



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. 2 № 4 2021

Vol. 2 No. 4 2021



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

ISSN 2687-1270 (online)
intphysiology.ru
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4>
2021. Том 2, № 4
2021. Vol. 2, 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. Джебозова (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 Moika Emb., Saint Petersburg 191186, Russia
E-mail: izdat@herzen.spb.ru
Phone: +7 (812) 312-17-41

Объем 10,8 Мб

Подписано к использованию 30.12.2021

Published at 30.12.2021

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, 2021
© Российский государственный
педагогический университет им. А. И. Герцена, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

Приветствие главного редактора.....	350
Обзоры	352
<i>Шелепин Ю. Е., Хараузов А. К., Вахрамеева О. А., Жукова О. В., Пронин С. В., Цветков О. В., Скуратова К. А., Шелепин Е. Ю.</i> Неосознаваемые зрительные сигналы и произвольные реакции человека.....	352
<i>Берлов Д. Н.</i> Педагогическая психофизиология К. Д. Ушинского.....	378
<i>Морозова О. Ю.</i> Нестероидные противовоспалительные препараты: повреждающее действие на слизистую оболочку желудка и способы защиты от их язвеногенного влияния.....	390
Экспериментальные статьи	399
<i>Деркач К. В., Бондарева В. М., Басова Н. Е., Кузнецова Л. А., Шпаков А. О.</i> Совместное применение метформина и интраназального инсулина нормализует чувствительность к глюкозе и гормональный статус у крыс с диабетом 2 типа.....	399
<i>Рогачевский И. В., Самосват Д. М., Калинина А. Д., Зегря Г. Г., Крылов Б. В., Подзорова С. А., Плахова В. Б.</i> Возможный механизм лиганд-рецепторного связывания синтетического трипептида Ac-RRR-NH ₂ с мембраной ноцицептивного нейрона.....	412
<i>Семилетова В. А., Дорохов Е. В.</i> Самооценка влияния спелеоклиматотерапии на организм человека.....	420
<i>Голубева И. Ю., Тихонравов Д. Л., Пальчик А. Б., Кузнецова Т. Г., Пахомов К. В.</i> Изучение способности детей 3–5 лет формировать понятия разной степени сложности в возрастном и неврологическом аспектах.....	426
<i>Подвигина Д. Н., Иванова Л. Е., Хараузов А. К.</i> Обучение макак-резусов задаче отсроченного сравнения с образцом на сенсорном мониторе.....	443
<i>Бакулина Е. И., Юданова А. Д., Романова И. Д., Инюшкин А. Н.</i> Роль центральных отделов миндалевидного комплекса мозга в процессах регуляции гемодинамики крыс на фоне стресс-реакции.....	455
Краткие сообщения	463
<i>Савинова Е. А., Каменева Л. В., Ершова Е. С., Проскурнина Е. В., Умрюхин П. Е., Родионов И. В., Долгих О. А., Краевая О. А., Трошин П. А., Вейко Н. Н., Костюк С. В.</i> Водорастворимое производное фуллерена C ₇₀ как регулятор уровня активных форм кислорода в культивируемых клетках человека.....	463
<i>Будаев А. И., Ведясова О. А.</i> Респираторные реакции при стимуляции и блокаде ГАМК _A -рецепторов ретротрапециевидного ядра у крыс.....	471

CONTENTS

Letter from the Editor-in-Chief	350
Reviews	352
<i>Shelepin Yu. E., Kharauzov A. K., Vakhrameeva O. A., Zhukova O. V., Pronin S. V., Tsvetkov O. V., Skuratova K. A., Shelepin E. Yu.</i> Unconscious visual signals and involuntary human reactions	352
<i>Berlov D. N.</i> Pedagogical psychophysiology of Konstantin Ushinsky	378
<i>Morozova O. Yu.</i> Non-steroidal anti-inflammatory drugs: Deleterious effect on the gastric mucosa and protection against ulcerogenic effects	390
Experimental articles	399
<i>Derkach K. V., Bondareva V. M., Basova N. E., Kuznetsova L. A., Shpakov A. O.</i> Combined use of metformin and intranasal insulin normalise glucose sensitivity and hormonal status in rats with type 2 diabetes	399
<i>Rogachevskii I. V., Samosvat D. M., Kalinina A. D., Zegrya G. G., Krylov B. V., Podzorova S. A., Plakhova V. B.</i> Possible mechanism of ligand-receptor binding of the synthetic tripeptide Ac-RRR-NH ₂ to the nociceptive neuron membrane	412
<i>Semiletova V. A., Dorokhov E. V.</i> Self-assessment of the influence of speleoclimatotherapy on the human body	420
<i>Golubeva I. Yu., Tikhonravov D. L., Palchik A. B., Kuznetsova T. G., Pakhomov K. V.</i> Age-specific and neurological aspects of the ability to form concepts of different complexity in 3–5-year-old children	426
<i>Podvigina D. N., Ivanova L. E., Kharauzov A. K.</i> Training rhesus monkeys to perform the delayed matching-to-sample task on a touchscreen monitor	443
<i>Bakulina E. I., Yudanova A. D., Romanova I. D., Inyushkin A. N.</i> The role of the central parts of the amygdala in regulating rat hemodynamics under stress	455
Brief notes	463
<i>Savinova E. A., Kameneva L. V., Ershova E. S., Proskurnina E. V., Umriukhin P. E., Rodionov I. V., Dolgikh O. A., Kraevaya O. A., Troshin P. A., Veiko N. N., Kostyuk S. V.</i> Water-soluble C ₇₀ fullerene derivative as a regulator of the reactive oxygen species level in cultured human cells	463
<i>Budaev A. I., Vedyasova O. A.</i> Respiratory reactions to stimulation and blockade of GABA _A -receptors of the retrotrapezoid nucleus in rats	471

Приветствие главного редактора

Глубокоуважаемые коллеги!

Перед вами четвертый, заключительный в 2021 году, номер журнала «Интегративная физиология», которым мы заканчиваем второй год нашей совместной деятельности с большим коллективом авторов. От имени редколлегии журнала благодарю всех авторов, которые выбрали наш журнал для публикации своих научных результатов в 2020 и 2021 годах, и надеюсь на дальнейшее сотрудничество на страницах журнала.

В приветствии четвертого номера за 2020 год мы поделились с читателями журнала радостной новостью, чрезвычайно важной для развития интегративной физиологии: Совет по государственной поддержке создания и развития Научных Центров Мирового Уровня (НЦМУ), выполняющих исследования и разработки по приоритетам научно-технологического развития, одобрил создание 10 центров по шести направлениям, в число которых вошел Павловский центр «Интегративная физиология — медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости». Помимо инициатора создания центра — Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (ИФ РАН), в консорциум участников входят Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, московский Институт медико-биологических проблем РАН и Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ». За первый год работы ведущие ученые НЦМУ Павловский центр получили новые результаты, которые начали публиковаться в журнале «Интегративная физиология». В настоящем номере журнала опубликован обзор (от Ю. Е. Шелепина и соавторов) и две экспериментальные статьи (от А. О. Шпакова и соавторов и от Б. В. Крылова и соавторов), подготовленные участниками НЦМУ.

К предстоящим в 2021 году событиям, имеющим непосредственное отношение к журналу, относится Третья Всероссийская конференция с международным участием «Интегративная физиология», которая традиционно организуется Институтом физиологии им. И. П. Павлова в начале декабря, когда институт отмечает свой день рождения. По сложившейся доброй традиции на открытии конференции планируется приветствие Президента Международного союза физиологических наук (International Union Physiological Sciences (IUPS) проф. Джулии Чен (Julie Chan). Как и предыдущие конференции, предстоящая нацелена на укрепление позиций интегративной физиологии. Мы надеемся на участие в конференции читателей журнала и на последующую подготовку ими статей, отражающих фундаментальные научные проблемы, исследование которых является важным для развития интегративной физиологии.

Приветствую читателей четвертого номера журнала «Интегративная физиология» за 2021 год и приглашаю стать авторами интересных статей для журнала, содержащих новые знания о физиологических процессах организма, иллюстрирующих значимость интегративной физиологии для медицины и здравоохранения.

Журнал «Интегративная физиология» является изданием открытого доступа. Все статьи имеют DOI. Журнал индексируется в DOAJ, ORCID и РИНЦ.

Выражаю благодарность всем, кто сделал реальностью выпуск четвертого номера журнала «Интегративная физиология» за 2021 год.

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

Letter from the Editor-in-Chief

Dear Colleagues,

This is the fourth and final issue of the journal “Integrative Physiology” in 2021. It marks the end of the second year of joint efforts and substantive contributions from a large team of authors. On behalf of the Editorial Board, I would like to extend my gratitude to all the authors who chose our journal for the publication of their scientific results in 2020–2021. I hope that our cooperation on the pages of “Integrative Physiology” will be long-term.

The Letter from the Editor-in-Chief to the fourth issue in 2020 said that 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 approved the creation of ten centers in 6 areas, including Pavlov Center “Integrative Physiology to Medicine, High-Tech Healthcare and Technologies of Stress Resistance” This initiative is crucial for the development of integrative physiology. The Center is a result of a collective effort: initiated by the Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences (IPh RAS), the initiative also involved the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS; Moscow Institute of Biomedical Problems, RAS, and Saint Petersburg State Electrotechnical University “LETI”. During the first year after the establishment of the WCRC Pavlov Center, its leading researchers published their research findings in the journal “Integrative Physiology”. The current issue also contains contributions from the WCRC Pavlov Center: a review from Yu. E. Shelepin and co-authors and two experimental articles by A. O. Shpakov and B. V. Krylov together with the co-authors.

Among the upcoming events in the year 2021 directly related to the journal is the Third All-Russian Conference with international participation “Integrative Physiology”. The conference is traditionally organised by Pavlov Institute of Physiology in early December to mark its birthday. According to a well-established tradition, the conference will open with a welcome address by Prof. Julie Chan, President of the International Union of Physiological Sciences (IUPS). Traditionally, the conference aims to raise the profile of integrative physiology. We hope that our readers will take part in the conference and, in its aftermath, submit articles focusing on the fundamental issues in integrative physiology to ensure its further development.

Welcome to the fourth issue of the journal “Integrative Physiology” in 2021. The journal welcomes innovative contributions that shed light on the physiological processes of the body, thus illustrating the importance of integrative physiology for medicine and healthcare.

“Integrative Physiology” is an open access journal. All the published articles have a DOI. The journal is indexed in DOAJ, ORCID, and RISC.

I would like to extend my appreciation to all those who made the fourth issue of the journal “Integrative Physiology” in 2021 a reality.

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



УДК 612.84; 612.843.7; 004.93; 621.397.3 <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-352-377>

Неосознаваемые зрительные сигналы и произвольные реакции человека

Ю. Е. Шелепин^{✉1}, А. К. Хараузов¹, О. А. Вахрамеева¹, О. В. Жукова¹, С. В. Пронин¹,
О. В. Цветков², К. А. Скуратова¹, Е. Ю. Шелепин¹

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

² Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В. И. Ульянова, 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 5

Сведения об авторах

Юрий Евгеньевич Шелепин,
SPIN-код: 8905-5921,
Scopus AuthorID: 6701651700,
Researcher ID: C-1868-2016,
e-mail: yshelepin@yandex.ru

Алексей Кольмарович Хараузов,
Scopus AuthorID: 9733389300,
Researcher ID: AAA-8837-2021,
ORCID: 0000-0002-1352-5805,
e-mail: harauzov@infran.ru

Ольга Анатольевна Вахрамеева,
SPIN-код: 3291-5780

Ольга Викторовна Жукова,
SPIN-код: 9794-3388,
Scopus AuthorID: 57194340334,
Researcher ID: ABD-7034-2020,
e-mail: zhukovaov@infran.ru

Сергей Вадимович Пронин,
Scopus AuthorID: 36965403600,
e-mail: proninsv@infran.ru

Олег Викторович Цветков,
SPIN-код: 2112-7069,
Scopus AuthorID: 57225011105,
e-mail: ovts@bk.ru

Ксения Андреевна Скуратова,
SPIN-код: 5940-0930,
Scopus AuthorID: 57216979736,
Researcher ID: ABA-2446-2021,
ORCID: 0000-0001-8371-4348,
e-mail: skuratovaka@infran.ru

Евгений Юрьевич Шелепин,
SPIN-код: 5938-7368,
Scopus AuthorID: 57224279100,
Researcher ID: AAA-9227-2021,
ORCID: 0000-0002-3124-5540,
e-mail: shelepiney@infran.ru

Для цитирования:

Шелепин, Ю. Е., Хараузов, А. К.,
Вахрамеева, О. А., Жукова, О. В.,
Пронин, С. В., Цветков, О. В.,
Скуратова, К. А., Шелепин, Е. Ю.
(2021) Неосознаваемые
зрительные сигналы
и произвольные реакции

Аннотация. В статье представлены психофизиологические исследования восприятия осознаваемой и неосознаваемой информации в процессе целенаправленной деятельности человека. Этот важнейший раздел сенсорной физиологии рассмотрен нами на примере восприятия изображений, содержащих осознаваемые и неосознаваемые (скрытые) лица. Разработаны методы маскировки сигналов (изображений лиц). Для решения поставленной задачи развиты методы выявления неосознаваемого восприятия по произвольным реакциям человека с помощью объективных физиологических методов интегративной оценки состояния человека. Особое внимание в статье уделено проблеме различий в передаче информации по крупноклеточным и по мелкоклеточным нейронным путям из сетчатки в подкорковые ядра: в наружное коленчатое тело, верхние бугры четверохолмия, в пульвинар, в амигдаларный комплекс и в гипоталамус. Детально обсуждается дальнейший анализ поступившей информации в дорзальной затылочно-теменно-лобной крупномасштабной нейронной сети и в вентральной затылочно-височно-лобной сети. Предложены некоторые алгоритмы описания работы этих нейронных сетей. С помощью психофизиологических методов регистрации движения глаз, ЭЭГ и фМРТ выявлены маркеры неосознаваемого восприятия. Экспериментально установлено влияние неосознаваемого восприятия на принятие решений, осуществляемых в нейронных сетях префронтальной коры. Предложена модель оппонентных взаимодействий вентральной и дорзальной нейронных сетей и реципрокных отношений нейронных сетей различных структур префронтальной коры. Выдвинуто предположение о том, как взаимосвязь осознаваемого и неосознаваемого восприятия обеспечивает принятие решения и эффективность целенаправленного поведения человека.

Ключевые слова: зрение, восприятие, маскировка, осознаваемый стимул, неосознаваемый стимул, мимика, вызванные потенциалы, принятие решений, целенаправленная деятельность

человека. *Интегративная физиология*, т. 2, № 4, с. 352–377.
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-352-377>

Получена 6 октября 2021; прошла рецензирование 28 октября 2021; принята 28 ноября 2021.

Финансирование: Важнейший, завершающий этап работы над статьей был выполнен при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2020-921 от 13.11.2020 о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Павловский центр «Интегративная физиология — медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости»».

Права: © Ю. Е. Шелепин, А. К. Хараузов, О. А. Вахрамеева, О. В. Жукова, С. В. Пронин, О. В. Цветков, К. А. Скуратова, Е. Ю. Шелепин (2021).

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

Unconscious visual signals and involuntary human reactions

Yu. E. Shelepin^{✉1}, A. K. Kharauzov¹, O. A. Vakhrameeva¹, O. V. Zhukova¹, S. V. Pronin¹, O. V. Tsvetkov², K. A. Skuratova¹, E. Yu. Shelepin¹

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

² Saint Petersburg Electrotechnical University “LETI”, 5 Professor Popov Str., Saint Petersburg 197376, Russia

Authors

Yuri E. Shelepin,
SPIN: 8905-5921,
Scopus AuthorID: 6701651700,
Researcher ID: C-1868-2016,
e-mail: yshelepin@yandex.ru

Alexey K. Kharauzov,
Scopus AuthorID: 9733389300,
Researcher ID: AAA-8837-2021,
ORCID: 0000-0002-1352-5805,
e-mail: harauzov@infran.ru

Olga A. Vakhrameeva,
SPIN: 3291-5780

Olga V. Zhukova,
SPIN: 9794-3388,
Scopus AuthorID: 57194340334,
Researcher ID: ABD-7034-2020,
e-mail: zhukovaov@infran.ru

Sergey V. Pronin,
Scopus AuthorID: 36965403600,
e-mail: proninsv@infran.ru

Abstract. The article reports the results of the psychophysiological studies of the perception of conscious and unconscious information during purposeful human activity. The study focused on the most important aspect of sensory physiology—the perception of images. The images contained conscious and unconscious (hidden) faces. We developed the methods of signal (facial images) masking and the methods to identify the person’s unconscious perception through his/her involuntary reactions. We also proposed a set of objective physiological methods of an integrative assessment of a person’s condition. A special focus was given to transferring information along magnocellular and parvocellular neural pathways from the retina to the subcortical nuclei: to the lateral geniculate body, the superior colliculus, the pulvinar, the amygdala complex and the hypothalamus. The article explores how the received information is analysed further in the dorsal occipito-parieto-frontal large-scale neural network and the ventral occipital-temporo-frontal network. It also proposes algorithms that describe how these neural networks function. The markers of unconscious perception were revealed by psychophysiological methods of eye movement registration, EEG and fMRI. The experimental evidence revealed the influence of unconscious perception on decision making in the neural networks of the prefrontal cortex. The article offers a model of opposing interactions of the ventral and dorsal neural networks and reciprocal relationship of the neural

Oleg V. Tsvetkov,
SPIN: 2112-7069,
Scopus AuthorID: 57225011105,
e-mail: ovts@bk.ru

Kseniya A. Skuratova,
SPIN: 5940-0930,
Scopus AuthorID: 57216979736,
Researcher ID: ABA-2446-2021,
ORCID: 0000-0001-8371-4348,
e-mail: skuratovaka@infran.ru

Evgeny Yu. Shelepin,
SPIN: 5938-7368,
Scopus AuthorID: 57224279100,
Researcher ID: AAA-9227-2021,
ORCID: 0000-0002-3124-5540,
e-mail: shelepiney@infran.ru

For citation:

Shelepin, Yu. E., Kharauzov, A. K., Vakhrameeva, O. A., Zhukova, O. V., Pronin, S. V., Tsvetkov, O. V., Skuratova, K. A., Shelepin, E. Yu. (2021) Unconscious visual signals and involuntary human reactions. *Integrative Physiology*, vol. 2, no. 4, pp. 352–377.
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-352-377>

Received 6 October 2021;
reviewed 28 October 2021;
accepted 28 November 2021.

Funding: The most important final stage of the research was financed by the Ministry of Science and Higher Education of Russia as part of Agreement No. 075-15-2020-921 of 13 November 2020.

The agreement provides a grant from the Federal budget as part of the government programme that supports the creation and development of the world-class research center Pavlov Center for Integrative Physiology to Medicine, High-Tech Healthcare and Technologies of Stress Resistance.

Copyright: © Yu. E. Shelepin, A. K. Kharauzov, O. A. Vakhrameeva, O. V. Zhukova, S. V. Pronin, O. V. Tsvetkov, K. A. Skuratova, E. Yu. Shelepin (2021). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

networks of various structures of the prefrontal cortex. It has been suggested that the relationship between conscious and unconscious perception ensures decision making and the effectiveness of purposeful human behavior.

Keywords: vision, perception, masking, unconscious stimulus, facial expressions, facial muscles, evoked potentials, decision making, purposeful activity

Введение

Реакция человека на зрительные стимулы — это реакция всего организма. Появление любого сенсорного сигнала, а биологически значимого тем более, вызывает отклик не только в центральной нервной системе, но и в исполнительных органах и в системах жизнеобеспечения наблюдателя.

В зрительной системе человека информация обрабатывается в различных каналах и может проходить в режимах как осознанного, так и неосознанного восприятия. Выполнение движений также может быть в произвольном осознанном и в непроизвольном неосознанном режимах. Состояние организма, изменяющиеся цели и потребности, обеспечивающие выживание человека, изменяют и характеристики

зрительного восприятия. Меняется отношение человека к окружающей среде, меняется восприятие и действие. Наиболее наглядно реакции человека проявляются при появлении значимых стимулов на пороге восприятия. Обнаружение и распознавание лиц в условиях неопределенности является важнейшей для человека задачей. Поэтому весь организм человека и реагирует в этих условиях распознавания чрезвычайно активно. Эти исследования важны для развития интегративной физиологии.

В данной статье дан анализ собственных работ, направленных на исследования осознаваемых и неосознаваемых составляющих восприятия изображений лиц и принятия решения в условиях неопределенности. Обычно ни интроспективно, ни путем опроса нельзя установить, поступила ли та или иная зрительная информация неосознанно. Дело в том, что сохраненную в памяти человека информацию о наблюдаемых сценах можно условно разделить на два типа. Малая часть информации

об изображениях доступна на сознательном уровне. Другую, большую, но скрытую в подсознании часть информации сознательными усилиями извлечь трудно. Но она влияет на поведение человека, на принятие им решений. Для извлечения воспринятой, но неосознаваемой информации необходимы объективные методы исследования (рис. 1). Цель всех рассмотренных в статье работ — обнаружить неосознаваемые, но поступившие в мозг сигналы по произвольным движениям глаз, мимике или с помощью ЭЭГ и фМРТ.

Оценку того, находится ли человек в сознании или бессознательном состоянии, осуществляют все собеседники непрерывно и неосознанно. А врачи и юристы свою оценку обязаны не только осознать, но документировать, например, в соответствии со Шкалой Комы Глазго (The Glasgow Coma Scale — GCS). Эта шкала построена на оценке неосознаваемых реакций пациента (зрачков) или осознаваемых двигательных реакций (речь). Шкала имеет исключительно

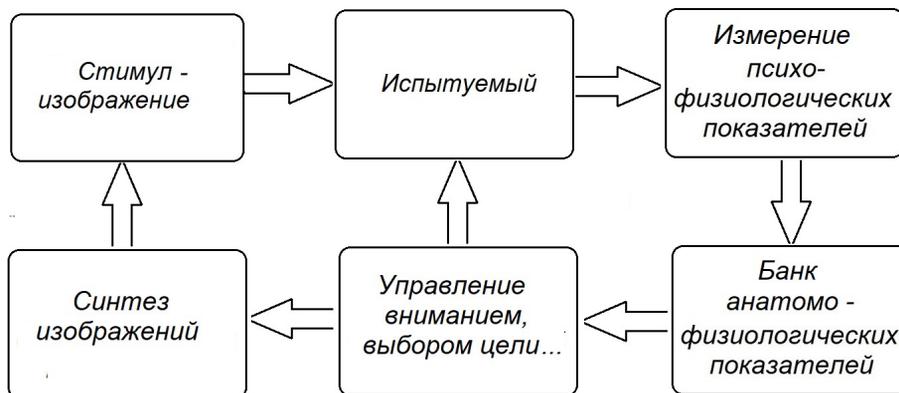


Рис. 1. Функциональные блоки испытательного стенда для психофизиологических исследований осознаваемого и неосознаваемого восприятия изображений. Стенд обеспечивает эффективную конвергенцию человека и искусственного интеллекта, некоторые функциональные звенья которого представлены в нижнем ряду

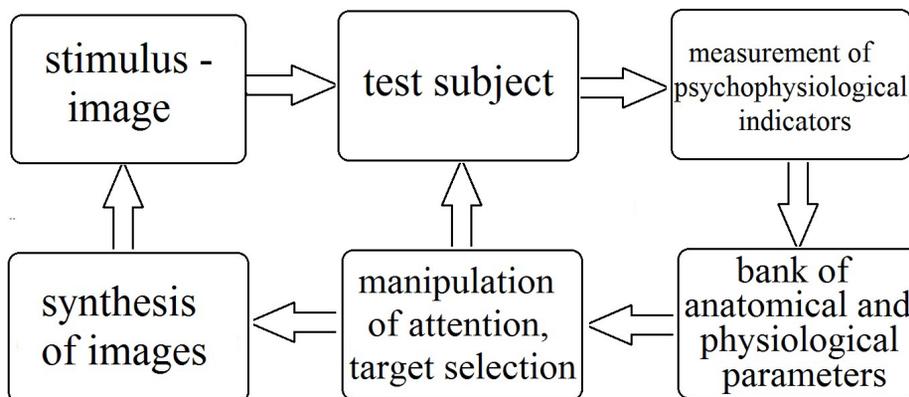


Fig. 1. Functional elements of a test setup for psychophysiological research in conscious and unconscious perception. The setup provides an effective convergence of human and artificial intelligence. The bottom row shows some of the functional links

клиническое значение и не может служить инструментом точных измерений. Поэтому мы в поиске маркеров неосознаваемого восприятия регистрировали именно физиологическими методами произвольные двигательные реакции и отклики мозга испытуемых на неосознаваемые стимулы.

Впервые электрофизиологический контроль осознаваемой и неосознаваемой составляющей восприятия был начат в Институте физиологии им. И. П. Павлова еще в 30-е годы прошлого века Г. В. Гершуни и продолжен В. А. Кожевниковым и Л. А. Чистович (Гершуни 1940; Кожевников 1951; Кожевников, Марусева 1949; Чистович 1950). Оригинальность их работ состояла в том, что они исследовали реакции на слабые звуковые сигналы, которые испытуемый не ощущал субъективно, но реакции мозга на них регистрировали электрофизиологически.

Реакции человека на «околопороговые», неосознаваемые, незаметные для испытуемого зрительные стимулы зависят от внимания. Рассмотрим на рисунке 2 простейший пример скрытых и явных элементов структуры, казалось бы, совершенно очевидного изображения — черно-белой шахматной доски со стандартным числом 8 × 8 черных и белых клеток.

Черно-белые квадраты на рисунке 2А строго упорядочены. Если угловые размеры шахматной доски велики, то мы видим отчетливо каждую ячейку — черные или белые клетки, а вот диагональные составляющие мало кто замечает, пока на них не будет обращено внимание.

Если уменьшить размер доски, например отойти от изображения на расстояние, при котором оно становится плохо различимым, края каждого квадрата ячейки будут размыты, а диагональные составляющие будут видны отчетливо.

Диагональные составляющие не являются сильным субъективным стимулом, но первичные компоненты вызванных потенциалов определяются именно низкочастотной частью пространственно-частотного спектра шахматных паттернов разного размера. Электрофизиологические измерения позволяют выявить отклик мозга на данный, частично скрытый, признак изображения шахматного паттерна. Особенность вызванных потенциалов реагировать именно на низкочастотную часть спектра изображения уже давно использована для объективной оценки остроты зрения в клинике (Regan et al. 1977).

Независимое восприятие квадратных ячеек и диагоналей шахматного паттерна являются наглядным примером передачи информации по нескольким каналам зрительной системы. Свойства каналов описаны подробно (см. обзор: Бондарко и др. 1999; Глезер 1993; Baba et al. 2015; Kulikowski 2003; Xu et al. 2019). Эффект чередования восприятия разных признаков этого паттерна указывает на то, что между этими каналами имеются оппонентные взаимосвязи (Шелепин 2017; Шелепин и др. 1985). За счет избирательного внимания можно «включать» разные каналы и видеть, например, либо левую, либо правую диагональную структуру шахматной доски (рис. 2).

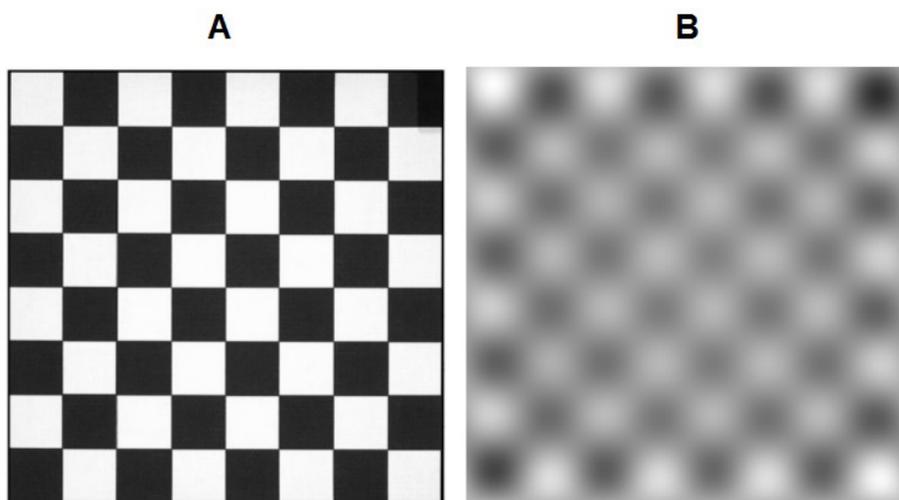


Рис. 2. Изображение тестового изображения в виде «шахматной доски» (А) и этого же изображения после фильтра низких частот (В)

Fig. 2. Chessboard as a test image (A) and the same image after a low-pass filter (B)

Психофизические исследования распознавания лиц

Лицо человека — один из сложнейших объектов для понимания сцены. Лицо удивительно сочетает свою целостность как единого образа одного объекта или даже целостной сцены, так как различные части лица столь значимы сами по себе, что представляют отдельные объекты.

При цифровой обработке изображений лиц, предложенной П. Виолой и М. Джонсом (Viola, Jones 2004), вначале Мурыгин, а затем Дакин и Ватт показали, что для идентификации знакомого человека достаточно использовать только горизонтальные компоненты двумерного пространственно-частотного спектра наблюдаемых изображений (Мурыгин 2003; Dakin, Watt 2009). Однако для описания эмоционального выражения этого недостаточно. Чтобы обнаружить значимые для невербального общения элементы мимики, необходимо выделение диагональных составляющих двумерного пространственно-частотного спектра (Логунова и др. 2014). Ориентационные компоненты двумерного пространственно-частотного спектра выделяют ориентационно-оппонентные рецептивные поля стриарной коры (ВА17) с весовыми функциями подобными элементам Габора, как и ячейки и диагональные составляющие уже рассмотренного шахматного паттерна.

Эта предварительная фильтрация в рецептивных полях нейронов ВА17 является своеобразным гримом, подчеркивающим мимические особенности лица. Эту информацию более высокие уровни «зрительного мозга» ВА37 или ВА21 используют для интерпретации мимики. Диагональная фильтрация, как и все процессы фильтрации, происходит неосознанно, но влияет на принятие решений наблюдателя о значении для него мимики другого человека (Logunova, Shelepin 2015).

Контроль неосознаваемого восприятия с помощью фМРТ

Методом функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) исследовали изменения активности мозга при неосознаваемом восприятии изображения — лица человека (Хараузов и др. 2015). Изображения маскировали с помощью динамической мультипликативной помехи, интенсивность которой подбирали таким образом, чтобы максимально затруднить восприятие лица. Внимание испытуемых отвлекали от скрытого изображения задачей слежения за движущимся объектом — кольцом Ландольта,

которое передвигалось по всему стимульному полю. Изменения уровня оксигенации крови (BOLD-сигнала), отражающего изменения нейронной активности в тканях мозга в ответ на предъявление замаскированных лиц, сравнивали с контрольными условиями, в которых динамическая помеха перекрывала скопление из случайно перемешанных фрагментов изображений лица. Таким образом, в обоих случаях основные физические характеристики стимуляции (яркость, контраст, размер, частота мелькания помехи), равно как и инструкция и сложность задания, оставались неизменными. Менялась лишь структура замаскированного изображения.

В ходе опроса, проведенного после эксперимента, выяснилось, что больше половины испытуемых (24 из 39) не заметили ничего, кроме движущегося кольца на фоне «мелькающего шума». Остальные 15 испытуемых доложили о «каких-то изображениях» в шуме. В основном сообщали лишь об очертаниях головы или о чем-то похожем на лицо, другие могли разглядеть одно или несколько лиц. Результаты этих испытуемых мы объединили в отдельную группу заметивших объект и сравнили с усредненными результатами по группе испытуемых, которые даже не догадались о существовании скрытых изображений в шуме. В обеих группах испытуемых предъявление изображений лиц вызывает достоверное увеличение активности в затылочно-височных областях мозга (в фузиформной извилине, или в ВА19 и ВА37 по Бродману). У испытуемых, заметивших скрытые лица, уровень активации в этих областях оказался достоверно выше, чем у не заметивших, по относительному количеству активированных вокселей в заданном объеме мозга. Дополнительных очагов активности, указывающих на осознанное восприятие лица, мы не выявили.

Локальные (соизмеримые с размерами рецептивных полей нейронов в ВА17 и ВА18) физические характеристики изображений и лиц и маски были одинаковы. Поэтому в ответ на лица и на маски различий в активации первичных зрительных областей у испытуемых в обеих группах мы не наблюдали.

С помощью фМРТ было показано, что даже если объект остался незамеченным, мозг наблюдателя неосознанно обрабатывает информацию о нем. Совпадение карт активации у испытуемых, заметивших или не заметивших скрытый объект, предполагает, что осознанное и неосознанное восприятие лиц обеспечивается одними и теми же структурами мозга. Переход к осознанному восприятию обеспечивается

за счет повышения активности областей мозга, участвующих в обработке данного сигнала. Эти результаты не исключают существования дополнительного, более быстрого пути проведения неосознаваемой информации, по которому могут проходить зрительные сигналы об опасности, требующие незамедлительной реакции всего организма (Tamietto, de Gelder 2010).

Контроль неосознаваемого восприятия с помощью регистраций движения глаз

С помощью анализа траектории движений глаз при рассматривании набора изображений было показано, что испытуемые чаще останавливают взор на изображениях, которые им были предъявлены ранее, на неосознаваемом уровне. Это доказывает, что зрительная информация, воспринятая на неосознаваемом уровне, некоторое время остается в памяти человека и способна влиять на траекторию движения взгляда (Шелепин и др. 2020).

Группе испытуемых из 13 человек предъявляли замаскированную фотографию мужского лица на периферии поля зрения. Маскировку осуществляли добавлением мультипликативной динамической помехи в виде случайного набора квадратов, 20 из которых были прозрачны и несли 20% информации об изображении, а остальные 80 были окрашены в серый цвет, скрывая 80% картинки. Положение прозрачных и непрозрачных окон менялось случайным образом каждые 100 мс. Закамуфлированные

изображения одного и того же лица предъявляли на периферии поля зрения — слева и справа от точки фиксации в центре экрана. Внимание испытуемых привлекали к центру экрана задачей по выравниванию яркости двух вертикальных полосок (рис. 3).

Длительность стимуляции составляла 3 мин. За это время, если человек не отвлекался от задачи и не отводил взгляд от центра экрана, он был не в состоянии заметить лицо, воспринимаемая мелькание на периферии как отвлекающий фактор, усложняющий выполнение задания по выравниванию яркости полосок. Практически все наблюдатели успешно справлялись с задачей выбора и не догадывались о том, что им предъявляли на самом деле. На вопрос «что вы видели на периферии?», который задавали наблюдателям после завершения стимуляции, большинство людей сообщали о «каких-то квадратах», принимая их за отвлекающий фактор в ходе эксперимента. Из 13 человек только двое заметили скрытое изображение, поскольку не все время фиксировали взор в центре экрана.

Остальным 11 испытуемым, не заметившим лицо на периферии, сразу после стимуляции и опроса было предложено рассмотреть изображение, состоящее из 10 незнакомых мужских лиц, расположенных по кругу. Время просмотра составляло 30 с. Никаких дополнительных инструкций не давали. Во время просмотра у испытуемых регистрировали траекторию движения взгляда по этой картинке. Анализировали

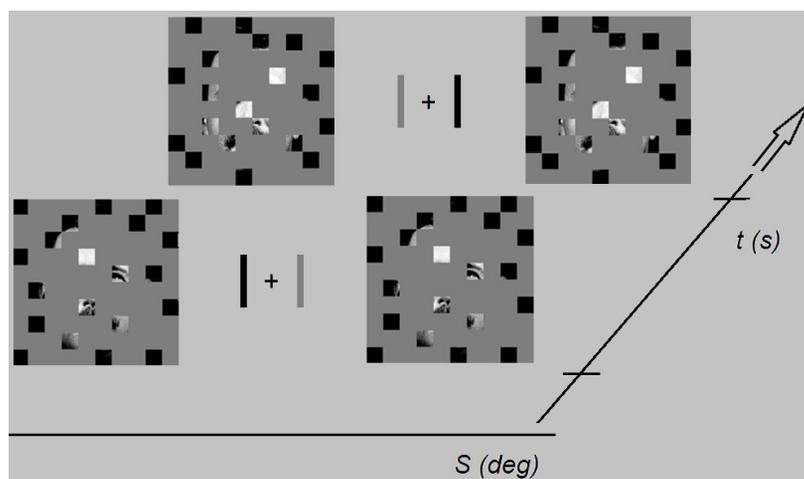


Рис. 3. Пример зрительного поля, в котором внимание испытуемого привлечено к задаче в центре экрана, а на периферии предъявляются замаскированные изображения лица. Показаны две реализации из множества (Шелепин и др. 2020)

Fig. 3. An example of a visual field where the attention of a test subject is drawn to a task in the center of the screen, while masked facial images are presented at the periphery. The figure shows two samples from the set (Shelepin et al. 2020)

количество перемещений взора и длительность фиксации на каждом из 10 лиц. Полученные данные сравнивали с результатами другой, контрольной группы испытуемых из 14 человек, которым до этого не проводили стимуляцию с замаскированным изображением.

Результаты анализа движений взора показали, что только те испытуемые, которым ранее предъявляли замаскированное изображение лица, чаще и дольше смотрят именно на это лицо. Эффект был особенно выражен в первые секунды рассматривания.

После обследования на айтрекере всем наблюдателям вновь предъявляли тот же набор лиц и предлагали указать лицо, которое им кажется знакомым. Примечательно, что несмотря на разные индивидуальные предпочтения и разный круг знакомых, треть наблюдателей указало именно на то лицо, которое на неосознаваемом уровне им предъявляли ранее. На вопрос, почему они выбрали именно это лицо, отвечали «не знаю», «видел по дороге сюда», «примелькалось где-то» и т. п.

Таким образом, несмотря на то, что наблюдателям в каждые 100 мс предъявляли лишь по 20% поверхности изображения лица, а их внимание было привлечено к работе с отвлекающим тестом в центре экрана и они ничего не замечали вокруг, в их памяти это лицо запечатлелось на неосознаваемом уровне. Вероятно, образ этого лица накапливается и запоминается наблюдателем, хотя им и не осознается. В результате при предъявлении этого изображения в круге среди других ему подобных наблюдатели большее время смотрят именно на него, хотя и не отдают себе отчет об этом.

Контроль неосознаваемого восприятия по произвольным движениям мимических мышц

Одним из возможных воздействий неосознанно воспринятой информации на состояние человека является изменение эмоционального фона. Поскольку такие воздействия очень слабы, обычными визуальными способами выявить изменение эмоций невозможно. Объективную информацию в данном случае может дать регистрация электрической активности мимических мышц. Современные методы электромиографии позволяют регистрировать не только движения лицевых мышц, но и слабые напряжения, невидимые простому глазу, отражающие изменения настроения.

В наших исследованиях электрическую активность мышц *Zygomaticus major* (растягивает

углы рта, активизируется, когда человек улыбается) и *Corrugator supercilii* (сдвигает брови внутрь, активизируется, когда человек хмурится) регистрировали у 12 испытуемых во время предъявления набора фотографий людей с различными эмоциями (Шелепин и др. 2020). Каждый наблюдатель участвовал в двух экспериментах: сначала вариант с неосознанным предъявлением эмоциональных стимулов, затем, после короткого отдыха, вариант с осознанным предъявлением. Дополнительно у всех испытуемых регистрировали изменения размера зрачка.

В качестве стимулов использовали изображения мужских и женских лиц с одной и той же эмоцией, скомпонованные в матрицы 2 × 2. Лица в матрицах могли быть веселые или грустные — назвали их «эмоциональными матрицами». Для создания условий неосознанного восприятия применили метод обратной визуальной маскировки. В качестве маскировочного изображения использовали матрицу, сходную по размеру с тестовыми матрицами, но состоящую из случайных фрагментов фотографий с нейтральной эмоцией.

Стимуляция начиналась с предъявления последовательности из двух маскировочных матриц, после которых предъявляли одну эмоциональную матрицу. Такой цикл повторяли три раза с разными реализациями матриц, но с одинаковой эмоцией. В итоге каждая такая последовательность содержала три разных реализации эмоциональных матриц одного типа — либо «веселье», либо «грустные». Многократное повторение маскировочных и эмоциональных матриц применили для того, чтобы максимально замаскировать эмоциональную матрицу и в то же время усилить сдвиг эмоционального состояния наблюдателя.

В конце каждого цикла экран в течение одной секунды оставался черным, затем появлялась тестовая матрица с нейтральными лицами. Задачей наблюдателя было оценить по методу принудительного выбора, к какому эмоциональному типу принадлежит данная матрица (в действительности — матрица «нейтральных лиц») — веселому или грустному, и нажать соответствующую кнопку. Такой вопрос предлагали наблюдателям для того, чтобы определить степень влияния предшествующих эмоциональных стимулов на эмоциональное восприятие нейтральных лиц. Сразу после нажатия наблюдателем на кнопку экран становился черным, и через некоторое время начиналась новая последовательность матриц. Фрагмент последовательности эмоциональных и маскировочных матриц представлен на рисунке 4.

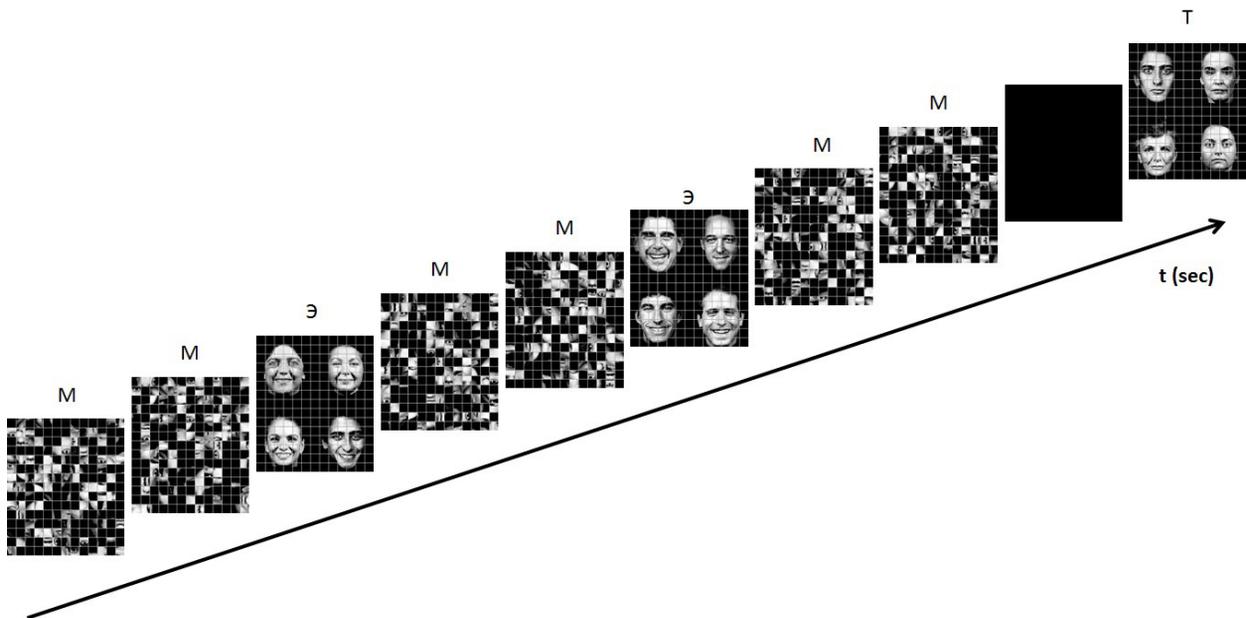


Рис. 4. Фрагмент последовательности предъявления маскировочных (М), эмоциональных (Э) и тестовых (Т) изображений

Fig. 4. A fragment from the sequence of masked (M), emotional (E) and test (T) images presented to test subjects

Длительность последовательности из маскировочных и эмоциональных матриц при осознанном и неосознанном предъявлении была одинакова и составляла 1,5 с. Однако в экспериментах с неосознаваемым предъявлением длительность одной маскировочной матрицы составляла 167 мс, а длительность предъявления одной эмоциональной матрицы была 42 мс. В экспериментах с осознанным предъявлением длительность одной маскировочной матрицы составляла 58 мс, а длительность предъявления одной эмоциональной матрицы — 333 мс. Соотношение времен предъявления эмоциональной и маскировочной матрицы было подобрано эмпирически так, чтобы в случае неосознанного предъявления исключить всякую возможность со стороны наблюдателя заметить вставку с эмоциональной матрицей. Наоборот, время предъявления эмоциональной матрицы в случае осознанного предъявления (333 мс) было достаточным для того, чтобы наблюдатели могли увидеть лица и легко определить знак эмоции в изображении.

Анализ ответов испытуемых, когда они должны были оценивать эмоциональную окраску «нейтральных» тестовых матриц лиц по методу принудительного выбора, показал, что их выбор не зависит от того, какого знака эмоция предъявлялась до этого. В обоих вариантах стимуляции, как при осознанном, так и при неосознанном предъявлении эмоциональных матриц, предшествовавших выбору, оценка тестовых

нейтральных матриц колебалась в районе 50% (49,6 и 50,3 соответственно), то есть испытуемые осуществляли случайное гадание.

Изменение тонуса лицевых мышц в ответ на предъявление эмоциональных матриц оценивали по изменениям стандартного отклонения сигнала электромиограммы (ЭМГ) в плавающем временном окне 1000 мс со сдвигом 2 мс. На рисунке 5 представлены результаты анализа ЭМГ мышцы *Zygomaticus major*, растягивающей углы рта в улыбку, во время осознанного (слева) и неосознанного (справа) восприятия веселых и грустных фотографий. Данные усреднены по результатам 12 испытуемых.

Видно, что в обоих режимах восприятия тонус этой мышцы увеличивается в ответ на предъявление фотографий с положительными эмоциями, то есть испытуемые неконтролируемо и незаметно для стороннего наблюдателя улыбаются в это время. Предъявление фотографий с грустными лицами, наоборот, приводит к уменьшению напряжения в мышце *Zygomaticus major* — улыбка «сходит с лица» испытуемых. Статистический анализ доказал достоверность отличий в реакциях на грустные и веселые лица, как при осознанном наблюдении, так и в случае с неосознаваемым восприятием (парный непараметрический t-критерий, $p < 0,05$).

