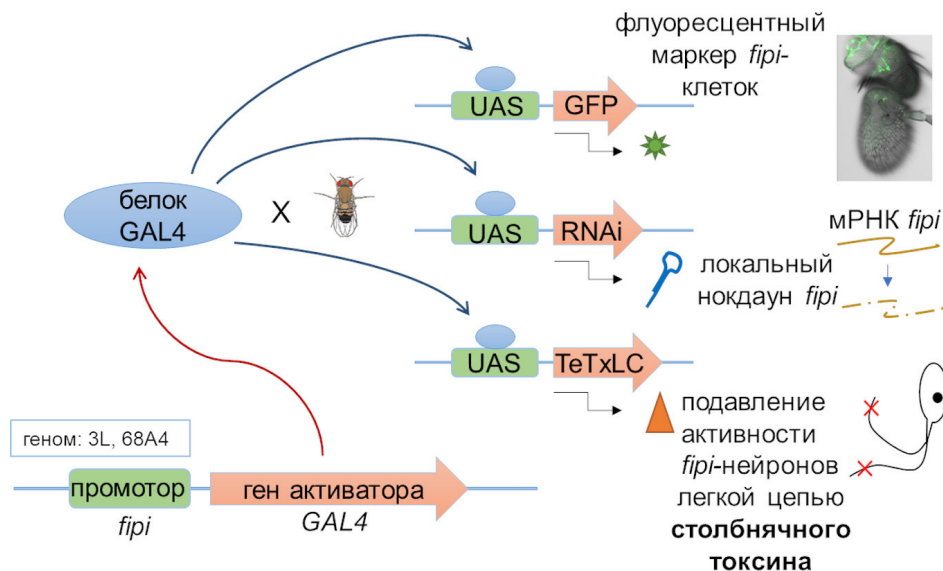


Рис. 1. Схема экспериментов с использованием системы трансгенов GAL4/UAS. Ген транскрипционного активатора GAL4 под контролем промотора гена *fipi* вставляется в геном дрозофилы в сайте 3L, 68A4. Полученные трансгенные мухи скрещиваются с линиями мух, которые содержат трансген под контролем промотора UAS. В потомстве GAL4 связывается с UAS и запускает транскрипцию трансгена под контролем UAS. Трансген экспрессируется лишь в клетках, где активен промотор *fipi*, и позволяет маркировать эти клетки (GFP), подавлять в них экспрессию *fipi* интерферирующей РНК (RNAi), блокировать синаптическую передачу TeTxLC, или (TNT)

Fig. 1. A scheme of experiments using the GAL4/UAS transgene system. The transcriptional activator GAL4 gene under control of the *fipi* gene promoter is inserted into the Drosophila genome at site 3L, 68A4. The resulting transgenic flies are crossed with flies that contain the transgene under control of the UAS promoter. In the offspring, GAL4 binds to UAS and initiates transcription of the transgene under control of UAS. The transgene is expressed only in cells where the *fipi* promoter is active. This allows to label these cells (GFP), suppress *fipi* expression with interfering RNA (RNAi), and block synaptic transmission TeTxLC, or (TNT)

В мозге экспрессия *GFP* была наиболее выраженной в нейронах оптических долей (ламина и медулла), в локальных интернейронах и их нейритах в антеннальных долях, а также в гамма-нейронах Кеньона (Kenyon cells, Aso et al. 2014) и их отростках в гамма-долях грибовидных тел (рис. 2). В ГБГ количество нейронов, маркированных *GFP*, было значительно меньше, однако тела и отростки этих нейронов обнаруживались во всех отделах ГБГ, включая область крылового нейропиля и брюшной сегмент ганглия. В последнем нейроны были наиболее крупные, с идентифицируемыми отростками, выходящими за пределы ганглия (рис. 2).

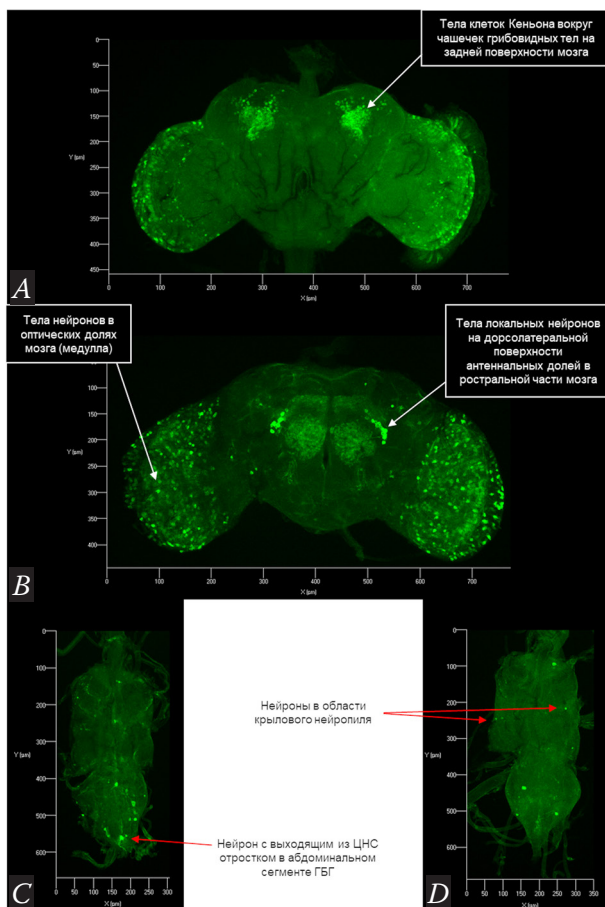


Рис. 2. Мозг и грудобрюшной ганглий (ГБГ) мух, экспрессирующих *GFP* под контролем драйвера *fipi-GAL4*. 3D-реконструкция из конфокальных срезов задней (A) и передней (B) частей мозга, вентральной (C) и дорсальной (D) частей ГБГ. Масштаб отображен на осях системы координат (ед. изм. — микрон). Пояснения см. в тексте