Мышца *Corrugator supercilii* (сдвигает брови, когда человек хмурится) также изменяла свой тонус в обоих режимах восприятия. В ответ

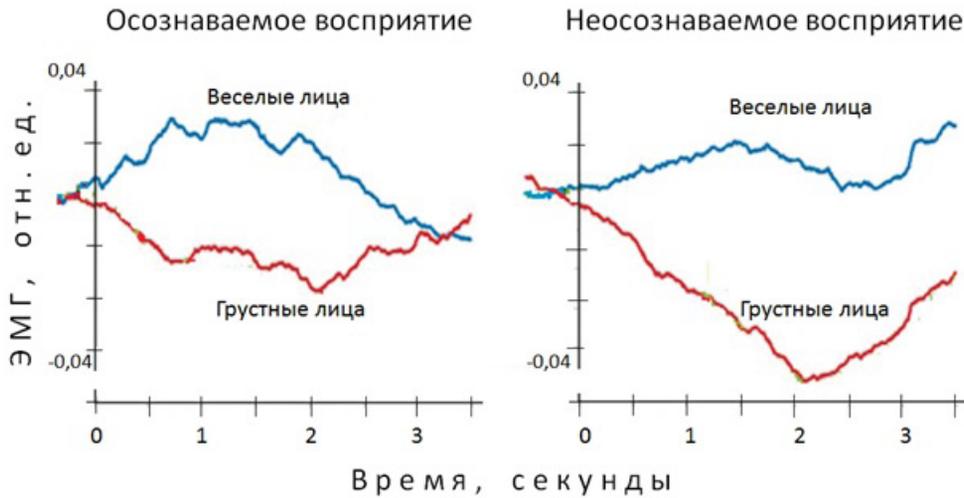


Рис. 5. Изменение электрического тонуса мышцы *Zygomaticus major* (улыбка) при осознаваемом и неосознаваемом восприятии изображений, содержащих веселые и грустные лица. Ноль по оси абсцисс — начало стимуляции. Усреднено по 12 испытуемым (Шелепин и др. 2020)

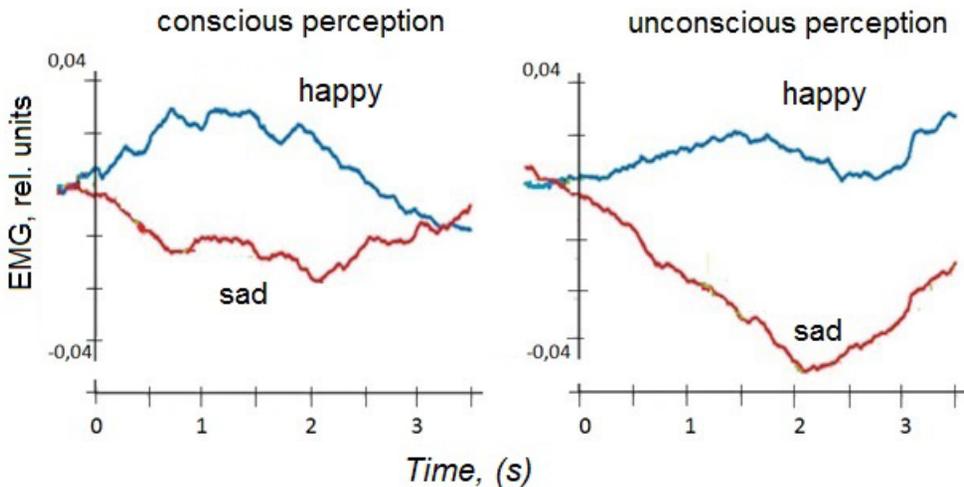


Fig. 5. Changes in the electrical tone of the *Zygomaticus major* muscle (smile) with conscious and unconscious perception of images containing happy and sad faces. Zero on the abscissa axis is the start of stimulation (Time, s). Averaged over 12 subjects (Shelepin et al. 2020)

на предъявление грустных лиц напряжение этой мышцы было сильнее, чем в ответ на веселые лица, то есть испытуемые больше хмурятся при восприятии грустных лиц. Наблюдаемые различия не достигли статистической значимости, однако тот факт, что кривые расходятся одинаковым образом в двух отдельных экспериментах, с осознанным и неосознанным восприятием, позволяет допустить, что они неслучайны.

Таким образом, регистрация электромиограммы позволяет зафиксировать эмоциональную реакцию человека при восприятии эмоционально окрашенных стимулов как на осознаваемом, так и на неосознаваемом уровне. Наши данные согласуются с результатами исследований,

проведенных на пациентах с кортикальным зрительным neglectом. Когда этим пациентам предъявляли эмоциональные фотографии в ту область поля зрения, которую они игнорируют (не осознают), на электромиограмме лицевых мышц фиксировали реакции, соответствующие знаку эмоций на стимуле (Tamietto, de Gelder 2010).

Метод ЭМГ отличается высокой точностью, но имеет недостаток — необходимость контактного измерения мимических реакций наблюдателя и применение электродов, накладываемых на кожу лица. Гораздо удобнее проводить дистанционные измерения. Напряжение мимических мышц легко зафиксировать дистанционно

оптическими методами в инфракрасном (ИК) диапазоне. Изображения, приемлемые для распознавания мимики, можно получить в диапазоне ИК излучения от 8 до 14 мкм. Нечеткие изображения, получаемые в ИК-диапазоне, позволяют увидеть различия в мимической деформации изображений светлых и темных участков лица (рис. 6).

Для автоматического распознавания пороговых изменений мимики ИК изображений необходимо применить сверточную нейронную сеть (Zhukova, Malakhova 2019).

Электроэнцефалографический контроль неосознаваемого восприятия

Особое значение имеют исследования по поиску электрофизиологических маркеров неосознаваемого восприятия угрозы (Хараузов и др. 2020). В качестве угрожающих стимулов были выбраны изображения паука, а в качестве испытуемых подобрали группу арахнофобов — людей, проявляющих патологический страх перед этими членистоногими. Отбор в группу арахнофобов проводили на основе тестирования по методу Фредриксона (Fredrikson 1983). Изменения зрительных вызванных потенциалов мозга при неосознаваемом восприятии движущихся пауков сравнивали с реакцией на летящих бабочек (нейтральный стимул). Аналогичное исследование затем повторили на группе испытуемых, не испытывающих страха перед

пауками, и провели сравнительный анализ зрительных вызванных потенциалов в двух группах.

Для обеспечения «невидимости» тестовых объектов в условиях неосознаваемого восприятия применили метод обратной зрительной маскировки и отвлечения внимания. Маскировочными изображениями являлись перемешанные случайным образом фрагменты тестовых объектов (паука и бабочки). Временные характеристики стимуляции были подобраны эмпирически таким образом, чтобы исключить возможность заметить скрытый стимул. Тестовые стимулы предъявляли на 42 мс, маскировочные изображения предъявляли на 58 мс. Стимуляцию проводили на периферии поля зрения, слева и справа от точки фиксации. Внимание испытуемых отвлекали задачей определения направления разрыва в кольце Ландольта, расположенного в центре экрана. После эксперимента, который длился 14 минут, каждого испытуемого спрашивали, что он видел. Никто из опрошенных не сообщил о наличии вставок в шум, все воспринимали мелькания на периферии как отвлекающий фактор.

На рисунке 7 сверху представлены три типа изображений: нейтральный (бабочка), маскировочный и опасный (паук). Внизу представлены результаты усреднения зрительных вызванных потенциалов (ЗВП) в затылочной области у всех 24 испытуемых (как «арахнофобы», так и «норма») в ответ на неосознаваемое предъявление

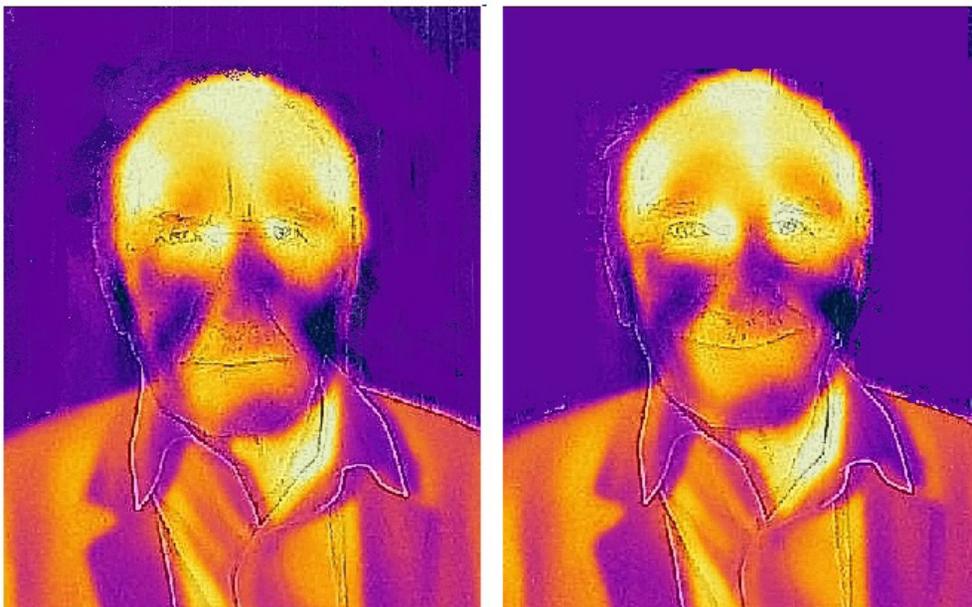


Рис. 6. Изображение лица человека в инфракрасном диапазоне: грусть (*Corrugator supercilii*), улыбка (*Zygomaticus major*)

Fig. 6. Infrared image of a person's face: sad (*Corrugator supercilii*), happy (*Zygomaticus major*)

опасных и нейтральных стимулов. Можно заметить, что вызванные потенциалы на всем протяжении, как до стимула, так и после него, имеют четкую периодичность, что обусловлено постоянными мельканиями маскировочных изображений. В правом нижнем углу

рисунка 7 представлены увеличенные фрагменты ЗВП во временном окне, в котором развивается положительная волна P300. Для сравнения представлены результаты, отдельно полученные в группе «арахнофобы» и в группе «норма».

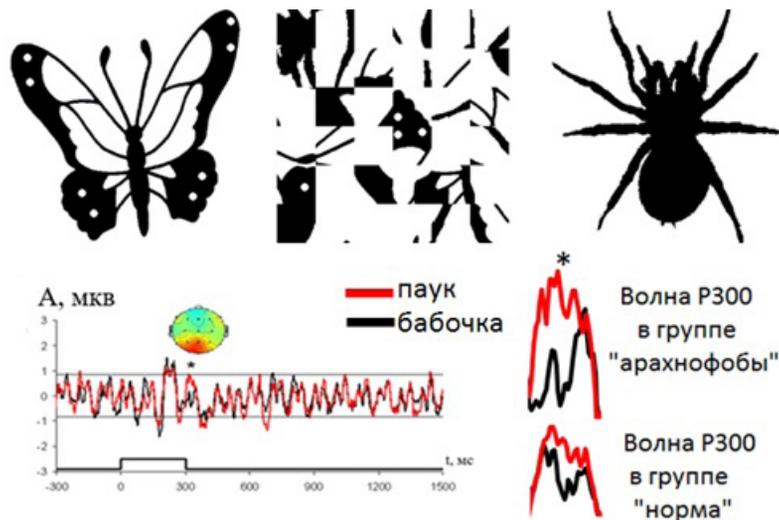


Рис. 7. Вверху — зрительные стимулы, предъявляемые в эксперименте. Бабочка (нейтральный), паук (опасный) и маскировочное изображение, состоящее из фрагментов паука и бабочки. Внизу — вызванные потенциалы в ответ на неосознаваемое предъявление нейтральных (черные) и опасных (красные) стимулов, регистрируемые в центре затылочной области (Oz). Усреднение по всем 24 испытуемым. Звездочкой указаны достоверные различия в амплитуде волны P300 ($p < 0,05$, двухсторонний t-тест). Над звездочкой — топограмма распределения амплитуды волны P300 мс. Две тонкие горизонтальные линии, ограничивающие ВП, показывают интервал ($\pm 2\sigma$), в который должно попадать 94,6% всех значений амплитуды. Под рисунком, рядом с осью времени, показана отметка включения и длительности стимула. Справа показана волна ВП P300 отдельно в группе «арахнофобы» (11 человек) и в группе «норма» (13 человек) (Хараузов и др. 2020)

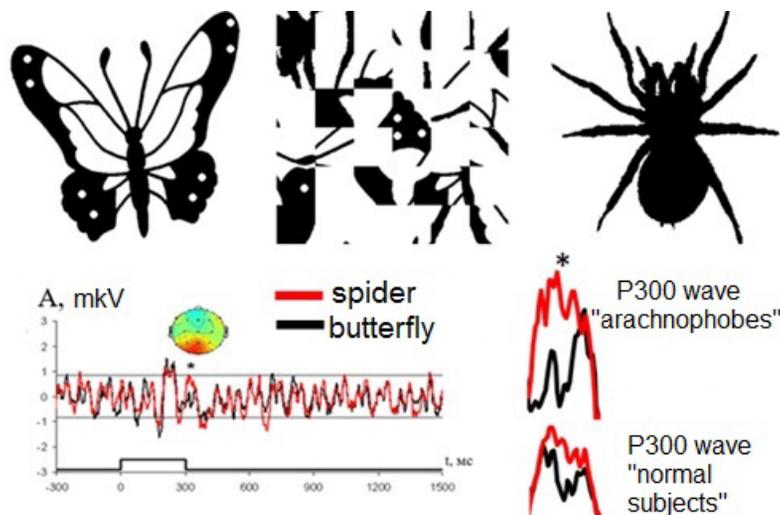


Fig. 7. Top: Visual stimuli presented in the experiment. Butterfly (neutral), spider (dangerous) and a masked image with elements of a spider and a butterfly. Bottom: Evoked potentials in response to unconscious presentation of neutral (black) and dangerous (red) stimuli recorded in the center of the occipital region (Oz). Averaging over all 24 subjects. An asterisk indicates significant differences in the amplitude of the P300 wave ($p < 0.05$, two-sided t-test). Above the asterisk is the topogram of the P300 ms wave amplitude distribution. The two thin horizontal lines that limit the EP show the interval ($\pm 2\sigma$), in which 94.6% of all amplitude values should fall. Below the figure, next to the time axis, the start and duration of the stimulus is shown.

On the right, the wave of EP P300 is shown separately for the group “arachnophobes” (11 subjects) and the group “normal” (13 subjects) (Kharauzov et al. 2020)

У испытуемых в группе арахнофобов положительная волна с латентным периодом 300 мс была значимо больше в ответ на предъявление пауков по сравнению с ответами на бабочек ($p < 0,05$, двусторонний t -тест). У испытуемых с нейтральным отношением к паукам мы также наблюдали увеличение амплитуды этой волны в ответ на предъявление пауков, но оно не достигло уровня статистической значимости.

Возможно, наблюдаемая в наших условиях волна является аналогом широко известного компонента P300, который иногда рассматривают в качестве маркера внимания в ЭЭГ. Известно, что на амплитуду данного компонента влияет много факторов, один из которых — эмоциональная значимость стимула. Важно подчеркнуть, что увеличение амплитуды P300 не является специфичным в отношении негативных стимулов, а может быть ответной реакцией на все эмоционально значимые стимулы, в том числе и положительные. В нашем исследовании более высокая амплитуда данного компонента, вероятно, связана с более высоким уровнем значимости опасных стимулов (пауков) для «арахнофобов» в сравнении с изображениями, не представляющими угрозу. Таким образом, положительную волну вызванного потенциала, регистрируемую в центре затылочной области с латентным периодом 300 мс, в наших условиях стимуляции можно рассматривать как электрофизиологический маркер неосознанного восприятия угрозы.

Влияние неосознаваемого восприятия на принятие решений

В психофизических экспериментах обычно исследуют влияние неосознанно воспринятых сигналов на процент правильных ответов и на время реакции (прайминг-эффект). Это представляет большой интерес, так как, анализируя

ответную реакцию испытуемых, мы изучаем последний, наивысший этап обработки информации — процесс принятия решений. Вопрос о том, при каких условиях неосознанно воспринятая информация будет влиять на процесс принятия решений, до сих пор остается открытым.

Для ответа на данный вопрос в нашей лаборатории Ольгой Вахрамеевой и ее соавторами было проведено специальное исследование. Был подготовлен набор стимулов на основе японского алфавита — хираганы. Для работы были отобраны семь наиболее простых и при этом непохожих друг на друга символов. Это оказалось оптимальным набором для исследования прайминг-эффекта, так как, с одной стороны, символы простые и похожи на буквы, с другой — большинство наблюдателей никогда их не встречало (Вахрамеева и др. 2016).

На рисунке 8 вверху представлен набор используемых символов, внизу представлены те же символы, но с наложенным бинарным мультипликативным шумом.

Задачей испытуемых было запомнить символ, предъявленный на короткое время в центре экрана, и затем выбрать его из четырех символов, расположенных на периферии поля зрения. Перед принятием решения на короткое время предъявляли стимул-подсказку, который мог быть верным (конгруэнтный праймер) или неверным (неконгруэнтный праймер). Исследовали влияние относительного размера тестовых стимулов и праймеров, временных характеристик предъявления символов, наличия/отсутствия помехи на процент правильных ответов и на время реакции при выполнении задачи принудительного выбора.

В результате было сделано два важных наблюдения относительно эффективности влияния подсказки (праймера) на процесс принятия решений. Первое — прайминг зависит от соотношения



Рис. 8. Используемый в эксперименте набор стимулов без шума (вверху) и с мультипликативным шумом, перекрывающим 40% изображения (внизу) (Вахрамеева и др. 2016)

Fig. 8. The set of stimuli used in the experiment: without noise (top) and with multiplicative noise covering 40% of the image (bottom) (Vakhrameeva et al. 2016)

размеров тестового изображения и подсказки. Оказалось, что подсказка работает, только если сигналы относятся к одной системе зрительных каналов: фовеолярных или парафовеолярных. Второе — прайминг-эффект был обнаружен только при наиболее сложных условиях задачи (при наложении мультипликативной помехи). Это означает, что человек «прислушивается» к неосознанно воспринятой подсказке только в случае неопределенности, когда принятие решения дается с трудом.

Таким образом, воспринятая неосознанно зрительная информация может храниться в памяти, изменять эмоциональный фон человека, влиять на принятие решений, предупреждать об опасности. Предположительно, способность мозга неосознанно обрабатывать информацию — это врожденный адаптационный механизм, который помогает выживать в опасных условиях окружающей среды. Это то, что мы называем интуицией.

Роль неосознаваемых сигналов в выработке навыка распознавания цели

Взаимодействие осознаваемого и неосознаваемого восприятия происходит при выработке навыка в условиях целенаправленной деятельности на примере повышения эффективности зрительного поиска информативных признаков на лице пациентов в зависимости от опыта врачей, осуществляющих предварительный осмотр пациента (Скуратова и др. 2021). В ходе проведенного исследования показано, что по мере того, как врачи совершенствуют свои

навыки, длительность фиксаций их взора на информативных участках лица пациента возрастает, но при этом они совершают меньше лишних фиксаций, поэтому тратят меньше времени на просмотр лица для постановки диагноза. В итоге сокращается общая длина пути сканирования по сравнению с начинающими врачами (рис. 9).

Можно предположить, что улучшение показателей характеристик движений глаз при накоплении опыта связано с обучением распознавания низкочастотных изображений, представленных периферией поля зрения, для последующего перевода взора на значимые для диагноза информативные признаки (Скуратова и др. 2021). Выработка навыка в этом, как и в любом другом деле — это в основном неосознаваемый процесс. Опыт и навык работы облегчает ее выполнение. Опыт обучения определяется числом наблюдаемых врачом случаев за определенный период.

По мере того как врач приобретает опыт работы, у него уже на начальном этапе осмотра пациента, в момент создания общего впечатления, вырабатываются все менее затратные по времени алгоритмы поиска цели. Общее впечатление строится на грубом, низкочастотном описании и затем сравнивается с более полным высокочастотным описанием диагностических признаков, собираемых по частям для формирования когнитивной схемы того, какая информация содержится в наблюдаемом изображении. Затем центральное зрение фокусируется на тех областях, которые осознанно или неосознанно на первом этапе отмечены

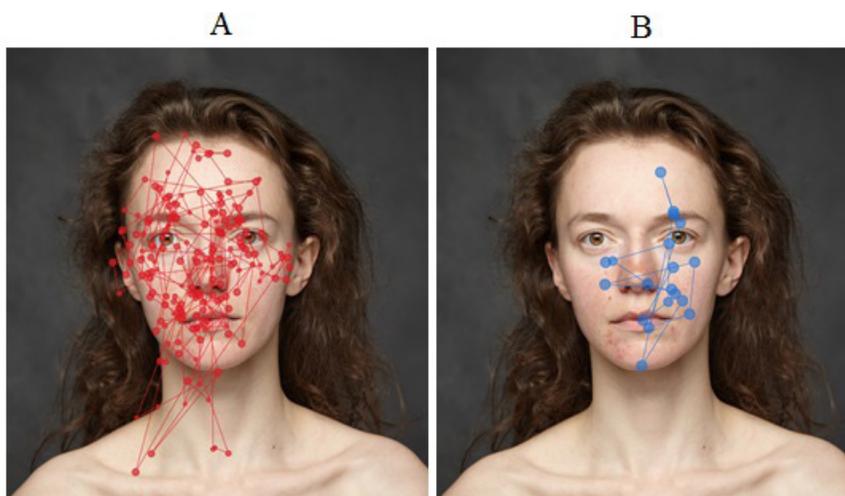


Рис. 9. Направление движения (линии) и остановки (точки) взора врача-дерматокосметолога начинающего (А) и опытного (В) по изображению лица пациента (Скуратова и др. 2021)

Fig. 9. Direction of eye movement, face, gaze (line) and stop gaze (point) of a beginner (A) and experienced (B) doctor across the image of the patient's face (Skuratova et al. 2021)

врачом как цели. Много целей нельзя отслеживать одновременно (Sergeev 2021), поэтому знание опытными врачами того, что требует осмотра, а что нет, позволяет им быстрее находить диагностически важные участки и фокусировать на них внимание. Восприятие с двумя проводящими путями обработки зрительной информации включает в себя осознаваемый и неосознаваемый пути зрительного поиска. Неосознаваемый поиск происходит при помощи глобального, перископического зрения, функции которого заключаются в обнаружении и предварительном распознавании цели для дальнейшего анализа с помощью фовеолярного зрения.

Обучение происходит в системе обнаружения стимула, обеспечивающей обнаружение цели и запуск движений глаз. Эта система перископического зрения осуществляет вырожденное, а именно низкочастотное описание цели. Именно из этого вырожденного описания наблюдателю необходимо обучиться извлекать максимально полезную информацию об информативных признаках цели. Эти признаки заболевания полностью представлены во всем видимом пространственно-частотном спектре изображения, но подробно представлены в высокочастотной составляющей пространственно-частотного спектра. Поэтому врачу требуется научиться по косвенным, неосознаваемым, признакам симптома выделять его в малоинформативном низкочастотном описании. Результат этого обучения — выделение периферическим зрением того, что запомнили до этого при детальном рассмотрении фовеолярным зрением, и составляет суть навыка. Способность целостно воспринимать лицо пациента позволяет опытным специалистам сокращать общую длину пути сканирования по сравнению с начинающими врачами. Аналогичная стратегия выработки навыка характерна практически для всех профессий.

Алгоритмы поиска, присущие зрительной системе человека, отобраны в процессе длительной эволюции, поэтому представляют интерес для развития эффективных алгоритмов обучения искусственных нейронных сетей. Например, совершенствовать алгоритм, который вначале с низким разрешением анализирует все изображение, а потом ищет локальные признаки (Wang et al. 2020). Благодаря более низким затратам ресурсов низкочастотный классификатор может быть эффективно использован уже на первом шаге Классификатора Наименьшего Действия (Malashin 2021).

Таким образом, навык минимизирует движения глаз и сокращает время поиска цели. Улучшение показателей характеристик движений глаз при накоплении опыта связано с обучением распознавания малоинформативных низкочастотных изображений, представляемых периферией поля зрения для управления переводом взора человека. Особенности перестройки движений глаз при обучении и достижении навыка косвенно отражают процесс перестройки нейронных сетей зрительной и глазодвигательной систем.

Физиологические механизмы передачи неосознаваемой информации в зрительной системе

Количество информации в процессе описания на уровне сетчатки глаза очень велико, хотя и сжимается при переходе от описания на уровне рецепторов к описанию на уровне ганглиозных клеток и составляет в зрительном нерве $4,56 \times 10^6$ бит в секунду (Schober 1956). Количество информации, которую можно осознанно извлечь из описания изображения, формируемого на сетчатке, значительно меньше. Так, по данным Глезера и Цуккермана эта величина составляет всего 10 двоичных единиц при распознавании контурных изображений при условии, что алфавит объектов в тестовых изображениях не был выучен, и 40 двоичных единиц, если алфавит был выучен (Глезер, Цуккерман 1961). Одним из ограничивающих факторов количества осознанно воспринимаемой информации является фактор избирательного внимания (Tsotsos et al. 2021; Vergheze, Pelli 1992), которое зависит от функционального состояния всего организма, мотивов и цели деятельности. Управление вниманием происходит в результате взаимодействия внутренних и внешних факторов. Внешние факторы определяются соотношением сигнала и помехи. В лабораторных условиях методами цифровой обработки изображений можно смоделировать фоно-целевую обстановку любой сложности, регулируя параметры сигнал/шум (Шелепин и др. 2020). Мы в своих работах применяли маскировку сигнала — предъявляли стимулы на периферии поля зрения и/или в центре поля зрения, но с такими пространственно-временными характеристиками, чтобы исключить возможность наблюдателя заметить скрытую нами вставку. Но гипотеза об избирательном внимании как о факторе, ограничивающем осознанное восприятие, не позволяет понять, для чего вводится в мозг

огромная информация об изображении наблюдаемой сцены и куда она якобы «пропадает».

Известно, что информация из сетчатки глаза по зрительному нерву и далее по зрительному тракту поступает в комплекс подкорковых ядер. В разных ядрах и/или частях ядер оканчиваются аксоны разных типов ганглиозных клеток сетчатки. Ганглиозные клетки отличаются по форме, размерам и функции. Каждый определенный тип ганглиозных клеток выделяет из изображения на сетчатке свою пространственную, временную и цветовую информацию.

Наибольшее количество информации передает система каналов, организованных мелкими клетками. Они представляют фовеа и передают высокочастотную пространственную информацию, но у них низкие временные передаточные характеристики.

Вторая система каналов — крупноклеточная. В них происходит передача низкочастотной пространственной информации с высокочастотной временной характеристикой. Низкочастотное описание всего поля зрения оказывает выраженное эмоциональное воздействие на наблюдателя, хотя зачастую это не осознается.

Наибольшее число волокон присутствует в ретино-геникулярном пути. Они образованы аксонами ганглиозных клеток различных типов. Обычно выделяют около восьми (см. обзор: Подвигин и др. 1986). Основная масса волокон, идущих в НКТ, это тонкие аксоны мелких клеток. Система каналов, организованных этими мелкими клетками, передает наибольшее количество информации. Они передают преимущественно средне- и высокочастотную пространственную информацию. Рецептивные поля этих клеток в основном представляют центр сетчатки фовеа. В результате возникающая уже на уровне сетчатки неоднородность описания поля зрения позволяет выделять нужную полосу временных и пространственных частот. Во временной области каналы, образованные мелкими клетками, передают пространственную информацию с меньшей скоростью, чем каналы, настроенные на низкие пространственные частоты. В результате в наблюдаемом изображении осознанно и четко воспринимаются именно те части сцены, на которые направлен взор и переведена фовеа. Другие части сцены либо восприняты нечетко, либо неосознанно. Избирательное внимание переводит взор человека за счет оппонентного многоуровневого взаимодействия корковых и подкорковых структур (Reimer et al. 2016; Tsotsos et al. 2021; Vuilleumier, Driver 2007).

Синхронная работа каналов обеспечивает объективное восприятие действительности.

Некоторые виды наркоза блокируют работу лишь одного канала (Merigan et al. 1991). Рассогласование реципрокной работы крупно- и мелкоклеточных каналов нарушает сознание и создает негативное искаженное восприятие среды (Шелепин и др. 1997). Реципрокные (оппонентные) отношения со времен Клода Бернара (Бернар 1867) являются основной моделью всех физиологических процессов.

От сетчатки помимо наружного коленчатого тела зрительная информация поступает и на другие подкорковые ядра. Происходит разделение каналов, несущих осознанную и неосознанную информацию в наружное коленчатое тело, верхние бугры четверохолмия, в пульвинар и в амигдалу (Hurme et al. 2019). Рецептивные поля нейронов пульвинар и амигдаларного комплекса пропускают низкие пространственные частоты. Поэтому при разрушении НКТ и ВА17 восприятие возможно лишь с малым разрешением. Вероятно, ретино-пульвинарный путь — один из путей представления размытых изображений в подсознание. Клинические исследования позволяют это предполагать (Ajina, Bridge 2017; Ajina et al. 2020; Halbertsma et al. 2021; Merigan, Pasternak 2003; Weiskrantz 2003).

В норме из поля ВА17 (стриарной коры) по вентральному тракту в перистриарную кору в ВА19, ВА37 и затем в нижнее височное поле идет описание изображений, инвариантное к масштабным преобразованиям объектов (Глезер 1993). Так как разрушение вентральной части височной коры приводит к агнозиям, предполагают, что здесь расположен тезаурус описания объектов, «хранящийся» в височной доле (Nam et al. 2021). Но нижневисочная кора — это своеобразный тезаурус. Он не работает как толковый словарь имен существительных, в котором роется гомункулус избирательного внимания. Нейронная сеть задней части нижневисочной коры строит инвариантное описание изображений. Поэтому именно в сети ВА17 — ВА37 формируется согласованный фильтр, который обеспечивает распознавание и классификацию образа объекта или сцены (Красильников и др. 1999; Шелепин и др. 2015). Передняя часть нижневисочной области совместно с префронтальной корой и подкорковыми ядрами обеспечивают выбор цели. Этот выбор происходит на основе оценки вероятности ассоциации наблюдаемого объекта с его когнитивной и эмоциональной значимостью, с вознаграждением или с наказанием, так как после полного двустороннего разрушения нижневисочной коры эта оценка становится невозможной. Развивается синдром Клувера — Бьюси — сочетание

душевной слепоты (агнозии) и отсутствия эмоциональных реакций (Das, Siddiqui 2020; Klüver, Bicy 1937; Lilly et al. 1983). На основании данной симптоматики можно утверждать, что именно нейронная сеть, включающая нижневисочную кору, амигдаллярный комплекс, гипоталамус и фронтальную кору, вовлечена в оценку отношения наблюдателя к выбору цели, обеспечивает оценку рисков при выборе цели и даже остановку выбранного действия (Цветков, Краснощекова 2020; Bechara et al. 1999; Farah 1990; Goodale, Milner 2004; Panakhova 2002; Ponomarev, Kropotov 2021; Rolls 2014).

Из затылочной коры кроме вентрального пути еще идет задний дорзальный путь. Этот тракт направляется к теменной коре и передает преимущественно низкую пространственную частоту с высокой временной частотой. Основной функцией этого пути является анализ характера динамических изменений и положения в пространстве зрительного объекта, локализации объекта в поле зрения относительно схемы тела наблюдателя. Дорзальная нейронная сеть, или «путь» зрительной системы «затылок — темя», захватывающий огромные области от BA17 до BA7, обеспечивает согласование описанного в затылочной коре наблюдаемого объекта и описания схемы тела, систем управления мимикой, движениями глаз и рукой (Huvarinen, Shelepin 1979).

Деятельность дорзальных и вентральных нейронных путей обычно ассоциируют с ответами на вопросы «где?» и «что?» соответственно (Markov et al. 2013; Merigan, Pasternak 2003; Mishkin et al. 1983; Sheth, Young 2016; Weiskrantz 2003). Взаимодействие с дорзальной системой обеспечивает способ достижения цели при согласовании со схемой тела. Для адекватного принятия решения необходимо включение лобных долей. Нейронные сети именно лобной коры обеспечивают принятие решения и управляют внутренним, произвольным избирательным вниманием, планированием действий и управлением перевода взгляда на цель (Duke-Elder 1962; Funahashi 2017; Sani et al. 2021; Struss, Knight 2002). Прямых связей между первичной зрительной корой BA17 и лобной, а именно префронтальной, корой нет у человека и у других приматов. Между ними включены зоны перистриарной, нижневисочной и теменной коры (Kawamura, Naito 1984). Именно оппонентные зоны префронтальной коры обеспечивают принятие решений и планирование действий (Kropotov, Etlinger 1999; Ponomarev, Kropotov 2021).

Вся многоуровневая и многоканальная обработка зрительной информации служит для

описания наблюдаемой сцены. Именно необходимость описания сцены порождает знаменитые вопросы «что?» и «где?». Предлагаем, однако, рассмотреть возможность дополнить или, может быть, заменить их на почти аналогичные, но имеющие иной смысл и открывающие новые перспективы понимания работы мозга вопросы. Они будут связаны не только с предметами и сценами, но и с алгоритмами их действий в этих сценах. Уточним предлагаемые вопросы. Первый — «что это тебе даст: пользу или вред?», то есть происходит построение отношения к объекту. Происходит осознанный и неосознанный запуск извлечения информации из памяти.

Второй вопрос — не просто «где?», а «как надо достичь цели?», ответ на который формирует определенную последовательность действий, обеспечивающих достижение цели.

Подобная формулировка описания функций дорзальных и вентральных нейронных сетей связана с тем, что и в ту, и в другую нейронную сеть приходит информация и о сцене, и об объектах в этой сцене, но с разным пространственным и временным разрешением. В одной из этих сетей, дорзальной, происходит согласование наблюдаемой сцены со схемой тела наблюдателя, а в другой, вентральной, — с вероятностью опасности или выгоды для субъекта. Если вентральная сеть определила то, что цель лакомая, то дорзальная сеть программирует последовательность действий для достижения лакомой цели. Эти процессы происходят как на осознанном, так и на неосознанном уровне.

Итак, мы знаем, что зрительный канал, идущий из НКТ в дорзальную (затылочно-теменно-лобную) нейронную сеть, организован крупными аксонами и большими рецептивными полями и передает преимущественно низкие пространственные частоты. Дорзальная нейронная сеть определяет расположение цели — «где?». Информация по этому пути передается несколько быстрее, чем по вентральному пути (затылочно-височно-лобный). Вентральная нейронная сеть определяет значение цели — «кто (или что)?». Какое значение это имеет для человека? Представляет опасность или нет? Эти процессы происходят достаточно быстро — за первые 100 мс.

Затем дорзальная нейронная сеть, получив информацию об объекте, запускает процесс работы алгоритмов планирования действий по отношению к цели. Все это занимает около 300 мс. За это время происходит оценка вероятности появления цели и ее значения — враг или друг. Чем выше вероятность опасности цели,

тем больше амплитуда компонентов вызванных потенциалов в решающий для принятия решения после обнаружения стимула период с латентностью 200–300 мс. Это мы и видели на примере неосознаваемого восприятия изображений паука или бабочки у арахнофобов (Хараузов и др. 2020). Различные статистики ландшафтов также вызывают разные по амплитуде компоненты с латентностью 200–300 мс (Hansen et al. 2012).

Если описывать эти процессы на языке информационных технологий, можно дорзальную и вентральную нейронную сеть сопоставить с двумя типами языков машинного программирования: императивного как описание того, как надо делать, и декларативного, что надо делать.

Традиционное применение императивного и декларативного языков программирования (Fahland et al. 2009) в настоящее время сохраняется в гибридном подходе при решении задач искусственного интеллекта и машинного обучения (Elshawi et al. 2018; Kordjamshidi et al. 2019; Wallace, Valdivia 2020) и в нейрофизиологических исследованиях (Anastasio 2015).

Применительно к нашим экспериментам в таблице 1 проведены весьма отдаленные аналогии между двумя типами программирования, двумя типами психологических процессов и двумя нейронными сетями.

Таким образом, мы переходим от статических описаний явлений к описаниям динамических процессов и алгоритмам. При такой постановке

Табл. 1. Осознанное и неосознанное зрение

Осознаваемое восприятие	Неосознаваемое восприятие
Избирательное целенаправленное внимание	Распределенное внимание готовности
Полосовой пространственно-частотный фильтр преимущественно средне- и высокочастотный	Полосовой пространственно-частотный фильтр преимущественно средне- и низкочастотный
Временной фильтр низкочастотный	Временной фильтр высокочастотный
Память семантическая доминирует	Память процедурная доминирует
Эксплицитный тип извлечения информации из памяти доминирует	Имплицитный тип извлечения информации из памяти доминирует
Декларативный алгоритм	Императивный алгоритм

Table 1. Conscious and unconscious vision

Conscious perception	Unconscious perception
Selective attention to the goal	Alarm dispersed attention
High and middle spatial band pass filter mainly	Low and middle spatial band pass filter mainly
Low temporal band pass	High temporal band pass
Semantic memory dominate	Procedural memory dominate
Explicit memory dominate	Implicit memory dominate
Declarative algorithms	Imperative algorithms

вопроса мы получаем возможность рассмотреть две оппонентные нейронные сети головного мозга как динамический конструктив, осознанно и неосознанно осуществляющий выполнение того или иного алгоритма действий человека, необходимых для выживания в сложных условиях эволюционного и исторического отбора.

Заключение

В данной статье представлены результаты собственных исследований выявления маркеров неосознаваемого восприятия и принятия решений. Наличие неосознанно воспринятой информации в условиях неопределенности обычно нельзя установить субъективными методами. Для этого необходимо провести физиологический контроль, что и было сделано. Представлены результаты электроэнцефалографических исследований, измерений движения глаз и напряжения лицевых мышц, проведена функциональная магнитно-резонансная томография и выполнены психофизические измерения. На основании результатов проведенных исследований выявлены физиологические маркеры неосознанного восприятия зрительного сигнала и его влияния на принятие решений, произвольные движения и целенаправленную деятельность человека.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Соответствие принципам этики

Исследования были проведены полностью в соответствии с этическими принципами.

Ethics Approval

The studies were conducted in full accordance with ethical principles.

Вклад авторов

а. Юрий Евгеньевич Шелепин — формулирование цели работы, планирование экспериментов, написание статьи, разработка многоканальной модели осознанного-неосознанного

восприятия и оппонентного взаимодействия каналов;

б. Алексей Кольмарович Хараузов — планирование экспериментов, проведение томографических и электрофизиологических исследований, анализ и описание результатов;

с. Ольга Анатольевна Вахрамеева — разработка экспериментальной модели прайминга, проведение психофизических и электрофизиологических экспериментов, участие в обработке данных;

д. Ольга Викторовна Жукова — обработка ряда результатов, участие в написании статьи;

е. Сергей Вадимович Пронин — создание программного обеспечения для синтеза тестовых изображений и проведения исследований;

ф. Олег Викторович Цветков — планирование и анализ проведения работ;

г. Ксения Андреевна Скуратова — проведение исследования восприятия врачом лиц пациентов и выработки профессионального навыка;

h. Евгений Юрьевич Шелепин — разработка методов и проведение измерений развития профессиональных навыков в деятельности врача, с помощью оптического контроля движений глаз и мимики в ИК диапазоне.

Author Contributions

a. Yuri E. Shelepin developed aims and objectives of the research project, planned the experiments, wrote the article, developed a multichannel model of conscious/unconscious perception and opponent interaction of channels;

b. Alexey K. Kharauzov planned the experiments, conducted tomographic and electrophysiological studies, analysed and described the results;

b. Olga A. Vakhrameeva developed an experimental priming model, conducted psychophysical and electrophysiological experiments, participated in data processing;

d. Olga V. Zhukova processed a set of data, contributed to the article writing;

e. Sergey V. Pronin developed software to perform synthesis of test images and conduct research;

f. Oleg V. Tsvetkov planned and analysed the stages of the research project;

g. Kseniya A. Skuratova carried out a study focusing on the doctor's perception of patients' faces and the development of professional skills in doctors;

h. Evgeny Yu. Shelepin developed the methodology of measurement and evaluated the development of professional skills in doctors using optical control of eye movement and facial expressions in the infrared range.

Литература

- Бернар, К. (1867) *Курс общей физиологии. Свойства живых тканей*. СПб.: Издание О. И. Бакста, 299 с.
- Бондарко, В. М., Данилова, М. В., Красильников, Н. Н. и др. (1999) *Пространственное зрение*. СПб.: Наука, 218 с.
- Вахрамеева, О. А., Хараузов, А. К., Пронин, С. В. и др. (2016) Зрительный прайминг при распознавании мелких изображений в сцене, содержащей объекты разного размера. *Физиология человека*, т. 42, № 5, с. 39–48. <https://doi.org/10.7868/S0131164616050180>
- Гершуни, Г. В. (1940) Электрофизиологический анализ деятельности слуховой системы. *Физиологический журнал*, т. 29, № 5, с. 369–379.
- Глезер, В. Д. (1993) *Зрение и мышление*. СПб.: Наука, 284 с.
- Глезер, В. Д., Цуккерман, И. И. (1961) *Информация и зрение*. М.; Л.: Изд-во Академии наук СССР, 183 с.
- Кожевников, В. А. (1951) *Электроэнцефалографическое изучение образования временных связей на звуковые раздражители у человека. Автореферат диссертации на соискание степени кандидата биологических наук*. Л., Институт высшей нервной деятельности, 12 с.
- Кожевников, В. А., Марусева, А. М. (1949) Электроэнцефалографическое изучение образования временных связей на неощущаемые раздражения у человека. *Известия Академии наук СССР. Серия биологическая*, т. 5, с. 560–569.
- Красильников, Н. Н., Шелепин, Ю. Е., Красильникова, О. И. (1999) Применение принципов оптимального наблюдателя при моделировании зрительной системы человека. *Оптический журнал*, т. 66, № 9, с. 17–24.
- Логунова, Е. В., Пронин, С. В., Шелепин, Ю. Е. (2014) Моделирование работы пространственно-частотных фильтров при восприятии сложных динамических сцен. *Оптический журнал*, т. 81, № 11, с. 62–68.
- Мурыгин, К. В. (2003) Оптимизация габоровских вейвлет-преобразований для задачи распознавания человека по изображению лица. *Искусственный интеллект*, № 4, с. 223–229.
- Подвигин, Н. Ф., Макаров, Ф. Н., Шелепин, Ю. Е. (1986) *Элементы структурно-функциональной организации зрительно-глазодвигательной системы*. Л.: Наука, 252 с.
- Скуратова, К. А., Шелепин, Е. Ю., Яровая, Н. П. (2021) Оптический поиск и зрительный навык. *Оптический журнал*, т. 88, № 12, с. 28–35. <https://www.doi.org/10.17586/1023-5086-2021-88-12-28-35>
- Хараузов, А. К., Васильев, П. П., Соколов, А. В. и др. (2015) Восприятие изображений в задачах зрительного поиска в условиях динамической помехи. *Оптический журнал*, т. 82, № 5, с. 42–55.
- Хараузов, А. К., Шелепин, Ю. Е., Цветков, О. В. и др. (2020) Методы маскировки угрожающих изображений и электрофизиологические маркеры их неосознанного восприятия. *Оптический журнал*, т. 87, № 10, с. 69–80. <https://doi.org/10.17586/1023-5086-2020-87-10-69-80>
- Цветков, Е. А., Краснощекова, Е. И. (2020) *Амигдаллярный комплекс. Физиология эмоций и памяти*. СПб.: Изд-во СПбГУ, 200 с.
- Чистович, Л. А. (1950) *Условные кожно-гальванические реакции на неощущаемые звуковые раздражения. Автореферат диссертации на соискание степени кандидата биологических наук*. Л., Физиологический институт им. И. П. Павлова, 8 с.
- Шелепин, Ю. Е. (2017) *Ведение в нейроиконику*. СПб.: Троицкий мост, 352 с
- Шелепин, Ю. Е., Колесникова, Л. Н., Левкович, Ю. И. (1985) *Визоконтрастометрия: Измерение пространственных передаточных функций зрительной системы*. Л.: Наука, 104 с.
- Шелепин, Ю. Е., Рудой, И. С., Давыдов, А. Т. и др. (1997) Метод наркопсихотерапии больных алкоголизмом. В кн.: *Новые подходы к диагностике и лечению алкоголизма*. СПб.: Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова, с. 51–53.
- Шелепин, Ю. Е., Хараузов, А. К., Жукова, О. В. и др. (2020) Маскировка и обнаружение скрытых сигналов в динамических изображениях. *Оптический журнал*, т. 87, № 10, с. 89–102. <https://doi.org/10.17586/1023-5086-2020-87-10-89-102>
- Ajina, S., Bridge, H. (2017) Blindsight and unconscious vision: What they teach us about the human visual system. *The Neuroscientist*, vol. 23, no. 5, pp. 529–541. <https://doi.org/10.1177/1073858416673817>
- Ajina, S., Pollard, M., Bridge, H. (2020) The superior colliculus and amygdala support evaluation of face trait in blindsight. *Frontiers in Neurology*, vol. 11, article 769. <https://doi.org/10.3389/Fneur.2020.00769>
- Anastasio, T. J. (2015) Computer modeling in neuroscience: From imperative to declarative programming. In: N. Martí-Oliet, P. C. Ölveczky, C. Talcott (eds.). *Logic, rewriting, and concurrency. Essays dedicated to Jose Meseguer on the occasion of his 65th birthday*. Berlin: Springer Publ, pp. 97–113. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23165-5_4
- Bechara, A., Damasio, H., Damasio, A. R., Lee, G. P. (1999) Different contributions of the human amygdala and ventromedial prefrontal cortex to decision-making. *Journal of Neuroscience*, vol. 19, no. 13, pp. 5473–5481. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-13-05473.1999>
- Dakin, S. C., Watt, R. J. (2009) Biological “bar codes” in human faces. *Journal of Vision*, vol. 9 (4), no. 2, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1167/9.4.2>

- Das, J. M., Siddiqui W. (2020) Klüver Bucy Syndrome. In: *StatPearls*. [S. l.]: StatPearls Publ. [Online]. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544221> (accessed 18.11.2021).
- Duke-Elder, S. (1962) *System of ophthalmology. Vol. VII. The foundation of ophthalmology. The investigation of indirect vision: The visual fields*. St. Louis: Mosby Publ., pp. 393–425.
- Elshawi, R., Sakr, S., Talia, D., Trunfio, P. (2018) Big data systems meet machine learning challenges: Towards big data science as a service. *Big Data Research*, vol. 14, pp. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.bdr.2018.04.004>
- Fahland, D., Lubke, D., Mendling, J. et al. (2009) Declarative versus imperative process modeling languages: The issue of understandability. In: T. Halpin, J. Krogstie, S. Nurcan et al. (eds.). *Enterprise, Business-process and information systems modeling. BPMDS 2009, EMMSAD 2009. Lecture notes in business information processing. Vol. 29*. Berlin; Heidelberg: Springer Publ., pp. 353–366. https://doi.org/10.1007/978-3-642-01862-6_29
- Farah, M. (1990) *Visual Agnosia: Disorders of object recognition and what they tell us about normal vision*. Cambridge: MIT Press, 184 p.
- Fredrikson, M. (1983) Reliability and validity of some specific fear questionnaires. *Scandinavian Journal of Psychology*, vol. 24, no. 4, pp. 331–334. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9450.1983.tb00507.x>
- Funahashi, S. (2017) Prefrontal contribution to decision-making under free-choice conditions. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 11, article 431. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00431>
- Goodale, M., Milner, D. (2004) *Sight unseen. An exploration of conscious and unconscious vision*. Oxford: Oxford University Press, 232 p. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199596966.001.0001>
- Halbertsma, H. N., Bridge, H., Carvalho, J. et al. (2021) Visual field reconstruction in hemianopia using fMRI based mapping techniques. *Frontiers in Human Neuroscience*, vol. 15, article 713114. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2021.713114>
- Hansen, B. C., Johnson, A. P., Elleberg, D. (2012) Different spatial frequency bands selectively signal for natural image statistics in the early visual system. *Journal of Neurophysiology*, vol. 108, no. 8, pp. 2160–2172. <https://doi.org/10.1152/jn.00288.2012>
- Hyvarinen, J., Shelepin, Yu. E. (1979) Distribution of visual and somatic functions in the parietal associative area 7 of the monkey. *Brain Research*, vol. 169, no. 3, pp. 561–564. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(79\)90404-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(79)90404-9)
- Hurme, M., Koivisto, M., Revonsuo, A., Railo, H. (2019) V1 activity during feedforward and early feedback processing is necessary for both conscious and unconscious motion perception. *Neuroimage*, vol. 185, pp. 313–321. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.10.058>
- Kawamura, K., Naito, J. (1984) Corticocortical projections to the prefrontal cortex in the rhesus monkey investigated with horseradish peroxidase techniques. *Neuroscience Research*, vol. 1, no. 2, p. 89–103. [https://doi.org/10.1016/s0168-0102\(84\)80007-3](https://doi.org/10.1016/s0168-0102(84)80007-3)
- Klüver, H., Bucy, P. C. (1937) “Psychic blindness” and other symptoms following bilateral temporal lobectomy in rhesus monkeys. *American Journal of Physiology*, vol. 119, pp. 352–353.
- Kordjamshidi, P., Roth, D., Kersting, K. (2019) *Declarative learning-based programming as an interface to AI systems*. [Online]. Available at: <https://arxiv.org/pdf/1906.07809.pdf> (accessed 18.11.2021).
- Kropotov, J. D., Etlinger, S. C. (1999) Selection of actions in the basal ganglia- thalamocortical circuits: Review and model. *International Journal of Psychophysiology*, vol. 31, no. 3, pp. 197–217. [https://doi.org/10.1016/s0167-8760\(98\)00051-8](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(98)00051-8)
- Kulikowski, J. J. (2003) Neural basis of fundamental filters in vision. In: G. T. Buracas, O. Ruksenas, G. M. Boynton, T. D. Albright (eds.). *Modulation of neuronal responses: Implications for active vision*. Amsterdam: IOS Publ., pp. 3–68.
- Lilly, R., Cummings, J. L., Benson, D. F., Frankel, M. (1983) The human Klüver-Bucy syndrome. *Neurology*, vol. 33, no. 9, pp. 1141–1145. <https://doi.org/10.1212/wnl.33.9.1141>
- Logunova, E. V., Shelepin, Yu. E. (2015) Study of the role of spatial-frequency filtering of images when evaluating the age and interpreting the emotional expression of faces. *Journal of Optical Technology*, vol. 82, no. 10, pp. 694–699. <https://doi.org/10.1364/JOT.82.000694>
- Malashin, R. O. (2021) Sparsely ensembled convolutional neural network classifiers via reinforcement learning. In: *ICMLT 2021: 2021 6th International Conference on Machine Learning Technologies (April 23–25, 2021)*. New York: Association of Computing Machinery Publ., pp. 102–110. <https://doi.org/10.1145/3468891.3468906>
- Markov, N. T., Ercsey-Ravasz, M., van Essen, D. C. et al. (2013) Cortical high-density counterstream architectures. *Science*, vol. 342, no. 6158, article 1238406. <https://doi.org/10.1126/science.1238406>
- Merigan, W. H., Byrne, C. E., Maunsell, J. H. R. (1991) Does primate motion perception depend on the magnocellular pathway? *The Journal of Neuroscience*, vol. 11, no. 11, pp. 3422–3429. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.11-11-03422.1991>
- Merigan, W., Pasternak, T. (2003) Lesions in primate visual cortex leading to deficits of visual perception. In: M. Fachle, M. Grenlee (eds.). *The Neuropsychology of Vision*. Oxford: Oxford University Press, pp. 121–162. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198505822.003.0005>
- Mishkin, M., Ungerleider, L. G., Macko, K. A. (1983) Object vision and spatial vision: two cortical pathways. *Trends in Neurosciences*, vol. 6, pp. 414–417. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(83\)90190-X](https://doi.org/10.1016/0166-2236(83)90190-X)