Fig. 2. The brain and the thoracoabdominal ganglion (TAG) of flies expressing *GFP* under control of the *fipi-GAL4* driver. 3D image stack reconstruction of confocal slices of the posterior (A) and anterior (B) brain, ventral (C) and dorsal (D) TAG. The scale is displayed on the axes of the coordinate system (given in microns). See the text for explanations

В исследовании Озкана с соавт. (Özkan et al. 2012) иммуноферментный анализ выявил физическое взаимодействие белка *Fipi* с белком *Fas2*, ген которого так же, как и *fipi*, ортологичен генам человека NCAM. Выполненное нами контрокрашивание образцов мозга антителами к *Fas2* белку не выявило его колокализации с *GFP* маркированными структурами. *Fas2* в наибольшей степени обнаруживался в альфа- и бета-долях грибовидных тел (рис. 3), что соответствовало описаниям паттерна распределения этого белка в работах других авторов (Keene, Waddell 2007). Возможно, взаимодействие белков *Fas2* и *Fipi* необходимо на этапах развития мухи для направленного роста нейритов, одной из основных функций *Fas2* (Kurusu et al. 2002). В пользу данного предположения свидетельствует непосредственная близость *Fas2*- и *Fipi*-структур, как, например, в ножках грибовидных тел (рис. 3).

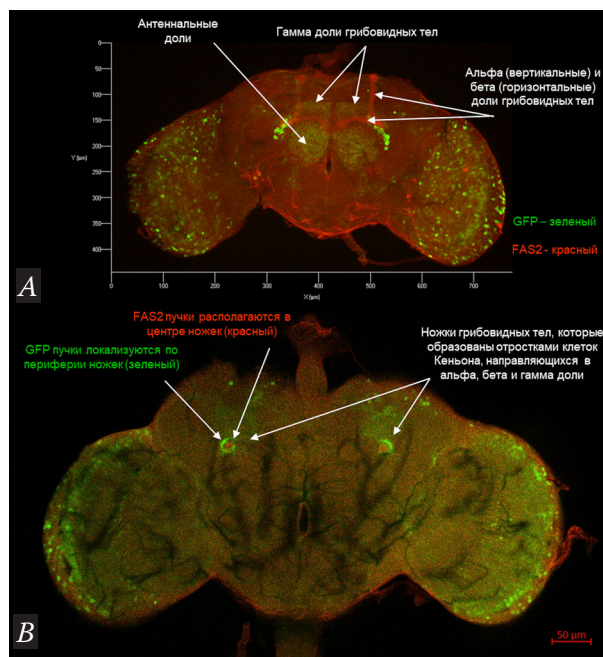


Рис. 3. Мозг самцов, экспрессирующих *GFP* под контролем драйвера *fipi-GAL4*. A, 3D-реконструкция из конфокальных срезов передней части мозга. B, конфокальный фронтальный срез в задней части мозга на уровне отхождения ножек от чашечек грибовидных тел. A — масштаб отображен на осях системы координат (ед. изм. — микрон); B — масштабная полоска: 50 микрон. Пояснения см. в тексте

Fig. 3. Male brain expressing *GFP* under the control of the *fipi-GAL4* driver. A, 3D image stack reconstruction of confocal slices of the anterior brain. B, confocal frontal slice in the posterior brain at the level of the pedunculi extending from the calyces of the mushroom bodies. A — the scale is displayed on the axes of the coordinate system (given in microns); B — scale bar: 50 microns. See the text for explanations

Ранее нами было установлено, что нокаун гена *fipi* в ольфакторных сенсорных нейронах Or47b, Or67d, Ir84a, детектирующих феромоны, приводит к изменениям частоты импульсов в песне ухаживания самцов дрозофилы (Fedotov et al. 2018). Анализ паттерна экспрессии GFP в антеннах под контролем драйвера *fipi-GAL4* и драйверов, маркирующих нейроны Or47b, Or67d, Ir84a, показал отсутствие экспрессии *fipi* в нейронах, детектирующих феромоны, в том числе цВА. Драйвер *fipi-GAL4* маркировал лишь небольшое количество нейронов во втором сегменте и в основании третьего сегмента антенн (рис. 4).

Возможной причиной отсутствия в ольфакторных нейронах экспрессии GFP под контролем *fipi-GAL4* является то, что взятая нами промоторная область гена *fipi* лишь частично воспроизводит паттерн экспрессии гена. В пользу данного предположения свидетельствуют два факта. При нокауне *fipi* под контролем драйвера *fipi-GAL4* не происходит сокращения межимпульсного интервала в песне ухаживания самцов дрозофилы (данные не показаны), как это происходит при использовании драйвера *Act5C-GAL4*, который экспрессируется во всех клетках организма (Fedotov et al. 2018). Во-вторых, нокаун под контролем *fipi-GAL4* в меньшей степени подавляет экспрессию *fipi* в сравнении с драйвером *Act5C-GAL4*. Уровень экспрессии относительно контроля, принимаемого за 1, составляет 0,65 (95 % доверительный интервал: 0,58–0,7) и 0,11 (0,08–0,16) соответственно для *fipi-GAL4* и *Act5C-GAL4* (Fedotov et al. 2018).