- Nam, Y., Sato, T., Uchida, G. et al. (2021) View tuned and view invariant face encoding in IT cortex is explained by selected natural image fragments. *Scientific Reports; Nature Portfolio*, vol. 11, article 7827. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86842-7>
- Panakhova, E. N. (2002) Appearance of Kluver-Bucy Syndrome and Alzheimer Disease—disturbance of intrastructural (amygdala-vision) and interamygdala interrelation? In: *The 3rd Forum of European Neuroscience (FENS Forum)*. Paris: [s. n.], p. 221.
- Ponomarev, V. A., Kropotov, Yu. D. (2021) Bayesian parallel factor analysis for studies of event-related potentials. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 51, pp. 882–892. <https://doi.org/10.1007/s11055-021-01147-6>
- Regan, D., Silver, R., Murray, T. J. (1977) Visual acuity and contrast sensitivity in multiple sclerosis—hidden visual loss: An auxiliary diagnostic test. *Brain*, vol. 100, no. 3, pp. 563–579. <https://doi.org/10.1093/brain/100.3.563>
- Reimer, C. B., Strobach, T., Schubert, T. (2016) Concurrent deployment of visual attention and response selection bottleneck in a dual-task: Electrophysiological and behavioural evidence. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, vol. 70, no. 12, pp. 2460–2477. <https://doi.org/10.1080/17470218.2016.1245348>
- Rolls, E. T. (2014) *Emotion and decision-making explained*. Oxford: Oxford Scholarship Online Publ., 704 p. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199659890.001.0001>
- Sani, I., Stemann, H., Caron, B. et al. (2021). The human endogenous attentional control network includes a ventro-temporal cortical node. *Nature Communications*, vol. 12, no. 1, article 360. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20583-5>
- Schober, H. (1956) Informations theorie in Optik und Fernsehen. *Optik*, vol. 13, pp. 350–364.
- Sergeev, S. F., Khomyakov, A. V. (2021) Operator's perception of groups of dynamic objects. *Journal of Optical Technology*, vol. 88, no. 6, pp. 337–342. <https://doi.org/10.1364/JOT.88.000337>
- Shelepin, K. Yu., Pronin, S. V., Shelepin, Yu. E. (2015) Recognizing fragmented images and the appearance of “Insight”. *Journal of Optical Technology*, vol. 82, no. 10, pp. 700–706. <https://doi.org/10.1364/JOT.82.000700>
- Sheth, B. R., Young, R. (2016) Two visual pathways in primates based on sampling of space: Exploitation and exploration of visual information. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, vol. 10, article 37. <https://doi.org/10.3389/fnint.2016.00037>
- Struss, D. T., Knight, R. T. (eds.). (2002) *Principles of frontal lobe function*. Oxford: Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195134971.001.0001>
- Tamietto, M., de Gelder, B. (2010) Neural bases of the non-conscious perception of emotional signals. *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 11, no. 10, pp. 697–709. <https://doi.org/10.1038/nrn2889>
- Tsotsos, J. K., Abid, O., Kotseruba, I., Solbach, M. D. (2021) On the control of attentional processes in vision. *Cortex*, vol. 137, no. 5, pp. 305–329. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2021.01.001>
- Verghese, P., Pelli, D. G. (1992) The information capacity of visual attention. *Vision Research*, vol. 32, no. 5, pp. 983–995. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(92\)90040-p](https://doi.org/10.1016/0042-6989(92)90040-p)
- Viola, P., Jones, M. J. (2004) Robust real-time face detection. *International Journal of Computer Vision*, vol. 57, pp. 137–154. <https://doi.org/10.1023/B:VISI.0000013087.49260.fb>
- Vuilleumier, P., Driver, J. (2007) Modulation of visual processing by attention and emotion: Windows on causal interactions between human brain regions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, vol. 362, no. 1481, pp. 837–855.
- Wallace, J., Valdivia, A. A. (2020) A hybrid artificial intelligence, machine learning, and control algorithm integration framework for embedded systems using semantic web technology. In: *2020 International Conference on Computational Science and Computational Intelligence (CSCI)*. Las Vegas: IEEE Publ., pp. 492–497. <https://doi.org/10.1109/CSCI51800.2020.00089>
- Wang, Y., Lv, K., Huang, R. et al. (2020) Glance and focus: A dynamic approach to reducing spatial redundancy in image classification. In: *34th Conference on Neural Information Processing Systems (NeurIPS 2020)*. [Online]. Available at: <https://arxiv.org/pdf/2010.05300.pdf> (accessed 01.10.2021).
- Weiskrantz, L. (2003) Unconscious perception: Blindsight. In: M. Fachle, M. Grenlee (eds.). *The Neuropsychology of Vision*. Oxford: Oxford University Press, pp. 283–306. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198505822.003.0009>
- Xu, X., Chen, O., Ruixin, Xu. (2019) The study of spatial frequency channels for human visual system. *International Journal of Pattern Recognition and Artificial Intelligence*, vol. 33, no. 6, article 1955007. <https://doi.org/10.1142/S0218001419550073>
- Zhukova, O. V., Malakhova, E. Yu., Shelepin, Yu. E. (2019) La Gioconda and the indeterminacy of smile recognition by a person and by an artificial neural network. *Journal of Optical Technology*, vol. 86, no. 11, pp. 706–715. <https://doi.org/10.1364/JOT.86.000706>

References

- Ajina, S., Bridge, H. (2017) Blindsight and unconscious vision: What they teach us about the human visual system. *The Neuroscientist*, vol. 23, no. 5, pp. 529–541. <https://doi.org/10.1177/1073858416673817> (In English)
- Ajina, S., Pollard, M., Bridge, H. (2020) The superior colliculus and amygdala support evaluation of face trait in blindsight. *Frontiers in Neurology*, vol. 11, article 769. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00769> (In English)

- Anastasio, T. J. (2015) Computer modeling in neuroscience: From imperative to declarative programming. In: N. Martí-Oliet, P. C. Ölveczky, C. Talcott (eds.). *Logic, rewriting, and concurrency. Essays dedicated to Jose Meseguer on the occasion of his 65th birthday*. Berlin: Springer Publ, pp. 97–113. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23165-5_4 (In English)
- Bechara, A., Damasio, H., Damasio, A. R., Lee, G. P. (1999) Different contributions of the human amygdala and ventromedial prefrontal cortex to decision-making. *Journal of Neuroscience*, vol. 19, no. 13, pp. 5473–5481. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-13-05473.1999> (In English)
- Bernard, C. (1867) *Svoystva zhivyykh tkanej. Kurs obshchej fiziologii [Properties of living tissues. General physiology course]*. Saint Petersburg: O. I. Bakst Publ., 299 p. (In Russian)
- Bondarko, V. M., Danilova, M. V., Krasilnikov, N. N. et al. (1999) *Prostranstvennoe zrenie [Spatial vision]*. Saint Petersburg: Nauka Publ., 218 p. (In Russian)
- Chistovich, L. A. (1950) *Uslovnye kozhno-gal'vanicheskie reaktsii na neoshchushchaemye zvukovy razdrasheniya [Conditioned galvanic skin reactions to imperceptible sound stimuli]. Extended abstract of PhD dissertation (Biology)*. Leningrad, Pavlov Institute of Physiology, 8 p. (In Russian)
- Dakin, S. C., Watt, R. J. (2009) Biological “bar codes” in human faces. *Journal of Vision*, vol. 9 (4), no. 2, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1167/9.4.2> (In English)
- Das, J. M., Siddiqui W. (2020) Kluver Bucy Syndrome. In: *StatPearls*. [S. l.]: StatPearls Publ. [Online]. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544221> (accessed 18.11.2021). (In English)
- Duke-Elder, S. (1962) *System of ophthalmology. Vol. VII. The foundation of ophthalmology. The investigation of indirect vision: The visual fields*. St. Louis: Mosby Publ., pp. 393–425. (In English)
- Elshawi, R., Sakr, S., Talia, D., Trunfio, P. (2018) Big data systems meet machine learning challenges: Towards big data science as a service. *Big Data Research*, vol. 14, pp. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.bdr.2018.04.004> (In English)
- Fahland, D., Lubke, D., Mendling, J. et al. (2009) Declarative versus imperative process modeling languages: The issue of understandability. In: T. Halpin, J. Krogstie, S. Nurcan et al. (eds.). *Enterprise, Business-process and information systems modeling. BPMDS 2009, EMMSAD 2009. Lecture notes in business information processing. Vol. 29*. Berlin; Heidelberg: Springer Publ., pp. 353–366. https://doi.org/10.1007/978-3-642-01862-6_29 (In English)
- Farah, M. (1990) *Visual Agnosia.: Disorders of object recognition and what they tell us about normal vision*. Cambridge: MIT Press, 184 p. (In English)
- Fredrikson, M. (1983) Reliability and validity of some specific fear questionnaires. *Scandinavian Journal of Psychology*, vol. 24, no. 4, pp. 331–334. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9450.1983.tb00507.x> (In English)
- Funahashi, S. (2017) Prefrontal contribution to decision-making under free-choice conditions. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 11, article 431. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00431> (In English)
- Gershuni, G. V. (1940) Elektrofiziologicheskij analiz deyatel'nosti slukhovej sistemy [Electrophysiological analysis of the activity of the auditory system]. *Fiziologicheskij zhurnal*, vol. 29, no. 5, p. 369–379. (In Russian)
- Glezer, V. D. (1993) *Zrenie i myshlenie [Sight and thinking]*. Leningrad: Nauka Publ., 284 p. (In Russian)
- Glezer, V. D., Zuckerman, I. I. (1961) *Informatsiya i zrenie [Information and vision]*. Moscow; Leningrad: USSR Academy of Sciences Publ., 183 p. (In Russian)
- Goodale, M., Milner, D. (2004) *Sight unseen. An exploration of conscious and unconscious vision*. Oxford: Oxford University Press, 232 p. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199596966.001.0001> (In English)
- Halbertsma, H. N., Bridge, H., Carvalho, J. et al. (2021) Visual field reconstruction in hemianopia using fMRI based mapping techniques. *Frontiers in Human Neuroscience*, vol. 15, article 713114. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2021.713114> (In English)
- Hansen, B. C., Johnson, A. P., Elleberg, D. (2012) Different spatial frequency bands selectively signal for natural image statistics in the early visual system. *Journal of Neurophysiology*, vol. 108, no. 8, pp. 2160–2172. <https://doi.org/10.1152/jn.00288.2012> (In English)
- Hyvarinen, J., Shelepin, Yu. E. (1979) Distribution of visual and somatic functions in the parietal associative area 7 of the monkey. *Brain Research*, vol. 169, no. 3, pp. 561–564. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(79\)90404-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(79)90404-9) (In English)
- Hurme, M., Koivisto, M., Revonsuo, A., Railo, H. (2019) V1 activity during feedforward and early feedback processing is necessary for both conscious and unconscious motion perception. *Neuroimage*, vol. 185, pp. 313–321. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.10.058> (In English)
- Kawamura, K., Naito, J. (1984) Corticocortical projections to the prefrontal cortex in the rhesus monkey investigated with horseradish peroxidase techniques. *Neuroscience Research*, vol. 1, no. 2, p. 89–103. [https://doi.org/10.1016/s0168-0102\(84\)80007-3](https://doi.org/10.1016/s0168-0102(84)80007-3) (In English)
- Kharauzov, A. K., Shelepin, Yu. E., Tsvetkov, O. V. et al. (2020) Metody maskirovki ugrozhayushchikh izobrazhenij i elektrofiziologicheskie markery ikh neosoznannogo vospriyatiya [Methods of masking threatening images and electrophysiological markers of their unconscious perception]. *Opticheskij zhurnal — Journal of Optical Technology*, vol. 87, no. 10, pp. 69–80. <https://doi.org/10.17586/1023-5086-2020-87-10-69-80> (In Russian)

- Kharauzov, A. K., Vasiliev, P. P., Sokolov, A. V. et al. (2015) Vospriyatie izobrazhenij v zadachakh zritel'nogo poiska v usloviyakh dinamicheskoy pomekhi [Perception of images in visual search problems under dynamic interference]. *Opticheskij zhurnal — Journal of Optical Technology*, vol. 82, no. 5, pp. 42–55. (In Russian)
- Klüver, H., Bucy, P. C. (1937) “Psychic blindness” and other symptoms following bilateral temporal lobectomy in rhesus monkeys. *American Journal of Physiology*, vol. 119, pp. 352–353. (In English)
- Kordjamshidi, P., Roth, D., Kersting, K. (2019) *Declarative learning-based programming as an interface to AI systems*. [Online]. Available at: <https://arxiv.org/pdf/1906.07809.pdf> (accessed 18.11.2021). (In English)
- Kozhevnikov, V. A. (1951) *Elektroentsefalograficheskoe izuchenie obrazovaniya vremennykh svyazey na zvukovykh razdrashitel'nykh u cheloveka [Electroencephalographic study of the formation of temporary connections to sound stimuli in humans]. Extended abstract of PhD dissertation (Biology)*. Leningrad, Institute of higher nervous activity, 12 p. (In Russian)
- Kozhevnikov, V. A., Maruseva, A. M. (1949) Elektroentsefalograficheskoe izuchenie obrazovaniya vremennykh svyazey na neoshchushchaemykh razdrasheniya u cheloveka [Electroencephalographic study of the formation of temporary connections to imperceptible stimuli in humans]. *Izvestia Akademii Nauk SSSR. Seriya biologicheskaya*, vol. 5, pp. 560–569. (In Russian)
- Krasil'nikov, N. N., Shelepin, Yu. E., Krasil'nikova, O. I. (1999) Primenenie printsipov optimal'nogo nablyudatelya pri modelirovanii zritel'noj sistemy cheloveka [Application of the principles of the optimal observer in modeling the human visual system]. *Opticheskij zhurnal — Journal of Optical Technology*, vol. 66, no. 9, pp. 17–24. (In Russian)
- Kropotov, J. D., Etlinger, S. C. (1999) Selection of actions in the basal ganglia- thalamocortical circuits: Review and model. *International Journal of Psychophysiology*, vol. 31, no. 3, pp. 197–217. [https://doi.org/10.1016/s0167-8760\(98\)00051-8](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(98)00051-8) (In English)
- Kulikowski, J. J. (2003) Neural basis of fundamental filters in vision. In: G. T. Buracas, O. Ruksenas, G. M. Boynton, T. D. Albright (eds.). *Modulation of neuronal responses: Implications for active vision*. Amsterdam: IOS Publ., pp. 3–68. (In English)
- Lilly, R., Cummings, J. L., Benson, D. F., Frankel, M. (1983) The human Klüver-Bucy syndrome. *Neurology*, vol. 33, no. 9, pp. 1141–1145. <https://doi.org/10.1212/wnl.33.9.1141> (In English)
- Logunova, E. V., Pronin, S. V., Shelepin, Yu. E. (2014) Modelirovanie raboty prostranstvenno-chastotnykh fil'trov pri vospriyatii slozhnykh dinamicheskikh stsen [Modelling the operation of spatial-frequency filters during the perception of complex dynamic scenes]. *Opticheskij zhurnal — Journal of Optical Technology*, vol. 81, no. 11, pp. 62–68. (In Russian)
- Logunova, E. V., Shelepin, Yu. E. (2015) Study of the role of spatial-frequency filtering of images when evaluating the age and interpreting the emotional expression of faces. *Journal of Optical Technology*, vol. 82, no. 10, pp. 694–699. <https://doi.org/10.1364/JOT.82.000694> (In English)
- Malashin, R. O. (2021) Sparsely ensembled convolutional neural network classifiers via reinforcement learning. In: *ICMLT 2021: 2021 6th International Conference on Machine Learning Technologies (April 23–25, 2021)*. New York: Association of Computing Machinery Publ., pp. 102–110. <https://doi.org/10.1145/3468891.3468906> (In English)
- Markov, N. T., Ercsey-Ravasz, M., van Essen, D. C. et al. (2013) Cortical high-density counterstream architectures. *Science*, vol. 342, no. 6158, article 1238406. <https://doi.org/10.1126/science.1238406> (In English)
- Merigan, W. H., Byrne, C. E., Maunsell, J. H. R. (1991) Does primate motion perception depend on the magnocellular pathway? *The Journal of Neuroscience*, vol. 11, no. 11, pp. 3422–3429. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.11-11-03422.1991> (In English)
- Merigan, W., Pasternak, T. (2003) Lesions in primate visual cortex leading to deficits of visual perception. In: M. Fachle, M. Grenlee (eds.). *The Neuropsychology of Vision*. Oxford: Oxford University Press, pp. 121–162. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198505822.003.0005> (In English)
- Mishkin, M., Ungerleider, L. G., Macko, K. A. (1983) Object vision and spatial vision: two cortical pathways. *Trends in Neurosciences*, vol. 6, pp. 414–417. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(83\)90190-X](https://doi.org/10.1016/0166-2236(83)90190-X) (In English)
- Murygin, K. V. (2003) Optimizatsiya gaborovskikh vejvlet-preobrazovaniy dlya zadachi raspoznavaniya cheloveka po izobrazheniyu litsa [Optimization of Gabor wavelet transforms for the problem of human recognition from a face image]. *Iskusstvennyy intellekt*, no. 4, pp. 223–229. (In Russian)
- Nam, Y., Sato, T., Uchida, G. et al. (2021) View tuned and view invariant face encoding in IT cortex is explained by selected natural image fragments. *Scientific Reports; Nature Portfolio*, vol. 11, article 7827. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86842-7> (In English)
- Panakhova, E. N. (2002) Appearance of Klüver-Bucy Syndrome and Alzheimer Disease—disturbance of intrastructural (amygdala-vision) and interamygdala interrelation? In: *The 3rd Forum of European Neuroscience (FENS Forum)*. Paris: [s. n.], p. 221. (In English)
- Podvigin, N. E., Makarov, F. N., Shelepin, Yu. E. (1986) *Elementy strukturno-funktsional'noj organizatsii zrite'no-glazodvigatel'noj sistemy [Elements of the structural and functional organization of the visual-oculomotor system]*. Leningrad: Nauka Publ., 252 p. (In Russian)

- Ponomarev, V. A., Kropotov, Yu. D. (2021) Bayesian parallel factor analysis for studies of event-related potentials. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 51, pp. 882–892. <https://doi.org/10.1007/s11055-021-01147-6> (In English)
- Regan, D., Silver, R., Murray, T. J. (1977) Visual acuity and contrast sensitivity in multiple sclerosis-hidden visual loss: An auxiliary diagnostic test. *Brain*, vol. 100, no. 3, pp. 563–579. <https://doi.org/10.1093/brain/100.3.563> (In English)
- Reimer, C. B., Strobach, T., Schubert, T. (2016) Concurrent deployment of visual attention and response selection bottleneck in a dual-task: Electrophysiological and behavioural evidence. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, vol. 70, no. 12, pp. 2460–2477. <https://doi.org/10.1080/17470218.2016.1245348> (In English)
- Rolls, E. T. (2014) *Emotion and decision-making explained*. Oxford: Oxford Scholarship Online Publ., 704 p. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199659890.001.0001> (In English)
- Sani, I., Stemmann, H., Caron, B. et al. (2021). The human endogenous attentional control network includes a ventro-temporal cortical node. *Nature Communications*, vol. 12, no. 1, article 360. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20583-5> (In English)
- Schober, H. (1956) Informations theorie in Optik und Fernsehen [Information theory in optics and television]. *Optik*, vol. 13, pp. 350–364. (In German)
- Sergeev, S. E., Khomyakov, A. V. (2021) Operator's perception of groups of dynamic objects. *Journal of Optical Technology*, vol. 88, no. 6, pp. 337–342. <https://doi.org/10.1364/JOT.88.000337> (In English)
- Shelepin, Yu. E. (2017) *Vvedenie v nejroikoniku [Introduction to neuroiconics]*. Saint Petersburg.: Troitskij Most Publ., 352 p. (In Russian)
- Shelepin, Yu. E., Kharauzov, A. K., Zhukova, O. V. et al. (2020) Maskirovka i obnaruzhenie skrytykh signalov v dinamicheskikh izobrazheniyakh [Masking and detection of hidden signals in dynamic images]. *Opticheskij zhurnal — Journal of Optical Technology*, vol. 87, no. 10, pp. 89–102. <https://doi.org/10.17586/1023-5086-2020-87-10-89-102> (In Russian)
- Shelepin, Yu. E., Kolesnikova, L. N., Levkovich, Yu. I. (1985) *Vizokontrastometriya: Izmerenie prostranstvennykh peredatochnykh funktsij zritel'noj sistemy [Visocontrastometry: Measuring the spatial transfer functions of the visual system]*. Leningrad: Nauka Publ., 104 p. (In Russian)
- Shelepin, K. Yu., Pronin, S. V., Shelepin, Yu. E. (2015) Recognizing fragmented images and the appearance of “Insight”. *Journal of Optical Technology*, vol. 82, no. 10, pp. 700–706. <https://doi.org/10.1364/JOT.82.000700> (In English)
- Shelepin, Yu. E., Rudoj, I. S., Davydov, A. T. et al. (1997) Metod narkopsikhoterapii bol'nykh alkogolizmom [The method of drug psychotherapy for patients with alcoholism]. In: *Novye podkhody k diagnostike i lecheniyu alkogolizma [New approaches to the diagnosis and treatment of alcoholism]*. Saint Petersburg: The S. M. Kirov Military Medical Academy Publ., pp. 51–53. (In Russian)
- Sheth, B. R., Young, R. (2016) Two visual pathways in primates based on sampling of space: Exploitation and exploration of visual information. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, vol. 10, article 37. <https://doi.org/10.3389/fnint.2016.00037> (In English)
- Skuratova, K. A., Shelepin, E. Yu., Yarovaya, N. P. (2021) Opticheskij poisk i zritel'nyj navyk [Optical search and visual skill]. *Opticheskij zhurnal — Journal of Optical Technology*, vol. 88, no. 12, pp. 28–35. <https://www.doi.org/10.17586/1023-5086-2021-88-12-28-35> (In Russian)
- Struss, D. T., Knight, R. T. (eds.). (2002) *Principles of frontal lobe function*. Oxford: Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195134971.001.0001> (In English)
- Tamietto, M., de Gelder, B. (2010) Neural bases of the non-conscious perception of emotional signals. *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 11, no. 10, pp. 697–709. <https://doi.org/10.1038/nrn2889> (In English)
- Tsotsos, J. K., Abid, O., Kotseruba, I., Solbach, M. D. (2021) On the control of attentional processes in vision. *Cortex*, vol. 137, no. 5, pp. 305–329. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2021.01.001> (In English)
- Tsvetkov, E. A., Krasnoshchekova, E. I. (2020) *Amigdalyarnyj kompleks. Fiziologiya emotsij i pamyati [Amygdala complex. Physiology of emotions and memory]*. Saint Petersburg: Saint Petersburg State University Publ., 200 p. (In Russian)
- Vakhrameeva, O. A., Kharauzov, A. K., Pronin, S. V. et al. (2016) Zritel'nyj prajming pri raspoznavanii melkikh izobrazhenij v stsene, sodержashchej ob'ekty raznogo razmera [Visual priming and reception of small pictures in a with multiscale objects]. *Fiziologiya cheloveka — Human Physiology*, vol. 42, no. 5, pp. 39–48. <https://doi.org/10.7868/S0131164616050180> (In Russian)
- Verghese, P., Pelli, D. G. (1992) The information capacity of visual attention. *Vision Research*, vol. 32, no. 5, pp. 983–995. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(92\)90040-p](https://doi.org/10.1016/0042-6989(92)90040-p) (In English)
- Viola, P., Jones, M. J. (2004) Robust real-time face detection. *International Journal of Computer Vision*, vol. 57, pp. 137–154. <https://doi.org/10.1023/B:VISI.0000013087.49260.fb> (In English)
- Vuilleumier, P., Driver, J. (2007) Modulation of visual processing by attention and emotion: Windows on causal interactions between human brain regions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, vol. 362, no. 1481, pp. 837–855. (In English)

- Wallace, J., Valdivia, A. A. (2020) A hybrid artificial intelligence, machine learning, and control algorithm integration framework for embedded systems using semantic web technology. In: *2020 International Conference on Computational Science and Computational Intelligence (CSCI)*. Las Vegas: IEEE Publ., pp. 492–497. <https://doi.org/10.1109/CSCI51800.2020.00089> (In English)
- Wang, Y., Lv, K., Huang, R. et al. (2020) Glance and focus: A dynamic approach to reducing spatial redundancy in image classification. In: *34th Conference on Neural Information Processing Systems (NeurIPS 2020)*. [Online]. Available at: <https://arxiv.org/pdf/2010.05300.pdf> (accessed 01.10.2021). (In English)
- Weiskrantz, L. (2003) Unconscious perception: Blindsight. In: M. Fachle, M. Grenlee (eds.). *The Neuropsychology of Vision*. Oxford: Oxford University Press, pp. 283–306. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198505822.003.0009> (In English)
- Xu, X., Chen, O., Ruixin, Xu. (2019) The study of spatial frequency channels for human visual system. *International Journal of Pattern Recognition and Artificial Intelligence*, vol. 33, no. 6, article 1955007. <https://doi.org/10.1142/S0218001419550073> (In English)
- Zhukova, O. V., Malakhova, E. Yu., Shelepin, Yu. E. (2019) La Gioconda and the indeterminacy of smile recognition by a person and by an artificial neural network. *Journal of Optical Technology*, vol. 86, no. 11, pp. 706–715. <https://doi.org/10.1364/JOT.86.000706> (In English)



УДК 612.821

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-378-389>

Педагогическая психофизиология К. Д. Ушинского

Д. Н. Берлов^{✉1}

¹ Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена,
191186, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, д. 48

Сведения об авторе

Дмитрий Николаевич Берлов,
SPIN-код: 6682-3717,
Scopus AuthorID: 6506121651,
ResearcherID: K-3019-2013,
ORCID: 0000-0002-1517-8771,
e-mail: dberlov@yandex.ru

Для цитирования:

Берлов, Д. Н. (2021)
Педагогическая психофизиология
К. Д. Ушинского. *Интегративная
физиология*, т. 2, № 4, с. 378–389.
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-378-389>

Получена 15 октября 2021;
прошла рецензирование
23 октября 2021; принята
25 октября 2021.

Финансирование: Исследование
не имело финансовой поддержки.

Права: © Д. Н. Берлов (2021).
Опубликовано Российским
государственным педагогическим
университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях
лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. В статье рассматривается круг физиологических вопросов, затрагиваемых К. Д. Ушинским в его работе «Человек как предмет воспитания (Опыт педагогической антропологии)». В своем основном труде, преимущественно в его первом томе, Ушинский уделяет много внимания рассмотрению физиологических закономерностей, систематически излагает современную ему физиологию нервной системы (например, описывая рефлекторную дугу, черепные нервы, работу мышц и сенсорных систем, развитие утомления) и делает попытку на ее основе объяснить психические явления. Ушинский рассматривает физиологию в качестве одной из трех основ научной педагогики (вместе с логикой и психологией). Его интерес объясняется преимущественно двумя причинами. Во-первых, будучи одной из наук о человеке, физиология подсказывает ключи к способам изменения человека, его воспитания. Во-вторых, психические явления, объясняемые на основе физиологических закономерностей, составляют более целостную и объективную систему в отличие от попыток построить психологическую систему на основе логических умозаключений. Рассматривая связь физиологии и психологии, Ушинский затрагивает ряд тем, важных для педагогической психофизиологии. Среди них роль повторения и упражнения для формирования навыков и привычек, психические процессы, важные для обучения, включая внимание, память, восприятие, речь и мышление, закономерности развития психики в онтогенезе и физиологические предпосылки индивидуально-типологических различий. С учетом широты охвата излагаемых тем и относительной простоты используемого языка изложения, начало первого тома «Антропологии» является редкой доступной возможностью для современного русскоязычного читателя составить подробное представление о положении дел в физиологии нервной системы человека в середине XIX века. Помимо исторического интереса, в работе Ушинского можно найти множество пересечений с актуальными современными направлениями научных исследований в психофизиологии.

Ключевые слова: Ушинский, педагогическая психофизиология, история физиологии, внимание, память, формирование навыков и привычек

Pedagogical psychophysiology of Konstantin Ushinsky

D. N. Berlov✉¹¹ Herzen State Pedagogical University of Russia, 48 Moika Emb., Saint-Petersburg 191186, Russia**Author**

Dmitrii N. Berlov,
 SPIN: 6682-3717,
 Scopus AuthorID: 6506121651,
 ResearcherID: K-3019-2013,
 ORCID: 0000-0002-1517-8771,
 e-mail: dberlov@yandex.ru

For citation:

Berlov, D. N.
 (2021) Pedagogical psychophysiology
 of Konstantin Ushinsky. *Integrative
 Physiology*, vol. 2, no. 4, pp. 378–389.
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-378-389>

Received 15 October 2021;
 reviewed 23 October 2021;
 accepted 25 October 2021.

Funding: The study received no
 financial support.

Copyright: © D. N. Berlov (2021).
 Published by Herzen State
 Pedagogical University of Russia.
 Open access under [CC BY-NC](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)
 License 4.0.

Abstract. The article discusses a range of physiological issues raised by K. D. Ushinsky in his work *Man as the Object of Education: Evidence from Pedagogical Anthropology*. Ushinsky focuses on physiological laws and provides a comprehensive analysis of the physiology of the nervous system relevant for that time period. In particular, he describes the reflex arc, cranial nerves, the work of muscles and sensory systems, the development of fatigue. He also makes an attempt to explain mental phenomena based on the systemic approach to the physiology of the nervous system. Considering the relationship between physiology and psychology, Ushinsky describes a number of issues that are important for pedagogical psychophysiology. Among them are the following: the role of repetition and exercises in the development of skills and habits; mental processes important for learning including attention, memory, perception, speech and thinking; patterns of psyche development in ontogenesis, and a physiological basis for individual/typological differences. The beginning of the first volume of *Anthropology* explores quite a wide range of topics and reads easily. Thus, the first volume offers a great opportunity for the modern Russian-speaking readers to get a detailed understanding of the mid-19th century state of the art in the physiology of human nervous system. In addition to the historical interest, Ushinsky's work has numerous intersections with the modern research avenues in psychophysiology.

Keywords: Ushinsky, pedagogical psychophysiology, history of physiology, attention, memory, development of skills and habits

Введение

К. Д. Ушинский (1823–1871) является признанным классиком отечественной научной педагогики (Днепров 2007; Guseva 2018; Hans 1962; Radosavljevich 1911). Множество работ посвящено различным аспектам (педагогическим, психологическим, философским, антропологическим) его вклада в науку (Асеева 2012; Бондаренко 2011; Мазиллов 2014; Прохоров 2013; Хабарова 2014). На этом фоне малочисленны упоминания заслуг Ушинского в области физиологии. Между тем основной научный труд Ушинского «Человек как предмет воспитания (Опыт педагогической антропологии)» в значительной степени опирается на физиологию (Ушинский 1950а). Само слово «физиология» и его однокоренные слова в первом томе «Педагогической антропологии» используется автором более 250 раз.

В этой работе Ушинский систематически излагает современную ему физиологию нервной системы (например, описывая рефлекторную дугу, черепные нервы, работу мышц и сенсорных систем, развитие утомления) и делает попытку на ее основе объяснить психические явления. Первый том также описывает базовые психические функции (внимание, память, мышление) и общие представления Ушинского об органи-

зации психики и сознания. Второй том посвящен эмоционально-волевой сфере. Материалы к третьему (незаконченному) тому включают тематику высших проявлений психической деятельности, таких как самосознание, свобода воли, мышление и речь, а также практические рекомендации для педагогики, вытекающие из теоретических построений.

Крайне интересен исторический контекст написания первого тома, вышедшего в 1868 г. Это период самого начала золотой эпохи отечественной физиологии. Открытие И. М. Сеченовым центрального торможения произошло всего 5 лет назад. основополагающие работы Н. Е. Введенского, А. А. Ухтомского, В. М. Бехтерева, И. П. Павлова еще впереди. Так же как и ряд ключевых зарубежных открытий в физиологии нервной системы, включая синаптическую теорию Ч. Шеррингтона и понимание вклада ионов в возникновение мембранных потенциалов. Но исследования Г. Гельмгольца и В. Вундта уже хорошо известны.

С учетом широты охвата излагаемых тем и относительной простоты используемого языка изложения, начало первого тома «Антропологии» является редкой доступной возможностью для современного русскоязычного читателя составить подробное представление о положении дел в мировой физиологии в середине XIX века.

С оговоркой, что речь идет преимущественно о физиологии нервной системы человека.

Безусловно, в изложении Ушинским физиологических сведений имеется немало устаревших теорий и ошибочных интерпретаций. Однако отдельный интерес представляет то, что Ушинский при упоминании многих явлений описывает разные подходы к их объяснению. Хотя для некоторых критиков это послужило основанием характеризовать его подход как эклектический (Ушинский 1950b), такое изложение является отличной иллюстрацией научного поиска и столкновения позиций для объяснения того или иного феномена. Необходимо отметить, что Ушинский не просто перечисляет разные подходы и трактовки, а анализирует их, критикует, отмечая предпочтительные с его точки зрения интерпретации. В тех же случаях, когда степень изученности предмета не дает основания для уверенной позиции, Ушинский как правило не пытается сделать заключение на основе своих идеологических воззрений, а прямо отмечает недостаточность знаний в этих вопросах. Показательным является его высказывание о природе возбуждения: «Есть несколько гипотез, старающихся объяснить, в чем состоит деятельность возбужденного нервного волокна, но ни одна из них вполне не удовлетворительна» (Ушинский 1950a, 173).

Описывая базовые физиологические акты, Ушинский во многом опирается на учебник по физиологии Людимира Германа. Здесь надо отметить временную сжатость событий. Краткий учебник Л. Германа в оригинале вышел в 1863 г., когда тот еще только начинал свою научную карьеру в лаборатории Э. Дюбуа-Реймона (Finkelstein 2006). Уже с 1864 г. учебник был переведен с немецкого И. М. Сеченовым «с просмотром и дополнениями», таким образом, на момент издания первого тома Ушинского этот учебник был очень свежим (Герман 1864). Другим активно цитируемым Ушинским учебником является руководство по физиологии Иоганна Мюллера, вышедшее в 1845 г. Среди авторов-физиологов Ушинский также упоминает И. М. Сеченова, Г. Гельмгольца, Д. Г. Льюиса, К. Фогта.

Почему же это произведение Ушинского находится преимущественно вне поля зрения физиологов? Затрудняясь дать однозначную интерпретацию, рискнем высказать два предположения. Во-первых, само название книги («Опыт педагогической антропологии») оставляет в тени ее физиологическое содержание. Во-вторых, используемая автором дуалистическая интерпретация психики не могла быть

поддержана господствующей идеологией советского периода (за дуализм Ушинского критиковали и некоторые современники, см. Ушинский 1950b). Также следует отметить, что первые главы книги представляют небольшой интерес для современного читателя. В них Ушинский излагает свои общебиологические представления о разновидностях живых организмов, роли соотношения процессов утомления и восстановления в развитии физиологических адаптаций и т. п. В целом содержание этих глав достаточно тривиально.

Цель работы — рассмотреть физиологическое знание, на которое опирался Ушинский, как основу, с одной стороны, теоретической базы для описания психических явлений, а с другой стороны — для выведения практических приемов и подходов, важных для педагогики. Вначале будет в целом рассмотрен круг физиологических вопросов, затрагиваемых Ушинским, затем более детально будет описан ряд аспектов, важных для педагогической психофизиологии. При рассмотрении данных вопросов мы опираемся преимущественно на материалы первого тома «Педагогической антропологии», в которой отсылки к физиологии наиболее часты.

Физиологическое знание в работе Ушинского

Пытаясь подойти к вопросу основательно, Ушинский начинает с основ функционирования нервной системы, включая ее строение и общие принципы работы. Ушинский опирается на рефлекторный принцип, подчеркивая, что «рефлективная деятельность должна быть приписана столько же головному мозгу, сколько и спинному ... основываясь на фактах, физиология может говорить решительно только об одной рефлективной, т. е. чисто механической, деятельности этого органа» (Ушинский 1950a, 163).

Этот прогрессивный взгляд явно перекликается с постулатами И. М. Сеченова из его знаменитой книги «Рефлексы головного мозга». Но такое сходство не стоит считать заимствованием идей. Ушинский и Сеченов работали над своими основными трудами одновременно. Некоторые главы первого тома «Педагогической антропологии» публиковались в «Педагогическом сборнике» в номерах за 1864–1865 гг., а отдельным изданием первый том вышел в 1868 г. Первая журнальная публикация «Рефлексов головного мозга» в «Медицинском вестнике» датируется тем же 1864 г. Его издание в виде отдельной книги произошло в 1866 г., но до читателя дошло лишь год спустя, т. к. изначально тираж книги был

арестован цензурой (Шатерников 1926). Ушинский знает работы Сеченова и упоминает его открытия, но очень кратко — лишь как первооткрывателя центрального торможения и автора термина «роковые рефлексы» применительно к работе головного мозга.

Более того, необходимо отметить принципиальную разницу в позициях Сеченова и Ушинского. Если у Сеченова тезис о рефлекторном принципе работы головного мозга сформулирован достаточно радикально, то для Ушинского он является скорее удобным основанием. Исходя из тесной связи физиологии и психологии, значительная часть психических функций может быть объяснена на основе закономерностей работы нервной системы (память, внимание, формирование привычек). Однако Ушинский не понимает, как механистически можно объяснить сознание, что является основанием для его дуалистической позиции.

Небезынтересны и научно-методологические замечания Ушинского. В частности, он рассуждает о тесной, неразрывной связи между физиологией и психологией, отмечая принципиальные различия в используемых этими дисциплинами методологических подходах. Ушинский уделяет большое внимание четкости использования терминов, полагая, что не вполне ясная терминология приводит к логическим ошибкам в рассуждениях: «Неопределенное употребление слова идея ведет ко множеству ошибок» (Ушинский 1950а, 180) и далее — «Постановка ясного вопроса есть уже выигрыш для науки, и мы везде предпочитаем ясный вопрос неясному ответу» (Ушинский 1950а, 235).

Ряд замечаний и наблюдений Ушинского можно рассматривать как предвидение законов доминанты и парабриоза. Ушинский отмечает, что ответ нерва на электростимуляцию может определяться его исходным состоянием: «Если нерв устал, а мы продолжаем его возбуждать, то он не всегда отказывается от деятельности, а иногда, наоборот, впадает в такую судорожную деятельность, от которой мы отделаться не можем» (Ушинский 1950а, 181). А фраза Ушинского «слух наш всегда открыт тем звукам, которые нас особенно занимают. Так, служащие при телеграфах, засыпая иногда столь глубоким сном, что и громкий крик их не пробуждает, пробуждаются от легкого стука телеграфического прибора; так, утомленная мать, забывшись крепким сном, не слышит громкого стука и в то же время слышит легкий стон младенца или его движение в колыбели» (Ушинский 1950а, 118, 119) буквально

перекликается с мыслью А. А. Ухтомского, о том, что «мать, крепко спящая под гром артиллерийской пальбы, просыпается на легкий стон своего ребенка» (А. А. Ухтомский 2002, 60).

Несколько глав Ушинский посвящает описанию и сравнению сенсорных систем, в том числе цветовому и бинокулярному зрению. Главы, посвященные сенсорным системам, неплохо иллюстрированы, в них показаны анатомические особенности строения органов чувств. Подробно рассматривается им и работа мышечной системы, в том числе движения глаз. Ушинским отмечается важная роль мозжечка в координации движений. Интересным представляется предвидение им активного отдыха по Сеченову: «Возобновление силы одного органа может совершаться и во время деятельности другого: так, например, при переноске тяжести человек инстинктивно переменяет руки или плечи, и даже при продолжительном стоянии на одном месте опирается более то на одну, то на другую ногу» (Ушинский 1950а, 87).

Подробно описываются Ушинским вопросы утомления и тренировки, которые он считает фундаментальными физиологическими явлениями. «Во всех психо-физических актах, в которых нервы принимают какое-либо участие, мы замечаем явления утомления и отдыха» (Ушинский 1950а, 148). Им подчеркивается важность используемого режима повторения, которая основывается на определенном соотношении утомления и отдыха. Ушинским выделяется критерий длительности восстановления как информативный показатель адаптированности к деятельности: «Начиная непривычную для нас работу, мы быстро устаем и после непродолжительного труда нуждаемся в продолжительном отдыхе; чем же более привыкаем мы к тому или другому труду, тем более эта пропорция изменяется: периоды труда становятся длиннее, а периоды отдыха короче» (Ушинский 1950а, 87).

Ушинский рассматривает повторение (тренировку) как базовый механизм обучения организма, особенно подчеркивая важность вклада в раннее развитие ребенка мышечного чувства. На основе обратной связи от рецепторов мышечной системы, в результате анализа последствий собственных действий организм формирует представление об окружающем пространстве и даже некоторые логические понятия: «Из своих собственных движений научается человек впервые, что его тело существует в пространстве и что движения его совершаются во времени» (Ушинский 1950а, 148). Этот же механизм используется для формирования привычек и приобретения навыков.

Таким образом, многие способности организма основаны на опыте. Однако нельзя сказать,

что Ушинский разделяет точку зрения крайнего эмпиризма, по его мнению, необходим баланс врожденного и приобретенного, «при всей беспорядочности движений новорожденного младенца видны уже в нем врожденные умения, врожденная связь души и нервного организма, иначе, напр., младенец умер бы с голоду прежде, чем выучится сосать» (Ушинский 1950а, 142).

В качестве важного физиологического фактора Ушинский выделяет индивидуальные особенности функционирования нервной системы как причину типологических различий. Он отмечает, что нервная система «чрезвычайно различна у различных людей. У одних нервы впадают в раздраженное состояние от всякой безделицы; у других, несмотря на сильнейшее впечатление, не выходят из нормального своего состояния, так что после усталости наступает немедленно отдых, после отдыха — бодрость» (Ушинский 1950а, 183). При этом у каждого человека «есть свой обычный темп хода представлений и что у одних людей вереницы представлений идут быстрее, у других медленнее ... причины этой относительной быстроты или медленности в ходе представлений у разных людей следовало искать ... в особенностях нервной системы, или вообще в тех особенностях телесных организаций, которые выражаются в так называемых темпераментах» (Ушинский 1950а, 262).

Помимо темперамента, в качестве индивидуально-типологической черты Ушинский рассматривает индивидуальное предпочтение оптимального уровня сложности, отмечая, что наше сознание «не любит ни слишком легкой, ни слишком трудной работы; оно любит середину, т. е. посильный труд, но положение этой середины у различных людей различно» (Ушинский 1950а, 318).

Понимание природы индивидуальных различий у детей позволяет, согласно Ушинскому, учесть их особенности, важные для процесса обучения: «Дети с сильно возбужденным воображением оказываются очень забывчивыми. Они забывают не потому, что у них память слаба, но потому, что, при беспрестанной постройке воображением новых и новых ассоциаций, они берут материал из прежних, беспрепятственно их разрывая» (Ушинский 1950а, 371).

Физиологические и психологические знания как научная основа для педагогики

Столь глубокое изложение Ушинским основ физиологии заставляет задуматься о причинах, по которым он потратил на это столько усилий.

По мнению Ушинского, задачи педагогики заключаются не просто в образовании, но и в воспитании человека. В результате образовательного процесса человек меняется, поэтому знания о человеке необходимы для понимания природы этих изменений и подбора используемых методов. Хотя физиология является одной из многих наук «антропологического плана», Ушинский выделяет ее особенно, рассматривая в качестве одной из трех основ научной педагогики (вместе с логикой и психологией).

Одна из причин заключается в практической эффективности физиологии для задач воспитания человека: «Читая физиологию, на каждой странице мы убеждаемся в обширной возможности действовать на физическое развитие индивида» (Ушинский 1950а, 36).

Наиболее наглядно это проявляется в физиологических основах формирования навыков и привычек. Ушинский отмечает, что для формирования привычек необходимо активное повторение. Вначале такое повторение требует значительного волевого усилия и сознательного контроля, но затем начинает реализовываться более автоматически: «Многие действия, совершаемые нами вначале сознательно и произвольно, от частого их повторения совершаются потом без участия нашего сознания и произвола и ... переходят в разряд действий рефлексивных, или рефлексов, совершаемых нами помимо нашей воли и нашего сознания» (Ушинский 1950а, 206). Исследование механизмов формирования привычек представляет интерес и для современной науки (Lally et al. 2010).

Ушинский видит важное воспитательное значение привычек, полагая, что этот механизм дает надежду на исправление неблагоприятных природных склонностей в любом возрасте. Ушинский проводит аналогию формирования полезных и вредных привычек с финансовыми действиями, приносящими в долгосрочной перспективе доход или убыток.

Ушинский отмечает, что наиболее сильные и устойчивые паттерны поведения формируются в таких местах, как армия, монастырь и т. д., — в этих случаях регулярность повторения сочетается с его коллективным выполнением. Здесь можно обнаружить аргумент для сравнения контактного группового обучения и дистанционного: регулярность графика и коллективность обучения должны создавать более сформированные навыки обучения. Вероятно, оправданность дистанционной формы обучения зависит

от сформированности таких навыков и растет с возрастом обучающегося.

Большое внимание Ушинский уделяет развитию психики в онтогенезе. По его мнению, уже в раннем возрасте многие физиологические процессы в головном мозге имеют психическое проявление и важны для более позднего возраста развития ребенка: «Для родителей и воспитателей чрезвычайно важно сознавать ясно, что ребенок и в первый год своей жизни живет не одною физическою жизнью, но что в душе его и в его нервной системе подготавливаются основные элементы всей будущей психической деятельности: вырабатываются те силы и те основные приемы, с которыми он впоследствии будет относиться и к природе и к людям» (Ушинский 1950а, 214), — и далее: «Признав же важное значение мускульного чувства, сообщающего сознанию ощущения движений, мы с большей вероятностью можем предположить, что история души начинается с первых движений младенца, следовательно, еще до рождения его на свет» (Ушинский 1950а, 214). Хотя Ушинский явно и не выделяет стадии развития психики ребенка, некоторые признаки стадийности развития прослеживаются в его представлениях. Одним из примеров базовых физиологических законов, лежащих в основе обучения, Ушинский считает подражание (имитационное поведение), необходимое для формирования первых привычек.

Ушинский подчеркивает роль привычек из раннего детства, для которых «выработанное внимание делается потом как бы природной способностью; а если оно по каким-нибудь обстоятельствам выработалось в раннем детстве, то и действительно принимается часто за природную способность» (Ушинский 1950а, 317). Такая способность, по его мнению, основана на выраженной легкости образования привычек у детей: «Чем моложе организм, тем быстрее укореняются в нем привычки. Пеленка свернутая, подушка, положенная так или иначе два, три раза сряду, уже устанавливают в младенце привычку, противодействие которой сопровождается криком. Вот почему у беспорядочных матерей и дети беспокойны, тогда как у матери с определенным образом действий дети не кричат понапрасну» (Ушинский 1950а, 208), — и далее: «Одна из самых простых привычек: привычка к порядку в распределении своих вещей и своего времени. Сколько такая привычка, обратившаяся в бессознательно выполняемую потребность, сохранит и сил, и времени человеку, который не будет принужден ежеминутно призывать свое сознание необходимости

порядка и свою волю для установления его и, оставаясь в свободном распоряжении этим двумя силами души, употребить их на что-нибудь новое и более важное?» (Ушинский 1950а, 228).

Биологическое значение формирования навыков отчетливо видно в следующем высказывании Ушинского: «Навык во многом делает человека свободным и прокладывает ему путь к дальнейшему прогрессу. Если б человек при ходьбе каждую минуту должен был с таким же усилием преодолевать трудности этого сложного действия, с каким преодолевал их во младенчестве, то как бы связан был он, как бы не далеко ушел!» (Ушинский 1950а, 233).

Ушинский также признает большой вклад привычек в работу сенсорных систем, вмешиваясь в классический спор нативистов и эмпиристов. Он отмечает, что «многие из способностей зрения вовсе не простые прирожденные способности, а весьма сложные выводы, сделанные человеком в беспаятном младенчестве из множества наблюдений, сравнений, опытов, приспособлений, аналогий и умозаключений, обратившихся потом в бессознательно выполняемый навык, которым мы пользуемся впоследствии как прирожденным даром» (Ушинский 1950а, 209), рассматривая в качестве важных примеров такого поведения формирование мимики, хватательных движений и бинокулярного зрения.

Другая причина интереса Ушинского к физиологии проистекает из его представлений о связях между физиологией и психологией. Рассматривая другие педагогические системы (в частности, педагогические представления Ф. Э. Бенеке), основанные на теоретических психологических построениях, Ушинский отмечает частую произвольность таких логических конструкций, которые не выдерживают проверки опытом. В этом отношении объяснение важных для педагогики психических явлений на основе физиологических механизмов создает не только большую объективность, но и позволяет добиться единства терминологии: «Присутствуя при обсуждении педагогических вопросов в различных собраниях, прислушиваясь к частным спорам, мы пришли к убеждению, что все эти толки, споры, проекты, журнальные статьи выиграли бы много в основательности, если бы придавали одно и то же значение психологическим и отчасти физиологическим и философским терминам, которые в них беспрестанно повторялись», — и далее: «Иное педагогическое недоумение или горячий педагогический спор могли бы легко быть решены, если бы, употребляя слова: рассудок, вообра-

жение, память, внимание, сознание, чувство, привычка, навык, развитие, воля и т. д., согласились сначала в том, что разумеет под этими словами» (Ушинский 1950а, 39, 40).

С этих позиций Ушинский производит анализ важных для процесса обучения психических процессов.

Ушинский рассматривает внимание как способность сознания сосредоточиваться и поддерживает традиционное деление внимания на произвольное и непроизвольное, отмечая субъективное усилие как важный признак произвольного внимания. Природа чувства усилия, сопровождающего произвольное внимание, до сих пор не прояснена и может связываться, например, с усилением симпатического тонуса, с контролирующими влияниями префронтальной или передней поясной коры (Bruga, Tang 2018; Howells et al. 2010; Khachouf et al. 2017; Radulescu et al. 2015).

Ушинский отмечает большой произвольный контроль слухового внимания над зрительным, что соответствует различающимся эффектам в задачах избирательного слушания и смотрения (Найссер 1981). В частности, он отмечает, что «мы можем, не заграждая вообще звукам пути в наш слуховой орган, слышать чутко только одни и не слушать других, что делает музыкант, следящий за игрой одного инструмента в целом оркестре» (Ушинский 1950а, 118).

При этом, с одной стороны, внимание обеспечивает нам возможность обнаружить значимые для субъекта стимулы: «Смотря на одну и ту же картину природы, сельский хозяин увидит в ней те черты, которых вовсе не увидит живописец, и наоборот; а опытный корректор заметит в корректурном листе десятки опечаток, которых совершенно не будет видеть человек, не привыкший держать корректуру» (Ушинский 1950а, 119), а с другой стороны, излишняя сосредоточенность на внутренних переживаниях может препятствовать обнаружению стимула: «При сосредоточенности нашего внимания на какой-нибудь мысли, мы смотрим во все глаза на предмет и не видим его, хотя, без сомнения, по законам оптики он точно так же, как и всегда, рисуется на нашей сетине» (Ушинский 1950а, 118).

Ушинский отмечает усиление внимания к новому и его угасание при повторении: «Повторение одного и того же впечатления ослабляет силу внимания, и ничего нет труднее, как быть внимательным к длинному ряду совершенно сходных впечатлений (вот почему мы засыпаем под однообразные звуки падающих капель)» (Ушинский 1950а, 303). Причину такого угасания

он видит в минимальных различиях нервных процессов, вызываемых повторяющимися стимулами: «Нашему сознанию для того, чтобы оно могло усваивать, непременно надобно различать и сравнивать и, чем сильнее возбуждается в сознании каким-нибудь предметом эта сравнивающая и различающая деятельность, тем сильнее будет степень нашего внимания» (Ушинский 1950а, 304).

Аналогично наблюдается уменьшение внимания по мере усвоения навыка: «Почти всякое новое для нас занятие требует сначала от нас активного внимания, более или менее заметных усилий воли с нашей стороны; но чем более мы занимаемся этим предметом, чем удачнее идут наши занятия, чем обширнее совершается работа сознания в следах, оставляемых в нас этими занятиями, — тем более предмет возбуждает в нас интереса, тем пассивнее в отношении к нему становится наше внимание» (Ушинский 1950а, 316). Этот процесс сопровождается закономерными перестройками по электроэнцефалограмме. Фокус максимальной активации, располагающийся в префронтальных участках неокортекса при решении сложных и непривычных умственных задач, смещается в задние области коры по мере того, как эти задачи становятся привычными и не требующими значительных усилий (Павлова 2017).

Проявление привлечения внимания мы также видим в феномене удивления. «Удивление может возникнуть только при двух условиях: при новости впечатления и при существующих уже следах однородных впечатлений. Мы не удивляемся самым удивительным вещам в мире только потому, что привыкли их видеть все в том же виде; так, мы вовсе не удивляемся непостижимейшему из явлений — явлению тяготения. Наоборот, столы и стулья, сами собой летающие по воздуху, не возбуждая удивления в младенце, в душе которого набралось еще очень мало следов от спокойного положения этих предметов, без сомнения, возбудили бы во взрослом напряженнейшее внимание» (Ушинский 1950а, 304). Анализ физиологических основ удивления и реакции на неожиданные стимулы, а также специфика этого явления у детей является актуальной современной темой исследования, в которой еще много непроясненных вопросов (Csink et al. 2021; Kouider et al. 2015).

Внимание является одним из факторов, обеспечивающих запоминание; чем сильнее внимание, «тем ощущение отчетливее, яснее, а потому и след его тем прочнее ложится в нашу память. Мы тем тверже запоминаем какой-нибудь предмет или какое-нибудь обстоятельство, чем

более они сосредоточили на себе наше внимание. Незамечательные, обыденные предметы тысячами проходят ежеминутно перед нашими глазами, не сосредоточивая на себе нашего внимания и потому не оставляя по себе никакого следа в нашей памяти; предмет же, сильно сосредоточивший на себе наше внимание, запоминается надолго» (Ушинский 1950а, 323).

Ушинский подробно описывает закономерности, связанные с памятью, справедливо считая ее важной для образовательного процесса; он поддерживает разделение памяти на произвольные и произвольные воспоминания, называя их механическими и душевными.

Ушинский рассматривает вклад разных факторов, от которых зависит эффективность памяти. Среди прочего он выделяет важную роль совместного использования стимулов нескольких сенсорных модальностей для лучшего запоминания. Поэтому педагог, «желающий что-нибудь прочно запечатлеть в детской памяти, должен позаботиться о том, чтобы как можно больше органов чувств — глаз, ухо, голос, чувство мускульных движений и даже, если возможно, обоняние и вкус, приняли участие в акте запоминания. Паук потому бежит так изумительно верно по тончайшим нитям, что держится не одним когтем, а множеством их: оборвется один, удержится другой. Если вы хотите, чтобы дитя усвоило что-нибудь прочно, то заставьте участвовать в этом усвоении возможно большее число нервов» (Ушинский 1950а, 251, 252). В современных исследованиях аналогичные рекомендации, основанные на сочетании вербальных и невербальных стимулов, в частности, при их использовании в презентационных материалах, прослеживаются в теории двойного кодирования А. Пайвио (Clark, Paivio 1991).

Также Ушинским отмечается связь памяти с другими психическими процессами: вниманием, речью и восприятием. Особенно подчеркивается им важность речи для развития памяти: «Память младенца очень свежа и восприимчива; но в ней недостает именно того, что связывает отрывочные впечатления в один стройный ряд и дает нам потом возможность вызывать из души нашей впечатление за впечатлением — недостает дара слова. Дар слова совершенно необходим для того, чтобы мы могли сохранить воспоминание истории нашей душевной деятельности, и имеет громадное значение для способности памяти» (Ушинский 1950а, 212). Ушинским отмечается тесная связь памяти с представлением и образом: «Одно и то же воспоминание, вызываемое нами из памяти, достигнув возможной для него степени ясности, начинает тускнеть

и меркнуть, так что мы никакими усилиями воли не можем восстановить его в прежней ясности. Но, занявшись некоторое время другими представлениями, мы получаем возможность опять ясно представить себе прежнее» (Ушинский 1950а, 238).

В целом психика рассматривается Ушинским как организованное ядро памяти, дополненное механизмом ассоциаций. Этим Ушинский объясняет и один из самых известных парадоксов сознания: «Но как отыскивает душа в нервной системе те следы, которые ей нужны? Если она их ищет, то не должна ли она сама их помнить, независимо от нервной системы?» (Ушинский 1950а, 258) — и далее: «Нельзя сказать, чтобы наше сознание совершенно не знало, чего оно ищет: уже для того, чтоб искать, оно должно знать, чего ищет. Но, с другой стороны, если бы сознание наше знало, чего ищет, то ему не нужно было бы искать» (Ушинский 1950а, 339). Способность нашей психики оценить правильность найденных воспоминаний — это парадокс, который восхищает и современных исследователей (Аллахвердов 2003).

Интересны комментарии Ушинского о забывании и точности воспоминаний. Он отмечает, что забывание еще не означает утрату следа памяти, а воспоминание еще не означает точного воспроизведения былого. При этом утраченные детали могут быть дополнены воображением: «Многое и очень многое ускользает из нашей памяти, в этом мы можем убедиться, рассказывая даже вчерашнее происшествие и проверив наш рассказ рассказами других очевидцев. При этом мы увидим, как обманывает нас наше воображение, вставляя свои кольца в разорванные цепи памяти, так что, желая связать какую-нибудь цепь следов, разорвавшуюся в нашей памяти, мы связываем ее кольцом, которое только что вновь сковано нашим рассудком, или нашим воображением, или выхвачено нами из совсем другого ряда звеньев» (Ушинский 1950а, 367, 368). И далее, рассказывая «то, что мы наблюдали, мы сознаем только то, что вспоминаем, и потому, естественно, рассказ наш кажется нам совершенно верным и полным; но стоит нам взглянуть опять на тот же предмет, или услышать от других рассказ того же события, чтобы мы сознали, как многое мы забываем и как неточно наблюдаем» (Ушинский 1950а, 369). Это хорошо согласуется с относительной легкостью формирования ложных воспоминаний и критичным отношением к надежности свидетельских показаний в со-

временных исследованиях (Pardilla-Delgado, Payne 2017; Volz et al. 2019).

Ушинский видит в этом явлении и полезное практическое применение. Отмечая, что связь памяти с воображением особенно выражена у детей, по степени точности воспроизведения можно судить об индивидуальных различиях в нервной системе ребенка: «Бывает даже, что дети смешивают с действительностью то, что видели во сне, припутывая еще к этому какие-нибудь ассоциации своего собственного воображения, которые, по особой впечатлительности детской нервной системы, отразились в ней с такой силой, глубиной и яркостью, что дитя, встречаясь потом в своей памяти со следами этих ассоциаций воображения, принимает их за следы действительных событий и впечатлений внешнего мира» (Ушинский 1950а, 368). И далее: «Весьма полезно, если ученики в конце уроков расскажут весь ход уроков или в конце недели расскажут занятия своей недели. При этих рассказах сейчас выскажутся дети с особенно сильным воображением и у которых ход внутренних концепций так силен и оставляет такие яркие следы в памяти, что верный рассказ событий становится для них чрезвычайно затруднительным» (Ушинский 1950а, 369).

Говоря о связях психических процессов, Ушинский видит тесную связь памяти и мышления. Этим Ушинский объясняет и быстрое забывание однотипных событий, которые «сливаются в нас в один след ... если только сознание наше не отметило резко их различия» (Ушинский 1950а, 370).

Ушинский подчеркивает роль речевого развития в формировании психики: «Вместе со словом, закрепляющим образы и понятия, быстро начинает развиваться память, которая со временем свяжет всю жизнь человека в одно целое; тогда от бессловесного периода останутся одни результаты в форме бессознательных привычек и наклонностей» (Ушинский 1950а, 215). Среди прочего он затрагивает некоторые специфические аспекты развития речи, такие как заикание и использование слов-паразитов. Им отмечается важность заучивания речевого материала: «если мы заучили, что называется, назубок какие-нибудь стихи или молитвы, то вместе с тем получаем возможность произносить их и в то

же время думать о другом. Если при таком механическом произнесении стихов случится нам вдуматься в содержание того, что мы произносим, то вдруг язык наш замедляется, путается, останавливается, и часто мы забываем то, что, казалось, невозможно было позабыть. Оттого, что сознание вмешалось в дело голосовых органов и помешало им работать» (Ушинский 1950а, 242), т. е. им отмечается освобождение работы сознания для других дел в результате автоматизации как универсальное явление, проявляемое и в речевой сфере.

Заключение

Анализ круга физиологических вопросов, затрагиваемых Ушинским, подчеркивает основательность его подхода. Физиологическое знание имеет для Ушинского самостоятельную ценность как фундаментальный пласт знаний о человеке, а также как основа практических методов влияния на организм человека и объяснение закономерностей этих методов.

Рассмотрение физиологии как основы для естественного построения психологических теорий создает методологическую платформу для продуктивного подхода в вопросах, требующих участия обеих наук. Таким образом, можно отметить большой вклад Ушинского в психофизиологию. Его педагогическая психофизиология как практическая область знаний логично основывается на фундаментальных психофизиологических закономерностях.

Размышления и наблюдения Ушинского представляют значительный интерес для современного читателя, не только с исторической точки зрения, но и в силу множества пересечений с актуальными современными направлениями научных исследований.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Литература

- Аллахвердов, В. М. (2003) *Методологическое путешествие по океану бессознательного к таинственному острову сознания*. СПб.: Речь, 368 с.
- Асеева, Е. Н. (2012) Психологические основы педагогики духовно-нравственного воспитания человека в наследии К. Д. Ушинского. *Известия Южного федерального университета. Педагогические науки*, № 2, с. 55–60.

- Бондаренко, С. А. (2011) Философско-антропологические воззрения К. Д. Ушинского: проблемы свободы, воли, счастья, жизненной цели. *Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Философские науки*, № 3, с. 150–156.
- Герман, Л. (1864) *Краткий учебник физиологии Л. Германна*. СПб.: Изд-во Н. Тиблена и Ко, 404 с.
- Днепров, Э. Д. (2007) *Ушинский и современность*. М.: Издательский дом ГУ ВШЭ, 232 с.
- Мазиллов, В. А. (2014) Разработка практической психологии: непонятый и не оцененный проект К. Д. Ушинского. *Ярославский педагогический вестник. Серия «Психолого-педагогические науки»*, т. 2, № 3, с. 191–199.
- Найссер, У. (1981) *Познание и реальность. Смысл и принципы когнитивной психологии*. М.: Прогресс, 232 с.
- Павлова, Л. П. (2017) *Доминанты деятельного мозга человека. Системный психофизиологический подход к анализу ЭЭГ*. СПб.: Информ-Навигатор, 432 с.
- Прохоров, А. В. (2013) Научно-педагогическое представление о человеке и его саморазвитии в контексте идей К. Д. Ушинского. *Педагогическое образование и наука*, № 3, с. 59–63.
- Ухтомский, А. А. (2002) *Доминанта*. СПб.: Питер, 448 с.
- Ушинский, К. Д. (1950а) *Собрание сочинений: в 11 т. Т. 8: Человек как предмет воспитания: опыт педагогической антропологии. Ч. 1*. М.; Л.: Издательство Академии педагогических наук РСФСР, 776 с.
- Ушинский, К. Д. (1950б) *Собрание сочинений: в 11 т. Т. 9: Человек как предмет воспитания: опыт педагогической антропологии. Ч. 2*. М.; Л.: Издательство Академии педагогических наук РСФСР, 628 с.
- Хабарова, О. Е. (2014) Неизвестная современной России фундаментальная наука о душе в трудах ее великих ученых XIX–XX веков. К юбилею А. А. Ухтомского (1875–2015). *Образовательная панорама*, № 2 (2), с. 76–84.
- Шатерников, М. Н. (1926) Сеченов, Иван Михайлович. В кн.: *Энциклопедический словарь Русского библиографического института «Гранат»*. Т. 41: Ч. VI: Северно-Американские Соединенные Штаты–Тампа. 7-е изд. М.: Гранат, с. 609–612.
- Bruya, B., Tang, Y. Y. (2018) Is attention really effort? Revisiting Daniel Kahneman's influential 1973 book Attention and Effort. *Frontiers in Psychology*, vol. 9, article 1133. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2018.01133>
- Clark, J. M., Paivio, A. (1991) Dual coding theory and education. *Educational Psychology Review*, vol. 3, no. 3, pp. 149–210. <https://doi.org/10.1007/bf01320076>
- Csank, V., Mareschal, D., Gliga, T. (2021) Does surprise enhance infant memory? Assessing the impact of the encoding context on subsequent object recognition. *Infancy*, vol. 26, no. 2, pp. 303–318. <https://doi.org/10.1111/infa.12383>
- Finkelstein, G. (2006) Emil du Bois-Reymond vs Ludimar Hermann. *Comptes Rendus Biologies*, vol. 329, no. 5–6, pp. 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2006.03.005>
- Guseva, L. G. (2018) Konstantin Dmitrievich Ushinsky: The founder of scientific pedagogy in the 19th century Russia. *History of Education & Children's Literature*, vol. 13, no. 1, pp. 479–491.
- Hans, N. (1962) K. D. Ushinsky: Russian pioneer of comparative education. *Comparative Education Review*, vol. 5, no. 3, pp. 162–166. <https://doi.org/10.1086/444888>
- Howells, F. M., Stein, D. J., Russell, V. A. (2010) Perceived mental effort correlates with changes in tonic arousal during attentional tasks. *Behavioral and Brain Functions*, vol. 6, article 39. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-6-39>
- Khachouf, O. T., Chen, G., Duzzi, D. et al. (2017) Voluntary modulation of mental effort investment: An fMRI study. *Scientific Reports*, vol. 7, article 17191. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17519-3>
- Kouider, S., Long, B., Le Stanc, L. et al. (2015) Neural dynamics of prediction and surprise in infants. *Nature Communications*, vol. 6, article 8537. <https://doi.org/10.1038/ncomms9537>
- Lally, P., van Jaarsveld, C. H., Potts, H. W., Wardle, J. (2010) How are habits formed: Modelling habit formation in the real world. *European Journal of Social Psychology*, vol. 40, no. 6, pp. 998–1009. <https://doi.org/10.1002/ejsp.674>
- Pardilla-Delgado, E., Payne, J. D. (2017) The Deese-Roediger-McDermott (DRM) task: A simple cognitive paradigm to investigate false memories in the laboratory. *Journal of Visualized Experiments*, no. 119, article e54783. <https://doi.org/10.3791/54793>
- Radosavljević, P. R. (1911) Pedagogy as a Science. *The Pedagogical Seminary*, vol. 18, no. 4, pp. 551–558. <https://doi.org/10.1080/08919402.1911.10532801>
- Radulescu, E., Nagai, Y., Critchley, H. (2015) Mental effort: Brain and autonomic correlates in health and disease. In: G. H. E. Gendolla, M. Tops, S. L. Koole (eds.). *Handbook of biobehavioral approaches to self-regulation*. New York: Springer Publ., pp. 237–253. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1236-0_16
- Volz, K., Stark, R., Vaitl, D., Ambach, W. (2019) Event-related potentials differ between true and false memories in the misinformation paradigm. *International Journal of Psychophysiology*, vol. 135, pp. 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2018.12.002>

References

- Allakhverdov, V. M. (2003) *Metodologicheskoe puteshestvie po okeanu bessoznatel'nogo k tainstvennomu ostrovu soznaniya [Methodological journey through the ocean of the unconscious to the mysterious island of consciousness]*. Saint Petersburg: Rech' Publ., 368 p. (In Russian)

- Aseeva, E. N. (2012) Psikhologicheskie osnovy pedagogiki dukhovno-nravstvennogo vospitaniya cheloveka v nasledii K. D. Ushinskogo. [Psychological foundations of pedagogy of spiritual and moral education of a person in the heritage of K.D. Ushinsky]. *Izvestiya Yuzhnogo federal'nogo universiteta. Pedagogicheskie nauki — Proceedings of the South Federal University. Pedagogical Sciences*, no. 2, pp. 55–60. (In Russian)
- Bondarenko, S. A. (2011) Filosofsko-antropologicheskie vozzreniya K. D. Ushinskogo: problemy svobody, voli, schast'ya, zhiznennoj tseli [Philosophical and anthropological views of K. D. Ushinsky: problems of freedom, will, happiness, life purpose]. *Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo oblastnogo universiteta. Seriya: Filosofskie nauki — Bulletin of the Moscow Region State University. Series "Philosophy"*, no. 3, pp. 150–156. (In Russian)
- Bruya, B., Tang, Y. Y. (2018) Is attention really effort? Revisiting Daniel Kahneman's influential 1973 book Attention and Effort. *Frontiers in Psychology*, vol. 9, article 1133. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2018.01133> (In English)
- Clark, J. M., Paivio, A. (1991) Dual coding theory and education. *Educational Psychology Review*, vol. 3, no. 3, pp. 149–210. <https://doi.org/10.1007/bf01320076> (In English)
- Csink, V., Mareschal, D., Gliga, T. (2021) Does surprise enhance infant memory? Assessing the impact of the encoding context on subsequent object recognition. *Infancy*, vol. 26, no. 2, pp. 303–318. <https://doi.org/10.1111/inf.12383> (In English)
- Dneprov, E. D. (2007) *Ushinskij i sovremennost' [Ushinsky and the present]*. Moscow: Higher School of Economics Publ., 232 p. (In Russian)
- Finkelstein, G. (2006) Emil du Bois-Reymond vs Ludimar Hermann. *Comptes Rendus Biologies*, vol. 329, no. 5–6, pp. 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2006.03.005> (In English)
- Guseva, L. G. (2018) Konstantin Dmitrievich Ushinsky: The founder of scientific pedagogy in the 19th century Russia. *History of Education & Children's Literature*, vol. 13, no. 1, pp. 479–491. (In English)
- Hans, N. (1962) K. D. Ushinsky: Russian pioneer of comparative education. *Comparative Education Review*, vol. 5, no. 3, pp. 162–166. <https://doi.org/10.1086/444888> (In English)
- Hermann, L. (1864) *Kratkij uchebnik fiziologii L. Germanna [Short handbook of physiology]*. Saint Petersburg: N. Tiblen and Co. Publ., 404 p. (In Russian)
- Howells, F. M., Stein, D. J., Russell, V. A. (2010) Perceived mental effort correlates with changes in tonic arousal during attentional tasks. *Behavioral and Brain Functions*, vol. 6, article 39. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-6-39> (In English)
- Khabarova, O. E. (2014) Neizvestnaya sovremennoj Rossii fundamental'naya nauka o dushe v trudakh ee velikikh uchenykh XIX–XX vekov. K yubileyu A. A. Ukhtomskogo (1875–2015) [To A. A. Ukhtomsky's anniversary (1875–2015): Unknown science of the soul in the works of great Russian scientists of the nineteenth-twentieth centuries]. *Obrazovatel'naya panorama*, no. 2 (2), pp. 76–84. (In Russian)
- Khachouf, O. T., Chen, G., Duzzi, D. et al. (2017) Voluntary modulation of mental effort investment: An fMRI study. *Scientific Reports*, vol. 7, article 17191. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17519-3> (In English)
- Kouider, S., Long, B., Le Stanc, L. et al. (2015) Neural dynamics of prediction and surprise in infants. *Nature Communications*, vol. 6, article 8537. <https://doi.org/10.1038/ncomms9537> (In English)
- Lally, P., van Jaarsveld, C. H., Potts, H. W., Wardle, J. (2010) How are habits formed: Modelling habit formation in the real world. *European Journal of Social Psychology*, vol. 40, no. 6, pp. 998–1009. <https://doi.org/10.1002/ejsp.674> (In English)
- Mazilov, V. A. (2014) Razrabotka prakticheskoj psikhologii: neponyatij i neotsenennyj proekt K. D. Ushinskogo [Development of practical psychology: K. D. Ushinsky's misunderstood and underestimated project]. *Yaroslavskij pedagogicheskij vestnik. Seriya "Psikhologo-pedagogicheskie nauki" — Yaroslavl Pedagogical Bulletin. Series "Psychological-Pedagogical Sciences"*, vol. 2, no. 3, pp. 191–199. (In Russian)
- Neisser, U. (1981) *Poznanie i real'nost'. Smysl i printsipy kognitivnoj psikhologii. [Cognition and reality: The meaning and principles of cognitive psychology]*. Moscow: Progress Publ., 232 p. (In Russian)
- Pardilla-Delgado, E., Payne, J. D. (2017) The Deese-Roediger-McDermott (DRM) task: A simple cognitive paradigm to investigate false memories in the laboratory. *Journal of Visualized Experiments*, no. 119, article e54783. <https://doi.org/10.3791/54793> (In English)
- Pavlova, L. P. (2017) *Dominanty deyatel'nogo mozga cheloveka. Sistemnyj psichofiziologicheskij podkhod k analizu EEG [Dominants of the active human brain. Systemic psychophysiological approach to EEG analysis]*. Saint Petersburg: Inform-Navigator Publ., 432 p. (In Russian)
- Prokhorov, A. V. (2013) Nauchno-pedagogicheskoe predstavlenie o cheloveke i ego samorazvittii v kontekste idej K. D. Ushinskogo [Educational research concerning the man and his selfdevelopment in the context of ideas of K. D. Ushinsky]. *Pedagogicheskoe obrazovanie i nauka*, no. 3, pp. 59–63. (In Russian)
- Radosavljevich, P. R. (1911) Pedagogy as a Science. *The Pedagogical Seminary*, vol. 18, no. 4, pp. 551–558. <https://doi.org/10.1080/08919402.1911.10532801> (In English)
- Radulescu, E., Nagai, Y., Critchley, H. (2015) Mental effort: Brain and autonomic correlates in health and disease. In: G. H. E. Gendolla, M. Tops, S. L. Koole (eds.). *Handbook of biobehavioral approaches to self-regulation*. New York: Springer Publ., pp. 237–253. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1236-0_16 (In English)
- Shaternikov, M. N. (1926) Sechenov, Ivan Mikhaylovich. [Sechenov, Ivan Mikhailovich]. In: *Entsiklopedicheskij slovar' Russkogo bibliograficheskogo instituta "Granat". T. 41: Ch. VI: Severno-Amerikanskije Soedinennye*

- Shtaty–Tampa* [Encyclopaedic dictionary of the Russian Bibliographic Institute “Granat”. Vol. 41. Pt. 6: North American United States–Tampa]. 7th ed. Moscow: Russian Bibliographic Institute Granat Publ., pp. 609–612 (In Russian)
- Ukhtomskij, A. A. (2002) *Dominanta* [Dominant]. Saint Petersburg: Piter Publ., 448 p. (In Russian)
- Ushinskij, K. D. (1950a) *Sobranie sochinenij: v 11 t. T. 8: Chelovek kak predmet vospitaniya: opyt pedagogicheskoy antropologii. Ch. 1* [Composition of writings in 11 volumes. Vol 8: Man as a subject of education: The experience of pedagogical anthropology. Pt. 1]. Moscow; Leningrad: Academy of Pedagogical Sciences of RSFSR Publ., 776 p. (In Russian)
- Ushinskij, K. D. (1950b) *Sobranie sochinenij: v 11 t. T. 8: Chelovek kak predmet vospitaniya: opyt pedagogicheskoy antropologii. Ch. 2* [Composition of writings in 11 volumes. Vol 8: Man as a subject of education: the experience of pedagogical anthropology. Pt. 2]. Moscow; Leningrad: Academy of Pedagogical Sciences of RSFSR Publ., 628 p. (In Russian)
- Volz, K., Stark, R., Vaitl, D., Ambach, W. (2019) Event-related potentials differ between true and false memories in the misinformation paradigm. *International Journal of Psychophysiology*, vol. 135, pp. 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2018.12.002> (In English)



Check for updates

Обзоры

УДК 612.328.8

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-390-398>

Нестероидные противовоспалительные препараты: повреждающее действие на слизистую оболочку желудка и способы защиты от их ulcerогенного влияния

О. Ю. Морозова^{✉1}

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

Сведения об авторах

Ольга Юрьевна Морозова,
SPIN-код: 8232-2282,
Scopus AuthorID: 55398596500,
ResearcherID: F-6041-2012,
e-mail: olga_morozova_68@mail.ru

Для цитирования:

Морозова, О. Ю.
(2021) Нестероидные
противовоспалительные
препараты: повреждающее
действие на слизистую оболочку
желудка и способы защиты
от их ulcerогенного влияния.
Интегративная физиология,
т. 2, №4, с. 390–398.
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-390-398>

Получена 29 октября 2021;
прошла рецензирование
29 ноября 2021; принята
30 ноября 2021.

Финансирование: Исследование
не имело финансовой поддержки.

Права: © О. Ю. Морозова (2021).
Опубликовано Российским
государственным педагогическим
университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях
лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Нестероидные противовоспалительные препараты (НСПВП) применяют при различных заболеваниях для снятия боли и уменьшения воспалительного процесса. Однако применение НСПВП может приводить к нежелательным побочным эффектам на почки, сердце, желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) и центральную нервную систему, что существенно осложняет использование этих препаратов в клинике. В обзоре проанализированы данные литературы о противовоспалительном действии НСПВП и их нежелательных побочных эффектах. Особое внимание уделяется неблагоприятному действию НСПВП на ЖКТ. Прием НСПВП может приводить к появлению диспептических симптомов, гастропатии, повреждениям слизистых оболочек ЖКТ, в том числе эрозиям и язвам, которые могут сопровождаться желудочно-кишечными кровотечениями и перфорациями. Механизмы повреждения желудка при действии НСПВП включают уменьшение кровотока в слизистой оболочке, увеличение проницаемости микрососудов, снижение секреции слизи и бикарбонатов, изменение перекисного окисления липидов с разрушением структуры клеточных мембран. Ярко выраженным ulcerогенным действием обладают неселективные НСПВП, среди которых индометацин и аспирин. Повреждающее действие ЦОГ-2 селективных НСПВП на слизистые оболочки ЖКТ выражено в меньшей степени, чем неселективных, однако они могут приводить к серьезным кардиологическим проблемам. Для снижения ulcerогенного эффекта НСПВП применяют средства, понижающие секрецию соляной кислоты в желудке, препараты, ассоциированные с мембранными фосфолипидами и содержащие в своей структуре оксид азота и сероводород. Прием НСПВП увеличивает уровень глюкокортикоидных гормонов в крови, которые компенсируют отсутствие простагландинов и оказывают гастропротективный эффект. Физическая нагрузка стимулирует естественные защитные факторы организма и защищает слизистую оболочку желудка от воздействия НСПВП. В связи с этим обстоятельством выяснение механизмов ulcerогенного действия НСПВП на ЖКТ и гастропротективных механизмов, противостоящих этому повреждающему действию, разработка научно обоснованных подходов для уменьшения негативного влияния препаратов данной группы является важной задачей и требует дальнейших физиологических исследований.

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные препараты, желудочно-кишечный тракт, повреждения слизистой оболочки, простагландины, глюкокортикоидные гормоны, гастропротекция

Non-steroidal anti-inflammatory drugs: Deleterious effect on the gastric mucosa and protection against ulcerogenic effects

O. Yu. Morozova✉¹

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

Authors

Olga Yu. Morozova,
SPIN: 8232-2282,
Scopus AuthorID: 55398596500,
ResearcherID: F-6041-2012,
e-mail: olga_morozova_68@mail.ru

For citation:

Morozova, O. Yu.
(2021) Non-steroidal anti-inflammatory drugs: Deleterious effect on the gastric mucosa and protection against ulcerogenic effects. *Integrative Physiology*, vol. 2, no. 4, pp. 390–398. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-390-398>

Received 29 October 2021;
reviewed 29 November 2021;
accepted 30 November 2021.

Funding: The study received no financial support.

Copyright: © O. Yu. Morozova (2021). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Abstract. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are used for various diseases to relieve pain and reduce inflammation. However, the use of NSAIDs can lead to adverse side effects on the kidneys, heart, gastrointestinal tract (GIT) and the central nervous system, which complicates the use of NSAIDs in medicine. The review analyses literature on the anti-inflammatory action of NSAIDs and their adverse side effects. A special focus is given to the side effects of NSAIDs on the gastrointestinal tract. Taking NSAIDs can lead to pathological changes in the GIT: dyspeptic symptoms, gastropathy, gastrointestinal mucosal damage, including erosion and ulcers, which can be accompanied by serious complications such as gastrointestinal bleeding and perforations. The main mechanisms of the damaging effect of NSAIDs on the gastric mucosa include a slowdown in the blood flow rate in the stomach microvessels, which leads to an increase in their permeability, as well as an increase in gastric motility, a decrease in the secretion of mucus and bicarbonates in the stomach, a change in lipid peroxidation with the formation of free radicals that destroy the structure of cell membranes. Nonselective NSAIDs, including the well-known and popular indomethacin and aspirin, have a pronounced deleterious effect on the GIT. The selective NSAIDs are safer regarding the gastrointestinal side effects compared with nonselective ones, however, they can lead to serious cardiac problems. To mitigate the ulcerogenic effect of NSAIDs, antacids and proton pump inhibitors are used. They reduce the secretion of hydrochloric acid in the stomach. Another solution are drugs associated with membrane phospholipids. These drugs contain nitric oxide and hydrogen sulfide. Taking NSAIDs increases the level of glucocorticoid hormones in the blood, which compensate for the absence of prostaglandins and have a gastroprotective effect. Physical exercise stimulates the body's natural defenses and protects the gastric mucosa from the negative effects of NSAIDs. In this regard, it is crucial for physiology to conduct more studies focusing on the mechanisms of NSAID-induced deleterious influence on the GIT, gastroprotective mechanisms and the development of evidence-based approaches to reduce the adverse effects of NSAIDs.

Keywords: non-steroidal anti-inflammatory drugs, gastrointestinal tract, mucosal damage, prostaglandins, glucocorticoid hormones, gastroprotection

Введение

Нестероидные противовоспалительные препараты (НСПВП) являются одними из наиболее часто используемых лекарств в мире для лечения различных заболеваний, связанных с болью и воспалением, в том числе таких как артроз, ревматоидный артрит и подагра (Jung et al. 2018). НСПВП применяют в предоперационном и послеоперационном периодах, при травмах для существенного повышения эффективности обезболивания и снижения потребности в опиоидных анальгетиках (Mason et al. 2004), а также в онкологии (Brusselaers, Lagergren 2018; Cooper et al. 2017).

Механизм действия НСПВП связан с их противовоспалительными свойствами. Они блокируют фермент циклооксигеназу (ЦОГ), ответственный за синтез простагландинов (ПГ) из арахидоновой кислоты. Существуют две изоформы ЦОГ-1 и ЦОГ-2. ЦОГ-1, так называемая «housekeeping»-изоформа, постоянно синтезируется в организме и обеспечивает продукцию простагландинов для поддержания целостности тканей слизистой оболочки желудка и нормальной функции почек (Vane et al. 1998). Изоформа ЦОГ-2 является ответственной за синтез ПГ при воспалении. Соответственно, противовоспалительное действие НСПВП обусловлено ингибированием ЦОГ-2, а их повреждающий эффект

на слизистую оболочку желудка — ингибированием ЦОГ-1. Неселективные НСПВП блокируют обе изоформы ЦОГ, в результате чего проявляется их противовоспалительный эффект, но вместе с тем происходит угнетение синтеза ПГ, обеспечивающих защиту тканей организма, что приводит к многочисленным нежелательным побочным эффектам. Наиболее распространенными побочными эффектами НСПВП является их влияние на желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) (Yokota et al. 2007), сердце (Sener, Oksul 2020) и почки (Pai et al. 2019). В данном обзоре основное внимание будет уделено побочному действию НСПВП на ЖКТ.

Основная цель обзора состояла в анализе данной литературы о нежелательных побочных эффектах НСПВП, а также способах уменьшения их ulcerогенного влияния на слизистую оболочку желудка.

Повреждающее действие НСПВП на слизистую оболочку желудка

Применение НСПВП может приводить к образованию эрозий и язв желудка. Механизм повреждения слизистой оболочки желудка связан со снижением выработки ПГ в результате ингибирования ЦОГ. ПГ являются важными гастропротективными факторами, они регулируют кровоток слизистой оболочки, пролиферацию эпителиальных клеток, восстановление эпителия, функцию иммуноцитов слизистой оболочки, секрецию слизи и бикарбонатов, а также базальную секрецию кислоты (Wallace et al. 1990). НСПВП блокируют синтез ПГ, защитных факторов, обладающих гастропротективным действием, а их недостаточная продукция приводит к нарушению механизмов регуляции в слизистой оболочке желудка и ее повреждению.

Исследование патогенетических механизмов повреждения слизистой оболочки желудка показало, что НСПВП оказывают влияние на микроциркуляцию в слизистой и подслизистых оболочках желудка. Нарушение микроциркуляции ведет к ухудшению снабжения тканей желудка кислородом и питательными веществами, что может способствовать их повреждению. Кроме того, замедление скорости кровотока в микрососудах желудка является одной из причин увеличения их проницаемости (Filaretova et al. 2002b; Wallace 1997; Wallace et al. 1990), что приводит к проникновению в слизистую оболочку желудка различных медиаторов воспаления, в том числе хемотаксических факторов для эозинофилов и нейтрофилов, которые запускают воспалительную реакцию.

Другим важнейшим механизмом повреждения слизистой оболочки желудка, индуцированного индометацином, является увеличение моторики желудка. Введение индометацина может вызывать гипогликемию, что приводит к стимуляции глюкозочувствительных рецепторов гипоталамуса и усилению моторики желудка (Takeuchi et al. 1990).

Таким образом, замедление скорости кровотока в микрососудах желудка, приводящее к ухудшению снабжения тканей желудка кислородом и глюкозой, увеличение проницаемости сосудов слизистых оболочек ЖКТ, которое приводит к воспалительному процессу и усилению моторики желудка при действии НСПВП, таких как индометацин, в дозе, которая подавляет выработку простагландинов (Bjarnason et al. 2018; Keller et al. 2018; Takeuchi 2012; Wallace et al. 1990), являются важными факторами ulcerогенного действия НСПВП на слизистую оболочку желудка (СОЖ). Кроме того, НСПВП уменьшают секрецию слизи и бикарбонатов в желудке (в результате этого поверхностный эпителий СОЖ оказывается незащищенным от действия агрессивных факторов), уменьшают пролиферацию клеток, замедляют восстановление эпителиальных клеток (Bjarnason et al. 2018).

Еще один механизм ulcerогенного действия НСПВП заключается в их неблагоприятном воздействии на мембраны клеток. Этот механизм, в отличие от всех описанных выше, не связан с их влиянием на ЦОГ и блокадой синтеза ПГ и заключается в изменении структуры мембран, ослаблением гидрофобных барьерных свойств СОЖ и увеличением проницаемости мембранных фосфолипидов (Lichtenberger et al. 1995; 2006).

НСПВП могут угнетать не только ЦОГ, но и фермент липооксигеназу, в связи с этим происходит снижение синтеза лейкотриенов и уменьшение выработки слизи клетками желудка, что приводит к увеличению повреждения СОЖ (Singh et al. 2005). К механизмам ulcerогенного действия НСПВП относится изменение перекисного окисления липидов. В результате этого процесса образуются свободные радикалы, которые разрушают структуру клеточной мембраны и приводят к повреждению СОЖ (Scheiman 2013). Показано, что в патогенезе повреждения слизистой оболочки кишечника, вызванного индометацином, участвуют тучные клетки. При воспалении происходит инфильтрация слизистой оболочки тучными клетками, эозинофилами и нейтрофилами вследствие повышения ее проницаемости (Okuyama et al. 2009).

Способы уменьшения повреждающего влияния НСПВП на слизистую оболочку желудка

Разработка эффективных и безопасных средств для лечения воспалительных состояний и поиск методов уменьшения побочных эффектов НСПВП до сих пор остается важной задачей при их использовании в клинике.

Повышенная секреция соляной кислоты в желудке может способствовать образованию эрозий и язв (Brzozowski 2010), поэтому применение лекарственных препаратов, понижающих секрецию кислоты, может уменьшать риск повреждения СОЖ при приеме НСПВП.

Для уменьшения секреции соляной кислоты в желудке применяют антациды, которые защищают желудок от агрессивного действия соляной кислоты. Эти препараты способствуют защите желудка от повреждений за счет повышения уровня простагландина E₂ в сыворотке крови, активации эпидермального фактора роста и противодействия ингибированию ЦОГ при действии НСПВП (Fang et al. 2019), а также уменьшают болевой синдром и активируют процессы регенерации. К этой группе относятся фосфалюгель, гидроксид магния, гидроксид алюминия, фосфат алюминия. Комбинированные антациды (алмагель, гастал, маалокс, гастрацид и др.) не только нейтрализуют кислоту желудка, но и выполняют адсорбирующие, цитопротекторные и обволакивающие функции, стимулируют репаративные процессы, нормализуют моторику кишечника.

Следующим методом для понижения секреции соляной кислоты в желудке является использование ингибиторов протонной помпы (ИПП). Эти препараты уменьшают риск повреждения желудочно-кишечного тракта вследствие блокирования протонного насоса — H⁺/K⁺-АТФазы в обкладочных клетках слизистой оболочки желудка. К этим препаратам относятся омепразол, эзомепразол, лансопразол, пантопразол, рабепразол. Клинические и лабораторные исследования подтверждают эффективность этих препаратов при совместном использовании, например, низких доз аспирина для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний совместно с ИПП для снижения повреждающего действия аспирина на желудок (García-Rayado et al. 2017).

ИПП считаются относительно безопасными лекарствами, однако они имеют свои минусы, и их использование не решает проблемы негативного воздействия НСПВП на кишечник. Для нормальной микрофлоры кишечника необхо-

дима пища, подкисленная соляной кислотой желудка. ИПП, снижая выработку соляной кислоты в желудке, приводят к нарушению микрофлоры кишечника и тем самым способствуют его повреждению (Minalyan et al. 2017).

Механизмы действия ИПП на защитные факторы СОЖ до конца не исследованы. Было продемонстрировано, что раздражение слизистой оболочки желудка гипертоническим раствором повышенной кислотности увеличивало базальную секрецию бикарбонатов и усиливало секрецию HCO₃⁻ и пепсиногена при электростимуляции блуждающего нерва, а ИПП омепразол подавлял синтез бикарбонатов (Zolotarev, Khropycheva 2013). Также было показано участие NO в поддержании кровотока и целостности СОЖ (Zolotarev et al. 2017; 2019).

В настоящее время считается, что наличие инфекции *Helicobacter pylori* увеличивает риск желудочно-кишечных осложнений при приеме НСПВП (Nie, Yuan 2020), так как впервые эта бактерия была найдена в слизистой оболочке у больных, страдающих хроническим гастритом (Marshall 1993). В связи с этим пациентов, нуждающихся в регулярном приеме НСПВП, тестируют на наличие этой бактерии в профилактических целях для предотвращения образования эрозий и язв желудка. Инфекция *H. pylori* считается хронической и может существовать, пока не будет проведена адекватная терапия с помощью антибиотиков. В настоящее время такая терапия является важной в комплексном лечении язвенной болезни (Lee et al. 2008).

Исследования, направленные на понимание механизмов действия НСПВП, их серьезных побочных эффектов и роли ЦОГ-1 и ЦОГ-2 в защите СОЖ, способствовали разработке и синтезированию новых препаратов с сильным противовоспалительным эффектом, но с наименьшими побочными последствиями, которые оказывают селективное действие на подавление активности ЦОГ-2. НСПВП нового поколения значительно реже оказывают пагубное воздействие на ЖКТ (Ahmed et al. 2019). Среди них: рофекоксиб, мелоксикам, нимесил, целекоксиб, этодолак. Однако терапия селективными НСПВП также может приводить к серьезным осложнениям со стороны ЖКТ — перфорации язвы и кровотечению в ЖКТ (Sinha et al. 2013). Помимо этого, селективные НСПВП могут приводить к серьезным кардиологическим проблемам у пациентов (Arias et al. 2019). Селективные ингибиторы ЦОГ-2 блокируют образование простаглицлина и увеличивают содержание тромбксана, являющегося протромботическим фактором, в результате чего и развиваются

кардиологические патологии, связанные с увеличением свертывания крови (Takeuchi, Satoh 2015). Таким образом, селективные ингибиторы ЦОГ-2 так же, как и традиционные НСПВП могут приводить к развитию различных осложнений: инфаркта миокарда и ишемического инсульта (Park, Vavry 2014).

Недостаточная продукция ПГ, вызванная приемом НСПВП, может компенсироваться за счет других гастропротективных механизмов. Было показано, что оксид азота, продуцирующийся в слизистой оболочке пищевода, желудка и кишечника, может участвовать в поддержании целостности слизистой оболочки желудка наряду с другими гастропротективными факторами. Гастропротективные механизмы, обеспечиваемые простагландинами и оксидом азота, направлены на поддержание кровотока (Banick et al. 1997), секрецию слизи и бикарбонатов (Brown et al. 1993), торможение желудочной секреции (Esplugues et al. 1996) и улучшение регенерационной способности слизистой оболочки желудка.

Экспериментальные исследования (Ehrlich et al. 2004; Whittle et al. 1990), направленные на изучение кооперативного взаимодействия оксида азота (NO) и ПГ, способствовали созданию НСПВП с донорами NO. Было показано, что такие препараты обладают более сильным противовоспалительным и анальгетическим действием по сравнению с обычными НСПВП и при этом характеризуются более низкой токсичностью для ЖКТ. Для уменьшения ulcerогенного действия НСПВП был создан препарат нитрофенак (диклофенак, обогащенный донором оксида азота) (Wallace et al. 1995).