Описанный нами паттерн экспрессии GFP под контролем промотора *fipi* указывает на вероятное участие *fipi* в процессах обработки обонятельных сигналов, что согласуется с нашими предыдущими выводами о вовлеченности данного гена в регуляцию песни ухаживания хемосигналами (Fedotov et al. 2018). Известно, что локальные интернейроны осуществляют регуляцию передачи обонятельных сигналов, в том числе и для феромонов, от сенсорных нейронов к проекционным нейронам в гломерулах антеннальных долей (Chou et al. 2010). В то же время активность в гамма-долях необходима для реализации выученных форм поведения, выработанных как на зрительные, так и на обонятельные условные сигналы (Vogt et al. 2014). Выявленная нами экспрессия *fipi* в клетках оптических долей согласуется с литературными данными о детекции транскрипта *fipi* в делящихся клетках в глазном имгинальном диске (Firth, Baker 2007), однако паттерн экспрессии в оптических долях требует дополнительных исследований для идентификации конкретных групп клеток.

Показано, что подавление активности гамма-нейронов приводит к нарушениям в запоминании в краткосрочном периоде (до 2 часов), а конкретно к реализации уже усвоенных элементов обучения (Tranhou et al. 2012). Более того, именно гамма-нейроны опосредуют на краткосрочном интервале (30 минут) подавление ухаживания самцов, вызываемое антиафродизиак цВА, после безуспешного ухаживания за оплодотворенной самкой



Рис. 4. Нейроны, экспрессирующие GFP на внутренней поверхности второго и третьего сегментов антенн под контролем драйверов *Or67d-Gal4*, *Ir84a-Gal4* и *fipi-Gal4*. Конфокальные срезы антенн, полученные в проходящем свете с одновременной флуоресцентной детекцией GFP (зеленый).

Масштабная полоска: 50 микрон

Fig. 4. Neurons expressing GFP on the inner surface of the second and third antenna segments under control of *Or67d-Gal4*, *Ir84a-Gal4* and *fipi-Gal4* drivers. Confocal slices of antennae are obtained in transmitted light with parallel fluorescence detection of GFP (green). Scale bar: 50 microns

(Keleman et al. 2012). На основании этих данных логично предположить участие *fipi*-нейронов в модификации самцами поведения ухаживания после их содержания с оплодотворенной самкой. Для проверки данного предположения нами был выполнено тестирование поведения ухаживания самцов дрозофилы, у которых с помощью системы трансгенов *GAL4/UAS* производилось либо блокирование синаптической передачи от *fipi*-нейронов, либо усиление возбудимости этих нейронов, либо подавление в них экспрессии самого гена *fipi*.

Изменения в подавлении поведения ухаживания при блокировании или усилении активности нейронов, экспрессирующих *fipi*

Для оценки значения *fipi*-нейронов в поведении ухаживания и его регуляции было проанализировано потомство от скрещивания драйверной линии *fipi-GAL4* с линиями *UAS-TNT* и *UAS-NaChBac*. У мух *fipi-GAL4/UAS-TNT*

(далее *fipi-TNT*) блокируется синаптическая передача от нейронов, экспрессирующих *fipi* (Martin et al. 2002), у *fipi-GAL4/UAS-NaChBac* (далее *fipi-NaChBac*) усиливается возбудимость мембран *fipi*-нейронов (Nitabach et al. 2006). В контрольных скрещиваниях использовали драйверные линии, лишённые промотора перед геном *GAL4* (далее *CTRL-TNT* и *CTRL-NaChBac*). Дополнительным контролем служило потомство от скрещивания *fipi-GAL4* с трансгеном *UAS-TNT**, продуцирующим неактивный мутантный столбнячный токсин (далее *fipi-TNT**).

Подавление синаптической передачи у самцов *fipi-TNT*, подвергнутых ложной тренировке, не меняло частоту инициаций сеансов ухаживания (рис. 5А). После содержания с оплодотворенной самкой самцы *fipi-TNT* демонстрировали снижение интенсивности ухаживания, но в меньшей степени, нежели в контрольной группе *CTRL-TNT*. Анализ отдельных элементов ухаживания выявил у мух *fipi-TNT* также и ме-

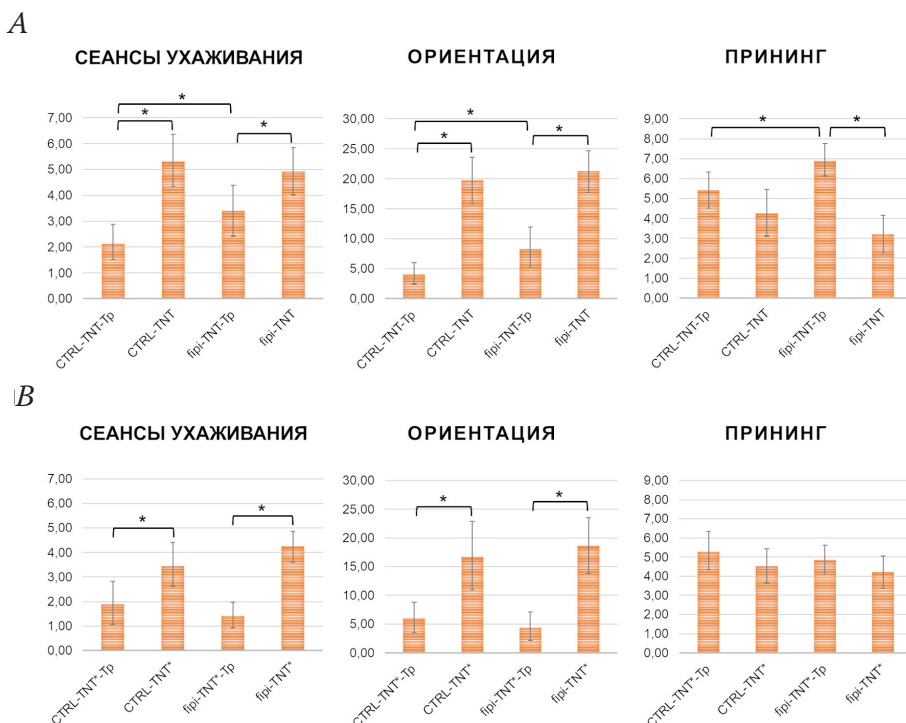


Рис. 5. Частоты сеансов ухаживания, ориентации и прининга (число инициаций за 100 с) после часового содержания самца с оплодотворенной самкой (тренировка) и в аналогичных условиях без самки (ложная тренировка). А — блокада синаптической передачи от *fipi*-нейронов столбнячным токсином: *fipi-TNT-Tr* — тренировка, *fipi-TNT* — ложная тренировка. Контроль без *fipi-Gal4* драйвера (отсутствие синаптической блокады): CTRL-TNT-Tr и CTRL-TNT. В — контроль с неактивным столбнячным токсином — TNT*. Здесь и далее на рисунках 6–7 показаны средние значения и 95 % доверительные интервалы. Достоверные различия между группами отмечены звездочкой (двусторонний тест рандомизации, $p < 0,05$)

Fig. 5. Frequencies of courtship, orientation and preening sessions (number of initiations per 100 s) after an hour of keeping a male with a fertilized female (training) and under similar conditions without a female (false training). А — blockade of synaptic transmission from *fipi* neurons with tetanus toxin: *fipi-TNT-Tr* — training, *fipi-TNT* — false training. Controls without *fipi-Gal4* driver (lack of synaptic blockade): CTRL-TNT-Tr and CTRL-TNT. В — control with inactive tetanus toxin — TNT*. Hereinafter, Figs. 6–7 show the mean values and 95% confidence intervals. Significant differences between the groups are marked with an asterisk (two-sided randomization test, $p < 0.05$)

нее выраженное подавление частоты ориентации (рис. 5А). Ориентация самца головой по направлению к самке на расстоянии, сравнимом с размерами тела, предположительно связана с восприятием ольфакторных сигналов (Ferveur 2005). Таким образом, менее эффективное подавление данного компонента ухаживания у самцов *fipi-TNT* может быть вызвано нарушениями в анализе или обусловливании ольфакторных стимулов, подавляющих ухаживание, что соотносится с нашими данными об экспрессии *fipi* в нейронах обонятельного анализатора и нейронах, ответственных за обучение. Кроме того, было выявлено усиление прининга после обучения у самцов *fipi-TNT* (рис. 5А). Прининг, или чистка тела лапками, не относится к элементам ухаживания, однако известно, что частота данного поведения возрастает у мух в группе и зависит от зрительного контакта (Connolly 1968). Показано, что прининг у самцов усиливается при прерывании ухаживания (Weidmann 1950), что рассматривается в данном контексте как смещенная активность. В нашем случае усиление прининга у самцов *fipi-TNT*

после обучения может быть связано с менее выраженным подавлением ухаживания: самец продолжает безуспешно ухаживать, что в итоге приводит к увеличению смещенной активности.

Отклонения в ухаживании и прининге после обучения отсутствовали в случае тестирования мух с неактивным столбнячным токсином (рис. 5В).

Усиление возбудимости *fipi*-нейронов у мух *fipi-NaChBac* не влияло на параметры поведения ухаживания. После содержания с оплодотворенной самкой частота сеансов ухаживания и ориентации снижались аналогично контрольным значениям, а прининг во всех тестируемых группах оставался неизменным (рис. 6А). Наряду с ориентацией уменьшались параметры преследования и вибрации крылом (данные не показаны).

Так как блокирование активности *fipi*-нейронов приводит к ослаблению подавления ухаживания (рис. 5А), то мы предположили, что усиление активности этих клеток может способствовать более длительному эффекту подавления, с учетом того, что часть этих *fipi*-клеток — это гамма-



Рис. 6. Эффект усиления возбудимости мембран *fipi*-нейронов экспрессией бактериального натриевого канала. Показаны частоты сеансов ухаживания и отдельных элементов поведения (число инициаций за 100 с) после часового содержания самца с оплодотворенной самкой (тренировка) и в аналогичных условиях без самки (ложная тренировка). Опыт: *fipi*-NaChBac-Tr — тренировка; *fipi*-NaChBac — ложная тренировка. Контроль без *fipi-Gal4* драйвера: CTRL-NaChBac-Tr и CTRL-NaChBac. А — тест сразу после тренировки. В — тест через 1 час после тренировки. См. пояснения к рисунку 5

Fig. 6. Effect of an increased excitability of *fipi*-neuron membranes by expression of the bacterial sodium channel. Frequencies of courtship sessions and individual behavioral elements (number of initiations per 100 s) after an hour of keeping a male with a fertilized female (training) and under similar conditions without a female (false training). Experiment: *fipi*-NaChBac-Tr — training; *fipi*-NaChBac — false training. Controls without *fipi-Gal4* driver: CTRL-NaChBac-Tr and CTRL-NaChBac. A — test immediately after training. B — test 1 hour after training. See explanations for Fig. 5

нейроны, ответственные за реализацию краткосрочных модификаций поведения (Tranroy et al. 2012; Vogt et al. 2014). Для проверки данного предположения мы протестировали мух *fipi-NaChBac* не сразу, а через час после тренировки. Действительно, через час частота сеансов ухаживания у мух *fipi-NaChBac* сохраняла сниженные значения, в то время как в контрольной группе эффект подавления пропал (рис. 6В). Данное снижение отображалось также в параметрах ориентации и вибрации. Результаты этого эксперимента свидетельствуют о том, что *fipi*-нейроны могут участвовать в процессах сохранения следа памяти, по крайней мере, краткосрочной.