Для защиты от повреждений ЖКТ, вызванных НСПВП, были разработаны препараты, содержащие в своей структуре сероводород (H_2S). H_2S относится к группе сигнальных газообразных медиаторов и наряду с оксидом азота участвует во многих физиологических процессах в ЖКТ: обеспечивает поддержание барьерной функции слизистой оболочки ЖКТ, обладает противовоспалительным, антиоксидантным и сосудорасширяющим действием (Wallace, Wang 2015), усиливает микроциркуляцию слизистой оболочки, подавляет экспрессию провоспалительных цитокинов и нормализует кишечную микрофлору (Blackler et al. 2015). Кроме того, НСПВП, содержащие в своей структуре H_2S , имеют более выраженный терапевтический эффект, в отличие от ИПП, которые вызывают нарушение микрофлоры кишечника. Было показано, что НСПВП, высвобождающие H_2S , не вызывают повреждения слизистой оболочки ЖКТ, поэтому могут

быть рекомендованы пациентам с различными сопутствующими заболеваниями (Magierowski et al. 2017).

Исследование механизма взаимодействия НСПВП с мембранными фосфолипидами и их воздействия на барьерные свойства мембраны способствовало разработке новых НСПВП со сниженными побочными эффектами на ЖКТ. Было показано, что связывание НСПВП с экзогенными фосфолипидами помогает предотвратить разрушение мембраны клетки и увеличить гидрофобность поверхностного слоя слизи. (Lichtenberger et al. 2009). Таким образом, создание новых НСПВП на липидной основе значительно повышает эффективность их использования за счет снижения неблагоприятного воздействия на ЖКТ.

Фундаментальные исследования, направленные на понимание механизмов ulcerогенного действия НСПВП, являются важной частью разработки новых способов защиты от их негативного воздействия на ЖКТ.

Прогресс в изучении проблемы действия НСПВП на желудочно-кишечный тракт связан с пониманием защитной роли глюкокортикоидных гормонов, которые продуцируются при введении НСПВП и оказывают гастропротективное действие, компенсируя дефицит ПГ (Filaretova et al. 2002a; Filaretova et al. 2002b). Из этих результатов следует важный для клиници выводу: не следует допускать одновременного дефицита ПГ и глюкокортикоидов во избежание повреждения слизистой оболочки желудка. Было показано, что глюкокортикоидные гормоны компенсируют отсутствие других гастропротективных факторов — оксида азота и пептидов (кальцитонин ген-родственного пептида и тахикининов), высвобождающихся при сенситизации капсаицин-чувствительных нейронов (КЧН), и защищают слизистую оболочку желудка (Filaretova et al. 2002b; 2007). Сенситизация или активация КЧН может быть вызвана повреждением эпителия слизистой оболочки, в том числе при использовании НСПВП.

Наряду с фармакологическими средствами в настоящее время разрабатываются и нефармакологические подходы, связанные с активацией общих защитных механизмов организма. Одним из таких перспективных подходов для уменьшения ulcerогенного действия индометацина может быть физическая активность, которая является естественным стрессором, активирующим гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальную систему, в результате чего повышается продукция эндогенных глюкокор-

тикоидов, обладающих гастропротективным действием (Yarushkina et al. 2020). Было показано, что регулярный умеренный бег защищает слизистую оболочку желудка от повреждающего действия индометацина и стресса. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности регулярных физических упражнений средней интенсивности для защиты слизистой оболочки желудка от язвочерогенных воздействий.

Заключение

Использование НСПВП в качестве противовоспалительных препаратов при различных заболеваниях доказало свою эффективность, однако побочные эффекты этих препаратов, особенно в отношении их влияния на ЖКТ, до сих пор остаются нерешенной проблемой. Исследования, направленные на понимание механизмов язвочерогенного действия НСПВП на слизистую оболочку желудка, роли ЦОГ-1 и ЦОГ-2 в защите слизистой оболочки желудка, способствовали разработке селективных НСПВП, механизм действия которых основан на блокировании фермента ЦОГ-2. Однако, селективные препараты наряду с неселективными НСПВП не только обладают язвочерогенными побочными эффектами, но повышают риск развития сердечно-сосудистых осложнений. Применение лекарственных препаратов, понижающих секрецию соляной кислоты в желудке, является одним из способов уменьшения язвочерогенного действия НСПВП. Но такие препараты имеют непродолжительный эффект и оказывают побочное действие, такое как нарушение микрофлоры кишечника. Разработка НСПВП, ассоциированных с мембранными фосфолипидами и содержащих в своей структуре оксид азота и сероводород, будет способствовать уменьшению негативного влияния в отношении ЖКТ. Применение НСПВП приводит к увеличению уровня глюкокортикоидных гормонов в крови, которые оказывают гастропротективный эффект, компенсируя отсутствие ПГ.

Проведенные исследования показали, что стимулирование естественных защитных факторов организма при физической нагрузке способствует защите слизистой оболочки желудка от негативного воздействия НСПВП.

Таким образом, изучение патогенетических механизмов, лежащих в основе повреждающего действия НСПВП на слизистую оболочку желудка, а также поиск эффективных путей для уменьшения негативного влияния препаратов данной группы является актуальной задачей, важной как с теоретической, так и практической точки зрения.

Сокращения

ЖКТ — желудочно-кишечный тракт; ЦОГ — циклооксигеназа; НСПВП — нестероидные противовоспалительные препараты; ПГ — простагландины; ИПП — ингибиторы протонной помпы; СОЖ — слизистая оболочка желудка.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Благодарности

Автор выражает благодарность академику РАН Л. П. Филаретовой за оказание помощи при работе над статьей и критические замечания при написании статьи.

Acknowledgements

The author would like to extend her appreciation to L.P. Filaretova, Academician of the Russian Academy of Sciences, for her assistance in compiling the article and critical analysis of the submitted material.

References

- Ahmed, E. M., Kassab, A. E., El-Malah, A. A., Hassan, M. S. A. (2019) Synthesis and biological evaluation of pyridazinone derivatives as selective COX-2 inhibitors and potential anti-inflammatory agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 171, pp. 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.03.036> (In English)
- Arias, L. H. M., González, A. M., Fadrique, S. R., Vazquez, E. S. (2019) Cardiovascular risk of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and classical and selective cyclooxygenase-2 inhibitors: A meta-analysis of observational studies. *Journal of Clinical Pharmacology*, vol. 59, no. 1, pp. 55–73. <https://doi.org/10.1002/jcph.1302> (In English)
- Banick, P. D., Chen, Q., Xu, Y. A., Thom, S. R. (1997) Nitric oxide inhibits neutrophil beta 2 integrin function by inhibiting membrane-associated cyclic GMP synthesis. *Journal of Cellular Physiology*, vol. 172, no. 1, pp. 12–24. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4652\(199707\)172:1<12::AID-JCP2>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4652(199707)172:1<12::AID-JCP2>3.0.CO;2-G) (In English)

- Bjarnason, I., Scarpignato, C., Holmgren, E. et al. (2018) Mechanisms of damage to the gastrointestinal tract from nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Gastroenterology*, vol. 154, no. 3, pp. 500–514. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.10.049> (In English)
- Blackler, R. W., Palma, G. D., Manko, A. et al. (2015) Deciphering the pathogenesis of NSAID enteropathy using proton pump inhibitors and a hydrogen sulfide-releasing NSAID. *American Journal of Physiology — Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 308, no. 12, pp. G994–1003. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00066.2015> (In English)
- Brown, J. F., Hanson, P. J., Whittle, B. J. R. (1993) The nitric oxide donor, S-nitroso-N-acetyl-penicillamine, inhibits secretory activity in rat isolated parietal cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 195, no. 3, pp. 1354–1359. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1993.2192> (In English)
- Brusselsaers, N., Lagergren, J. (2018) Maintenance use of non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of gastrointestinal cancer in a nationwide population-based cohort study in Sweden. *BMJ Open*, vol. 8, no. 7, article e021869. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-021869> (In English)
- Brzozowski, T. (2010) Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced experimental gastropathy: Is gastric acid the major trigger? *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, vol. 37, no. 7, pp. 651–653. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2010.05392.x> (In English)
- Cooper, T. E., Heathcote, L. C., Anderson, B. et al. (2017) Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for cancer-related pain in children and adolescents. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol. 7, no. 7, article CD012563. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012563.pub2> (In English)
- Ehrlich, K., Sicking, C., Respondek, M., Peskar, B. M. (2004) Interaction of cyclooxygenase isoenzymes, nitric oxide, and afferent neurons in gastric mucosal defence in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 308, no. 1, pp. 277–283. <https://doi.org/10.1124/jpet.103.057752> (In English)
- Esplugues, J. V., Barrachina, M. D., Beltran, B. et al. (1996) Inhibition of gastric acid secretion by stress: A protective reflex mediated by cerebral nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, vol. 93, no. 25, pp. 14839–14844. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.25.14839> (In English)
- Fang, Y. F., Xu, W. L., Wang, L. et al. (2019) Effect of hydrotalcite on indometacin-induced gastric injury in rats. *BioMed Research International*, vol. 2019, article 4605748. <https://doi.org/10.1155/2019/4605748> (In English)
- Filaretova, L. P., Bagaeva, T. R., Makara, G. B. (2002a) Aggravation of nonsteroidal antiinflammatory drug gastropathy by glucocorticoid deficiency or blockade of glucocorticoid receptor in rats. *Life Science*, vol. 71, no. 21, pp. 2457–2468. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(02\)02078-7](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(02)02078-7) (In English)
- Filaretova, L., Bobryshev, P., Bagaeva, T. et al. (2007) Compensatory gastroprotective role of glucocorticoid hormones during inhibition of prostaglandin and nitric oxide production and desensitization of capsaicin-sensitive sensory neurons. *Inflammopharmacology*, vol. 15, no. 4, pp. 146–153. <https://doi.org/10.1007/s10787-007-1589-x> (In English)
- Filaretova, L., Tanaka, A., Miyazawa, T. et al. (2002b) Mechanisms by which endogenous glucocorticoids protects against indomethacin-induced gastric injury in rats. *American Journal of Physiology — Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 283, no. 5, pp. G1082–G1089. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00189.2002> (In English)
- García-Rayado, G., Sostres, C., Lanás, A. (2017) Aspirin and omeprazole for secondary prevention of cardiovascular disease in patients at risk for aspirin-associated gastric ulcers. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, vol. 10, no. 8, pp. 875–888. <https://doi.org/10.1080/17512433.2017.1324782> (In English)
- Jung, S-Y., Jang, E. J., Nam, S. W. et al. (2018) Comparative effectiveness of oral pharmacologic interventions for knee osteoarthritis: A network meta-analysis. *Modern Rheumatology*, vol. 28, no. 6, pp. 1021–1028. <https://doi.org/10.1080/14397595.2018.1439694> (In English)
- Keller, J., Bassotti, G., Clarke, J. et al. (2018) Advances in the diagnosis and classification of gastric and intestinal motility disorders. *Nature Reviews. Gastroenterology and Hepatology*, vol. 15, no. 5, pp. 291–308. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2018.7> (In English)
- Lee, Y-C., Liou, J-M., Wu, C-Y. et al. (2008) Eradication of Helicobacter pylori to prevent gastroduodenal diseases: Hitting more than one bird with the same stone. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, vol. 1, no. 2, pp. 111–120. <https://doi.org/10.1177/1756283X08094880> (In English)
- Lichtenberger, L. M., Barron, M. Marathi, U. (2009) Association of phosphatidylcholine and NSAIDs as a novel strategy to reduce gastrointestinal toxicity. *Drugs of Today*, vol. 45, no. 2, pp. 877–890. <https://doi.org/10.1358/dot.2009.45.12.1441075> (In English)
- Lichtenberger, L. M., Wang, Z. M., Romero, J. J. et al. (1995) Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) associate with zwitterionic phospholipids: Insight into the mechanism and reversal of NSAID-induced gastrointestinal injury. *Nature Medicine*, vol. 1, no. 2, pp. 154–158. <https://doi.org/10.1038/nm0295-154> (In English)
- Lichtenberger, L. M., Zhou, Y., Dial, E. J., Raphael, R. M. (2006) NSAID injury to the gastrointestinal tract: Evidence that NSAIDs interact with phospholipids to weaken the hydrophobic surface barrier and induce the formation of unstable pores in membranes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 58, no. 11, pp. 1421–1428. <https://doi.org/10.1211/jpp.58.10.0001> (In English)
- Magierowski, M., Magierowska, K., Hubalewska-Mazgaj, M. et al. (2017) Carbon monoxide released from its pharmacological donor, tricarbonyldichlororuthenium (II) dimer, accelerates the healing of pre-existing gastric

- ulcers. *British Journal of Pharmacology*, vol. 174, no. 20, pp. 3654–3668. <https://doi.org/10.1111/bph.13968> (In English)
- Marshall, B. J. (1993) Treatment strategies for *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology Clinics of North America*, vol. 22, no. 1, pp. 183–198. (In English)
- Mason, L., Edwards, J. E., Moore, R. A. et al. (2004) Single dose oral naproxen and naproxen sodium for acute postoperative pain (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol. 4, article CD004234. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004234.pub2> (In English)
- Minalyan, A., Gabrielyan, L., Scott, D. et al. (2017) The gastric and intestinal microbiome: Role of proton pump inhibitors. *Current Gastroenterology Reports*, vol. 19, no. 8, article 42. <https://doi.org/10.1007/s11894-017-0577-6> (In English)
- Nie, S., Yuan, Y. (2020) The role of gastric mucosal immunity in gastric diseases. *Journal of Immunology Research*, vol. 2020, article 7927054. <https://doi.org/10.1155/2020/7927054> (In English)
- Okayama, T., Yoshida, N., Uchiyama, K. et al. (2009) Mast cells are involved in the pathogenesis of indomethacin-induced rat enteritis. *Journal of Gastroenterology*, vol. 44, no. 19, pp. 35–39. <https://doi.org/10.1007/s00535-008-2267-5> (In English)
- Pai, A. B., Engling, J., Chapman, C. et al. (2019) Patient-selected media and knowledge of risk to kidneys of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of the American Pharmacists Association*, vol. 59, no. 3, pp. 329–335. <https://doi.org/10.1016/j.japh.2019.01.012> (In English)
- Park, K., Bavry, A. A. (2014) Risk of stroke associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Vascular Health and Risk Management*, vol. 10, pp. 25–32. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S54159> (In English)
- Scheiman, J. M. (2013) The use of proton pump inhibitors in treating and preventing NSAID-induced mucosal damage. *Arthritis Research and Therapy*, vol. 15, article S5. <https://doi.org/10.1186/ar4177> (In English)
- Sener, Y. Z., Oksul, M. (2020) Effects of NSAIDs on kidney functions and cardiovascular system. *Journal of Clinical Hypertension*, vol. 22, no. 2, article 302. <https://doi.org/10.1111/jch.13769> (In English)
- Singh, V. P., Patil, C. S., Kulkarni, S. K. (2005) Effect of licofelone against NSAIDs-induced gastrointestinal ulceration and inflammation. *Indian Journal of Experimental Biology*, vol. 43, no. 3, pp. 247–253. PMID: [15816411](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15816411/) (In English)
- Sinha, M., Gautam, L., Shukla, P. K. et al. (2013) Current perspectives in NSAID-induced gastropathy. *Mediators of Inflammation*, vol. 2013, article 258209. <https://doi.org/10.1155/2013/258209> (In English)
- Takeuchi, K. (2012) Pathogenesis of NSAID-induced gastric damage: Importance of cyclooxygenase inhibition and gastric hypermotility. *World Journal of Gastroenterology*, vol. 18, no. 18, pp. 2147–2160. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i18.2147> (In English)
- Takeuchi, K., Okada, M., Niida, H., Okabe, S. (1990) Possible mechanisms involved in gastric hypermotility caused by indomethacin in the rat. Role of glycoprotein response. *Digestive Diseases and Science*, vol. 35, no. 8, pp. 984–992. <https://doi.org/10.1007/BF01537247> (In English)
- Takeuchi, K., Satoh, H. (2015) NSAID-induced small intestinal damage-roles of various pathogenic factors. *Digestion*, vol. 91, no. 3, pp. 218–232. <https://doi.org/10.1159/000374106> (In English)
- Vane, J. R., Bakhle, Y. S., Botting, R. M. (1998) Cyclooxygenases 1 and 2. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, vol. 38, pp. 97–120. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.38.1.97> (In English)
- Wallace, J. L. (1997) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and gastroenteropathy: The second hundred years. *Gastroenterology*, vol. 112, no. 3, pp. 1000–1016. <https://doi.org/10.1053/gast.1997.v112.pm9041264> (In English)
- Wallace, J. L., Keenan, C. M., Granger, D. N. (1990) Gastric ulceration induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs is a neutrophil-dependent process. *American Journal of Physiology — Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 259, no. 3, pp. G462–G467. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1990.259.3.G462> (In English)
- Wallace, J. L., Pittman, Q. J., Cirino, G. (1995) Nitric oxide releasing NSAIDs: A novel class of GI-sparing anti-inflammatory drugs. *Agents and Actions Supplements*, vol. 46, pp. 121–129. https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7276-8_12 (In English)
- Wallace, J. L., Wang, R. (2015) Hydrogen sulfide-based therapeutics: Exploiting a unique but ubiquitous gasotransmitter. *Nature Reviews. Drug Discovery*, vol. 14, no. 5, pp. 329–345. <https://doi.org/10.1038/nrd4433> (In English)
- Whittle, B. J. R., Lopez-Belmonte, J., Moncada, S. (1990) Regulation of gastric mucosal integrity by endogenous nitric oxide: Interactions with prostanoids and sensory neuropeptides in the rats. *British Journal of Pharmacology*, vol. 99, no. 3, pp. 606–611. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1990.tb12977.x> (In English)
- Yarushkina, N. I., Komkova, O. P., Filaretova, L. P. (2020) Influence of forced treadmill and voluntary wheel running on the sensitivity of gastric mucosa to ulcerogenic stimuli in male rats. *Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 71, no. 6, pp. 801–815. <https://doi.org/10.26402/jpp.2020.6.04> (In English)
- Yokota, A., Taniguchi, M., Takahira, Y. et al. (2007) Dexamethasone damages the rat stomach but not small intestine during inhibition of COX-1. *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 52, pp. 1452–1461. <https://doi.org/10.1007/s10620-006-9273-3> (In English)
- Zolotarev, V. A., Andreeva, Y. V., Vershinina, E., Khropycheva, R. P. (2017) Interaction of constitutive nitric oxide synthases with cyclooxygenases in regulation of bicarbonate secretion in the gastric mucosa. *Bulletin*

of Experimental Biology and Medicine, vol. 163, no. 1, pp. 6–9. <https://doi.org/10.1007/s10517-017-3724-z> (In English)

Zolotarev, V. A., Andreeva, Y. V., Khropycheva, R. P. (2019) Effect of TRPV1 on activity of isoforms of constitutive nitric oxide synthase during regulation of bicarbonate secretion in the stomach. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 166, no. 3, pp. 310–312. <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04339-w> (In English)

Zolotarev, V. A., Khropycheva, R. P. (2013) Effect of proton pump inhibitors on the secretion of bicarbonates and pepsinogen induced by chemical stimulation of the gastric mucosa. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 154, no. 4, pp. 415–418. <https://doi.org/10.1007/s10517-013-1964-0> (In English)



УДК 577.17

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-399-411>

Совместное применение метформина и интраназального инсулина нормализует чувствительность к глюкозе и гормональный статус у крыс с диабетом 2 типа

К. В. Деркач^{✉1}, В. М. Бондарева¹, Н. Е. Басова¹, Л. А. Кузнецова¹, А. О. Шпаков¹

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН,
194223, Россия, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44

Сведения об авторах

Кира Викторовна Деркач,
SPIN-код: 6925-1558,
Scopus AuthorID: 6603743572,
ResearcherID: AAN-1060-2020,
ORCID: 0000-0001-6555-9540,
e-mail: derkatch_k@list.ru

Вера Михайловна Бондарева,
SPIN-код: 1896-0263,
Scopus AuthorID: 7005696695,
ResearcherID: T-6906-2017,
ORCID: 0000-0002-3761-1222,
e-mail: bondver@mail.ru

Наталия Евгеньевна Басова,
SPIN-код: 7047-8940,
Scopus AuthorID: 7004372495,
ResearcherID: AAN-2150-2020,
ORCID: 0000-0002-7316-2882,
e-mail: basovnat@mail.ru

Людмила Александровна
Кузнецова,
SPIN-код: 9168-5636,
Scopus AuthorID: 7203006089,
ORCID: 0000-0001-9215-6018,
e-mail: praskovia1231@mail.ru

Александр Олегович Шпаков,
SPIN-код: 6335-8311,
Scopus AuthorID: 35231150500,
ResearcherID: R-6581-2016,
ORCID: 0000-0002-4293-3162,
e-mail: alex_shpakov@list.ru

Для цитирования:

Деркач, К. В., Бондарева, В. М.,
Басова, Н. Е., Кузнецова, Л. А.,
Шпаков, А. О.
(2021) Совместное применение
метформина и интраназального
инсулина нормализует
чувствительность к глюкозе
и гормональный статус у крыс
с диабетом 2 типа.

Интегративная физиология,
т. 2, № 4, с. 399–411.

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-399-411>

Получена 20 сентября 2021;
прошла рецензирование

Аннотация. Метформин, препарат первой линии выбора при лечении сахарного диабета 2 типа (СД2), действуя как на периферические ткани, так и на различные области мозга, восстанавливает метаболические и гормональные показатели. Интраназально вводимый инсулин (ИИ), попадая в мозг, нормализует ослабленную при СД2 инсулиновую сигнализацию в ЦНС, в том числе в гипоталамусе, и тем самым улучшает центральную регуляцию метаболизма, пищевого поведения и функций эндокринной системы. Нами высказано предположение, что при совместном использовании метформина и ИИ будет наблюдаться усиление их восстанавливающего эффекта на метаболические и гормональные показатели при СД2. Целью работы было изучить влияние лечения самцов крыс с СД2, вызванным высококалорийной диетой и низкой дозой стрептозотоцина, с помощью метформина (4 недели, 100 мг/кг/сутки) и ИИ (4 недели, 0,5 МЕ/крысу/сутки), по отдельности и совместно, на чувствительность к глюкозе, уровни инсулина, лептина, глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1), тиреоидных гормонов и тестостерона. Монотерапия метформином улучшила глюкозный гомеостаз, нормализовала базальные и стимулированные глюкозой уровни инсулина, лептина и ГПП-1. Совместное применение метформина с ИИ усиливало восстанавливающие эффекты метформина на чувствительность тканей к инсулину и уровни лептина. Метформин и ИИ нормализовали уровни тиреоидных гормонов и тестостерона, а их совместное применение вызывало активацию тиреоидной системы, о чем свидетельствует повышение уровней тиреоидных гормонов. Полученные нами данные указывают на перспективы комбинированного применения метформина и ИИ для улучшения метаболических и гормональных показателей, а также тиреоидного и андрогенного статуса у пациентов с СД2.

Ключевые слова: интраназальный инсулин, метформин, сахарный диабет, инсулин, глюкагоноподобный пептид-1, лептин, тиреоидные гормоны, толерантность к глюкозе

25 октября 2021;
принята 29 октября 2021.

Финансирование: Работа поддержана средствами Минобрнауки России (соглашение № 075-1502020-916 от 16.11.2020 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития НЦМУ «Павловский центр»).

Права: © К. В. Деркач, В. М. Бондарева, Н. Е. Басова, Л. А. Кузнецова, А. О. Шпаков (2021). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Combined use of metformin and intranasal insulin normalise glucose sensitivity and hormonal status in rats with type 2 diabetes

K. V. Derkach^{✉1}, V. M. Bondareva¹, N. E. Basova¹, L. A. Kuznetsova¹, A. O. Shpakov¹

¹ Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, 44 Thoreza Ave., Saint Petersburg 194223, Russia

Authors

Kira V. Derkach,
SPIN: [6925-1558](#),
Scopus AuthorID: [6603743572](#),
ResearcherID: [AAN-1060-2020](#),
ORCID: [0000-0001-6555-9540](#),
e-mail: derkach_k@list.ru

Vera M. Bondareva,
SPIN: [1896-0263](#),
Scopus AuthorID: [7005696695](#),
ResearcherID: [T-6906-2017](#),
ORCID: [0000-0002-3761-1222](#),
e-mail: bondver@mail.ru

Natalia E. Basova,
SPIN: [7047-8940](#),
Scopus AuthorID: [7004372495](#),
ResearcherID: [AAN-2150-2020](#),
ORCID: [0000-0002-7316-2882](#),
e-mail: basovnat@mail.ru

Ludmila A. Kuznetsova,
SPIN: [9168-5636](#),
Scopus AuthorID: [7203006089](#),
ORCID: [0000-0001-9215-6018](#),
e-mail: praskovia1231@mail.ru

Alexander O. Shpakov,
SPIN: [6335-8311](#),
Scopus AuthorID: [35231150500](#),
ResearcherID: [R-6581-2016](#),
ORCID: [0000-0002-4293-3162](#),
e-mail: alex_shpakov@list.ru

For citation:

Derkach, K. V., Bondareva, V. M., Basova, N. E., Kuznetsova, L. A.,

Abstract. Metformin is the first-line drug of choice in the treatment of type 2 diabetes mellitus (T2DM). It acts on peripheral tissues as well as different regions of the brain and restores metabolic and hormonal parameters. Insulin administered intranasally (II) enters the brain and normalises the insulin signaling in the central nervous system, including the hypothalamus, which is weakened in T2DM. This improves the central regulation of metabolism, food intake and functions of the endocrine system. We suggested that the combined use of metformin and II should enhance their restorative effect on the metabolic and hormonal parameters in T2DM. The study was conducted on male rats with T2DM2 induced by a high-calorie diet and a low-dose streptozotocin. The male rats with T2DM were administered metformin (4 weeks, 100 mg/kg/day) and II (4 weeks, 0.5 IU/rat/day), separately and together. The aim of the study was to analyse the effect of the treatment on glucose sensitivity and the levels of insulin, leptin, glucagon-like peptide-1 (GLP-1), thyroid hormones and testosterone. Metformin monotherapy improved glucose homeostasis and normalised basal and glucose-stimulated levels of insulin, leptin and GLP-1. Co-administration of metformin with II enhanced the restorative effects of metformin on tissue insulin sensitivity and leptin levels. Metformin and II normalised the levels of thyroid hormones and testosterone, and their combined use caused the activation of the thyroid system, as indicated by an increase in the levels of thyroid hormones. The data obtained indicate the prospects for the combined use of metformin and II for improving metabolic and hormonal parameters. It may also be used to improve the thyroid and androgenic status in patients with T2DM.

Keywords: intranasal insulin, metformin, diabetes mellitus, insulin, glucagon-like peptide-1, leptin, thyroid hormones, glucose tolerance

Shpakov, A. O.
(2021) Combined use of metformin and intranasal insulin normalise glucose sensitivity and hormonal status in rats with type 2 diabetes. *Integrative Physiology*, vol. 2, no. 4, pp. 399–411.
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-399-411>

Received 20 September 2021;
reviewed 25 October 2021;
accepted 29 October 2021.

Funding: The study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of Russia as part of Agreement No. 075-1502020-916 of 16 November 2020.

The agreement provides a grant from the Federal budget as part of the government programme that supports the creation and development of the world-class research center Pavlov Center for Integrative Physiology to Medicine, High-Tech Healthcare and Technologies of Stress Resistance.

Copyright: © K. V. Derkach, V. M. Bondareva, N. E. Basova, L. A. Kuznetsova, A. O. Shpakov (2021). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Введение

Типичными признаками сахарного диабета 2 типа (СД2), наряду с повышением массы тела и дислипидемией, являются сниженная толерантность к глюкозе, гиперинсулинемия, гиперлептинемия, нарушение инкретинового ответа на глюкозную нагрузку, дисфункции эндокринной системы, в том числе изменения уровней тиреоидных и половых стероидных гормонов (Ha, Sherman 2020; Named et al. 2011; Leisegang et al. 2021). Это обусловлено нарушениями метаболических процессов в тканях, усилением в них окислительного стресса и воспаления, дисрегуляцией функциональной активности гипоталамических звеньев эндокринной системы. Важную роль в такой регуляции играют инсулин и лептин, которые поступают в ЦНС через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) с помощью рецепторопосредованных механизмов. Однако в условиях длительной гипергликемии и резистентности к инсулину и лептину транспорт инсулина и лептина в ЦНС нарушается, что приводит к их дефициту в гипоталамусе и других отделах мозга при СД2 (Banks 2020; Derkach et al. 2019). Ослабление инсулиновой и лептиновой

сигнализации в гипоталамусе является одной из первопричин снижения экспрессии и секреции гипоталамических релизинг-факторов — тиролиберина и гонадолиберина, стимулирующих выброс аденогипофизом тиреотропного гормона и гонадотропинов (Costanzo, Knoblovits 2016; He et al. 2021; Shpakov 2016). Снижение активности инсулиновых и лептиновых путей в гипоталамусе и других отделах мозга приводит к нарушениям пищевого поведения и центральной регуляции углеводного и липидного обмена (Boucein et al. 2021; Scherer et al. 2021; Shpakov et al. 2015).

Перспективными подходами для восстановления сигнальных путей инсулина и лептина в ЦНС при СД2 являются повышение уровня инсулина и лептина в мозге, повышение чувствительности нейронов к инсулину и лептину путем подавления активности негативных регуляторов их сигнальных путей, а также нормализация метаболизма в нейронах, являющихся мишенями инсулина и лептина (Bhattamisra et al. 2020; Scherer et al. 2021). Для повышения уровня инсулина в ЦНС может быть использован интраназальный способ его введения, позволяющий, минуя ГЭБ, обеспечить доставку гормона в структуры

мозга (Bhattamisra et al. 2020; Scherer et al. 2021; Shpakov et al. 2015). В настоящее время интраназально вводимый инсулин (ИИ) широко применяют для лечения болезни Альцгеймера и других когнитивных дисфункций, ассоциированных с ослаблением инсулиновых путей в ЦНС (Bhattamisra et al. 2020; Hallschmid 2021). Для нормализации энергетического статуса нейронов может быть использована терапия метформинем, препаратом первой линии выбора при лечении СД2. Основной мишенью метформина как на периферии, так и в структурах мозга является фермент АМФ-активируемая протеинкиназа (АМФПК), основной энергетический сенсор клетки (Shpakov 2021; Wang, Cheng 2018). На периферии, где активность АМФПК в условиях диабетической патологии снижается, метформин оказывает на фермент стимулирующее влияние, в то время как в мозге, где при СД2 активность АМФПК, как правило, повышается, метформин ее снижает до контрольных значений (Derkach et al. 2019; Wang, Cheng 2018). Фермент АМФПК является также мишенью для лептина, причем как в мозге, так и на периферии воздействие на его активность лептина и метформина является однонаправленным (Kwon et al. 2016). Имеются доказательства синергизма между инсулиновыми и лептиновыми путями в гипоталамусе, что обусловлено наличием общих сигнальных звеньев — белков-субстратов инсулинового рецептора, фосфатидилинозитол-3-киназы и Akt-киназы (Carvalho et al. 2005). Вследствие этого метформин способен в определенной степени компенсировать дефицит лептина и инсулина в ЦНС.

Ранее нами было показано, что ИИ улучшает метаболические и гормональные показатели у крыс с различными моделями СД2, и важную роль в этом играют гипоталамические механизмы (Derkach et al. 2018, 2020b). В свою очередь, терапия метформинем крыс с различными моделями СД2 не только снижает у них массу тела и улучшает чувствительность к глюкозе и инсулину, но и частично восстанавливает функции эндокринной системы (Derkach et al. 2020a; Shpakov, Derkach 2018). На основании этих результатов мы предположили, что совместное применение ИИ и метформина может оказаться более эффективным в отношении восстановления метаболического и гормонального статуса в сравнении с монотерапией этими препаратами. Для проверки этого предположения было предпринято настоящее исследование, целью которого было изучить влияние лечения крыс с СД2 с помощью метформина и ИИ, по отдельности и совместно, на чувствительность

к глюкозе и инсулину, на уровне инсулина, лептина, глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1), тиреоидных гормонов и тестостерона в крови.

Методика

Экспериментальную работу с самцами крыс Wistar осуществляли в соответствии с требованиями Комитета по биоэтике ИЭФБ РАН, а также European Communities Council Directive 1986 (86/609/ЕЕС) и Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.

Модель СД2 у крыс вызывали с помощью высококалорийной диеты, которая включала потребление животными избыточного количества насыщенных жиров (ежедневная добавка 5–6 г маргарина/крысу к стандартному сухому корму) и потребление 30%-ного раствора сахарозы вместо питьевой воды. Крыс переводили на диету в возрасте 26 дней, после окончания молочного вскармливания. Через 10 недель после начала диеты животным внутривентриально вводили стрептозотцин в дозе 15 мг/кг, растворенный в цитратном буфере (0,1 М, рН 4,5). Такая доза не вызывает сильного повреждения инсулин-продуцирующих β -клеток, но нарушает их ответ на повышение концентрации глюкозы в крови, результатом чего являются гипергликемия, гиперинсулинемия и другие нарушения, характерные для сильно выраженного СД2. Начиная с 15-й недели диеты, крыс распределяли на группы и начинали лечить метформинем (перорально через зонд, в течение 4 недель, 100 мг/кг/сутки) (Sigma, США) или бычьим инсулином (интраназально, в течение 4 недель, 0,5 МЕ/крысу/сутки, Sigma, США) по отдельности или совместно. Дозы метформина и инсулина были выбраны на основе результатов ранних исследований (Derkach et al. 2015; 2020a). Сформировали 5 групп, по 6 крыс в каждой: контроль (группа К), диабет без лечения (СД), диабет с лечением метформинем (СДМ), диабет с лечением ИИ (СДИ) и диабет с лечением комбинацией метформина и ИИ (СДМИ). Группы К и СД вместо препаратов в том же объеме и в те же сроки получали физиологический раствор.

В конце эксперимента для оценки толерантности к глюкозе и гормонального ответа на глюкозную нагрузку проводили оральную глюкозотолерантный тест (ОГТТ), для чего животным перорально вводили глюкозу в дозе 2 г/кг и оценивали уровни глюкозы, инсулина, лептина и ГПП-1 до глюкозной нагрузки и в течение 120 мин после нее. Уровень глюкозы оценивали с помощью тест-полосок One Touch Ultra (США)

и глюкометра Life Scan Johnson & Johnson (Дания). Уровни инсулина, лептина и ГПП-1 оценивали с помощью ИФА-наборов Rat-Insulin (Merckodia AB, Швеция), ELISA for Leptin, Rat (Cloud-Clone Corp., США) и ELISA kit for Glucagon like Peptide-1 (GLP-1) соответственно. Время для забора крови при определении уровней гормонов после глюкозной нагрузки, которое выбирали на основании результатов собственных исследований и данных литературы, составило для ГПП-1 — 15 мин, для инсулина и лептина — 120 мин. Уровни тиреоидных гормонов в крови — свободного (fT4) и общего (tT4) тироксина и свободного (fT3) и общего (tT3) трийодтиронина — определяли с помощью наборов «Иммунотех» (Россия), уровень тестостерона — с помощью набора «Алкор-Био» (Россия).

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программы Microsoft Office Excel 2007. Нормальность распределения проверяли на основе использования критерия Шапиро — Уилка. Для сравнения двух выборок с нормальным распределением использовали

t-критерий Стьюдента. Данные представляли как $M \pm SD$, статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$.

Результаты

Четырехнедельное лечение крыс метформином приводило к снижению массы тела и жировой ткани, а также индекса инсулиновой резистентности (ИР), рассчитанного как произведение уровней глюкозы и инсулина натощак (табл. 1). Лечение ИИ слабо влияло на массу тела и жировой ткани, но снижало индекс ИР, в первую очередь вследствие снижения уровня инсулина в крови (табл. 1). Совместное применение метформина и ИИ усиливало снижение индекса ИР (табл. 1).

Лечение самцов крыс с помощью метформина и ИИ приводило к частичному восстановлению у них чувствительности к глюкозе, на что указывают сниженные в сравнении с группой СД значения AUC_{0-120} (площадь под кривой «концентрация глюкозы, мМ — время, мин») и содержание глюкозы в крови через 120 мин после нагрузки (рис. 1, табл. 2). Метформин

Табл. 1. Влияние метформина и интраназально вводимого инсулина на массу тела и жировой ткани, уровни глюкозы и инсулина и индекс инсулиновой резистентности у самцов крыс Wistar с СД2

Группа крыс	Масса тела, г	Масса жира, г	Глюкоза, натощак, мМ	Инсулин, натощак, нг/мл	Индекс ИР, усл. ед.
К	341 ± 19	7,3 ± 1,0	4,9 ± 0,2	0,64 ± 0,13	3,08 ± 0,38
СД	422 ± 16 ^a	12,6 ± 1,2 ^a	6,7 ± 0,4 ^a	1,22 ± 0,24 ^a	8,22 ± 0,79 ^a
СДМ	359 ± 17 ^b	9,5 ± 0,9 ^{a,b}	5,5 ± 0,2 ^{a,b}	0,87 ± 0,15 ^b	4,82 ± 0,48 ^{a,b}
СДИ	399 ± 22 ^a	10,9 ± 1,7 ^a	5,9 ± 0,5 ^{a,b}	0,68 ± 0,24 ^b	4,07 ± 0,90 ^b
СДМИ	352 ± 22 ^b	8,6 ± 1,2 ^b	4,7 ± 0,3 ^{b,c}	0,65 ± 0,20 ^b	3,01 ± 0,62 ^{b,c}

Примечание: ^a — различия между контролем и диабетическими группами статистически значимы при $p < 0,05$; ^b — различия между группой СД и диабетическими группами с лечением статистически значимы при $p < 0,05$; ^c — различия между группами СДМ и СДМИ статистически значимы при $p < 0,05$. Данные представлены как $M \pm SD$, $n = 6$.

Table 1. Effect of metformin and intranasally administered insulin on body weight and adipose tissue, glucose and insulin levels, and insulin resistance index in male Wistar rats with T2DM

Group of rats	Body weight, g	Fat weight, g	Glucose, fasting test, mM	Insulin, fasting test, ng/ml	IR index, conv. units
C	341 ± 19	7.3 ± 1.0	4.9 ± 0.2	0.64 ± 0.13	3.08 ± 0.38
D	422 ± 16 ^a	12.6 ± 1.2	6.7 ± 0.4 ^a	1.22 ± 0.24 ^a	8.22 ± 0.79 ^a
DM	359 ± 17 ^b	9.5 ± 0.9 ^{a,b}	5.5 ± 0.2 ^{a,b}	0.87 ± 0.15 ^b	4.82 ± 0.48 ^{a,b}
DI	399 ± 22 ^a	10.9 ± 1.7 ^a	5.9 ± 0.5 ^{a,b}	0.68 ± 0.24 ^b	4.07 ± 0.90 ^b
DMI	352 ± 22 ^b	8.6 ± 1.2 ^b	4.7 ± 0.3 ^{b,c}	0.65 ± 0.20 ^b	3.01 ± 0.62 ^{b,c}

Note: ^a—differences between control and diabetic groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^b—differences between the D group and the diabetic treatment groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^c—differences between the DM and DMI groups are statistically significant at $p < 0.05$. Data are presented as $M \pm SD$, $n = 6$.

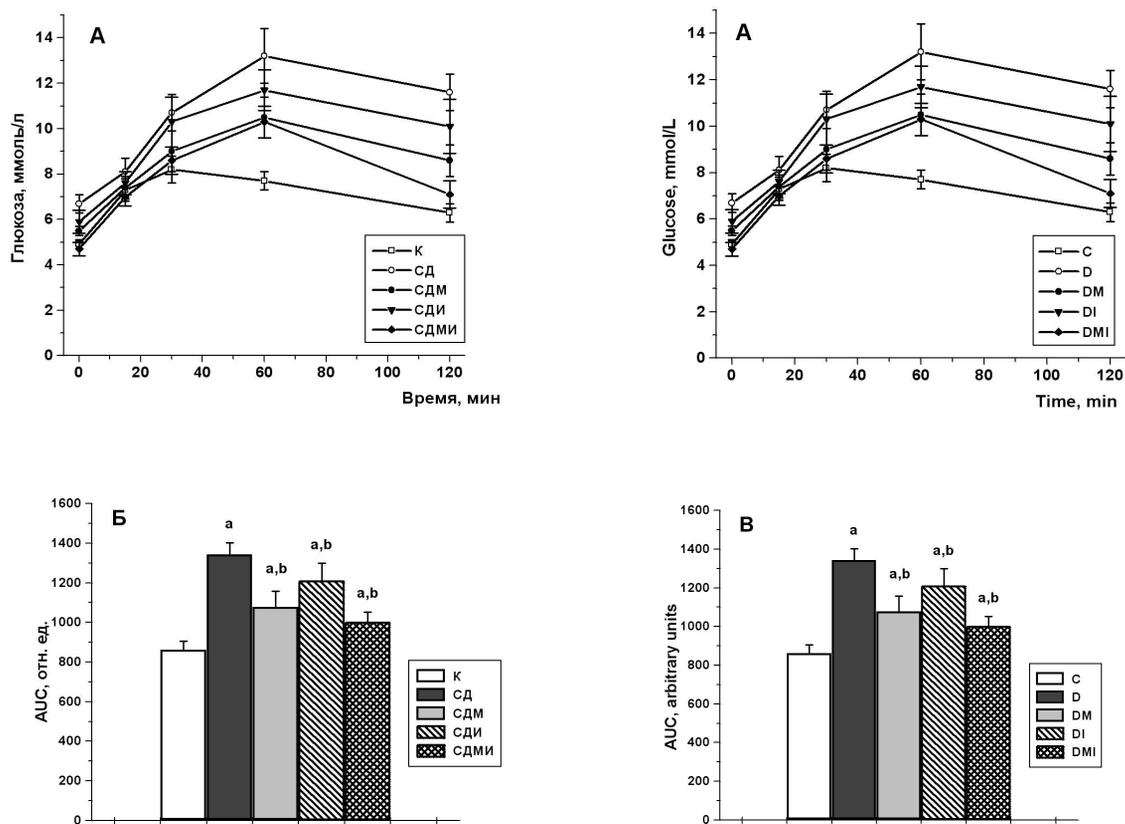


Рис. 1. Влияние метформина и интраназально вводимого инсулина на уровни глюкозы в крови (А) и на значения AUC_{0-120} (Б) при проведении орального глюкозотолерантного теста у самцов крыс Wistar с СД2. К — контроль, СД — диабет, СДМ — диабет с лечением метформином, СДИ — диабет с лечением ИИ, СДМИ — диабет с лечением метформином и ИИ. ^a — различия между контролем и диабетическими группами статистически значимы при $p < 0,05$; ^b — различия между группой СД и диабетическими группами с лечением статистически значимы при $p < 0,05$. Данные представлены как $M \pm SD$, $n = 6$

Fig. 1. Effect of metformin and intranasally administered insulin on blood glucose levels (A) and on AUC_{0-120} values (B) during the oral glucose tolerance test in male Wistar rats with T2DM. C—control group, D—diabetes without treatment, DM—diabetes with metformin treatment, DI—diabetes treated with intranasal insulin, DMI—diabetes treated with a combination of metformin and intranasal insulin. ^a—differences between control and diabetic groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^b—differences between the D group and the diabetic treatment groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^c—differences between the DM and DMI groups are statistically significant at $p < 0.05$. Data are presented as $M \pm SD$, $n = 6$

в плане нормализации толерантности к глюкозе был эффективнее ИИ, в то время как совместное применение метформина и ИИ по эффективности превосходило монотерапию метформином. Уровень глюкозы в крови через 120 мин после нагрузки глюкозой в группах СДМИ и СДМ статистически значимо отличался ($p = 0,004$) и был снижен на 38,8% и 25,9% по сравнению с группой СД, хотя различия значений AUC_{0-120} между группами СДМ и СДМИ не были статистически значимыми ($p = 0,083$) (рис. 1, табл. 2).

В группах СДМ и СДМИ отмечали снижение базальных и стимулированных глюкозой

(через 120 мин после глюкозной нагрузки) уровень инсулина и лептина, повышенных в группе СД (табл. 2). При этом при совместном применении метформина и ИИ восстанавливающий эффект на стимулированную глюкозой продукцию лептина был выражен сильнее, чем в случае монотерапии (табл. 2). Лечение с помощью ИИ в значительной степени снижало базальный уровень инсулина, но не влияло на стимуляцию его продукции глюкозной нагрузкой. В группе СДИ отмечали снижение базального и стимулированного глюкозой уровней лептина, но различия с необработанной диабетической группой были статистически значимыми

только для стимулированного уровня этого адипокина (табл. 2). У диабетических крыс был снижен базальный и стимулированный глюкозой уровни ГПП-1, и лечение метформином полностью их восстанавливало. Однако в группах СДИ и СДМИ не было выявлено влияния используемых препаратов на базальный уровень ГПП-1 и было достигнуто менее выраженное в сравнении с монотерапией метформином восстановление стимулированного глюкозой уровня этого инкретина (табл. 2).

У крыс с СД2 отмечали тенденцию к снижению уровня тироксина и достоверное снижение уровней fT3 и tT3 (рис. 2). Лечение метформи-

ном частично восстанавливало тиреоидный статус, в то время как совместное применение метформина и ИИ вызывало дополнительную активацию тиреоидной оси, на что указывает значительное повышение продукции тироксина и трийодтиронина не только по отношению к диабетической группе, а в случае tT4 и fT3 и по отношению к группе СДМ (рис. 2). Лечение ИИ также оказывало на уровень тиреоидных гормонов стимулирующее влияние, но оно было менее выражено в сравнении с группой СДМИ (рис. 2). Показано также, что терапия метформином и интраназальным инсулином приводит к нормализации андрогенного статуса (рис. 2).

Табл. 2. Влияние метформина и интраназально вводимого инсулина на базальные и стимулированные глюкозой уровни глюкозы, инсулина, лептина и глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1) в крови самцов крыс Wistar с СД2

Группа крыс	Глюкоза, 120 мин, мМ	Инсулин, баз., нг/мл	Инсулин, 120 мин, нг/мл	Лептин, баз., нг/мл	Лептин, 120 мин, нг/мл	ГПП-1, баз., пг/мл	ГПП-1, 15 мин, пг/мл
К	6,3 ± 0,4	0,64 ± 0,13	0,90 ± 0,28	2,76 ± 0,57	3,65 ± 0,77	28,2 ± 3,3	67,3 ± 9,9
СД	11,6 ± 0,8	1,22 ± 0,24	2,45 ± 0,44	3,97 ± 0,73 ^a	9,20 ± 1,32 ^a	22,3 ± 3,3 ^a	42,2 ± 6,0 ^a
СДМ	8,6 ± 0,7 ^{a,b}	0,87 ± 0,15 ^b	1,29 ± 0,24 ^b	2,41 ± 0,42 ^b	4,87 ± 0,64 ^b	30,6 ± 2,6 ^b	63,7 ± 4,0 ^b
СДИ	10,1 ± 1,2 ^{a,b}	0,68 ± 0,24 ^b	2,07 ± 0,53	3,11 ± 0,43	6,95 ± 1,05 ^{a,b}	21,2 ± 1,8 ^a	55,8 ± 10,1
СДМИ	7,1 ± 0,6 ^{b,c}	0,65 ± 0,20 ^b	1,02 ± 0,28 ^b	2,19 ± 0,44 ^b	3,10 ± 0,46 ^{b,c}	22,1 ± 1,2 ^{a,c}	58,4 ± 5,2 ^b

Примечание: ^a — различия между контролем и диабетическими группами статистически значимы при $p < 0,05$; ^b — различия между группой СД и диабетическими группами с лечением статистически значимы при $p < 0,05$; ^c — различия между группами СДМ и СДМИ статистически значимы при $p < 0,05$. Данные представлены как $M \pm SD$, $n = 6$.