Изменения в поведении ухаживания при нокадауне гена *fipi* под контролем драйвера *fipi-GAL4*

Ранее нами было показано, что нейроспецифичный нокадаун гена *fipi* приводит к усилению частоты инициации импульсной песни ухаживания (Fedotov et al. 2014). Нокадаун гена *fipi* под контролем *fipi-GAL4* (*fipi-RNAi*) также приводил к усилению частоты инициации вибрации крылом (коррелирует песенной активности) и ориентации у самцов, подвергнутых ложной тренировке (рис. 7). Нокадаун гена *fipi* не препятствовал обучению, при этом отличий между контролем и нокадауном у самцов после тренировки не обнаруживалось. Более того, если

в контроле сразу после тренировки происходило снижение частоты инициации вибрации в 2,3 раза, то при нокадауне это отношение составляло уже 8,1 (рис. 7).

Несмотря на отсутствие различий в параметрах ухаживания после тренировки, нокадаун *fipi*, однако, вызывал одно специфичное изменение в структуре ухаживания. Структурный анализ ухаживания выполнялся посредством оценки доли переходов от отдельного элемента ухаживания к другим элементам (число переходов конкретного типа относили к сумме всех переходов от данного элемента). Поведение ухаживания представляет собой комплекс фиксированных действий, т. е. запускаемую ключевым стимулом (феромоном) стандартную последовательность действий, которая начинается с ориентации и заканчивается попытками копуляции (Spieth 1974). В случае неудачной попытки самец чаще всего повторяет ритуал ухаживания, начиная снова с ориентации. Ни нокадаун *fipi*, ни изменения активности *fipi*-нейронов не вызывали после тренировки изменений в переходах между элементами в рамках отдельного цикла ухаживания (данные не показаны). Тем не менее нокадаун *fipi* сопровождался уменьшением доли переходов после неудачных попыток копуляции вновь к ориентации (рис. 8). Данный результат указывает на то, что при нокадауне *fipi* подавление ухаживания определяется не только снижением ча-

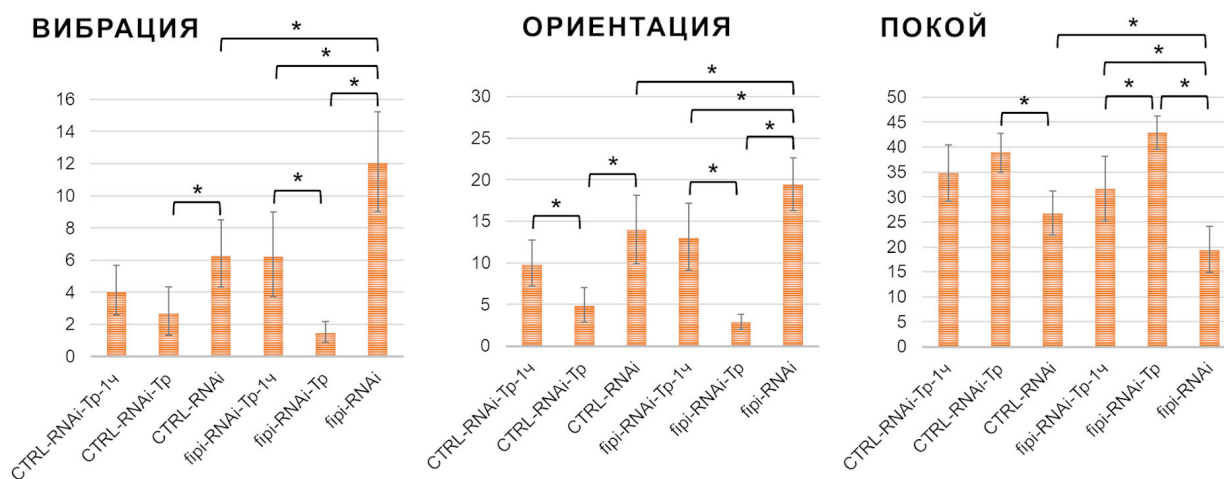


Рис. 7. Частота инициации вибрации (на бегу), ориентации и покоя при нокадауне гена *fipi* под контролем *fipi-GAL4* сразу и через час после тренировки (*fipi-RNAi-Tr*, $n = 40$ и *fipi-RNAi-Tr-1ч*, $n = 30$), а также при ложной тренировке (*fipi-RNAi*, $n = 20$, тест сразу). Контроль без *fipi-Gal4* драйвера: CTRL-RNAi-Tr ($n = 40$), CTRL-RNAi-Tr-1ч ($n = 30$) и CTRL-RNAi ($n = 20$). См. пояснения к рис. 5

Fig. 7. Initiation frequencies of vibration (coupled with running), orientation and rest in *fipi* knockdown under control of *fipi-GAL4* immediately and one hour after training (*fipi-RNAi-Tr*, $n = 40$ and *fipi-RNAi-Tr-1h*, $n = 30$), as well as after false training (*fipi-RNAi*, $n = 20$, test immediately). Controls without *fipi-Gal4* driver: CTRL-RNAi-Tr ($n = 40$), CTRL-RNAi-Tr-1h ($n = 30$) and CTRL-RNAi ($n = 20$). See explanations for Fig. 5

стоты инициации сеансов ухаживания, но и снижением частоты перехода к повторным циклам ухаживания, в случае если ухаживание завершилось неудачей.