Table 2. Effect of metformin and intranasally administered insulin on basal and glucose-stimulated levels of glucose, insulin, leptin, and glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in the blood of male Wistar rats with T2DM

Group of rats	Glucose, 120 min, mM	Insulin, basal, ng / ml	Insulin, 120 min, ng / ml	Leptin, basal, ng / ml	Leptin, 120 min, ng / ml	GLP-1, basal, pg / ml	GLP-1, 15 min, pg / ml
C	6.3 ± 0.4	0.64 ± 0.13	0.90 ± 0.28	2.76 ± 0.57	3.65 ± 0.77	28.2 ± 3.3	67.3 ± 9.9
D	11.6 ± 0.8 ^a	1.22 ± 0.24	2.45 ± 0.44	3.97 ± 0.73 ^a	9.20 ± 1.32 ^a	22.3 ± 3.3 ^a	42.2 ± 6.0 ^a
DM	8.6 ± 0.7 ^{a,b}	0.87 ± 0.15 ^b	1.29 ± 0.24	2.41 ± 0.42 ^b	4.87 ± 0.64 ^b	30.6 ± 2.6 ^b	63.7 ± 4.0 ^b
DI	10.1 ± 1.2 ^{a,b}	0.68 ± 0.24 ^b	2.07 ± 0.53	3.11 ± 0.43	6.95 ± 1.05 ^{a,b}	21.2 ± 1.8 ^a	55.8 ± 10.1
DMI	7.1 ± 0.6 ^{b,c}	0.65 ± 0.20 ^b	1.02 ± 0.28 ^b	2.19 ± 0.44 ^b	3.10 ± 0.46 ^{b,c}	22.1 ± 1.2 ^{a,c}	58.4 ± 5.2 ^b

Note: ^a—differences between control and diabetic groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^b—differences between the D group and the diabetic treatment groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^c—differences between the DM and DMI groups are statistically significant at $p < 0.05$. Data are presented as $M \pm SD$, $n = 6$.

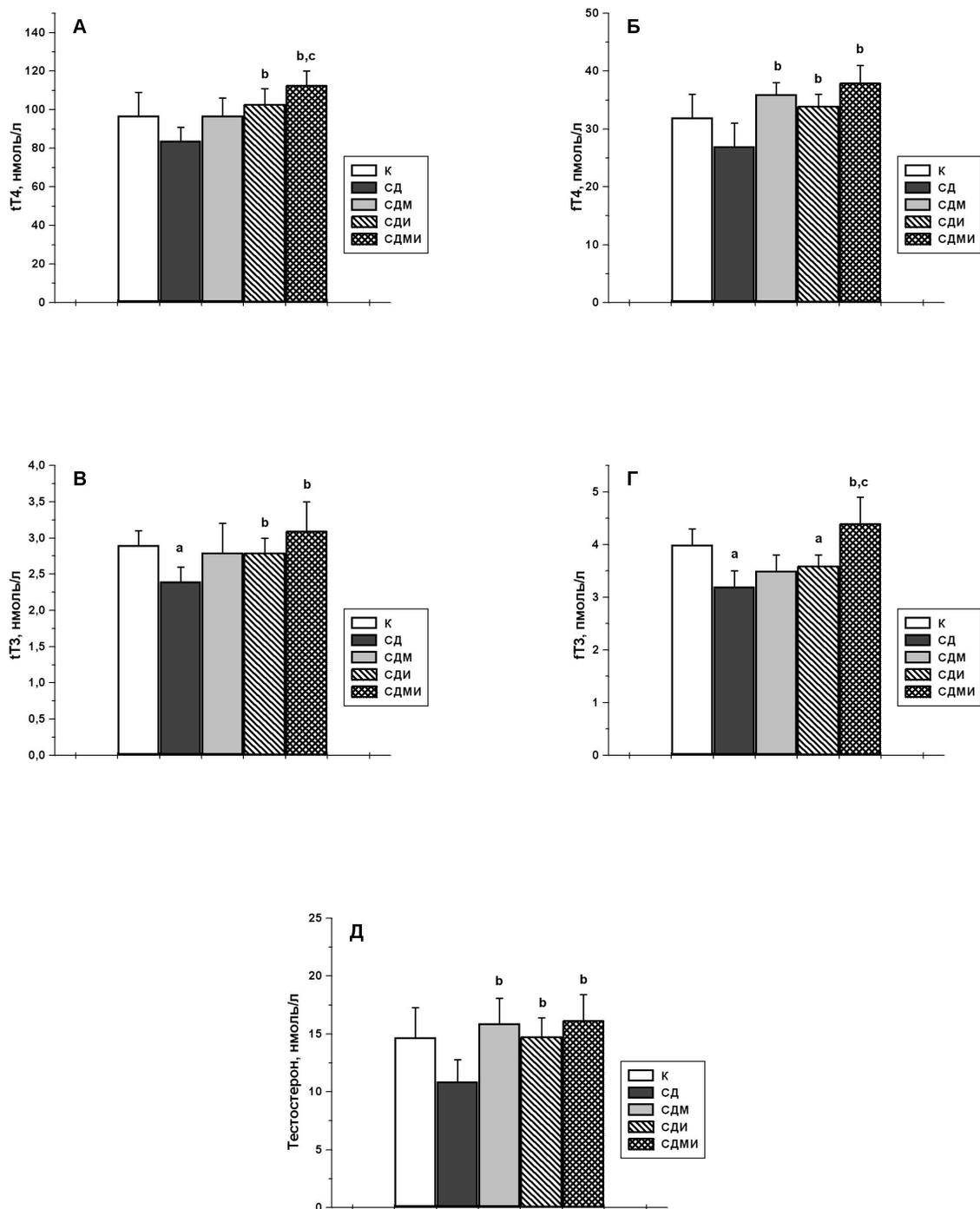


Рис. 2. Влияние метформина и интраназально вводимого инсулина на уровни тиреоидных гормонов и тестостерона в крови самцов крыс с СД2.

А — общий тироксин, Б — свободный тироксин, В — общий трийодтиронин, Г — свободный трийодтиронин, Д — тестостерон. К — контроль, СД — диабет, СДМ — диабет с лечением метформином, СДИ — диабет с лечением ИИ, СДМИ — диабет с лечением метформином и ИИ. ^a — различия между контролем и диабетическими группами статистически значимы при $p < 0,05$; ^b — различия между группой СД и диабетическими группами с лечением статистически значимы при $p < 0,05$; ^c — различия между группами СДМ и СДМИ статистически значимы при $p < 0,05$. Данные представлены как $M \pm SD$, $n = 6$

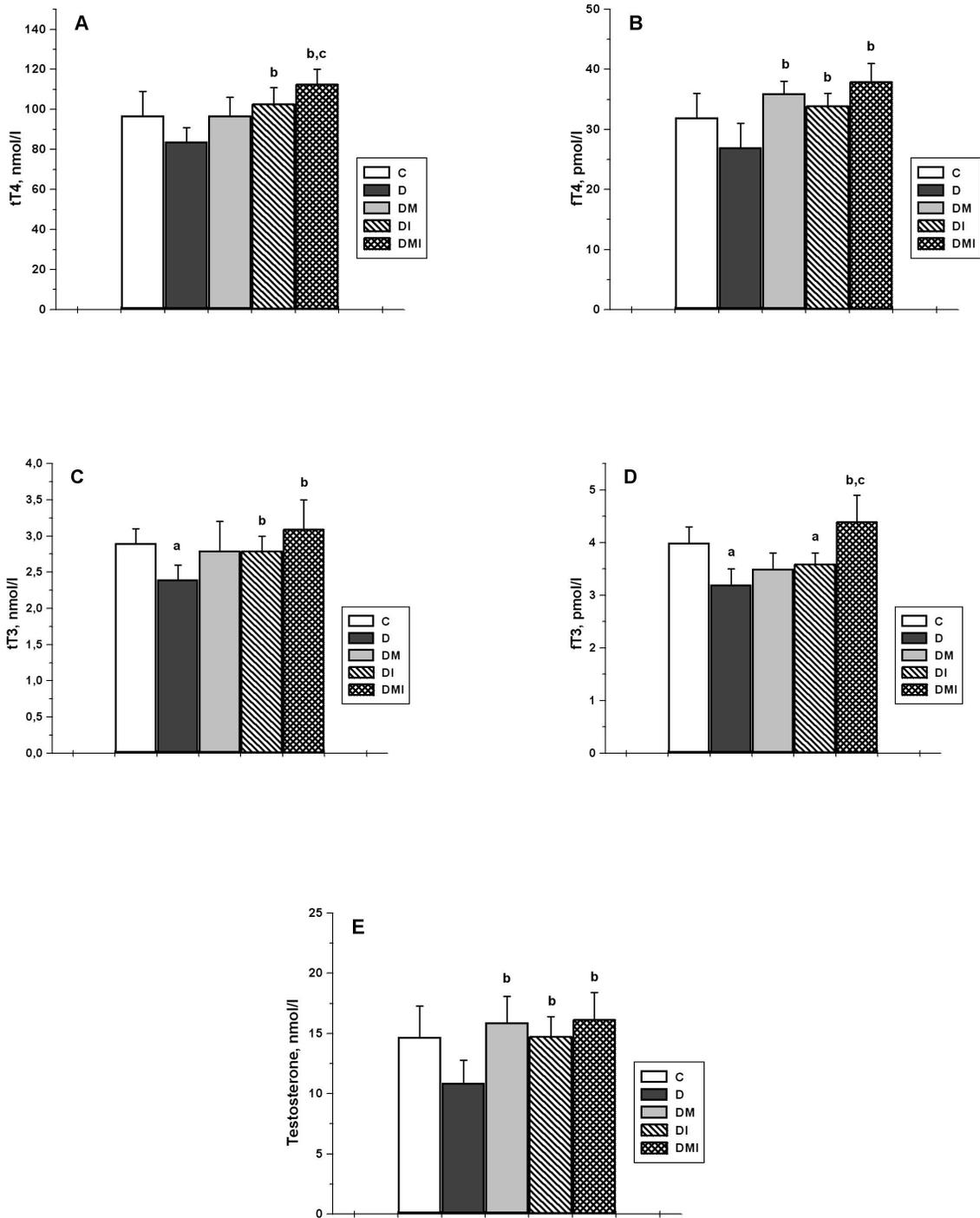


Fig. 2. The effect of metformin and intranasally administered insulin on the levels of thyroid hormones and testosterone in the blood of male rats with T2DM. A—total thyroxine, B—free thyroxine, C—total triiodothyronine, D—free triiodothyronine, D—testosterone. C—control group, D—diabetes without treatment, DM—diabetes with metformin treatment, DI—diabetes treated with intranasal insulin, DMI—diabetes treated with a combination of metformin and intranasal insulin.

^a—differences between control and diabetic groups are statistically significant at $p < 0.05$;

^b—the differences between the D group and the diabetic treatment groups are statistically significant at $p < 0.05$;

^c—the differences between the DM and DMI groups are statistically significant at $p < 0.05$.

Data are presented as $M \pm SD$, $n = 6$

Следует, однако, отметить, что уровень тестостерона в группе СД достоверно не отличался от такового в группе К, хотя и демонстрировал тенденцию к снижению ($p = 0,056$) (рис. 2).

Обсуждение

Метформин широко применяется для улучшения чувствительности к глюкозе и инсулину и нормализации углеводного и липидного обмена у пациентов с СД2, а также предотвращает развитие у них осложнений, в первую очередь со стороны сердечно-сосудистой системы (Baker et al. 2021; Rajjoub Al-Mahdi et al. 2021). Наряду с этим в клинических и экспериментальных исследованиях показано, что метформиновая терапия может быть эффективна для восстановления нарушенных при СД2 функций эндокринной системы (Derkach et al. 2020a; Karla et al. 2019; Shprakov 2021). Это обусловлено способностью метформина нормализовать метаболический и гормональный статус и ослаблять липотоксичность и окислительный стресс, тем самым улучшая функционирование всех основных звеньев гипоталамо-гипофизарной системы, а также положительно влиять на гипоталамические нейроны, ответственные за синтез и секрецию релизинг-факторов гипофизарных гормонов. Мы исследовали восстанавливающее влияние метформиновой терапии на метаболические и гормональные показатели у самцов крыс с СД2, вызванным высококалорийной диетой и низкой дозой стрептозотоцина. В результате было показано восстанавливающее действие метформина не только в отношении глюкозного гомеостаза и чувствительности тканей к инсулину, но и его нормализующее влияние на продукцию адипокина лептина и инкретина ГПП-1, контролирующих энергетический обмен и пищевое поведение. Наряду с этим метформиновая терапия приводила к частичному восстановлению продукции тиреоидных гормонов и полностью восстанавливала продукцию тестостерона. Ранее нами и другими авторами было установлено, что метформин нормализует стероидогенную активность семенников, сниженную в условиях диабетической патологии (Annie et al. 2020; Derkach et al. 2020a; Nna et al. 2019; Zhang et al. 2020).

При СД2 отмечается снижение уровня инсулина в мозге, являющееся результатом ослабления транспорта инсулина через ГЭБ, и, как следствие, ослабление инсулиновой сигнализации в ЦНС. Это приводит к нарушению центральной регуляции энергетического обмена, эндокринным дисфункциям, развитию нейро-

дегенеративных заболеваний и когнитивному дефициту (Shprakov et al. 2015). Вследствие этого повышение уровня инсулина в ЦНС, в том числе с помощью ИИ, рассматривается как один из перспективных путей для предотвращения этих нарушений. Однако до настоящего времени в медицине ИИ применяется для лечения когнитивного дефицита, в том числе при болезни Альцгеймера (Badenes et al. 2021; Bhattamisra et al. 2020; Hallschmid 2021), а его применение для коррекции функциональных нарушений при диабетической патологии ограничивается в основном экспериментальными исследованиями (Derkach et al. 2015; Scherer et al. 2021). Так, нами ранее было показано, что лечение крыс с СД2 с помощью ИИ улучшает у них гипоталамическую регуляцию энергетического обмена, повышает чувствительность периферических тканей к инсулину, что выражается в снижении уровня инсулина в крови при сохранении нормального захвата глюкозы (Derkach et al. 2018; 2020b). У крыс со стрептозотоциновым СД1 длительное лечение ИИ улучшало тиреоидный статус, повышая уровень эффекторного гормона тиреоидной системы — трийодтиронина (Derkach et al. 2015). В настоящем исследовании мы показали, что ИИ восстанавливает продукцию тиреоидных гормонов и тестостерона у крыс с СД2 (рис. 2), а также ослабляет у них ИР и гиперлептемию (табл. 2). Эти данные свидетельствуют о способности ИИ активировать тиреоидную и гонадную системы, как мы полагаем, на уровне гипоталамических тиролиберин- и гонадолиберин-экспрессирующих нейронов, а также через центральные механизмы повышать чувствительность тканей к инсулину и лептину. Повышение чувствительности к инсулину под действием ИИ было показано в клинике (Heni et al. 2014), причем следствием этого было снижение базального уровня инсулина, что было продемонстрировано и нами (табл. 1, табл. 2). Важно отметить, что ИИ в отношении восстановления метаболических и гормональных показателей был менее эффективен в сравнении с метформином, что, как мы полагаем, обусловлено более широким спектром действия метформина, который не только улучшает инсулиновую сигнализацию в ЦНС и на периферии, но и положительно влияет на другие сигнальные каскады. В пользу этого свидетельствуют данные о выраженном восстанавливающем эффекте метформина на базальный и стимулированный глюкозой уровень ГПП-1 у крыс с СД2, в то время как ИИ в сравнительно небольшой степени восстанавливал лишь

стимулированный глюкозой уровень ГПП-1 (табл. 2).

Основной задачей нашего исследования было изучить влияние на метаболические и гормональные показатели совместного применения метформина и ИИ, чтобы обосновать предположение о том, что они способны усиливать эффекты друг друга. Это имеет большое значение для метформиновой терапии, которая у ряда пациентов оказывается малоэффективной или требует повышения фармакологических доз, что, в свою очередь, может стать причиной лактоацидоза, расстройств желудочно-кишечного тракта и других побочных эффектов (Vaker et al. 2021; Fadden et al. 2021; Kalra et al. 2019). Полученные нами данные в значительной степени подтверждают наше предположение об эффективности совместного применения метформина и ИИ, которое усиливает, в сравнении с монотерапией, восстанавливающий эффект метформина на такие показатели, как чувствительность к инсулину и продукцию лептина, измененные при диабетической патологии (табл. 1, 2). Необходимо отметить, что совместное введение метформина и ИИ не влияло на базальный уровень ГПП-1, который в группе СДМИ не отличался от такового у необработанных диабетических животных и был ниже такового в группе СДМ, что представляется достаточно неожиданным. При этом стимулированный глюкозой уровень ГПП-1 в группе СДМИ полностью восстанавливался и был близок с таковым в группе СДМ (табл. 2). Нами также установлено, что ИИ не влияет на базальный уровень ГПП-1, но существенно повышает его секрецию в ответ на потребление глюкозы, что хорошо согласуется с данными о стимулирующем влиянии ИИ на секрецию панкреатического инсулина в условиях глюкозной нагрузки (Heni et al. 2020). Наряду с этим в группе СДМИ отмечали гиперактивацию тиреоидной системы, хотя различия с группой СДМ и контролем не были статистически значимыми (рис. 2), и это, как мы полагаем, обусловлено вкладом ИИ. Ранее нами было показано, что длительная обработка крыс с различными моделями СД1 с помощью ИИ вызывает стимуляцию тиреоидной оси (Derkach et al. 2015). При этом существенного усиления стимулирующего влияния метформина на продукцию тестостерона в группе СДМИ не было отмечено, что обусловлено полным восстановлением стероидогенной активности под влиянием метформина (рис. 2).

Таким образом, лечение крыс с СД2 метформином улучшает глюкозный гомеостаз, нормализует базальные и стимулированные глюкозой

уровни инсулина, лептина и ГПП-1. ИИ в этом отношении менее эффективен, но при совместном применении с метформином усиливает его эффекты, что отчетливо выявляется при снижении ИР и ослаблении гиперлептинемии. У диабетических крыс метформин и ИИ нормализуют уровни тиреоидных гормонов и тестостерона, а их совместное применение приводит к активации тиреоидной системы. Полученные нами данные указывают на возможные перспективы использования метформина и ИИ, в том числе при комбинированном применении для улучшения метаболических и гормональных показателей, а также тиреоидного и андрогенного статуса у пациентов с СД2.

Список сокращений

СД2 — сахарный диабет 2 типа; ИИ — интраназальный вводимый инсулин; ГПП-1 — глюкагоноподобный пептид-1; ГЭБ — гематоэнцефалический барьер; АМФПК — АМФ-активируемая протеинкиназа; К — группа контроль; СД — диабет без лечения; СДМ — диабет с лечением метформином; СДИ — диабет с лечением интраназальным вводимым инсулином; СДМИ — диабет с лечением комбинацией метформина и интраназального вводимого инсулина; ОГТТ — оральная глюкозотолерантная проба; ИР — индекс инсулиновой резистентности.

List of Abbreviations

T2DM—type 2 diabetes mellitus, II—intranasal injected insulin, GLP-1—glucagon-like peptide-1, BBB—blood-brain barrier, AMPK—AMP-activated protein kinase, C—control group, D—diabetes without treatment, DM—diabetes with metformin treatment, DI—diabetes treated with intranasal insulin, DMI—diabetes treated with a combination of metformin and intranasal insulin, OGTT—oral glucose tolerance test, IR—index of insulin resistance.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Соответствие принципам этики

Исследования с участием животных соответствуют принципам международной этики.

Ethics Approval

The authors state that all international ethical principles relevant to research that includes animal subjects have been duly followed.

Вклад авторов

а. Кира Викторовна Деркач — проведение экспериментов, анализ экспериментальных данных, статистическая обработка результатов, подготовка графических материалов, подготовка и корректировка рукописи;

б. Вера Михайловна Бондарева — проведение экспериментов;

с. Наталия Евгеньевна Басова — анализ экспериментальных данных, статистическая обработка результатов, подготовка графических материалов, подготовка рукописи;

д. Людмила Александровна Кузнецова — проведение экспериментов;

е. Александр Олегович Шпаков — подготовка и корректировка рукописи.

Author Contributions

a. Kira V. Derkach conducted experiments, analysed experimental data, obtained statistical results, prepared supporting material, prepared and proofread the manuscript;

b. Vera M. Bondareva conducted experiments;

c. Nataliia E. Basova analysed experimental data, obtained statistical results, prepared supporting material, prepared the manuscript;

d. Ludmila A. Kuznetsova conducted experiments;

e. Alexander O. Shpakov prepared and proofread the manuscript.

References

- Annie, L., Jeremy, M., Gurusubramanian, G. et al. (2020) Effect of metformin on testicular expression and localization of leptin receptor and levels of leptin in the diabetic mice. *Molecular Reproduction Development*, vol. 87, no. 5, pp. 620–629. <https://doi.org/10.1002/mrd.23342> (In English)
- Badenes, R., Qeva, E., Giordano, G. et al. (2021) Intranasal insulin administration to prevent delayed neurocognitive recovery and postoperative neurocognitive disorder: A narrative review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 18, no. 5, article 2681. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052681> (In English)
- Baker, C., Retzik-Stahr, C., Singh, V. et al. (2021) Should metformin remain the first-line therapy for treatment of type 2 diabetes? *Therapeutic Advances Endocrinology and Metabolism*, vol. 12, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1177%2F2042018820980225> (In English)
- Banks, W. A. (2020) The blood-brain barrier interface in diabetes mellitus: Dysfunctions, mechanisms and approaches to treatment. *Current Pharmaceutical Design*, vol. 26, no. 13, pp. 1438–1447. <https://doi.org/10.2174/1381612826666200325110014> (In English)
- Bhattamisra, S. K., Shin, L. Y., Saad, H. I. B. M. et al. (2020) Interlink between insulin resistance and neurodegeneration with an update on current therapeutic approaches. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, vol. 19, no. 3, pp. 174–183. <https://doi.org/10.2174/1871527319666200518102130> (In English)
- Boucsein, A., Kamstra, K., Tups, A. (2021) Central signalling cross-talk between insulin and leptin in glucose and energy homeostasis. *Journal of Neuroendocrinology*, vol. 33, no. 4, article e12944. <https://doi.org/10.1111/jne.12944> (In English)
- Carvalho, J. B. C., Torsoni, M. A., Ueno, M. et al. (2005) Cross-talk between the insulin and leptin signaling systems in rat hypothalamus. *Obesity Research*, vol. 13, no. 1, pp. 48–57. <https://doi.org/10.1038/oby.2005.7> (In English)
- Costanzo, P. R., Knoblovits, P. (2016) Male gonadal axis function in patients with type 2 diabetes. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, vol. 26, no. 2, pp. 129–134. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2016-0014> (In English)
- Derkach, K. V., Bakhtyukov, A. A., Romanova, I. V. et al. (2020a) The effect of metformin treatment on the basal and gonadotropin-stimulated steroidogenesis in male rats with type 2 diabetes mellitus. *Andrologia*, vol. 52, no. 11, article e13816. <https://doi.org/10.1111/and.13816> (In English)
- Derkach, K. V., Bogush, I. V., Berstein, L. M., Shpakov, A. O. (2015) The influence of intranasal insulin on hypothalamic-pituitary-thyroid axis in normal and diabetic rats. *Hormone and Metabolic Research*, vol. 47, no. 12, pp. 916–924. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1547236> (In English)
- Derkach, K. V., Bondareva, V. M., Shpakov, A. O. (2018) Coadministration of intranasally delivered insulin and proinsulin C-peptide to rats with the types 1 and 2 diabetes mellitus restores their metabolic parameters. *Advances in Gerontology*, vol. 8, no. 2, pp. 140–146. <https://doi.org/10.1134/S2079057018020030> (In English)
- Derkach, K., Zakharova, I., Zorina, I. et al. (2019) The evidence of metabolic-improving effect of metformin in Ay/a mice with genetically-induced melanocortin obesity and the contribution of hypothalamic mechanisms to this effect. *PLoS One*, vol. 14, no. 3, article e0213779. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213779> (In English)

- Derkach, K. V., Zorina, I. I., Zakharova, I. O. et al. (2020b) The influence of intranasally administered insulin and C-peptide on AMP-activated protein kinase activity, mitochondrial dynamics and apoptosis markers in the hypothalamus of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 56, no. 3, pp. 207–217. <https://doi.org/10.1134/S0022093020030035> (In English)
- Fadden, E. J., Longley, C., Mahambrey, T. (2021) Metformin-associated lactic acidosis. *BMJ Case Reports*, vol. 14, no. 7, article e239154. <https://doi.org/10.1136/bcr-2020-239154> (In English)
- Ha, J., Sherman, A. (2020) Type 2 diabetes: One disease, many pathways. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, vol. 319, no. 2, pp. E410–E426. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00512.2019> (In English)
- Hallschmid, M. (2021) Intranasal insulin for Alzheimer's Disease. *CNS Drugs*, vol. 35, pp. 21–37. <https://doi.org/10.1007/s40263-020-00781-x> (In English)
- Hamed, E. A., Zakary, M. M., Ahmed, N. S., Gamal, R. M. (2011) Circulating leptin and insulin in obese patients with and without type 2 diabetes mellitus: Relation to ghrelin and oxidative stress. *Diabetes Research and Clinical Practice*, vol. 94, no. 3, pp. 434–441. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2011.08.023> (In English)
- He, Z., Yin, G., Li, Q. Q. et al. (2021) Diabetes mellitus causes male reproductive dysfunction: A review of the evidence and mechanisms. *In Vivo*, vol. 35, no. 5, pp. 2503–2511. <https://doi.org/10.21873/invivo.12531> (In English)
- Heni, M., Wagner, R., Kullmann, S. et al. (2014) Central insulin administration improves whole-body insulin sensitivity via hypothalamus and parasympathetic outputs in men. *Diabetes*, vol. 63, no. 12, pp. 4083–4088. <https://doi.org/10.2337/db14-0477> (In English)
- Heni, M., Wagner, R., Willmann, C. et al. (2020) Insulin action in the hypothalamus increases second-phase insulin secretion in humans. *Neuroendocrinology*, vol. 110, no. 11–12, pp. 929–937. <https://doi.org/10.1159/000504551> (In English)
- Kalra, S., Aggarwal, S., Khandelwal, D. (2019) Thyroid dysfunction and type 2 diabetes mellitus: Screening strategies and implications for management. *Diabetes Therapy*, vol. 10, no. 6, pp. 2035–2044. <https://doi.org/10.1007/s13300-019-00700-4> (In English)
- Kwon, O., Kim, K. W., Kim, M. S. (2016) Leptin signalling pathways in hypothalamic neurons. *Cellular and Molecular Life Science*, vol. 73, no. 7, pp. 1457–1477. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2133-1> (In English)
- Leisegang, K., Sengupta, P., Agarwal, A., Henkel, R. (2021) Obesity and male infertility: Mechanisms and management. *Andrologia*, vol. 53, no. 1, article e13617. <https://doi.org/10.1111/and.13617> (In English)
- Nna, V. U., Bakar, A. B. A., Ahmad, A., Mohamed, M. (2019) Down-regulation of steroidogenesis-related genes and its accompanying fertility decline in streptozotocin-induced diabetic male rats: ameliorative effect of metformin. *Andrology*, vol. 7, no. 1, pp. 110–123. <https://doi.org/10.1111/andr.12567> (In English)
- Rajjoub Al-Mahdi, E. A., Barrios, V., Zamorano, J. L. (2021) Metformin in the era of new antidiabetics. *Future Cardiology*, vol. 17, no. 3, pp. 475–485. <https://doi.org/10.2217/fca-2020-0195> (In English)
- Scherer, T., Sakamoto, K., Buettner, C. (2021) Brain insulin signalling in metabolic homeostasis and disease. *Nature Reviews. Endocrinology*, vol. 17, no. 8, pp. 468–483. <https://doi.org/10.1038/s41574-021-00498-x> (In English)
- Shpakov, A. O. (2021) Improvement effect of metformin on female and male reproduction in endocrine pathologies and its mechanisms. *Pharmaceuticals*, vol. 14, no. 1, article 42. <https://doi.org/10.3390/ph14010042> (In English)
- Shpakov, A. O. (2016) *Tireoidnaya sistema v norme i pri sakharnom diabete 1-go i 2-go tipov [The thyroid system in normal conditions and in type 1 and 2 diabetes mellitus]*. Saint Petersburg: St. Petersburg and Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University Publ., 222 p. (In Russian)
- Shpakov, A. O., Derkach, K. V. (2018) Molecular mechanisms of the effects of metformin on the functional activity of brain neurons. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 48, no. 8, pp. 969–977. <https://doi.org/10.1007/s11055-018-0657-6> (In English)
- Shpakov, A. O., Derkach, K. V., Berstein, L. M. (2015) Brain signaling systems in the Type 2 diabetes and metabolic syndrome: promising target to treat and prevent these diseases. *Future Science OA*, vol. 1, no. 3, article FSO25. <https://doi.org/10.4155/fso.15.23> (In English)
- Wang, B., Cheng, K. K. (2018) Hypothalamic AMPK as a mediator of hormonal regulation of energy balance. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, no. 11, article 3552. <https://doi.org/10.3390/ijms19113552> (In English)
- Zhang, J., Li, S., Zhang, S. et al. (2020) Effect of icaraside II and metformin on penile erectile function, histological structure, mitochondrial autophagy, glucose-lipid metabolism, angiotensin II and sex hormone in type 2 diabetic rats with erectile dysfunction. *Sexual Medicine*, vol. 8, no. 2, pp. 168–177. <https://doi.org/10.1016/j.esxm.2020.01.006> (In English)



УДК 612.822.3

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-412-419>

Возможный механизм лиганд-рецепторного связывания синтетического трипептида Ac-RRR-NH₂ с мембраной ноцицептивного нейрона

И. В. Рогачевский¹, Д. М. Самосват², А. Д. Калинина¹, Г. Г. Зегря², Б. В. Крылов¹,
С. А. Подзорова¹, В. Б. Плахова¹

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

² Физико-технический институт им. А. Ф. Иоффе РАН,
194021, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 26

Сведения об авторах

Илья Вячеславович
Рогачевский,
Scopus AuthorID: 7004446284,
ResearcherID: ABB-8967-2020,
e-mail: roggie_spb_ru@yahoo.com

Дмитрий Михайлович
Самосват,
Scopus AuthorID: 17346542800,
ResearcherID: D-7396-2015,
e-mail: samosvat@yandex.ru

Арина Дмитриевна Калинина,
SPIN-код: 3272-4921,
Scopus AuthorID: 57035246500,
ResearcherID: ABB-9264-2020,
ORCID: 0000-0002-7587-9924,
e-mail: arinakalinina95@gmail.com

Георгий Георгиевич Зегря,
Scopus AuthorID: 7007102294,
ResearcherID: C-7339-2014,
e-mail: zegrya@theory.ioffe.ru

Борис Владимирович Крылов,
SPIN-код: 3946-6408,
Scopus AuthorID: 56561605100,
ResearcherID: ABD-5044-2020,
ORCID: 0000-0001-5258-1597,
e-mail: krylov@infran.ru

Светлана Александровна
Подзорова,
SPIN-код: 3974-3430,
Scopus AuthorID: 6602224180,
ResearcherID: ABB-8808-2020,
ORCID: 0000-0003-0003-9338,
e-mail: sveap@yandex.ru

Вера Борисовна Плахова,
SPIN-код: 4184-7669,
Scopus AuthorID: 6603237137,
ResearcherID: ABB-8284-2020,
ORCID: 0000-0002-1983-852X,
e-mail: verapl@mail.ru

Для цитирования:

Рогачевский, И. В.,
Самосват, Д. М.,
Калинина, А. Д., Зегря, Г. Г.,
Крылов, Б. В., Подзорова, С. А.,

Аннотация. В мембране ноцицептивного нейрона нами был обнаружен новый сигнальный каскад опиоидоподобный рецептор → Na,K-АТФаза/Src → канал Na_v1.8. Запуск этого каскада приводит к модуляции его эффекторного звена — активационного воротного устройства канала Na_v1.8, причем функцию трансдуктора сигнала выполняет комплекс Na,K-АТФаза/Src. В данном каскаде имеются три мишени, модуляция которых атакуемыми молекулами может вызывать антиноцицептивный ответ на уровне периферической нервной системы. Первой из них является опиоидоподобный рецептор, активируемый рядом производных гамма-пирона. Второй мишенью служит сигнальный комплекс Na,K-АТФаза/Src, трансдукторная функция которого контролируется убаином в наномолярном (эндогенном) концентрационном диапазоне. Третья мишень представляет собой непосредственно молекулу медленного натриевого канала Na_v1.8, точнее, его активационное воротное устройство, которое модулируется аргининсодержащими короткими пептидами. Исследован возможный механизм лиганд-рецепторного связывания аргининсодержащего трипептида Ac-RRR-NH₂ с каналами Na_v1.8 мембраны первичного сенсорного нейрона. Методом локальной фиксации потенциала установлено, что трипептид, действующий с наружной стороны нейрональной мембраны, снижает потенциалочувствительность исследуемых каналов. Выдвинуто предположение о том, что ключевую роль в образовании лиганд-рецепторного комплекса играют положительно заряженные гуанидиновые группы боковых цепей двух аргинильных остатков. Согласно результатам конформационного анализа, расстояния между гуанидиновыми группами в молекуле трипептида превышают 10 Å. Полученные данные позволяют заключить, что исследованный трипептид способен к связыванию с каналом Na_v1.8 по механизму, предложенному ранее для ряда других аргининсодержащих коротких пептидов. Как следствие, трипептид Ac-RRR-NH₂ может претендовать на роль анальгетической лекарственной субстанции.

Ключевые слова: аргининсодержащий трипептид, каналы Na_v1.8, ноцицептивный нейрон, конформационный анализ, метод локальной фиксации потенциала

Плахова, В. Б.
(2021) Возможный механизм лиганд-рецепторного связывания синтетического трипептида Ac-RRR-NH₂ с мембраной ноцицептивного нейрона. *Интегративная физиология*, т. 2, № 4, с. 412–419. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-412-419>

Получена 26 сентября 2021; прошла рецензирование 21 октября 2021; принята 24 октября 2021.

Финансирование:

Исследование не имело финансовой поддержки.

Права: © И. В. Рогачевский, Д. М. Самосват, А. Д. Калинина, Г. Г. Зегря, Б. В. Крылов, С. А. Подзорова, В. Б. Плахова (2021). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии](#) CC BY-NC 4.0.

Possible mechanism of ligand-receptor binding of the synthetic tripeptide Ac-RRR-NH₂ to the nociceptive neuron membrane

I. V. Rogachevskii¹, D. M. Samosvat², A. D. Kalinina¹, G. G. Zegrya², B. V. Krylov¹, S. A. Podzorova¹, V. B. Plakhova¹✉

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

² Ioffe Institute, Russian Academy of Sciences, 26 Politekhnicheskaya Str., Saint Petersburg 194021, Russia

Authors

Ilya V. Rogachevskii,
Scopus AuthorID: 7004446284,
ResearcherID: ABB-8967-2020,
e-mail: roggie_spb_ru@yahoo.com

Dmitriy M. Samosvat,
Scopus AuthorID: 17346542800,
ResearcherID: D-7396-2015,
e-mail: samosvat@yandex.ru

Arina D. Kalinina,
SPIN: 3272-4921,
Scopus AuthorID: 57035246500,
ResearcherID: ABB-9264-2020,
ORCID: 0000-0002-7587-9924,
e-mail: arinakalinina95@gmail.com

Georgy G. Zegrya,
Scopus AuthorID: 7007102294,
ResearcherID: C-7339-2014,
e-mail: zegrya@theory.ioffe.ru

Boris V. Krylov,
SPIN: 3946-6408,
Scopus AuthorID: 56561605100,
ResearcherID: ABD-5044-2020,
ORCID: 0000-0001-5258-1597,
e-mail: krylov@infran.ru

Svetlana A. Podzorova,
SPIN: 3974-3430,

Abstract. The article reports the discovery of a novel signaling cascade opioid-like receptor → Na,K-ATPase/Src → Na_v1.8 channel in the nociceptive neuron membrane. Triggering this cascade results in the modulation of its effector unit—the Na_v1.8 channel activation gating device, whereas the Na,K-ATPase/Src complex performs the signal transducer function. The cascade has three targets. Their modulation by the attacking molecules may evoke an antinociceptive response at the peripheral level. The first target is the opioid-like receptor activated by a number of gamma-pyrone derivatives. The second target is the Na,K-ATPase/Src complex, with its transducer function controlled by ouabain at nanomolar (endogenous) concentrations. The third target is the Na_v1.8 channel activation gating device modulated by arginine-containing short peptides. The article discusses a possible mechanism of ligand-receptor binding of the arginine-containing tripeptide Ac-RRR-NH₂ to the Na_v1.8 channel in the primary sensory neuron membrane. Extracellular application of the tripeptide is shown by the patch-clamp method to decrease the voltage sensitivity of Na_v1.8 channels. Positively charged guanidinium groups of arginine side chains are supposed to play the key role in the ligand-receptor complex formation. The results of conformational analysis demonstrate that the distances between the guanidinium groups in the tripeptide molecule exceed 10 Å. The obtained data lead us to conclude that the studied tripeptide can bind to the Na_v1.8 channel using the mechanism described earlier for a range of other short arginine-containing peptides. In view of the foregoing, the tripeptide Ac-RRR-NH₂ is a promising analgesic.

Keywords: arginine-containing tripeptide, Na_v1.8 channels, nociceptive neuron, conformational analysis, patch-clamp method

Scopus AuthorID: 6602224180,
ResearcherID: ABB-8808-2020,
ORCID: 0000-0003-0003-9338,
e-mail: sveap@yandex.ru

Vera B. Plakhova,
SPIN: 4184-7669,
Scopus AuthorID: 6603237137,
ResearcherID: ABB-8284-2020,
ORCID: 0000-0002-1983-852X,
e-mail: verapl@mail.ru

For citation:

Rogachevskii, I. V.,
Samosvat, D. M., Kalinina, A. D.,
Zegrya, G. G., Krylov, B. V.,
Podzorova, S. A., Plakhova, V. B.
(2021) Possible mechanism
of ligand-receptor binding of the
synthetic tripeptide Ac-RRR-NH₂
to the nociceptive neuron
membrane. *Integrative Physiology*,
vol. 2, no. 4, pp. 412–419.
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-412-419>

Received 26 September 2021;
reviewed 21 October 2021;
accepted 24 October 2021.

Funding: The study received no
financial support.

Copyright: © I. V. Rogachevskii,
D. M. Samosvat, A. D. Kalinina,
G. G. Zegrya, B. V. Krylov,
S. A. Podzorova, V. B. Plakhova
(2021). Published by Herzen State
Pedagogical University of Russia.
Open access under [CC BY-NC](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)
License 4.0

Введение

Согласно одной из принятых теорий ноцицепции, купирование соматосенсорного болевого синдрома объясняется снижением плотности медленных натриевых каналов Na_v1.8 в мембране ноцицептивного нейрона (Catterall 2017). Нами выдвинуто и подтверждено предположение о том, что высокочастотная компонента импульсной активности первичного сенсорного нейрона, несущая в ЦНС информацию о болевом воздействии, контролируется не только плотностью указанных каналов, но и величиной эффективного заряда (Z_{eff}) их активационного воротного устройства. Уменьшение Z_{eff} приводит к «выключению» ноцицептивной компоненты ответа полимодальных рецепторов, а передаваемые ими сигналы других модальностей остаются физиологически адекватными (Krylov et al. 2017). Как следствие, селективные модуляторы функционирования медленных натриевых каналов Na_v1.8 обладают большим потенциалом терапевтического применения в качестве анальгетических лекарствен-

ных субстанций, негативные побочные эффекты которых могут быть минимальными.

В мембране ноцицептивного нейрона нами был обнаружен новый сигнальный каскад опиоидоподобный рецептор → Na,K-АТФаза/Src → канал Na_v1.8 (Крылов и др. 1999; Krylov et al. 2017; Plakhova et al. 2019). Запуск этого каскада приводит к модуляции его эффекторного звена — активационного воротного устройства канала Na_v1.8, причем функцию трансдуктора сигнала выполняет комплекс Na,K-АТФаза/Src.

В данном каскаде имеются три мишени, модуляция которых атакующими молекулами может вызывать антиноцицептивный ответ на уровне периферической нервной системы. Первой из них является опиоидоподобный рецептор, активируемый рядом производных гамма-пирона, в частности коеновой кислотой, являющейся лекарственной субстанцией нового анальгетика Аноцептина[®], успешно прошедшего первую фазу клинических испытаний (Loratina, Polyakov 2011). Второй мишенью служит сигнальный комплекс Na,K-АТФаза/Src, трансдукторная функция которого контроли-

руется убаином в наномолярном (эндогенном) концентрационном диапазоне. Третья мишень представляет собой непосредственно молекулу медленного натриевого канала $Na_v1.8$, точнее, его активационное воротное устройство. Именно оно модулируется аргининсодержащими короткими пептидами, один из которых исследован в настоящей работе методом локальной фиксации потенциала и с помощью конформационного анализа.

Выбор объекта исследования — трипептида Ас-RRR-NH₂, состоящего исключительно из аргинильных остатков, — обусловлен тем, что тончайший механизм связывания коротких пептидов молекулой канала $Na_v1.8$, согласно нашей рабочей гипотезе, основан на образовании межмолекулярных ион-ионных связей с участием положительно заряженных гуанидиновых групп боковых цепей аргинильных остатков молекул атакующих пептидов. При этом указанные группы должны находиться на строго определенном расстоянии друг от друга. Именно в этот момент конформация исследуемого агента становится продуктивной, что и приводит к лиганд-рецепторному связыванию. Молекула трипептида Ас-RRR-NH₂ не содержит иных аминокислотных остатков, кроме аргинильных, поэтому обнаружение способности данной молекулы модулировать активационное воротное устройство медленного натриевого канала $Na_v1.8$ позволит верифицировать разрабатываемую нами гипотезу.

Настоящая работа посвящена изучению способности трипептида Ас-RRR-NH₂ вызывать снижение величины эффективного заряда, переносимого активационным воротным устройством при открывании канала $Na_v1.8$. Далее на основании результатов полного конформационного анализа будет осуществлен поиск структурного параметра указанной молекулы, который коррелирует с ее способностью модулировать функциональную активность медленного натриевого канала и, соответственно, регулировать ноцицептивную компоненту ответов полимодальных рецепторов.

Методы исследования

Метод локальной фиксации потенциала

Эксперименты проводили с помощью метода локальной фиксации потенциала (patch-clamp method) в конфигурации «регистрация активности целой клетки» (whole-cell) (Hamill et al. 1981). Объектом исследования являлись культивируемые изолированные сенсорные нейроны,

выделенные из областей L₅-S₁ ганглиев спинного мозга новорожденных крысят линии *Wistar*. Культивирование изолированных нейронов в течение двух часов в стандартных питательных средах с использованием CO₂-инкубатора позволило получить интактные клетки. Подробно метод получения этих нейронов описан ранее (Krylov et al. 2017; Penniayunen et al. 2019; Plakhova et al. 2019). В работе использовали стандартные растворы (Penniayunen et al. 2019; Plakhova et al. 2019). Реактивы приобретали в фирме Sigma (США).

Исследуемый трипептид Ас-RRR-NH₂ был синтезирован фирмой ООО «НПФ Верта» методом классического пептидного синтеза, для которого применяли реактивы и производные аминокислот фирм Sigma (США), IrisBiotechGmbH (Германия). Конечный продукт характеризовали с помощью аналитической ВЭЖХ (чистота > 95%) и масс-спектрометрии.

Количественное измерение эффективного заряда (Z_{eff}), переносимого активационным воротным устройством при открывании каналов $Na_v1.8$, осуществляли по методу Алмерса (Almers 1978). Этот подход подробно описан в наших предыдущих работах (Krylov et al. 2017; Penniayunen et al. 2019; Plakhova et al. 2019).

Конформационный анализ

Конформационный анализ молекулы трипептида Ас-RRR-NH₂ проводили в программе TINKER (Rackers et al. 2018). Стартовая конформация была получена в программе AVOGADRO (Hanwell et al. 2012) посредством полной оптимизации геометрических параметров молекулы трипептида в вакууме с применением силового поля MMFF94 (Halgren 1996). Данное силовое поле также использовали для проведения конформационного анализа при значении диэлектрической проницаемости среды $\epsilon = 10.0$ (моделировали свойства среды в момент лиганд-рецепторного связывания атакующей молекулы пептида с молекулой канала $Na_v1.8$). Парциальные заряды на атомах соответствовали параметризации силового поля. Конформационный анализ был выполнен с помощью алгоритма итеративной серии локальных поисков по направлениям нормальных мод (low-mode conformational search) (Kolossváry, Guida 1999). Учет растворителя осуществляли по неявной схеме с использованием подхода сольватной ячейки GBSA (Mongan et al. 2007). Гуанидиновые группы боковых цепей аргинильных остатков (R) рассматривали в заряженном виде, поскольку указанные группы остаются протонированными даже в толще белка (Fitch et al. 2015).

Общий заряд молекулы являлся равным +3. В процессе конформационного анализа были минимизированы энергии 100 000 конформаций. Для последующей статистической обработки были отобраны только те из них, энергии которых не превышали 7 ккал/моль относительно глобального минимума. Конформационный анализ осуществляли с использованием мощностей суперкомпьютерной системы «РСК МикроЦОД» ФТИ РАН, благодаря чему все расчеты были проведены за 14 дней.

Статистическая обработка

Статистическую обработку полученных результатов выполняли в программе STATISTICA 10.0 (StatSoft, США) с использованием *t*-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Различия принимали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Способность молекулы трипептида Ac-RRR-NH₂ модулировать возбудимость мембраны ноцицепторов, а именно, снижать потенциалочувствительность медленных натриевых каналов Na_v1.8, была исследована методом локальной фиксации потенциала. Данные, полученные этим методом, позволяют на молекулярном уровне экспериментально проверить справедливость тех предсказаний, которые основаны на квантовохимических расчетах. Подобный подход был использован нами ранее для выяснения возможных механизмов лиганд-рецепторного связывания атакующих молекул с мембраной ноцицептивного нейрона (Krylov et al. 2017; Plakhova et al. 2021; Rogachevsky et al. 2021). В его основе, как было отмечено выше, лежит метод Алмерса (Almers 1978), модифицированный нами для количественного исследования величины эффективного заряда (Z_{eff}) активационного воротного устройства каналов Na_v1.8 мембраны ноцицептивного нейрона. Именно этот параметр определяет потенциалочувствительность указанных каналов. Его снижение приводит к снижению возбудимости ноцицептивного нейрона, а агенты, вызывающие этот эффект, могут претендовать на роль анальгетиков. В результате проведенного исследования установлено, что трипептид Ac-RRR-NH₂ в концентрации 100 нмоль/л статистически достоверно снижает величину эффективного заряда с контрольного значения $Z_{\text{eff}} = 6,5 \pm 0,4$ ($n = 12$) до $Z_{\text{eff}} = 4,7 \pm 0,3$ ($n = 15$). Для получения более детальных представлений о молекулярном механизме взаимодействия изучаемого трипеп-

тида со своей мембранной мишенью требуется применение конформационного анализа.

В рассматриваемой молекуле отсутствуют фармакофорные группы, за исключением положительно заряженных гуанидиновых групп боковых цепей аргинильных остатков. Следовательно, лиганд-рецепторный комплекс молекулы Ac-RRR-NH₂ должен быть стабилизирован посредством межмолекулярных ион-ионных связей с участием этих групп и нуклеофильных функциональных групп в составе молекулы канала Na_v1.8. Логично предположить, что гуанидиновые группы находятся на определенном расстоянии друг от друга для достижения элементарности атакующей молекулы своему сайту связывания на молекуле канала.

В качестве параметра, описывающего указанное расстояние, было выбрано расстояние между атомами углерода, входящими в состав гуанидиновых групп, поскольку положение данных атомов примерно соответствует геометрическим центрам этих групп, положительный заряд которых делокализован по трем атомам азота. Задачей проведения конформационного анализа являлся анализ величин расстояний между гуанидиновыми группами боковых цепей аргинильных остатков в ансамбле низкоэнергетических конформаций молекулы трипептида.