Полученные в настоящем исследовании данные о влиянии гена *fipi* на поведение ухаживания и его модификацию после приобретения опыта ухаживания за оплодотворенной самкой несколько противоречивы. У самцов, подвергнутых ложной тренировке, нокаунт *fipi* приводил к существенному увеличению частоты инициации вибрации и ориентации (рис. 7). Это свидетельствует о том, что в норме экспрессия гена *fipi* может участвовать в механизмах, тормозящих запуск ухаживания. Также нокаунт способствовал более выраженному подавлению ухаживания после тренировки, что происходило, однако, только за счет более интенсивного ухаживания самцов, подвергнутых ложной тренировке, тогда как уровень ухаживания у тренированных самцов при нокауне не изменялся (рис. 7). Наоборот, при подавлении синаптической передачи от *fipi*-нейронов, где, в принципе, можно было ожидать эффект, сходный с эффектом

нокауна, наблюдалось менее эффективное снижение ухаживания после содержания с оплодотворенной самкой (рис. 5А). Активация (усиление возбудимости) *fipi*-нейронов способствовала сохранению следа памяти через 1 час после тренировки (рис. 6В). Эти достаточно убедительные результаты дают основание предполагать, что *fipi*-нейроны участвуют в механизмах формирования краткосрочной памяти после обучения с оплодотворенной самкой. Ксу Чжао с соавт. (Zhao et al. 2018) показали, что основой для ее формирования является устойчивая реверберация возбуждения в схеме с обратной связью, состоящей из трех классов нейронов: иннервирующих компартмент 5 гамма-долей грибовидных тел дофаминергических нейронов aSP13, холинергических гамма-нейронов грибовидных тел (клетки Кеньона) и их постсинаптических глутаматергических нейронов М6, имеющих возвратный синаптический вход на aSP13 нейроны. Обнаруженная нами экспрессия *fipi* в гамма-нейронах Кеньона (рис. 2А) позволяет предполагать, что продукт гена *fipi* может влиять либо на сам процесс реверберации

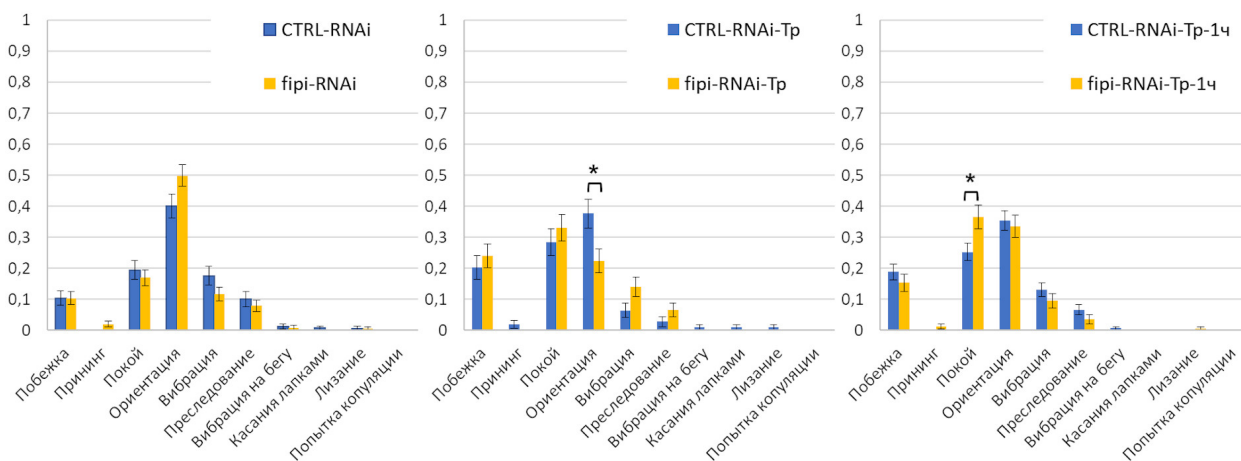


Рис. 8. Влияние нокауна *fipi* на частоту переходов от попытки копуляции к другим элементам поведения.

Показана доля каждого варианта перехода в общем количестве переходов от попытки копуляции и ее стандартная ошибка. Синим представлены данные по контрольным скрещиваниям с ложной тренировкой (CTRL-RNAi, n = 237), сразу (CTRL-RNAi-Tr, n = 109) и через 1 час после тренировки (CTRL-RNAi-Tr-1ч, n = 160); желтым — аналогичные данные для мух с нокауном *fipi* под контролем *fipi-GAL4*: ложная тренировка (*fipi*-RNAi, n = 162), сразу (*fipi*-RNAi-Tr, n = 121) и через 1 час после тренировки (*fipi*-RNAi-Tr-1ч, n = 212). При нокауне снижается доля переходов от попыток копуляции к ориентации сразу после тренировки и увеличивается доля переходов к покою через 1 час (отмечено звездочками, p < 0,05)

Fig. 8. The effect of the *fipi* knockdown on the frequency of transitions from attempted copulation to other elements of behavior. The proportions of each transition variant in the total number of transitions from attempted copulation and their standard errors are shown. Blue shows the control crosses with false training (CTRL-RNAi, n = 237), immediately (CTRL-RNAi-Tr, n = 109) and 1 hour after training (CTRL-RNAi-Tr-1h, n = 160); yellow — similar data for *fipi* knockdown under control of *fipi-GAL4*: false training (*fipi*-RNAi, n = 162), immediately (*fipi*-RNAi-Tr, n = 121) and 1 hour after training (*fipi*-RNAi-Tr-1h, n = 212). In knockdown, the proportion of transitions from attempted copulation to orientation decreases immediately after training, and the proportion of transitions to rest increases in 1 hour (marked with asterisks, p < 0.05)

возбуждения, либо на проистекающие из него процессы изменения синаптической пластичности, лежащие в основе формирования краткосрочной памяти. Однако выявленный нами паттерн экспрессии гена *fipi* предполагает возможность и других путей его влияния на поведение ухаживания.