Пространственное строение наиболее низкой по энергии из полученных конформаций молекулы Ac-RRR-NH₂ приведено на рисунке 1. В ансамбль, в рамках которого производилось определение величин расстояний между гуанидиновыми группами, вошло около 15 200 конформаций. Согласно результатам расчетов, расстояния R¹-R², R¹-R³ и R²-R³ составляют $10,6 \pm 2,6$, $10,9 \pm 2,6$ и $9,6 \pm 3,4$ Å соответственно. Геометрические центры гуанидиновых групп образуют приблизительно равносторонний треугольник вследствие электростатического отталкивания этих положительно заряженных функциональных групп и благодаря значительной конформационной свободе протяженных боковых цепей аргинильных остатков, что позволяет гуанидиновым группам расположиться практически равноудаленно друг от друга.

Используемый нами методологический подход был применен ранее для исследования способности ряда аргининсодержащих коротких пептидов модулировать активационное воротное устройство канала Na_v1.8 (Rogachevsky et al. 2021). В цитируемой работе было высказано предположение, что для проявления пептидами этого физиологического эффекта расстояние между гуанидиновыми группами должно пре-

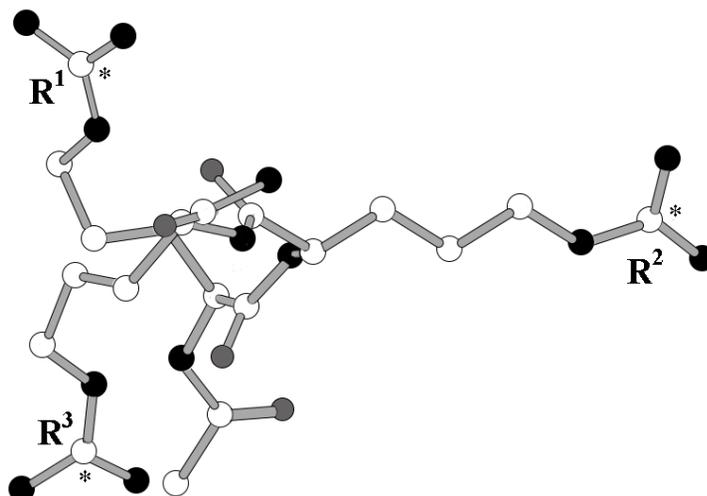


Рис. 1. Пространственное строение наиболее низкоэнергетической конформации молекулы трипептида Ac-RRR-NH₂. Белые шары — атомы углерода, серые шары — атомы кислорода, черные шары — атомы азота. Приведена нумерация аминокислотных остатков. Атомы углерода гуанидиновых групп боковых цепей аргинильных остатков отмечены звездочками. Атомы водорода не показаны

Fig. 1. Spatial structure of the lowest energy conformation of the tripeptide Ac-RRR-NH₂ molecule. White spheres—carbon atoms, gray spheres—oxygen atoms, black spheres—nitrogen atoms. The amino acid residues are enumerated. Carbon atoms of the guanidinium groups of arginine side chains are labeled with asterisks. Hydrogen atoms are not shown

вышать определенное пороговое значение, составляющее примерно 10 Å. Как оказывается, два из трех расстояний в ансамбле низкоэнергетических конформаций молекулы трипептида Ac-RRR-NH₂ соответствуют данному критерию, при этом третье расстояние весьма близко к соответствию.

Обсуждение

В настоящее время в арсенале практической медицины отсутствуют полностью безопасные анальгетические препараты, способные заменить опиаты при лечении болевых синдромов различного генеза. Для решения этой проблемы необходимо, на наш взгляд, найти принципиально новую молекулярную мишень в ноцицептивном нейроне, специфическая модуляция функциональной активности которой могла бы привести к антиноцицептивному эффекту на организменном уровне. В качестве такой мишени сегодня рассматриваются каналы Na_v1.8 (Bagal et al. 2015; Bennett et al. 2019; Jarvis et al. 2007). Однако снижение функциональной активности указанных каналов посредством прямого их блокирования редко оказывается абсолютно безопасным: применяемые атакующие молеку-

лы обычно связываются и с другими жизненно важными клеточными белками, что приводит к негативным побочным эффектам. Можно отметить, что значительным достижением в настоящее время является обнаружение эндоморфинов — эндогенных субстанций пептидной природы, способных с высочайшей эффективностью модулировать опиоидергическую систему (Zadina et al. 1997). Тем не менее оказалось, что эндоморфины не способны эффективно модулировать каналы Na_v1.8: их эффект проявлялся только при воздействии с внутренней стороны мембраны (Katina et al. 2003).

Поиск эффективных и безопасных анальгетиков пока не завершился успехом: косвенным свидетельством этому является отсутствие в мировой литературе данных о проведенных клинических исследованиях субстанций, способных заменить опиаты. Видимо, это связано с тем, что на организменном уровне все исследуемые агенты не оказались полностью безопасными.

Предлагаемый нами подход основан на обнаружении тончайшего механизма модуляции каналов Na_v1.8, который запускается благодаря образованию ион-ионных связей между молекулой канала и двумя гуанидиновыми группами

аргинильных остатков исследованного трипептида. Основным результатом настоящей работы является подтверждение высказанной нами ранее гипотезы о том, что существует минимальное пороговое значение расстояния между гуанидиновыми группами в молекулах аргининсодержащих коротких пептидов, определяющее их способность модулировать активационное воротное устройство канала $\text{Na}_v1.8$ и примерно равное 10 \AA . Можно предположить, что разрабатываемый нами подход окажется перспективным при создании новых анальгетиков пептидной природы, способных заменить опиаты для лечения хронической боли.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Вклад авторов

а. Рогачевский Илья Вячеславович — постановка задачи математического моделирования, проведение конформационного анализа, подготовка иллюстративного материала;

б. Самосват Дмитрий Михайлович — проведение квантовохимических расчетов, участие в подготовке статьи;

с. Калинина Арина Дмитриевна — получение и обработка экспериментальных данных;

д. Зегря Георгий Георгиевич — планирование эксперимента, участие в постановке задачи, обсуждение экспериментальных данных;

е. Крылов Борис Владимирович — постановка задачи, осуществление общего руководства исследованием;

ф. Подзорова Светлана Александровна — обработка данных, подготовка иллюстративного материала;

г. Плахова Вера Борисовна — постановка задачи экспериментальной части исследования, получение экспериментальных данных с использованием метода локальной фиксации потенциала.

Author Contributions

a. Ilya V. Rogachevskii developed the computational protocol, conducted conformational analysis, prepared supporting material, contributed to the article writing;

b. Dmitriy M. Samosvat conducted conformational analysis, contributed to the article writing;

c. Arina D. Kalinina processed the experimental data, contributed to the article writing and selection of literature;

d. Georgy G. Zegrya planned the experiment and analysed its results;

e. Boris V. Krylov lead the experiment;

f. Svetlana A. Podzorova processed mathematical data, prepared supporting material;

g. Vera B. Plakhova planned and conducted the patch-clamp experiment, analysed experimental data.

References

- Almers, W. (1978) Gating currents and charge movements in excitable membranes. In: *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*. Vol. 82. Berlin: Springer Publ., pp. 96–190. <https://doi.org/10.1007/BFb0030498> (In English)
- Bagal, S. K., Bungay, P. J., Denton, S. M. et al. (2015) Discovery and optimization of selective Nav1.8 modulator series that demonstrate efficacy in preclinical models of pain. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, vol. 6, no. 6, pp. 650–654. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.5b00059> (In English)
- Bennett, D. L., Clark, A. J., Huang, J. et al. (2019) The role of voltage-gated sodium channels in pain signaling. *Physiological Reviews*, vol. 99, no. 2, pp. 1079–1151. <https://doi.org/10.1152/physrev.00052.2017> (In English)
- Catterall, W. A. (2017) Forty years of sodium channels: Structure, function, pharmacology, and epilepsy. *Neurochemical Research*, vol. 42, pp. 2495–2504. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2314-9> (In English)
- Fitch, C. A., Platzer, G., Okon, M. et al. (2015) Arginine: Its pK_a value revisited. *Protein Science*, vol. 24, no. 5, pp. 752–761. <https://doi.org/10.1002/pro.2647> (In English)
- Halgren, T. A. (1996) Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. *Journal of Computational Chemistry*, vol. 17, no. 5–6, pp. 490–519. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(199604\)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P) (In English)
- Hamill, O. P., Marty, A., Neher, E. et al. (1981) Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Archiv. European Journal of Physiology*, vol. 391, no. 2, pp. 85–100. <https://doi.org/10.1007/BF00656997> (In English)
- Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C. et al. (2012) Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, vol. 4, no. 1, article. 17. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17> (In English)

- Jarvis, M. F., Honore, P., Shieh, C.-C. et al. (2007) A-803467, a potent and selective Nav1.8 sodium channel blocker, attenuates neuropathic and inflammatory pain in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, vol. 104, no. 20, pp. 8520–8525. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611364104> (In English)
- Katina, I. E., Shchegolev, B. F., Zadina, D. E. et al. (2003) Ingibiruyushchee dejstvie endomorfina na potentsialozavisimye natrievye toki senzornykh neyronov [Endomorphins inhibit currents through voltage-dependent sodium channels]. *Sensornye Sistemy — Sensory Systems*, vol. 17, no. 1, pp. 7–23. (In Russian)
- Kolossváry, I., Guida, W. C. (1999) Low mode conformational search elucidated: application to C₃₉H₈₀ and flexible docking of 9-deazaguanine inhibitors into PNP. *Journal of Computational Chemistry*, vol. 20, no. 15, pp. 1671–1684. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(19991130\)20:15<1671::AID-JCC7>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19991130)20:15<1671::AID-JCC7>3.0.CO;2-Y) (In English)
- Krylov, B. V., Derbenev, A. V., Podzorova, S. A. et al. (1999) Morfin umen'shaet chuvstvitel'nost' k potentsialu medlennykh natrievykh kanalov [Morphine decreases the voltage sensitivity of the slow sodium channels]. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 85, no. 2, pp. 225–236. (In Russian)
- Krylov, B. V., Rogachevskii, I. V., Shelykh, T. N., Plakhova, V. B. (2017) *Frontiers in pain science. Vol. 1. New non-opioid analgesics: Understanding molecular mechanisms on the basis of patch-clamp and chemical studies*. Sharjah: Bentham Science Publ., 203 p. <https://doi.org/10.2174/97816080593001170101> (In English)
- Lopatina, E. V., Polyakov, Yu. I. (2011) Sinteticheskij anal'getik anoceptin: rezul'taty doklinicheskikh i klinicheskikh issledovanij [Synthetic analgesic Anoceptin: Results of preclinical and clinical studies]. *Efferentnaya terapiya*, vol. 17, no. 3, pp. 79–81. (In Russian)
- Mongan, J., Simmerling, C., McCammon, J. A. et al. (2007) Generalized Born model with a simple, robust molecular volume correction. *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 3, no. 1, pp. 156–169. <https://doi.org/10.1021/ct600085e> (In English)
- Penniyaynen, V. A., Plakhova, V. B., Rogachevsky, I. V. et al. (2019) Molecular mechanisms and signaling by comenic acid in nociceptive neurons influence the pathophysiology of neuropathic pain. *Pathophysiology*, vol. 26, no. 3–4, pp. 245–252. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2019.06.003> (In English)
- Plakhova, V. B., Penniyaynen, V. A., Yachnev, I. L. et al. (2019) Src kinase controls signaling pathways in sensory neuron triggered by low-power infrared radiation. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 97, no. 5, pp. 400–406. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2018-0602> (In English)
- Plakhova, V. B., Rogachevskii, I. V., Penniyaynen, V. A. et al. (2021) Modulation of voltage sensitivity of slow sodium channels by a synthetic cyclic peptide. *Human Physiology*, vol. 47, no. 5, pp. 575–581. (In English)
- Rackers, J. A., Wang, Z., Lu, C. et al. (2018). Tinker 8: Software tools for molecular design. *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 14, no. 10, pp. 5273–5289. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.8b00529> (In English)
- Rogachevsky, I. V., Kalinina, A. D., Penniyaynen, V. A. et al. (2021) A possible mechanism of modulation of slow sodium channels in the sensory neuron membrane by short peptides. *Biophysics*, vol. 66, no. 4, pp. 579–588. <https://doi.org/10.1134/S0006350921040205> (In English)
- Zadina, J. E., Hackler, L., Ge, L. J., Kastin, A. J. (1997) A potent and selective endogenous agonist for the μ -opiate receptor. *Nature*, vol. 386, no. 6624, pp. 499–502. <https://doi.org/10.1038/386499a0> (In English)



УДК 612

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-420-425>

Самооценка влияния спелеоклиматотерапии на организм человека

В. А. Семилетова^{✉1}, Е. В. Дорохов¹

¹ Воронежский государственный медицинский университет им. Н. Н. Бурденко Минздрава России,
394036, Россия, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10

Сведения об авторах

Вера Алексеевна Семилетова,
SPIN-код: 8330-0064,
ORCID: 0000-0001-7802-6436,
e-mail: vera2307@mail.ru

Евгений Владимирович
Дорохов,
SPIN-код: 7464-1264,
ORCID: ID0000-0002-2096-411X,
e-mail: dorofov@mail.ru

Для цитирования:

Семилетова, В. А., Дорохов, Е. В.
(2021) Самооценка влияния
спелеоклиматотерапии
на организм человека.

Интегративная физиология,
т. 2, № 4, с. 420–425.

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-420-425>

Получена 9 июля 2021; прошла
рецензирование 5 сентября
2021; принята 14 сентября 2021.

Финансирование:

Исследование не имело
финансовой поддержки.

Права: © В. А. Семилетова,
Е. В. Дорохов (2021).

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

Аннотация. Исследовано влияние спелеоклиматотерапии на организм человека по данным анкетирования (анкета разработана на кафедре нормальной физиологии Воронежского государственного медицинского университета им. Н. Н. Бурденко). В исследовании приняли участие 29 студентов-добровольцев 2 курса ВГМУ им. Н. Н. Бурденко. Курс спелеоклиматотерапии состоял из 10 сеансов по 60 минут и проводился в стационарной наземной спелеокамере кафедры нормальной физиологии ВГМУ при температуре 18–22 °С. Испытуемым была предложена анкета, которая состояла из вопросов, позволяющих оценить свое состояние во время спелеоклиматотерапии (по дням) и общий результат оздоровления. Анализ полученных данных проведен с помощью программного пакета Excel, 16 версии. Согласно результатам, несмотря настораживающие симптомы в период прохождения спелеоклиматотерапии, 85% испытуемых отметили положительные изменения в функциональном состоянии, 15% — не отметили никаких изменений. Ни один обследуемый не отметил отрицательного влияния спелеоклиматотерапии на свое самочувствие и функциональное состояние, хотя по результатам наших предыдущих исследований выявлено неоднозначное влияние спелеоклимата на ЭЭГ, иммунную и сердечно-сосудистую систему человека. Это является наиболее важным мотивационным аспектом изучения внутренних тонких механизмов воздействия спелеоклимата на здоровье человека, поскольку не всегда субъективная оценка состояния здоровья соответствует происходящим в системах, органах и тканях изменениям.

Ключевые слова: спелеоклиматотерапия, спелеокамера, спелеоклимат, симптом, организм человека, немедикаментозный метод, восстановление здоровья

Self-assessment of the influence of speleoclimatotherapy on the human body

V. A. Semiletova^{✉1}, E. V. Dorokhov¹

¹ Voronezh State Medical University named after N. N. Burdenko, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 10 Studencheskaya Str., Voronezh 394036, Russia

Authors

Vera A. Semiletova,
SPIN: 8330-0064,
ORCID: 0000-0001-7802-6436,
e-mail: vera2307@mail.ru

Evgeny V. Dorokhov,
SPIN: 7464-1264,
ORCID: ID0000-0002-2096-411X,
e-mail: dorofov@mail.ru

For citation:

Semiletova, V. A., Dorokhov, E. V. (2021) Self-assessment of the influence of speleoclimatotherapy on the human body. *Integrative Physiology*, vol. 2, no. 4, pp. 420–425. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-420-425>

Received 9 July 2021;
reviewed 5 September 2021;
accepted 14 September 2021.

Funding: The study received no financial support.

Copyright: © V. A. Semiletova, E. V. Dorokhov (2021). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The influence of speleoclimatotherapy on the human body was investigated using questionnaire data. The study involved 29 volunteer 2nd year of Voronezh State Medical University named after N. N. Burdenko. The course of speleoclimatotherapy consisted of 10 sessions of 60 minutes each and was carried out in a stationary surface speleological chamber at a temperature of 18–22 °C. The subjects were offered a questionnaire to assess their condition during speleoclimatotherapy (each specific day) and the overall results of the treatment. The analysis of the data obtained was carried out using the Excel version 16. According to the results, despite the alarming symptoms the subjects experienced during the speleoclimatotherapy treatment itself, 85% of them noted positive changes in their functional state, while 15% did not notice any changes. None of the patients reported a negative effect of speleoclimatotherapy on their well-being or functional state, despite our previous findings indicating a mixed effect of speleoclimate on the EEG, immune and cardiovascular system of the person undergoing the treatment. This is a key motivation for further study into the subtle internal mechanisms of the impact of speleoclimate on human health, since the subjective assessment of one's state of health does not always correspond to the changes occurring in human systems, organs and tissues.

Keywords: speleoclimatotherapy, speleochamber, speleoclimate, symptom, human body, non-drug treatment, health restoration

Введение

Спелеоклиматотерапия как немедикаментозный метод сохранения и укрепления здоровья человека в последние годы приобрела небывалую популярность. Спелеокамеры открыты в поликлиниках, санаториях, на предприятиях. Взрослое и детское население активно оздоравливается после перенесенных сезонных вирусных бронхолегочных заболеваний, проходит профилактическое лечение.

На кафедре нормальной физиологии ВГМУ им. Н. Н. Бурденко с 2006 года проводится изучение воздействия спелеоклиматотерапии на организм человека: кровь, сердечно-сосудистую, дыхательную, иммунную системы, центральную нервную систему. Выявленные нами и коллегами по «научному цеху» механизмы позволяют рекомендовать спелеоклиматотерапию для оздоровления желающих после детального обследования и консультации специалиста (Вавилова и др. 2009; Дорохов и др. 2021; Семилетова 2021).

В связи с вышесказанным целью данного исследования стало изучение влияния спелеоклиматотерапии на организм человека по данным анкетирования, где испытуемые сами оценивали свое состояние во время и после курса спелеоклиматотерапии.

Методы исследования

В исследовании приняли участие 29 студентов-добровольцев 2 курса ВГМУ им. Н. Н. Бурденко, возраст 18–20 лет (21 девушка и 8 юношей). Курс спелеоклиматотерапии состоял из 10 сеансов по 60 минут и проводился в стационарной наземной спелеокамере при температуре 18–22 °C (рис. 1). Параметры спелеокамеры приведены на рисунке 2.

Критериями включения в группу явились отсутствие острого периода вирусной или бактериальной инфекции, отсутствие психических и всех форм наркозависимости, отсутствие заболеваний крови, туберкулеза легких в активной стадии, раковых заболеваний, отсутствие

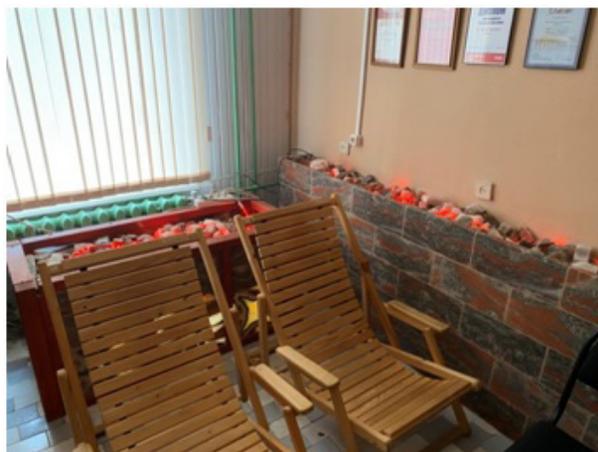


Рис. 1. Спелеокамера на кафедре нормальной физиологии ВГМУ им. Н. Н. Бурденко (фото В. А. Семилетовой, 2020)

Fig. 1. Speleochamber at the Department of Normal Physiology at VSMU named after N. N. Burdenko (photo by V. A. Semiletova, 2020)

394006 г. Воронеж
пер. Муравьева, 16
ИНН КЛШ: 3662059298-366201001
ОГРН: 1023601567450
Тел: (473) 240-02-12;
Факс: (473) 222-68-31
www.speleokamera.com
E-mail: klimat@vmail.ru

ООО «Климат-Черноземье»
Сильвинитовые спелеоклиматические камеры,
спелеоконматы и солефилитры
- Поставка - Монтаж - Сервис

Протокол параметров лечебной воздушной среды.

В спелеокамере ВГМУ им. Бурденко.
Постройка – октябрь 2006 г., рабочая площадь спелеокамеры – 14 м².

Требования «Методических рекомендаций по лечению в спелеоклиматической камере из натуральных калийно-магниевых солей Верхнекамского месторождения» Минздрава РФ от 28.04.94 г.	Фактические данные (по результатам измерений)	
	До проведения сервисного обслуживания	После проведения сервисного обслуживания
- температура воздуха: в пределах 14-22 °С	22	
- относительная влажность воздуха: в пределах 40-75 %	65	
- подвижность воздуха: порядка 0,01-0,1 м/с	0,1	
- содержание отрицательных аэроионов: от 800 – 1200 е/см ³	987	
- содержание положительных аэроионов, е/см ³	834	
- максимально допустимые дозы радиации для населения от природных источников - 50 мкР в час (из СанПиН 2.6.1.2523-09 (НРБ 99/2009).	17	

Дата «09» июня 2021 г.

Директор ООО «Климат-Черноземье» _____
Иванов И.В.

21 год успешной работы!

8 (473) 240-02-12
222-68-31;
klimat@vmail.ru
www.speleokamera.com

Рис. 2. Параметры лечебной воздушной среды спелеокамеры на кафедре нормальной физиологии ВГМУ им. Н. Н. Бурденко (поверка спелеокамеры от производителя, 2021 год)

Fig. 2. Parameters of the healing air of the speleochamber at the Department of Normal Physiology at Voronezh State Medical University named after N. N. Burdenko (verification of a speleological chamber from the manufacturer, 2021)

беременности, обострения хронических заболеваний, изменения анатомии носовых ходов.

Испытуемым была предложена анкета, которая состояла из вопросов, позволяющих оценить свое состояние во время спелеоклиматотерапии (по дням) и общий результат оздоровления. Анализ полученных данных проведен с помощью программного пакета Excel, 16 версии.

Результаты и обсуждение

Выявлено, что 11 (37,93%) испытуемых ощущали привкус соли, преимущественно в первые дни терапии; 7 (24,14%) студентов ощущали головокружение. У 3 (10,34%) студентов появился кашель, прошедший по окончании курса, 3 студента (10,34%) отметили изменение вкуса и (или) запаха. По 2 (6,89%) испытуемых отметили замедление двигательных реакций или учащенное сердцебиение в условиях спелеокамеры (симптомы проходили через 10–15 мин после окончания сеанса). Редкими симптомами были сонливость, расслабленное состояние, «мушки перед глазами» (рис. 3).

Отмеченные симптомы преимущественно наблюдались в первые три дня спелеоклиматотерапии, и затем проходили, редко проявляясь в течение всего курса терапии. При этом



Рис. 3. Самооценка общего самочувствия пациентов (условно здоровые взрослые лица) при прохождении курса спелеоклиматотерапии (%)

Fig. 3. Self-assessment of the general well-being of patients (conditionally healthy adults) during the course of speleoclimatotherapy (%)

сонливость, головокружение и кашель проявлялись только с 3–4-го дня. Общее время проявление симптомов указано на рисунке 4.

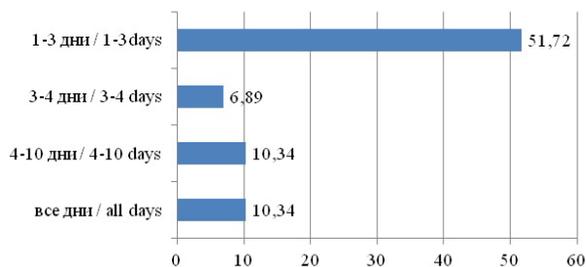


Рис. 4. Время проявления симптомов при самооценке общего самочувствия пациентов при прохождении курса спелеоклиматотерапии

Fig. 4. Time of symptom manifestation in self-assessment of the general well-being of patients during the course of speleoclimatotherapy

И все же, несмотря на некоторые тревожные симптомы в период прохождения курса спелеоклиматотерапии, по окончании спелеоклиматотерапии испытуемые отмечали улучшение общего самочувствия (17 испытуемых, 58,61%), улучшение сна (8 человек, 37,93%), улучшение работоспособности (7 человек, 24,14%), уменьшение раздражительности и уменьшение аллергических проявлений (5 человек, 13,3%) (рис. 5).



Рис. 5. Самооценка общего самочувствия пациентов (условно здоровые взрослые лица) после окончания курса спелеоклиматотерапии

Fig. 5. Self-assessment of the general well-being of patients (conditionally healthy adults) after the course of speleoclimatotherapy

В целом 85% испытуемых отметили положительные изменения в функциональном состоянии, 15% не отметили никаких изменений. И ни один пациент не отметил отрицательного влияния спелеоклиматотерапии на свое самочувствие и функциональное состояние, хотя по результатам наших предыдущих исследований выявлено неоднозначное влияние спелеоклимата на ЭЭГ, иммунную и сердечно-сосудистую систему человека (около 30% результатов можно оценить как негативное воздействие) (Жоголева и др. 2007, 283–284; Есауленко и др. 2015, 50–57; Семилетова 2021, 53–59).

Поскольку спелеокамера имеет свой относительно стабильный микроклимат, комплексное воздействие факторов этого микроклимата на организм человека осуществляется согласно концепции гормезиса. Согласно этой концепции, увеличение интенсивности какого-либо внешнего фактора (в данном случае микроклимата спелеокамеры) стимулирует компенсаторно-приспособительные силы организма, и, по механизмам общего адаптационного синдрома Г. Селье (Селье 1979), способствует адаптации организма к новым условиям. В данном случае стадия тревоги, которая формируется в ответ на воздействие новых условий микроклимата, сменяется фазой сопротивления со стойким переходом организма на качественно новый уровень функционирования. Стадия резистентности в контексте общего адаптационного синдрома сопровождается неспецифическими реакциями иммунной системы, приводящими к иммуностимуляции. Организм проходит все стадии стресса под действием спелеоклимата, поэтому на 3–5-й день спелеоклиматотерапии мы видим обострение симптомов. К 10-му дню происходит адаптация к новому микроклимату, и симптомы нивелируются. При этом особое внимание следует обратить на антистрессорную роль ионов магния, которая связана с их участием в синтезе эндогенных опиатов как компонентов стресс-лимитирующей системы. Кроме того, положительный эмоциональный фон, который формируется в условиях необычной среды в спелеоклиматических камерах, оказывает свое собственное антистрессовое действие (Есауленко и др. 2015). К 7-му дню после окончания спелеоклиматотерапии организм адаптируется к снижению аэроионов, эта адаптация проходит уже легче и сопровождается дополнительной перестройкой физиологических систем в организме.

Выводы

Следовательно, несмотря на реальные внутренние механизмы воздействия спелеоклиматотерапии на организм человека (как положительные, так и отрицательные, по ЭЭГ, ЭКГ, РЕО и прочим параметрам организма), внешние проявления физического и ментального состояния ощущались испытуемыми как положительные.

По этой причине спелеоклиматотерапия в условиях доступности становится таким популярным методом оздоровления человека. Но именно это и является наиболее важным мотивационным аспектом изучения внутренних тонких механизмов воздействия спелеоклимата на здоровье человека, поскольку стрессорная реакция в период спелеоклиматотерапии не всегда положительна для организма, и не всегда субъективная оценка состояния здоровья соответствует происходящим в системах, органах и тканях изменениям.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Вклад авторов

Семилетова В. А. — организация и проведение исследования, обработка материала, написание статьи.

Дорохов Е. В. — написание статьи.

Author Contributions

V. A. Semiletova: organizing and conducting research, processing the material, writing the article.

E. V. Dorokhov: writing the article.

Литература

- Вавилова, В. П., Вавилов, А. М., Нечаева, И. А. и др. (2009) Эффективность спелеоклиматотерапии при совместной реабилитации часто болеющих детей и их родителей. *Мать и дитя в Кузбассе*, № 1 (36), с. 41–44.
- Дорохов, Е. В., Горбатенко, Н. П., Яковлев, В. Н., Япрынцева О. А. (2012) Системный анализ variability сердечного ритма у студентов в условиях информационного стресса и корректирующие возможности спелеоклиматотерапии. *Вестник новых медицинских технологий*, т. 19, № 2, с. 129–132.
- Есауленко, И. Э., Дорохов, Е. В., Горбатенко, Н. П. и др. (2015) Эффективность спелеоклиматотерапии у студентов в состоянии хронического стресса. *Экология человека*, т. 22, № 7, с. 50–57. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2015-7-50-57>
- Жоголева, О. А., Дорохов, Е. В., Карпова, А. В., Яковлев В. Н. (2007) Некоторые механизмы воздействия спелеоклиматических факторов на иммунный статус человека. *Электронный научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке»*, т. 9, № 8, с. 283–284.
- Селье, Г. (1979) *Стресс без дистресса*. М.: Прогресс, 124 с.
- Семилетова, В. А. (2021) Изменение мощностных характеристик биоэлектрической активности мозга человека под влиянием спелеоклиматотерапии. *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Познание*, № 1, с. 53–59. <https://doi.org/10.37882/2500-3682.2021.01.14>
- Семилетова, В. А., Дорохов, Е. В., Нечаева, М. С. (2021) Влияние спелеоклиматотерапии на фоновую ЭЭГ активность головного мозга человека. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*, № 1 (77), с. 116–120. [https://doi.org/10.19163/1994-9480-2021-1\(77\)-116-120](https://doi.org/10.19163/1994-9480-2021-1(77)-116-120)

References

- Dorokhov, E. V., Gorbatenko, N. P., Yakovlev, V. N., Yapryntseva, O. A (2012) Sistemnyj analiz variabel'nosti serdechnogo ritma u studentov v usloviyakh informatsionnogo stressa i korriruyushchie vozmozhnosti speleoklimatoterapii [System analysis of heart rate variability of students in the stress of information and opportunities speleoklimatoterapii]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologij — Journal of New Medical Technologies*, vol. 19, no. 2, pp. 129–132. (In Russian)
- Esaulenko, I. E., Dorokhov, E. V., Gorbatenko, N. P. et al. (2015) Effektivnost' speleoklimatoterapii u studentov v sostoyanii khronicheskogo stressa [Efficacy of speleoclimatotherapy in students under chronic stress]. *Ekologiya cheloveka — Human Ecology*, vol. 22, no. 7, pp. 50–57. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2015-7-50-57> (In Russian)
- Selye, H. (1979) *Stress bez distressa [Stress without distress]*. Moscow: Progress Publ., 124 p.
- Semiletova, V. A. (2021) Izmenenie moshchnostnykh kharakteristik bioelektricheskoy aktivnosti mozga cheloveka pod vliyaniem speleoklimatoterapii [Change of power characteristics of the bioelectric activity of human brain under the influence of speleoclimatotherapy].

- under influence of speleoclimatotherapy]. *Sovremennaya nauka: aktual'nye problemy teorii i praktiki. Seriya: Poznanie — Modern Science: Actual Problems of Theory and Practice. Series: Cognition*, no. 1, pp. 53–59. <https://doi.org/10.37882/2500-3682.2021.01.14> (In Russian)
- Semiletova, V. A., Dorokhov, E. V., Nechaeva, M. S. (2021) Vliyanie speleoklimatoterapii na fonovuyu EEG aktivnost' golovnogo mozga cheloveka [Influence of speleoclimatotherapy on background EEG activity of the human brain]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta — Journal of Volgograd State Medical University*, no. 1 (77), pp. 116–120. [https://doi.org/10.19163/1994-9480-2021-1\(77\)-116-120](https://doi.org/10.19163/1994-9480-2021-1(77)-116-120) (In Russian)
- Vavilova, V. P., Vavilov, A. M., Nechaeva, I. A. et al. (2009) Effektivnost' speleoklimatoterapii pri sovместnoy rehabilitatsii chasto boleyushchikh detej i ikh roditelej [Speleoclimatotherapy effectiveness of simultaneous rehabilitation of often sick children and their parents]. *Mat' i ditya v Kuzbasse — Mother and Baby in Kuzbass*, no. 1 (36), pp. 41–44. (In Russian)
- Zhogoleva, O. A., Dorokhov, E. V., Karpova, A. V., Yakovlev, V. N. (2007) Nekotorye mekhanizmy vozdeystviya speleoklimaticheskikh faktorov na immunnyj status cheloveka [Some mechanisms of the influence of speleoclimatic factors on the immune status of a person]. *Elektronnyj nauchno-obrazovatel'nyj vestnik "Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke"*, vol. 9, no. 8, pp. 283–284. (In Russian)



УДК 57.024:616-053

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-426-442>

Изучение способности детей 3–5 лет формировать понятия разной степени сложности в возрастном и неврологическом аспектах

И. Ю. Голубева¹, Д. Л. Тихонравов^{✉2,3}, А. Б. Пальчик^{3,4}, Т. Г. Кузнецова¹, К. В. Пахомов²

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

² Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, 194223, Россия, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44

³ Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова Минздрава России, 197341, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

⁴ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Минздрава России, 194100, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2

Сведения об авторах

Инна Юрьевна Голубева,
SPIN-код: 7581-4645,
ResearcherID: W-5106-2018,
ORCID: 0000-0003-3698-9036,
e-mail: golubevaiu@infran.ru

Дмитрий Леонидович
Тихонравов,
SPIN-код: 9833-6270,
Scopus AuthorID: 6602779957,
ORCID: 0000-0002-8770-7118,
e-mail: d_tikhonravov@yahoo.com

Александр Бейнусович Пальчик,
SPIN-код: 1410-4035,
Scopus AuthorID: 6603241545,
e-mail: xander57@mail.ru

Тамара Георгиевна Кузнецова,
SPIN-код: 3786-7484,
ORCID: 0000-0002-0196-0519,
e-mail: tgk@infran.ru

Константин Владимирович
Пахомов,
e-mail: pakhomovk72@gmail.com

Для цитирования:

Голубева, И. Ю., Тихонравов, Д. Л.,
Пальчик, А. Б., Кузнецова, Т. Г.,
Пахомов, К. В.

(2021) Изучение способности
детей 3–5 лет формировать
понятия разной степени
сложности в возрастном
и неврологическом аспектах.

Интегративная физиология,
т. 2, № 4, с. 426–442.
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-426-442>

Получена 10 октября 2021;
прошла рецензирование
21 октября 2021;
принята 29 октября 2021.

Аннотация. Способность выявлять общие признаки объектов и отношений между ними, а также воспринимать относительное сходство в разных ситуациях обеспечивает ребенку возможность быстро осваивать новый материал. Развитие этих навыков в дошкольном возрасте до конца не изучено. В частности, не изучено развитие способностей детей 3–5 лет к выработке относительных понятий на основе одного и нескольких признаков предметов, а также их способность действовать по аналогии вне зависимости от базы знаний. Кроме того, интерес представляет влияние легких неврологических нарушений на формирование указанных способностей. Цель исследования — изучить способности детей 3–5 лет к самостоятельному формированию понятий на основе отношений между объектами и оценить влияние следующих факторов: 1) количество признаков (один/два признака); 2) возраст ребенка: 3–4 и 4–5 лет; 3) неврологический профиль участников. Установлено, что количество признаков, которые необходимо было учесть для успешного выявления отношений между объектами, значимо влияло на скорость выработки понятия и способность к суждению по аналогии. Для детей 3–5 лет понятия на основе двух признаков оказались сложнее в сравнении с понятиями на основе одного признака. Параллельное стандартизированное неврологическое обследование разделило участников исследования в соотношении 3:2:1 по степени выраженности легкой неврологической дисфункции (ЛНД): без ЛНД, ЛНД-1, ЛНД-2. При анализе длительности формирования понятий и способности к суждению по аналогии у детей 3–5 лет возрастной аспект (3–4 года vs. 4–5 лет) не выявлен, однако проявилась тенденция к влиянию степени ЛНД на способность к формированию более сложных понятий на основе двух признаков. Таким образом, изучение когнитивных функций в возрасте 3–5 лет с параллельным детальным стандартизированным неврологическим обследованием позволяет прогнозировать возможные когнитивные и поведенческие девиации в более старшем возрасте.

Ключевые слова: дети дошкольного возраста, формирование эмпирических понятий, суждение по аналогии, легкая неврологическая дисфункция, индуктивная и дедуктивная функции рассудка

Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственных заданий № 0134-2019-0005 (ИФ РАН) и №075-00776-19-02 (ИЭФБ РАН) и поддержано грантом РФФИ № 20-015-00269.

Права: © И. Ю. Голубева, Д. Л. Тихонравов, А. Б. Пальчик, Т. Г. Кузнецова, К. В. Пахомов (2021). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Age-specific and neurological aspects of the ability to form concepts of different complexity in 3–5-year-old children

I. Yu. Golubeva¹, D. L. Tikhonravov^{2,3}, A. B. Palchik^{3,4}, T. G. Kuznetsova¹, K. V. Pakhomov²

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

² Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, 44 Thoreza Ave., Saint Petersburg 194223, Russia

³ Almazov National Medical Research Centre, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 2 Akkuratova Str., Saint Petersburg 197341, Russia

⁴ Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 2 Litovskaya Str., Saint Petersburg 194100, Russia

Authors

Inna Yu. Golubeva,
SPIN: 7581-4645,
ResearcherID: W-5106-2018,
ORCID: 0000-0003-3698-9036,
e-mail: golubevaiu@infran.ru

Dmitrii L. Tikhonravov,
SPIN: 9833-6270,
Scopus AuthorID: 6602779957,
ORCID: 0000-0002-8770-7118,
e-mail: d_tikhonravov@yahoo.com

Alexander B. Palchik,
SPIN: 1410-4035,
Scopus AuthorID: 6603241545,
e-mail: xander57@mail.ru

Tamara G. Kuznetsova,
SPIN: 3786-7484,
ORCID: 0000-0002-0196-0519,
e-mail: tgk@infran.ru

Konstantin V. Pakhomov,
e-mail: pakhomovk72@gmail.com

For citation:

Golubeva, I. Yu., Tikhonravov, D. L., Palchik, A. B., Kuznetsova, T. G., Pakhomov, K. V. (2021) Age-specific and neurological aspects of the ability to form concepts of different complexity in 3–5-year-old children. *Integrative Physiology*, vol. 2, no. 4, pp. 426–442. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-426-442>

Received 10 October 2021;
reviewed 21 October 2021;
accepted 29 October 2021.

Abstract. The ability to identify common features of objects and relationships among them and to perceive relative similarities in different situations allow children to quickly learn new material. The development of these skills in preschool age is not fully understood. In particular, the abilities to form relative concepts based on one or several features of objects and ability to act by analogy have not been studied in 3–5-year-old children. Furthermore, the influence of mild neurological disorders on building these abilities has not been studied properly either. The goal of this research was to study the ability of 3–5-year-old children to independently form empirical concepts based on relations among objects and to evaluate the effects of the following factors: (1) the number of features (one/two features); (2) the age of the child (3–4 vs. 4–5 years); (3) the neurological profile of the participants. The number of features that had to be taken into account to successfully identify relationships between objects was found to have a significant effect on the speed of concept production and the ability to judge by analogy. Indeed, 3–5-year-old children found concepts based on two features more difficult compared to those based on one feature. A standardised neurological examination was used to divide the participants of the study into groups with a 3:2:1 ratio according to the severity of their minor neurological dysfunction (MND): those without MND, MND-1 and MND-2. When analysing the time it takes children to form concepts and the ability to act by analogy, no difference was observed in different age groups within the 3–5 range (3–4 vs. 4–5). It was, however, observed that the extent of MND has an impact on the ability to form complex two-feature concepts. Thus, the study of cognitive functions at the age of 3–5 years, together with a detailed standardised neurological examination, makes it possible to predict potential cognitive and behavioural deviations at an older age.

Keywords: preschool children, formation of empirical concepts, judgment by analogy, minor neurological dysfunction, inductive and deductive functions of abstract thinking

Funding: The study was funded by the State Programmes No. 0134-2019-0005 (IF RAS) and No. 075-00776-19-02 (IEFB RAS) and the Russian Foundation for Basic Research (No. 20-015-00269).

Copyright: © I. Yu. Golubeva, D. L. Tikhonravov, A. B. Palchik, T. G. Kuznetsova, K. V. Pakhomov (2021). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Введение

Формирование понятий — одна из важнейших способностей, которой должен овладеть ребенок. В основе формирования понятия лежит выявление идентичных свойств конкретных объектов (например, понятие «круг») или отношений между ними (например, понятия «больше/меньше»). Высокоразвитое мышление на основе отношений считается отличительной чертой человеческого познания (Christie 2021).

Как в онтогенезе изменяется способность к формированию понятий? Известно, что у детей в течение первых 2–3 лет развивается склонность сосредоточиться на объектах (Xu et al. 2005), и ребенок начинает больше ориентироваться на сходство объектов по сравнению со сходством отношений между объектами (Walker et al. 2016). В дальнейшем это ведет к возможностям более отдаленных сравнений и выявлению реляционной абстракции более высокого уровня обобщения (Gentner, Hoyos 2017). Возможность идентифицировать относительное сходство между различными ситуациями или способность к суждению по аналогии является мощным когнитивным процессом, участвующим в быстром решении проблем и творческом мышлении (Murphy et al. 2021; Richland, Simms 2015). Так, освоив относительное понятие «большой», ребенок может применить его к любым предметам и явлениям, даже к тем, которых никогда не видел.

Существуют различные подходы для изучения формирования понятийного мышления в онтогенезе (Gentner, Hoyos 2017; Hochmann et al. 2017; Tanabe et al. 2014; Walker et al. 2016). Существующие методики, как правило, имеют речевые инструкции и связаны с отнесением объектов к известным категориям, что представляет собой категоризацию (например, тест Когана, Висконсинский тест). Однако, с нашей точки зрения, чтобы сравнить длительность формирования понятий в возрастном аспекте, необходимо выделить собственно стадию их

формирования как синтеза отдельных представлений объектов при помощи индуктивной функции рассудка. Это позволит также сравнить длительность выработки эмпирических понятий различной степени сложности (например, на основе одного или нескольких измерений стимула), когда дети не получают никаких инструкций.

Известно, что когнитивная деятельность ребенка обусловлена взаимосвязью физиологических и психических процессов (Безруких 2014; Кузнецова, Родина 2016). При этом основным критерием психоневрологического здоровья является постепенное поступательное развитие моторных, речевых и познавательных навыков. Заболевания нервной системы являются одной из основных причин дезадаптации детей. Однако если в период новорожденности поражения нервной системы встречаются с частотой до 20%, то в дошкольный и школьный период эти цифры могут достигать 60% (Заваденко 2009; Пальчик и др. 2021); при этом заметное место в этот период занимают когнитивные и поведенческие нарушения.

В литературе имеются данные о связи легкой неврологической дисфункции (ЛНД) с когнитивными и поведенческими расстройствами в дошкольном и раннем школьном возрасте (Пальчик и др. 2021; Caravale et al. 2012; Soorani-Lunsing et al. 1993); при этом подчеркивается необходимость разработки доступного практического аппарата для определения малых, легких нарушений нервной системы ребенка в дошкольном возрасте и определения прогноза его развития.

Исходя из вышесказанного, целью данного исследования было изучить способности детей 3–5 лет к формированию эмпирических понятий различной степени сложности. Оценивали скорость выработки понятия и способность к суждению по аналогии при выполнении разных условий понятия. Изучено влияние следующих факторов: 1) количество признаков (один/два

признака); 2) возраст ребенка: 3–4 и 4–5 лет; 3) неврологический профиль участников.

Материал и методы исследования

Проведено психологическое исследование способности к формированию эмпирических понятий у здоровых детей с использованием разработанного на макаках-резусах экспериментального психологического подхода (Tikhonravov et al. 2018), адаптированного для детей путем создания игровой методики. От родителей каждого из включенных в исследование участников было получено письменное согласие.

Участники исследования

Обследован 21 ребенок в возрасте от 3 до 5 лет (медиана 48 месяцев — 4 года), 15 мальчиков и 6 девочек. Исследование проведено в детском саду общеразвивающего типа и в условиях Амбулаторно-поликлинического центра ДНКЦИБ ФМБА России. Критериями включения служили возраст ребенка от 3 до 5 лет, отсутствие острых и хронических соматических и неврологических заболеваний, верифицированных нарушений психомоторного, речевого и социального развития, оценка по шкалам оптимальности беременности выше 75%; родов — 57%; новорожденности — 76%.

Участники были разделены на две возрастные группы: дети 3–4 лет (10 человек; медиана 40 месяцев — 3 года 4 месяца) и дети 4–5 лет (11 человек; 52 месяца, 4 года 4 месяца).

Оценка неврологического статуса

12 детей (медиана 47 месяцев 3 года 11 месяцев) из группы участников исследования дополнительно прошли неврологическое тестирование в рамках профилактического осмотра перед вакцинацией. С целью стандартизации неврологического статуса был использован неврологический профиль для детей около 3,5 лет Б. Тоуэна (Тоуэна 1979) в адаптации А. Б. Пальчика (Пальчик 2007). В соответствии с данным неврологическим профилем определяли ЛНД I уровня при наличии отклонений в двух из шести кластеров (поза, пассивный мышечный тонус, рефлекс, координация туловища, крупная моторика, токая моторика); ЛНД II уровня — более двух кластеров.

Поведенческая парадигма

В ходе исследования дети самостоятельно (без инструкций со стороны исследователя) должны были выявить отношения между пред-

метами на основе одного признака — размера или формы, а также сразу двух признаков — размера и формы. Выбор предмета осуществлялся из четырех одновременно предъявленных объектов без отнесения к конкретному объекту и/или месту. За правильный выбор ребенок получал награду (наклейки). Подкрепление служило обратной связью для выявления значимых признаков и их обобщению.

Стимулами служили реальные геометрические фигуры из гипоаллергенного пластика. Алфавит включал 15 разных образцов, каждый из которых был представлен в трех размерах (большие, средние и малые) и двух формах (объемные и плоские). Всего было 90 фигур (рис. 1а).

Исследование проводили в отдельной комнате; перед ребенком располагали установку, содержащую систему двух экранов, открывающих доступ к экспериментальной панели. Проба начиналась с открытия непрозрачного экрана, и в течение 5 секунд ребенок видел панель с четырьмя фигурами через прозрачный экран. Затем открывался прозрачный экран, и ребенок получал доступ к стимулам (рис. 1б). Четыре стимула располагались на панели в псевдослучайном порядке при каждом предъявлении. В один день ребенок получал 21 предъявление задания на формирование одного понятия, что занимало 20–25 минут. Выработка каждого понятия включала три условия, в которых стимулы были представлены в разных сочетаниях (рис. 2).

Задание считали выполненным после однократного достижения или превышения 70% уровня реализации по каждому условию задания, при этом критерий должен был быть достигнут для всех трех условий одного понятия в один опытный день. После достижения критерия успешности по одному понятию переходили к следующему заданию. У одного ребенка последовательно вырабатывали несколько понятий: два понятия на основе одного признака (размер или форма) и одно или два понятия на основе двух признаков (и размер, и форма). Последовательность формирования понятий была различной у разных детей.

Анализируемые параметры

1. Длительность формирования понятий — количество предъявлений, необходимое для достижения 70% критерия по каждому условию.

2. Способность к суждению по аналогии при формировании понятия оценивали в условных единицах (у. е.). Если ребенок достигал установленного критерия для одного условия

a) the alphabet of stimuli.