Благодарности

Мы благодарим Bloomington Drosophila Stock Center (NIH P40OD018537) на базе университета Индианы (США) и Vienna Drosophila RNAi Center на базе кампуса по обеспечению научной

поддержки (Австрия) за предоставление трансгенных линий мух с GAL4 и RNAi.

Моноклональные антитела 1D4, разработанные в университете Калифорнии, получены из Developmental Studies Hybridoma Bank, созданного национальным институтом здоровья НИИ и поддерживаемого на базе университета Айовы.

Мы крайне признательны доктору Константину Г. Илиади (Госпиталь для больных детей, Торонто, Канада) за разведение и пересылку мутантных линий в нашу лабораторию, а также ЦКП «Биоколлекция» при ИФ РАН за помощь в поддержании коллекции мух.

References

- Aso, Y., Hattori, D., Yu, Y. et al. (2014) The neuronal architecture of the mushroom body provides a logic for associative learning. *eLife*, vol. 3, article e04577. DOI: 10.7554/eLife.04577 (In English)
- Auer, T. O., Benton, R. (2016) Sexual circuitry in *Drosophila*. *Current Opinion in Neurobiology*, vol. 38, pp. 18–26. DOI: 10.1016/j.conb.2016.01.004 (In English)
- Bonfanti, L., Theodosis, D. T. (2009) Polysialic acid and activity-dependent synapse remodeling. *Cell Adhesion & Migration*, vol. 3, no. 1, pp. 43–50. DOI: 10.4161/cam.3.1.7258 (In English)
- Chintapalli, V. R., Wang, J., Dow, J. A. T. (2007) Using FlyAtlas to identify better *Drosophila melanogaster* models of human disease. *Nature Genetics*, vol. 39, no. 6, pp. 715–720. DOI: 10.1038/ng2049 (In English)
- Chou, Y.-H., Spletter, M. L., Yaksi, E. et al. (2010) Diversity and wiring variability of olfactory local interneurons in the *Drosophila* antennal lobe. *Nature Neuroscience*, vol. 13, no. 4, pp. 439–449. DOI: 10.1038/nn.2489 (In English)
- Connolly, K. (1968) The social facilitation of preening behaviour in *Drosophila melanogaster*. *Animal Behaviour*, vol. 16, no. 2-3, pp. 385–391. DOI: 10.1016/0003-3472(68)90023-7 (In English)
- Duffy, J. B. (2002) GAL4 system in *Drosophila*: A fly geneticist's Swiss army knife. *Genesis*, vol. 34, no. 1-2, pp. 1–15. DOI: 10.1002/gene.10150 (In English)
- Edgington, E. S. (1995) *Randomization tests*. 3rd ed., correct. and compl. New York: Marcel Dekker Publ., 409 p. (In English)
- Efron, B., Tibshirani, R. J. (1993) *An introduction to the bootstrap*. New York: Chapman and Hall, 456 p. (In English)
- Fedotov, S. A., Bragina, Ju. V., Besedina, N. G. et al. (2014) The effect of neurospecific knockdown of candidate genes for locomotor behavior and sound production in *Drosophila melanogaster*. *Fly*, vol. 8, no. 3, pp. 176–187. DOI: 10.4161/19336934.2014.983389 (In English)
- Fedotov, S. A., Bragina, Ju. V., Besedina, N. G. et al. (2018) Gene *CG15630 (fipi)* is involved in regulation of the interpulse interval in *Drosophila* courtship song. *Journal of Neurogenetics*, vol. 32, no. 1, pp. 15–26. DOI: 10.1080/01677063.2017.1405000 (In English)
- Ferveur, J.-F. (2005) Cuticular hydrocarbons: Their evolution and roles in *Drosophila* pheromonal communication. *Behavior Genetics*, vol. 35, no. 3, article 279. DOI: 10.1007/s10519-005-3220-5 (In English)
- Firth, L. C., Baker, N. E. (2007) Spitz from the retina regulates genes transcribed in the second mitotic wave, peripodial epithelium, glia and plasmatocytes of the *Drosophila* eye imaginal disc. *Developmental Biology*, vol. 307, no. 2, pp. 521–538. DOI: 10.1016/j.ydbio.2007.04.037 (In English)
- Fore, T. R., Ojwang, A. A., Warner, M. L. et al. (2011) Mapping and application of enhancer-trap flippase expression in larval and adult *Drosophila* CNS. *Journal of Visualized Experiments*, vol. 52, article e2649. DOI: 10.3791/2649 (In English)
- Goncharova, A. A., Bragina, Yu. V., Fedotov, S. A., Kamyshev, N. G. (2016) Vliyanie gruppovogo soderzhaniya na polovoe povedenie samtsov *Drosophila melanogaster* [Influence of group rearing on sexual behavior of *Drosophila melanogaster* males]. *Zhurnal evolyutsionnoj biokhimii i fiziologii — Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 52, no. 6, pp. 454–462. (In Russian)
- Griffith, L. C., Ejima, A. (2009) Courtship learning in *Drosophila melanogaster*: Diverse plasticity of a reproductive behavior. *Learning & Memory*, vol. 16, no. 12, pp. 743–750. DOI: 10.1101/lm.956309 (In English)
- Kamyshev, N. G., Iliadi, K. G., Bragina, J. V. (1999) *Drosophila* conditioned courtship: Two ways of testing memory. *Learning & Memory*, vol. 6, no. 1, pp. 1–20. (In English)
- Karim, M. R., Endo, K., Moore, A. W., Taniguchi, H. (2014) Whole mount immunolabeling of olfactory receptor neurons in the *Drosophila* antenna. *Journal of Visualized Experiments*, vol. 87, article e51245. DOI: 10.3791/51245 (In English)

- Keene, A. C., Waddell, S. (2007) *Drosophila* olfactory memory: Single genes to complex neural circuits. *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 8, no. 5, pp. 341–354. DOI: 10.1038/nrn2098 (In English)
- Keleman, K., Vrontou, E., Krüttner, S. et al. (2012) Dopamine neurons modulate pheromone responses in *Drosophila* courtship learning. *Nature*, vol. 489, no. 7414, pp. 145–149. DOI: 10.1038/nature11345 (In English)
- Khanna, M. R., Stanley, B. A., Thomas, G. H. (2010) Towards a membrane proteome in *Drosophila*: A method for the isolation of plasma membrane. *BMC Genomics*, vol. 11, article 302. DOI: 10.1186/1471-2164-11-302 (In English)
- Kurusu, M., Awasaki, T., Masuda-Nakagawa, L. M. et al. (2002) Embryonic and larval development of the *Drosophila* mushroom bodies: Concentric layer subdivisions and the role of fasciclin II. *Development*, vol. 129, no. 2, pp. 409–419. (In English)
- Martin, J.-R., Keller, A., Sweeney, S. T. (2002) 1-targeted expression of tetanus toxin: A new tool to study the neurobiology of behavior. *Advances in Genetics*, vol. 47, pp. 1–47. DOI: 10.1016/s0065-2660(02)47001-0 (In English)
- Muller, D., Wang, C., Skibo, G. et al. (1996) PSA-NCAM is required for activity-induced synaptic plasticity. *Neuron*, vol. 17, no. 3, pp. 413–422. DOI: 10.1016/s0896-6273(00)80174-9 (In English)
- Nitabach, M. N., Wu, Y., Sheeba, V. et al. (2006) Electrical hyperexcitation of lateral ventral pacemaker neurons desynchronizes downstream circadian oscillators in the fly circadian circuit and induces multiple behavioral periods. *The Journal of Neuroscience*, vol. 26, no. 2, pp. 479–489. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3915-05.2006 (In English)
- Özkan, E., Carrillo, R. A., Eastman, C. L. et al. (2013) An extracellular interactome of immunoglobulin and LRR proteins reveals receptor-ligand networks. *Cell*, vol. 154, no. 1, pp. 228–239. DOI: 10.1016/j.cell.2013.06.006 (In English)
- Pfaffl, M. W., Horgan, G. W., Dempfle, L. (2002) Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Research*, vol. 30, no. 9, article 36. DOI: 10.1093/nar/30.9.e36 (In English)
- Pfeiffer, B. D., Jenett, A., Hammonds, A. S. et al. (2008) Tools for neuroanatomy and neurogenetics in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 105, no. 28, pp. 9715–9720. DOI: 10.1073/pnas.0803697105 (In English)
- Siegel, R. W., Hall, J. C. (1979) Conditioned responses in courtship behavior of normal and mutant *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 76, no. 7, pp. 3430–3434. DOI: 10.1073/pnas.76.7.3430 (In English)
- Spieth, H. T. (1974) Courtship behavior in *Drosophila*. *Annual Review of Entomology*, vol. 19, pp. 385–405. DOI: 10.1146/annurev.en.19.010174.002125 (In English)
- Tompkins, L. (1984) Genetic analysis of sex appeal in *Drosophila*. *Behavior Genetics*, vol. 14, no. 5, pp. 411–440. DOI: 10.1007/BF01065443 (In English)
- Trannoy, S., Redt-Clouet, C., Dura, J.-M., Preat, T. (2011) Parallel processing of appetitive short- and long-term memories in *Drosophila*. *Current Biology*, vol. 21, no. 19, pp. 1647–1653. DOI: 10.1016/j.cub.2011.08.032 (In English)
- Vogt, K., Schnaitmann, C., Dylla, K. V. et al. (2014) Shared mushroom body circuits underlie visual and olfactory memories in *Drosophila*. *eLife*, vol. 3, article e02395. DOI: 10.7554/eLife.02395 (In English)
- Weidmann, U. (1950) *Untersuchungen zur Ethologie von Drosophila. Die Balz- und Putzhandlungen [Studies of the Drosophila ethology. Courtship and preening]. PhD dissertation (Biology) (as a manuscript)*. Zurich, Zurich University, 391 p. (In German)
- Yamamoto, D., Sato, K., Koganezawa, M. (2014) Neuroethology of male courtship in *Drosophila*: From the gene to behavior. *Journal of Comparative Physiology A*, vol. 200, no. 4, pp. 251–264. DOI: 10.1007/s00359-014-0891-5 (In English)
- Zhang, S. X., Rogulja, D., Crickmore, M. A. (2019) Recurrent circuitry sustains *Drosophila* courtship drive while priming itself for satiety. *Current Biology*, vol. 29, no. 19, pp. 3216–3228.e9. DOI: 10.1016/j.cub.2019.08.015 (In English)
- Zhao, X., Lenek, D., Dag, U. et al. (2018) Persistent activity in a recurrent circuit underlies courtship memory in *Drosophila*. *eLife*, vol. 7, article e31425. DOI: 10.7554/eLife.31425 (In English)