15 samples of geometric figures presented in six versions:



	large	medium	small
volumetric			
flat			

b) Experimental set-up

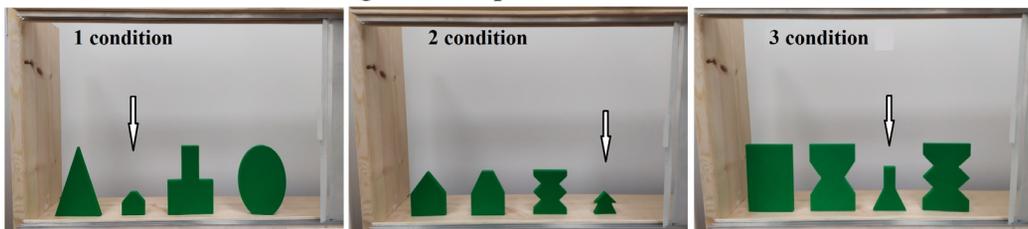
the concept of "size and shape"



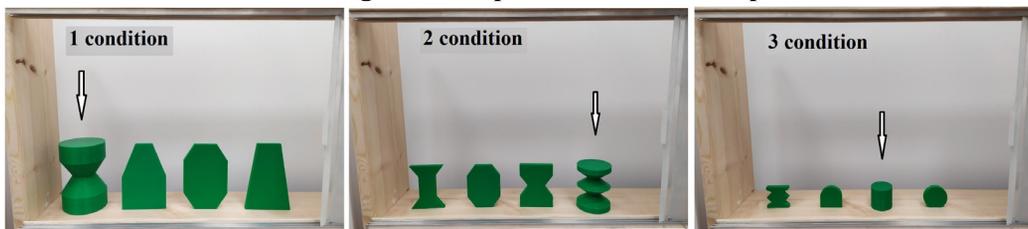
Рис. 1. Стимульный материал. а) Алфавит стимулов — 15 образцов геометрических фигур, представленных в 6 вариантах: большие объемные, большие плоские, средние объемные, средние плоские, малые объемные и малые плоские. б) Экспериментальный набор во время задачи формирования понятия на основе двух признаков

Fig. 1. Stimuli and their arrangement in a trial: (a) the alphabet of stimuli containing 15 samples of geometric figures, each presented in six versions: large volumetric, large flat, medium volumetric, medium flat, small volumetric and small flat; (b) experimental set-up during an exercise aimed at forming a concept that includes two features

a. Three conditions of forming the concept of "smaller size"



b. Three conditions of forming the concept of "volumetric shape"



c. Three conditions of forming the concept of "larger figure of flat shape"

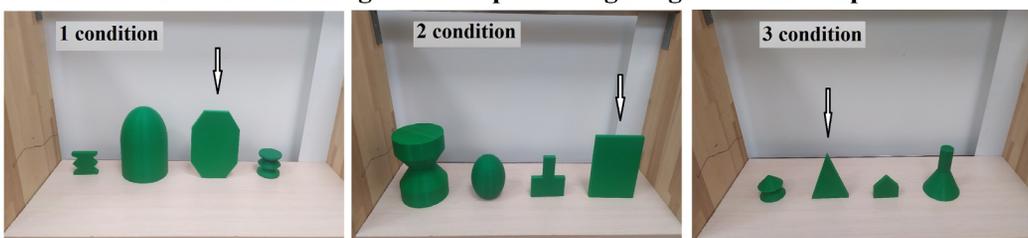


Рис. 2. Примеры задач на формирование понятий с одним и двумя признаками. а. Три условия понятия «меньший размер»; б. Три условия понятия «объемная форма»; с. Три условия понятия «большой размер плоской формы». Стрелкой показан правильный выбор

Fig 2. Examples of the exercise aimed at developing one- and two-feature concepts: (a) three trials from an exercise aimed at developing the concept of "smaller size"; (b) three trials from an exercise aimed at developing the concept of "volumetric shape"; (c) three trials from an exercise aimed at developing the concept of "larger figure of flat shape". The arrows show the correct choice

(например, успешный выбор большой фигуры из трех малых) и затем сразу переносил понимание отношений на другие два условия — выбор средней фигуры из трех малых объектов и выбор большой фигуры из трех средних (т. е. достигал критерия в тот же экспериментальный день), то считали, что он был способен к суждению по аналогии при формировании понятия «большой» и его способность оценивали как «1». Если ребенок успешно выполнял одно условие, но после этого сразу не мог достигнуть установленного критерия для одного или двух других условий, то его способность оценивали как «0».

Статистическая обработка

При анализе данных использовали статистический пакет программ Graph Pad Instat. и StatSoft Statistica 10.0. Для выборок, прошедших тест нормальности, применяли однофакторный и двухфакторный дисперсионный анализ. Для выборок, не прошедших тест нормальности, использовали критерий Краскелла — Уоллиса и U-критерий Манна — Уитни.

Результаты и обсуждение

Влияние количества признаков стимула на способность детей 3–5 лет формировать понятия на основе отношений между объектами

Сравнительный анализ длительности формирования понятий «размер», «форма», «размер и форма» (рис. 3) выявил высокозначимые различия между этими заданиями ($F(2, 59) = 20,4$, $p = 0,001$ однофакторный дисперсионный анализ) у детей 3–5 лет. При этом формирование понятия на основе двух признаков требовало значительно больше предъявлений в сравнении с понятиями на основе одного признака, как размера, так и формы ($p < 0,001$ и $p < 0,001$ Среднее Тьюки соответственно), в то время как длительность формирования понятий «размер» и «форма» статистически ($p = 0,98$ Среднее Тьюки) не отличалась друг от друга.

Способность к суждению по аналогии при формировании понятия на основе одного признака продемонстрировали 78,5% детей (81% с признаком «размер» и 76% с признаком «форма»). Эти участники, выполнив одно условие

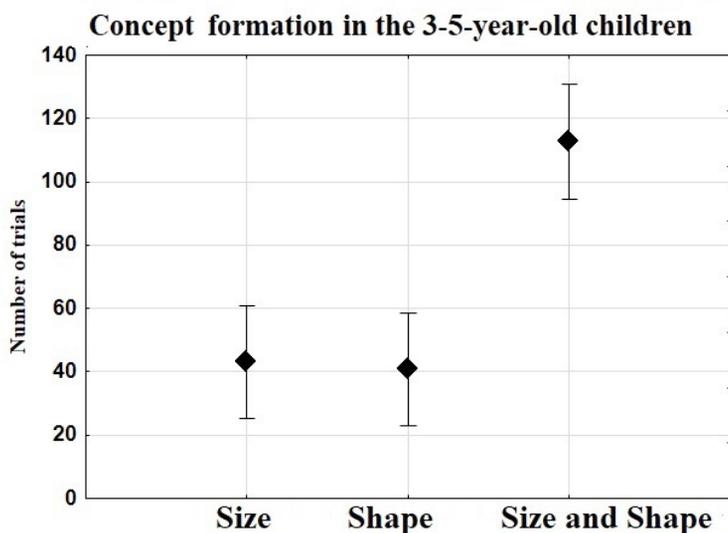


Рис.3. Сравнительный анализ количества предъявлений (среднее арифметическое \pm 95% доверительный интервал), необходимых для достижения 70% уровня правильных ответов при формировании трех разных понятий у детей 3–5 лет. По оси абсцисс: понятия «размер», «форма» и «размер и форма».

По оси ординат: количество предъявлений. Группы данных прошли тест на нормальность.

Однофакторный дисперсионный анализ: $F(2, 59) = 20,4$, $p < 0,001$. Среднее Тьюки: понятия «размер» vs. «размер и форма» — $p < 0,001$, понятия «форма» vs. «размер и форма» — $p < 0,001$; понятия «размер» vs. «форма» — $p = 0,98$

Fig.3. Comparative analysis of the number of trials (Mean \pm 95% CI) required to achieve the 70% share of correct answers in exercises aimed at developing three different concepts in 3–5-year-old children. Note: X axis: the concepts of “size”, “shape” and “size and shape”. Y axis: the number of trials. The data groups passed the normality test. One-way ANOVA: $F(2, 59) = 20.4$, $p < 0.001$. Tukey–Kramer post hoc test: the concept of “size” vs. “size and shape”— $p < 0.001$, the concept of “shape” vs. “size and shape”— $p < 0.001$; the concept of “size” vs. “shape”— $p = 0.98$

задания, сразу могли обнаружить аналогичные отношения между объектами при выполнении двух других условий. Однако при формировании понятия на основе двух признаков только 24% участников сразу достигали критерия по трем условиям, тогда как большинство детей не могли перенести понимание отношений с одного условия понятия на другие (табл. 1).

Сравнительный анализ показателей к суждению по аналогии у детей 3–5 лет при формировании понятия «размер», «форма» и «размер и форма» выявил значимые различия $H(2, N = 63) = 20,24, p < 0,001$ критерий Краскелла — Уоллиса. При этом если отличий между способностью к аналогии при формировании понятий «размер» и «форма» не наблюдали, то аналогичное рассуждение при формировании понятия «размер и форма» было значимо менее выражено в сравнении с таковым при формировании как понятия «размер», так и понятия «форма» ($p < 0,001$ и $p < 0,001$ тест множественных сравнений Данна соответственно).

Таким образом, количество признаков, которые нужно было учесть для успешного выявления отношений между объектами, влияло на длительность обучения и способность к суждению по аналогии у детей 3–5 лет.

Сравнительный анализ способности 3- и 4-летних детей формировать понятия на основе отношений между объектами

Чтобы выяснить, как связана длительность формирования понятий с возрастом ребенка, мы использовали двухфакторный дисперсионный анализ с учетом двух факторов: фактор ВОЗРАСТ (3–4 года, 4–5 лет) и фактор КОЛИЧЕСТВО ПРИЗНАКОВ (один признак, два признака) (рис. 4а, б). Оказалось, что эффекта для фактора ВОЗРАСТ не наблюдалось — $F(1, 58) = 3,16, p = 0,08$, двухфакторный дисперсионный анализ, в то время как был выявлен основной эффект для фактора КОЛИЧЕСТВО ПРИЗНАКОВ — $F(1, 58) = 41,07, p < 0,001$, двухфакторный дисперсионный анализ). Взаимодействия между этими двумя факторами не было: $F(1, 58) = 0,26, p = 0,61$, двухфакторный дисперсионный анализ (рис. 4с). Из рисунка 4с видно, что понятия с двумя признаками требовали достоверно больше предъявлений в сравнении с понятиями с одним признаком как у детей 3–4 лет, так и 4–5 лет ($p < 0,001, p < 0,001$ Среднее Тьюки соответственно).

Табл. 1. Способность к суждению по аналогии при формировании понятий разной степени сложности у детей 3–5 лет

Способность к суждению по аналогии (% участников)				
Группы/количество участников (n)	1 признак			2 признака (размер и форма)
	размер	форма	среднее	
все дети (n = 21)	81%	76%	78.5%	24%
3–4 года (n = 10)	70%	80%	75%	20%
4–5 лет (n = 11)	91%	73%	82%	27%
без ЛНД (n = 6)	67%	100%	83,5%	33%
ЛНД-1 (n = 4)	100%	75%	87,5%	50%
ЛНД-2 (n = 2)	50%	50%	50%	0%

ЛНД — легкая неврологическая дисфункция.

Table 1. Ability to make judgements by analogy in exercises aimed at developing concepts of different complexity in 3–5-year-old children

Ability to make judgements by analogy (% of the participants)				
Groups / number of the participants (n)	1 feature			2 features (size and shape)
	size	shape	mean	
All the children (n = 21)	81%	76%	78.5%	24%
3–4-year-olds (n = 10)	70%	80%	75%	20%
4–5-year-olds (n = 11)	91%	73%	82%	27%
Without the MND (n = 6)	67%	100%	83.5%	33%
MND-1 (n = 4)	100%	75%	87.5%	50%
MND-2 (n = 2)	50%	50%	50%	0%

MND—minor neurological dysfunction.

Чтобы выяснить, как связана способность к суждению по аналогии с возрастом, мы сравнили процентный состав участников 3–4 и 4–5 лет, которые могли перенести понимание отношений с одного условия на два других при формировании понятий «размер», «форма» и «размер и форма» (табл. 1).

Способность к суждению по аналогии при формировании понятий на основе одного признака «размер» продемонстрировали 70% детей 3–4 лет и 91% 4–5 лет, а при формировании понятий на основе одного признака «форма» — 80% детей 3–4 лет и 73% 4–5 лет. При формировании понятий на основе двух признаков «размер и форма» способность к аналогии выявлена у 20% участников 3–4 лет и 27% участников 4–5 лет. Сравнительный анализ показателей способности к суждению по аналогии у детей 3–4 и 4–5 лет не выявил значимых различий: U-критерий Манна — Уитни: $Z = -0,69$, $p = 0,49$, $N = 63$.

Полученные данные свидетельствуют о том, что выявление отношений между объектами не отличается по длительности у детей 3–4 и 4–5 лет. В то же время для детей изученного возраста значимым фактором, влияющим на длительность формирования понятий, является количество признаков (один признак или два признака), на основании которых данное понятие выраба-

тывается. При этом сами признаки — «размер» и «форма» объектов — не влияют на длительность обучения.

Влияние неврологического статуса ребенка 3–5 лет на способность к формированию понятий на основе отношений между объектами

Поскольку возраст не оказывал достоверного влияния на длительность формирования понятий и способность к суждению по аналогии, мы хотели выяснить, влияет ли неврологический статус детей 3–5 лет на их способность к формированию понятий. Мы сопоставили показатели неврологического профиля (Touwen 1979) в адаптации (Пальчик 2007) со скоростью выявления отношений между объектами и способности к суждению по аналогии при формировании понятий у детей 3–5 лет.

Все обследованные дети по показателям перинатального периода (гестационный возраст, оптимальность течения беременности и родов, оценка по шкале Апгар) относились к группе низкого риска.

Анализ данных показателей показал, что у половины обследованных (6 человек) не было признаков ЛНД (определены изменения только в 1 кластере), тогда как у остальных диагностирована ЛНД: у четырех детей ЛНД-1 (изменения

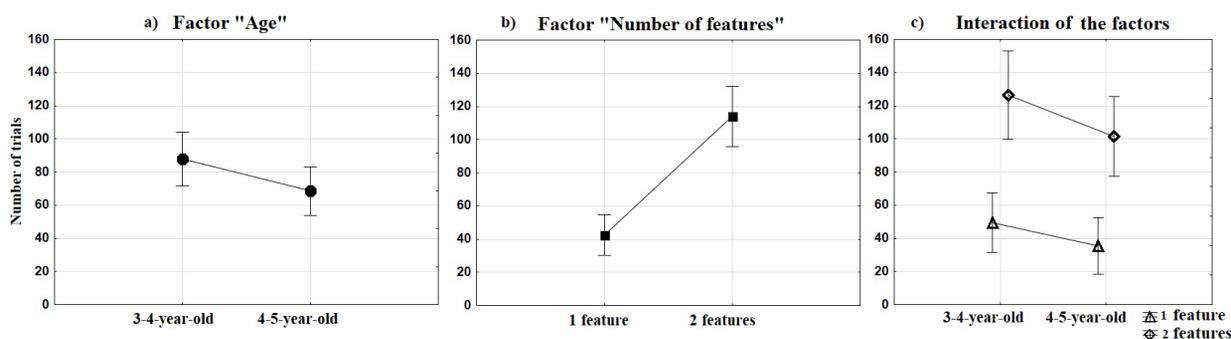


Рис. 4. Сравнительный анализ количества предъявлений (среднее арифметическое \pm 95% доверительный интервал), необходимых для достижения 70% уровня правильных ответов при формировании понятий с одним и двумя признаками у 3- и 4-летних детей. По оси ординат: количество предъявлений.

По оси абсцисс: а) и с) возраст; б) количество признаков. Группы данных прошли тест на нормальность.

Двухфакторный дисперсионный анализ: а) фактор — ВОЗРАСТ (3–4 года, 4–5 лет): $F(1, 58) = 3,16$, $p = 0,08$;

б) фактор КОЛИЧЕСТВО ПРИЗНАКОВ (один признак, два признака): $F(1, 58) = 41,07$, $p < 0,001$;

с) взаимодействие факторов: $F(1, 58) = 0,26$, $p = 0,61$. Среднее Тьюки: один признак vs. два признака для детей 3–4 и 4–5 лет ($p < 0,001$; $p < 0,001$ соответственно)

Fig. 4. Comparative analysis of the number of trials (Mean \pm 95% CI) required to achieve the 70% share of correct answers in exercises aimed at developing one- and two-feature concepts in 3- and 4-year-old children.

Note: Y axis: the number of trials. X axis: (a) and (c) age; (b) number of features. Data groups passed the normality test. Two-way ANOVA: (a) the factor: age (3–4 years, 4–5 years): $F(1, 58) = 3.16$, $p = 0.08$;

(b) the factor: the number of features (one feature, two features): $F(1, 58) = 41.07$, $p < 0.001$;

(c) interaction of the factors: $F(1, 58) = 0.26$, $p = 0.61$. Tukey–Kramer post hoc test: one feature vs. two features for children 3–4 and 4–5 years ($p < 0.001$ and $p < 0.001$, respectively)

в 2 кластерах) и у двух детей ЛНД-2 (изменения более чем в 2 кластерах). Детализация отклонений по неврологическому профилю представлена в таблице 2.

Чтобы выяснить, связана ли длительность формирования понятий у детей со степенью ЛНД, мы использовали двухфакторный дисперсионный анализ с учетом двух факторов: фактора КОЛИЧЕСТВО ПРИЗНАКОВ (один признак, два признака) и фактора СТЕПЕНЬ ЛНД (без ЛНД, ЛНД-1, ЛНД-2) (рис. 5). Был выявлен значимый эффект для фактора СТЕПЕНЬ ЛНД $F(2, 94) = 6,73, p < 0,05$ и эффект для фактора КОЛИЧЕСТВО ПРИЗНАКОВ $F(1, 94) = 31,61, p < 0,001$. Взаимодействия факторов не наблюдали: $F(2, 94) = 1,36, p = 0,26$.

Из рисунка 5с видно, что понятие на основе двух признаков требовало достоверно больше предъявлений в сравнении с понятиями на основе одного признака у детей без ЛНД, у детей с ЛНД-1 и у детей с ЛНД-2 ($p < 0,05; p < 0,05; p < 0,01$ Среднее Тьюки соответственно). Кроме

этого, дети с ЛНД-2 отличались достоверно более длительным формированием понятий на основе двух признаков в сравнении с детьми без ЛНД ($p < 0,05$ Среднее Тьюки). Отличий между детьми без ЛНД и ЛНД-1, а также между участниками с ЛНД-1 и ЛНД-2 не было ($p = 0,99; p = 0,12$ Среднее Тьюки соответственно).

Чтобы оценить связь неврологического статуса детей и их способности к аналогии, мы сравнили процентный состав участников, которые могли перенести понимание отношений с одного условия на два других при формировании понятий на основе одного признака и на основе двух признаков (табл. 1). Оказалось, что способность к суждению по аналогии при формировании понятий на основе одного признака (размера или формы в среднем) продемонстрировали 83% детей без ЛНД, 87% детей с ЛНД-1 и 50% детей с ЛНД-2. При формировании понятия на основе двух признаков способность к аналогии выявлена у 33% детей без ЛНД и 50% участников с ЛНД-1. Никто из детей с ЛНД-2

Табл. 2. Показатели Неврологического профиля Б. Тоуэна

Группы признаков	Содержание тестов	Количество детей, имеющих отклонения	Баллы*	
		n	X	s _x
Поза	Поза в процессе сидения, ходьбы и лежания	1	0,08	0,29
Мышечный тонус	Мышечный тонус в руках и ногах	2	0,18	0,4
Рефлексы	Биципитальные, коленные, ахилловы, подошвенные	3	0,25	0,45
Координация туловища	Повороты туловища сидя и стоя	5	0,5	0,67
	Реакция на толчок стоя	5	0,42	0,51
	Реакция на толчок сидя	3	0,25	0,45
Крупные движения	Посадка из положения лежа на спине	10	1,67	0,78
	Подъем из положения сидя на полу	10	1,17	0,83
	Бег	1	0,08	0,29
	Вращение	2	0,17	0,39
Тонкие движения	Тип захвата	5	1,0	1,48
	Количество предметов	2	0,33	0,78
	Движения пальцев	0	0	0
	Координация кистей рук	0	0	0
	Координация предплечий	0	0	0

* Оценка проведена в соответствии с проформой Неврологического профиля Б. Тоуэна (1979), где каждый показатель принимается за 0 баллов при его оптимальном выполнении и от 2 до 5 баллов по отдельным показателям в соответствии со степенью снижения качества выполнения.

Table 2. Touwen Infant Neurological Examination parameters

Parameter groups	Test Content	Number of children with deviations	Points *	
		n	Mean	SD
Posture	Posture while sitting, walking and lying down	1	0.08	0.29
Muscle tone	Muscle tone in the arms and legs	2	0.18	0.4
Reflexes	Bicipital, knee, Achilles, plantar	3	0.25	0.45
Torso coordination	Seated and standing torso turns	5	0.5	0.67
	Standing push response	5	0.42	0.51
	Seated push response	3	0.25	0.45
Large movements	Seating from a supine position	10	1.67	0.78
	Raising from a sitting position on the floor	10	1.17	0.83
	Runing	1	0.08	0.29
	Rotation	2	0.17	0.39
Subtle movements	Capture type	5	1.0	1.48
	Number of items	2	0.33	0.78
	Finger movements	0	0	0
	Hand coordination	0	0	0
	Forearm coordination	0	0	0

* The evaluation was carried out in accordance with Touwen Infant Neurological Examination proforma (1979). Each parameter was taken as 0 points for its optimal performance and from 2 to 5 points for individual parameters in accordance with the degree of decrease in the quality of the performance.

не продемонстрировал способность к суждению по аналогии при формировании понятий на основе двух признаков.

Из-за небольшого количества участников исследования, имеющих ЛНД-2, мы не смогли провести статистический анализ показателей к аналогичному рассуждению при формировании понятий, поэтому данные результаты могут рассматриваться только как предварительные. Однако необходимо отметить, что эти дети последовательно прошли несколько серий выработки понятий, при этом дети с ЛНД-2 выполняли задачи с одним признаком не хуже остальных участников. Трудности при выработке понятий на основе двух признаков у испытуемых с ЛНД-2 выражались в частых отказах от работы при проведении исследования.

Таким образом, степень ЛНД у детей проявлялась при формировании понятий на основе двух признаков: участники с ЛНД-2 значимо

дольше формировали понятия на основе двух признаков в сравнении с детьми без ЛНД и не проявляли тенденции к аналогичному рассуждению.

Обсуждение

Формирование понятий — это особая форма мышления, отражающая предметы или явления в их общих или существенных признаках.

В нашем исследовании изучались: 1) формирование понятий на основе одного признака и на основе двух признаков, при этом вначале выработка осуществлялась методом «проб и ошибок», а затем происходило обобщение (индуктивная функция); 2) способность суждения по аналогии при выполнении разных условий внутри одного понятия (дедуктивная функция).

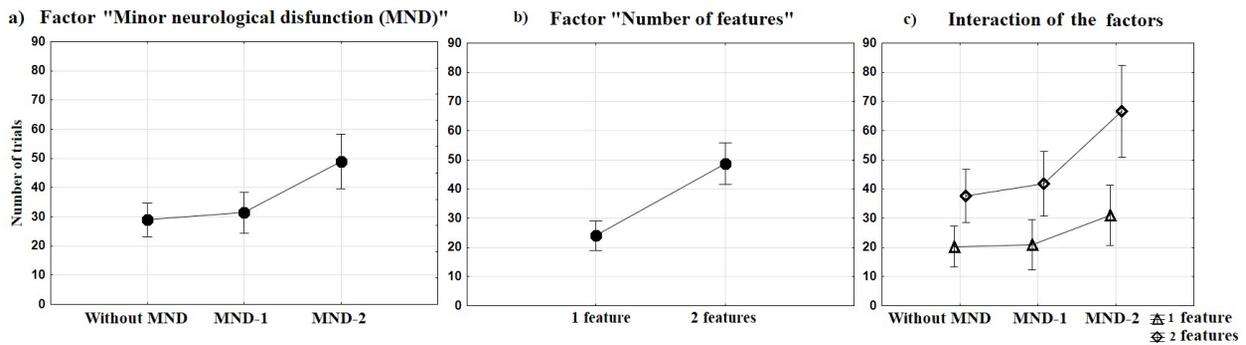


Рис. 5. Сравнительный анализ количества предъявлений (среднее арифметическое \pm 95% доверительный интервал), необходимых для достижения 70% уровня правильных ответов при формировании понятий с одним или двумя признаками у детей без ЛНД (легкая неврологическая дисфункция), с ЛНД-1 и с ЛНД-2. По оси ординат: количество предъявлений. По оси абсцисс: а) и с) степень ЛНД; б) количество признаков. Группы данных прошли тест на нормальность.

Двухфакторный дисперсионный анализ: а) фактор — ЛНД (без ЛНД, ЛНД-1, ЛНД-2): $F(2, 94) = 6,73, p < 0,05$; б) фактор — количество признаков (один признак, два признака): $F(1, 94) = 31,61, p < 0,001$; в) взаимодействие факторов: $F(2, 94) = 1,36, p = 0,26$.
 Среднее Тьюки: один признак vs. два признака для каждой группы детей ($p < 0,05$ — без ЛНД; $p < 0,05$ — ЛНД-1; $p < 0,01$ — ЛНД-2); группа без ЛНД два признака vs. группа ЛНД-2 два признака ($p < 0,05$)

Fig. 5. Comparative analysis of the number of trials (Mean \pm 95% CI) required to achieve the 70% share of correct answers in exercises aimed at developing one- and two-feature concepts in children without MND (minor neurological disfunction), with MND-1 and with MND-2. Y axis: the number of trials. X axis: (a) and (c) MND; b) number of features. Data groups passed the normality test. Two-way ANOVA: (a) factor: MND (without MND, MND-1, MND-2): $F(2, 94) = 6.73, p < 0.05$; (b) factor: the number of features (one feature, two features): $F(1, 94) = 31.61, p < 0.001$; (c) interaction of the above-mentioned factors: $F(2, 94) = 1.36, p = 0.26$. Tukey–Kramer post hoc test: one feature vs. two features for each group of the children ($p < 0.05$ — without MND; $p < 0.05$ — MND-1; $p < 0.01$ — MND-2); group without MND in the trials with two features vs. group MND-2 in the trials with two features ($p < 0.05$)

В отличие от методик с речевыми инструкциями, основная особенность нашего подхода состояла в том, что только подкрепление служило обратной связью, способствующей выявлению значимых признаков. Кроме этого, в существующих методиках, как правило, тестируется то, что ребенок уже знает или должен знать. Наша цель состояла именно в формировании понятий у участников, а не в отнесении объектов к уже известным категориям, как, например, в случае использования Висконсинского теста (Tanabe et al. 2014). Это создавало также особые условия для изучения суждения по аналогии. Дети сами находили отношение между стимулами в одном условии при формировании понятия (например, выбор меньшей фигуры в случае трех средних фигур и одной малой фигуры). Если после этого ребенок мог увидеть аналогию и перенести понимание отношений «меньшая/большая» на другое условие (например, 3 большие фигуры и 1 средняя фигура), то он сразу находил верное решение, несмотря на то что в первом случае средняя фигура является отрицательным стимулом, а во

втором становится положительным. Если ребенок не видел аналогии, то он продолжал искать решение методом проб и ошибок в каждом следующем условии. Таким образом, успех ребенка зависел только от тех сведений, которые он получил во время исследования, и не был связан со знаниями предметной области, которые являются основным ограничением для детских рассуждений по аналогии (Richland, Simms 2015).

Показано, что у детей 3–5 лет количество признаков, которые нужно было учесть для успешного выявления отношений между объектами, влияет на скорость обучения и способность к суждению по аналогии. В наших предыдущих исследованиях установлено, что, в отличие от детей, у макак-резусов не было различий в скорости выработки понятий на основе одного или двух признаков (Голубева и др. 2020). Характерно, что при формировании понятий на основе одного признака 75% детей 3 лет и 82% детей 4 лет легко устанавливали аналогии между разными условиями, в то время как макаки каждое условие таких же понятий выполняли как новую задачу.

В литературе описаны различия между людьми и макаками-резусами в использовании аналитической, сознательной стратегии, основанной на правилах, и интуитивной, подсознательной стратегией, связанной с многомерным вниманием и обнаружением общего сходства (Ashby, O'Brien 2005; Zakrzewski et al. 2018). Можно предположить, что в условиях нашего эксперимента дети 3–5 лет при формировании понятия искали правило, определяющее принадлежность к этому понятию.

Дети в три года преимущественно полагаются на форму при классификации новых экземпляров знакомых категорий (Murphy et al. 2021). В наших исследованиях каждый стимул имел уникальную форму; всего 15 различных форм (рис. 1а). Однако дети имели возможность сравнить четыре объекта в каждом предъявлении, что, вероятно, ослабило ориентировку детей на форму конкретного объекта и способствовало выявлению более общих, относительных признаков (большие, средние или малые; плоские или объемные), существенных для вырабатываемого понятия. Это согласуется с мнением (Graham et al. 2010), что сравнение облегчает обнаружение ключевых особенностей. По данным литературы, сравнение двух или более стимулов выявляет выравнивание сходств на поверхностном уровне, что затем приводит к обнаружению тонких общих особенностей, которые наиболее важны для членства в категории. Таким образом, сравнение служит не только для выделения значимой для данной задачи информации, но и для генерирования знаний и служит мощным механизмом обучения (Gentner, Hojos 2017).

Характерно, что в условиях данного исследования возраст ребенка значимо не влиял на скорость формирования относительных понятий и способность к суждению по аналогии. Это свидетельствует о неравномерности развития когнитивных процессов, лежащих в основе познавательной деятельности детей младшего и среднего дошкольного возраста (Безруких 2014).

В то же время необходимо отметить некоторые качественные различия у детей разных возрастных групп, которые наблюдались во время выполнения заданий. Трехлетние дети часто физически исследовали предъявляемые стимулы — проводили рукой, последовательно касаясь верхушки каждой из четырех одновременно предъявленных фигур, что способствовало выявлению признака «размер», или выполняли последовательный захват каждой фигуры, что помогало определить плоскую или

объемную форму. Четырехлетние дети практически не прибегали к подобным приемам. Таким образом, младшим детям требовалось манипулирование объектами для успешного формирования понятий. Это согласуется с литературой, согласно которой дети младшего дошкольного возраста начинают осуществлять постепенный переход от наглядно-действенного к наглядно-образному мышлению (Выготский, Лурия 1993; Теплюк 2010). В других экспериментальных исследованиях показано, что использование ребенком внешних операций способствует довербальному обобщению (Кузнецова, Голубева 2014; Walker et al. 2016).

Однако при этом количественных различий в способности к формированию понятий между детьми 3–4 и 4–5 лет не выявлено. Также сами признаки — «размер» и «форма» объектов — значимо не влияли на длительность обучения и способность к аналогии для детей обеих возрастных групп. Однако количество признаков (один признак или два признака), на основании которых вырабатывалось понятие, оказалось значимым фактором, влияющим на длительность формирования понятий и способность к аналогии для 3–4- и 4–5-летних детей, что согласуется с другими исследованиями (Richland et al. 2006).

Вторая часть исследования заключалась в выяснении связи способности детей к формированию относительных понятий с их неврологическим статусом. Все участники в период новорожденности относились к категории низкого риска, то есть не имели значимых девиаций в перинатальном анамнезе и неврологическом статусе. При этом к возрасту 3–5 лет произошло «растроение» исходной группы детей в соответствии с неврологическим статусом: без неврологических отклонений, с ЛНД-1 и с ЛНД-2 в соотношении 3:2:1.

По данным литературы, ЛНД-1 встречается у 15–20% детей, а ЛНД-2 — у 6–7% учащихся в общеобразовательных школах (Hadders-Algra 2010; Peters et al. 2011). ЛНД-1 рассматривают как проявление типичного, но субоптимального функционирования мозга (несущественные неврологические отличия). Форма ЛНД-2 существенно жестче связана с проблемами в обучении, поведения и моторики, чем ЛНД-1. Также это касается дефицита внимания и расстройств аутистического спектра (Batstra et al. 2003; Punt et al. 2010). При этом риск возникновения дезадаптации в школьный период значительно повышается из-за когнитивных и поведенческих нарушений (Soorani-Lunsing et al. 1993).

В условиях нашего исследования мы пытались обнаружить связь легких неврологических дисфункций у детей 3–5 лет со скоростью выявления ими отношений между объектами и способности к суждению по аналогии. Оказалось, что степень ЛНД у детей проявлялась только при формировании понятий на основе двух признаков. В этом задании выбор общей структуры отношений требует не только подавления нерелевантной информации (форма конкретной фигуры), как и в случае понятия на основе одного признака, но и тормозящего контроля ранее выделенных характерных признаков и определения двух новых параметров стимула и объединения их, например «большой плоский». Большая когнитивная нагрузка в этом задании может быть связана с исполнительными функциями, участвующим в контроле действия и мысли (Thibaut et al. 2010).

Характерно, что дети без ЛНД и дети с ЛНД-1 практически не отличались ни по скорости формирования понятий, ни по своей способности к суждению по аналогии при выполнении разных условий задания. Различия выявлялись только у испытуемых с ЛНД-2, которые испытывали значительные трудности при выработке понятия на основе размера и формы. Это проявлялось в частых переключениях на другую деятельность, невозможности вернуться к поиску объекта, отказах от продолжения работы и физических уходах. Каждое условие понятия эти участники выполняли как новую задачу, совсем не проявляя способностей к суждению по аналогии. Таким образом, именно сложность отношений между объектами может быть препятствием для применения суждения по аналогии, что согласуется с литературными данными (Richland et al. 2006).

Необходимо отметить, что дети с ЛНД-2 посещали обычный детский сад, однако требовали особого подхода при проведении ежедневных занятий. Несмотря на то, что полученные данные могут рассматриваться только как предварительные из-за незначительного количества участников с диагностированной ЛНД-2 в обследованной группе здоровых детей, выявленная тенденция требует дальнейшего, углубленного изучения, так как позволяет прогнозировать возможные когнитивные и поведенческие девиации у таких детей в более старшем возрасте и при необходимости проводить раннее вмешательство.

Таким образом, границей между детьми с адекватным формированием когнитивных

функций и их неадекватным формированием служит различие в выраженности легких неврологических девиаций. Это согласуется с проспективными исследованиями (Caravale et al. 2012; Soorani-Lunsing et al. 1993), показывающими связь выраженности ЛНД с характером и тяжестью когнитивных и поведенческих отклонений в дошкольном и школьном возрастах. На основании полученных данных и анализа результатов других исследований возраст от 3 до 5 лет оказывается особым периодом развития, в котором происходит разделение детей, исходно расцененных как низкого риска, на группы детей с нормальным неврологическим статусом, детей с ЛНД-1 и нормальными когнитивными функциями, а также детей с ЛНД-2 и девиантными когнитивными функциями.

Выводы

- 1) Для детей 3–5 лет выработка понятия на основе двух признаков оказалась более сложной задачей в сравнении с понятием на основе одного признака.
- 2) Неврологическое обследование разделило участников исследования (здоровых детей 3–5 лет, относящиеся при рождении к категории низкого риска) в соотношении 3:2:1 по степени легкой неврологической дисфункции (ЛНД): без ЛНД, ЛНД-1, ЛНД-2.
- 3) При формировании понятий на основе отношений между объектами у детей 3–5 лет возрастной фактор (3–4 года vs. 4–5 лет) не выявился. Однако проявилась тенденция к влиянию фактора степени ЛНД на способности к формированию понятий на основе двух признаков.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Соответствие принципам этики

Работа выполнялась в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека в качестве

субъекта» с поправками 2013 г. Протокол исследования одобрен этической комиссией ДНКЦИБ ФМБА России.

Ethics Approval

The work was carried out in accordance with the ethical standards of the World Medical Association Declaration of Helsinki—Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects as amended in 2013. The study protocol was approved by the Ethical committee of the Children's Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Federal Medical and Biological Agency.

Вклад авторов

- a. Голубева И. Ю. — проведение исследования; анализ данных; подготовка рукописи;
- b. Тихонравов Д. Л. — разработка концепции и проведение исследования;
- c. Пальчик А. Б. — проведение исследования, анализ данных, подготовка и утверждение рукописи;
- d. Кузнецова Т. Г. — утверждение рукописи;
- e. Пахомов К. В. — проведение исследования.

Author Contributions

- a. I. Yu. Golubeva: performing research and data analysis, preparation of the manuscript;
- b. D. L. Tikhonravov: concept development and performing research;

- c. A. B. Palchik: performing research and data analysis, preparation and approval of the manuscript;
- d. T. G. Kuznetsova: approval of the manuscript;
- e. K. V. Pakhomov: conducting research.

Благодарности

Авторы выражают благодарность В. М. Петровой, директору детского сада «Мирт», и коллективу детского сада; В. Б. Войтенкову, заведующему отделением функциональных методов диагностики ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней».

Acknowledgements

The authors would like to thank V. M. Petrova, who is the Director of the kindergarten “Myrt”, and the staff of the kindergarten. We are also grateful to V. B. Voitenkov, who is the Head of the Department of Functional Diagnostic Methods at the Children's Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Federal Medical and Biological Agency.

Список используемых специальных терминов

Легкая неврологическая дисфункция (ЛНД) — minor neurological dysfunction (MND)

Литература

- Безруких, М. М. (2014) Развитие мозга и познавательное развитие детей дошкольного возраста. *Известия Российской академии образования*, № 4 (32), с. 107–113.
- Выготский, Л. С., Лурия, А. Р. (1993) *Этюды по истории поведения: Обезьяна. Примитив. Ребенок*. М.: Педагогика-Пресс, 224 с.
- Голубева, И. Ю., Кузнецова, Т. Г., Тихонравов, Д. Л. (2020) Особенности формирования признаков-специфичных понятий у макак резусов и детей дошкольного возраста. В кн.: *Интегративная физиология: Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 95-летию Института физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург (9–11 декабря 2020 г.). Тезисы докладов*. СПб.: Ин-т физиологии им. И. П. Павлова РАН, с. 216.
- Заваденко, Н. Н. (2009) *Факторы риска для формирования дефицита внимания и гиперактивности у детей*. М.: Эксмо-Пресс, 104 с.
- Кузнецова, Т. Г., Голубева, И. Ю. (2014) Сравнительный анализ выбора по образцу у приматов. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 12. Психология, Социология, Педагогика*, № 2, с. 109–118.
- Кузнецова, Т. Г., Родина, Е. А. (2016) *Психофизиология образования дошкольников*. СПб.: Изд-во РГПУ им. А. И. Герцена, 155 с.
- Пальчик, А. Б. (2007) *Введение в неврологию развития*. СПб.: КОСТА, 367 с.
- Пальчик, А. Б., Пашков, А. Ю., Петрова, Н. А. и др. (2021) Легкая неврологическая дисфункция как возможный маркер когнитивных и поведенческих расстройств у детей. *Специальное образование*, №1 (61), с. 167–179. https://doi.org/10.26170/1999-6993_2021_01_13
- Теплюк, С. Н. (2010) *Актуальные проблемы развития и воспитания детей от рождения до трех лет: пособие для педагогов дошкольных учреждений*. М.: Мозаика-Синтез, 144 с.
- Ashby, F. G, O'Brien, J. B. (2005) Category learning and multiple memory systems. *Trends in Cognitive Sciences*, vol. 9, no. 2, pp. 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2004.12.003>

- Batstra, L., Neeleman, J., Hadders-Algra, M. (2003) The neurology of learning and behavioral problems in pre-adolescent children. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, vol. 108, no. 2, pp. 92–100. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0447.2003.00127.x>
- Caravale, B., Mirante, N., Vagnoni, C., Vicari, S. (2012) Change in cognitive abilities over time during preschool age in low risk preterm children. *Early Human Development*, vol. 88, no. 6, pp. 363–367. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2011.09.011>
- Christie, S. (2021) Learning sameness: Object and relational similarity across species. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, vol. 37, pp. 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2020.06.010>
- Gentner, D., Hoyos, C. (2017) Analogy and abstraction. *Topics in Cognitive Science*, vol. 9, no. 3, pp. 672–693. <https://doi.org/10.1111/tops.12278>
- Graham, S. A., Namy, L. L., Gentner, D., Meagher, K. (2010) The role of comparison in preschoolers' novel object categorization. *Journal of Experimental Child Psychology*, vol. 107, no. 3, pp. 280–290. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jecp.2010.04.017>
- Hadders-Algra, M. (2010) *The neurological examination of the child with minor neurological dysfunction*. 3rd ed. London: Mac Keith Press, 148 p.
- Hochmann, J.-R., Tuerk, A. S., Sanborn, S. et al. (2017) Children's representation of abstract relations in relational/array match-to-sample tasks. *Cognitive Psychology*, vol. 99, pp. 17–43. <https://doi.org/10.1016/j.cogpsych.2017.11.001>
- Murphy, A. N., Zheng, Y., Shivaram, A. et al. (2021) Bias and sensitivity to task constraints in spontaneous relational attention. *Journal of Experimental Child Psychology*, vol. 202, article 104981. <https://doi.org/10.1016/j.jecp.2020.104981>
- Peters, L. H. J., Maathuis, C. G. B., Hadders-Algra, M. (2011) Limited motor performance and minor neurological dysfunction at school age. *Acta Paediatrica*, vol. 100, no. 2, pp. 271–278. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2010.01998.x>
- Punt, M., De Jong, M., De Groot, E., Hadders-Algra, M. (2010) Minor neurological dysfunction in children with dyslexia. *Developmental Medicine and Child Neurology*, vol. 52, no. 12, pp. 1127–1132. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2010.03712.x>
- Richland, L. E., Morrison, R. G., Holyoak, K. J. (2006) Children's development of analogical reasoning: Insights from scene analogy problems. *Journal of Experimental Child Psychology*, vol. 94, no. 3, pp. 249–273. <https://doi.org/10.1016/j.jecp.2006.02.002>
- Richland, L. E., Simms, N. (2015) Analogy, higher order thinking, and education. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*, vol. 6, no. 2, pp. 177–192. <https://doi.org/10.1002/wcs.1336>
- Soorani-Lunsing, R. J., Hadders-Algra, M., Olinga, A. A. et al. (1993) Is minor neurological dysfunction at 12 years related to behaviour and cognition? *Developmental Medicine and Child Neurology*, vol. 35, no. 4, pp. 321–330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.1993.tb11644.x>
- Tanabe, M. K., Whitaker, A. M., O'Callaghan, E.T. et al. (2014) Intellectual ability as a predictor of performance on the Wisconsin card-sorting test. *Applied Neuropsychology: Child*, vol. 3, no. 4, pp. 275–283. <https://doi.org/10.1080/21622965.2012.757700>
- Thibaut, J. P., French, R., Vezneva, M. (2010) The development of analogy making in children: Cognitive load and executive functions. *Journal of Experimental Child Psychology*, vol. 106, no. 1, pp. 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.jecp.2010.01.001>
- Tikhonravov, D. L., Dubrovskaya, N. M., Zhuravin, I. A. (2018) The notions of size and shape in old world monkeys (*Macaca mullata*): A comparative analysis of the formation process. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 54, no. 3, pp. 234–241. <https://doi.org/10.1134/s0022093018030080>
- Touwen, B. C. L. (1979) *Examination of the child with minor neurological dysfunction*. 2nd ed. London: Heinemann Publ., pp. 56–70.
- Walker, C. M., Bridgers, S., Gopnik, A. (2016) The early emergence and puzzling decline of relational reasoning: Effects of knowledge and search on inferring abstract concepts. *Cognition*, vol. 156, pp. 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.cognition.2016.07.008>
- Xu, F., Cote, M., Baker, A. (2005) Labeling guides object individuation in 12-month-old infants. *Psychological Science*, vol. 16, no. 5, pp. 372–377. <https://doi.org/10.1111/j.0956-7976.2005.01543.x>
- Zakrzewski, A. C., Church, B. A., Smith, J. D. (2018) The transfer of category knowledge by macaques (*Macaca mulatta*) and humans (*Homo sapiens*). *Journal of Comparative Psychology*, vol. 132, no. 1, pp. 58–74. <https://doi.org/10.1037/com0000095>

References

- Ashby, F. G., O'Brien, J. B. (2005) Category learning and multiple memory systems. *Trends in Cognitive Sciences*, vol. 9, no. 2, pp. 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2004.12.003> (In English)
- Batstra, L., Neeleman, J., Hadders-Algra, M. (2003) The neurology of learning and behavioral problems in pre-adolescent children. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, vol. 108, no. 2, pp. 92–100. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0447.2003.00127.x> (In English)
- Bezrukikh, M. M. (2014) Razvitie mozga i poznavatel'noe razvitie detej doshkol'nogo vozrasta [Neurodevelopment and cognitive development of preschool-age children]. *Izvestiya Rossijskoj akademii obrazovaniya — Izvestia of the Russian Academy of Education*, no. 4 (32), pp. 107–113. (In Russian)

- Caravale, B., Mirante, N., Vagnoni, C., Vicari, S. (2012) Change in cognitive abilities over time during preschool age in low risk preterm children. *Early Human Development*, vol. 88, no. 6, pp. 363–367. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2011.09.011> (In English)
- Christie, S. (2021) Learning sameness: Object and relational similarity across species. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, vol. 37, pp. 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2020.06.010> (In English)
- Gentner, D., Hoyos, C. (2017) Analogy and abstraction. *Topics in Cognitive Science*, vol. 9, no. 3, pp. 672–693. <https://doi.org/10.1111/tops.12278> (In English)
- Golubeva, I. Yu., Kuznetsova, T. G., Tikhonravov, D. L. (2020) Osobennosti formirovaniya priznak-spetsifichnykh ponyatij u makak rezusov i detej doshkol'nogo vozrasta [Peculiarities of the formation of feature-specific concepts in rhesus macaques and preschool children]. In: *Integrativnaya fiziologiya: Vserossijskaya konferentsiya s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennaya 95-letiyu Instituta fiziologii im. I. P. Pavlova RAN, Sankt-Peterburg (9–11 dekabrya 2020 g.). Tezisy dokladov [Integrative Physiology: All-Russian conference with international participation, dedicated to the 95th anniversary of Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg (9–11 December, 2020). Abstracts]*. Saint Petersburg: Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences Publ., p. 216. (In Russian)
- Graham, S. A., Namy, L. L., Gentner, D., Meagher, K. (2010) The role of comparison in preschoolers' novel object categorization. *Journal of Experimental Child Psychology*, vol. 107, no. 3, pp. 280–290. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jecp.2010.04.017> (In English)
- Hadders-Algra, M. (2010) *The neurological examination of the child with minor neurological dysfunction*. 3rd ed. London: Mac Keith Press, 148 p. (In English)
- Hochmann, J.-R., Tuerk, A. S., Sanborn, S. et al. (2017) Children's representation of abstract relations in relational/array match-to-sample tasks. *Cognitive Psychology*, vol. 99, pp. 17–43. <https://doi.org/10.1016/j.cogpsych.2017.11.001> (In English)
- Kuznetsova, T. G., Golubeva, I. Yu. (2014) Sravnitel'nyj analiz vybora po obraztsu u primatov [Comparative analysis of matching-to-sample results among primates]. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 12. Psihologiya. Sotsiologiya. Pedagogika — Vestnik of Saint-Petersburg University. Series 12. Psychology. Sociology. Education*, no. 2, pp. 109–118. (In Russian)
- Kuznetsova, T. G., Rodina, E. A. (2016) *Psikhofiziologiya obrazovaniya doshkol'nikov [Psychophysiology of preschool education]*. Saint Petersburg: Herzen State Pedagogical University Publ., 155 p. (In Russian)
- Murphy, A. N., Zheng, Y., Shivaram, A. et al. (2021) Bias and sensitivity to task constraints in spontaneous relational attention. *Journal of Experimental Child Psychology*, vol. 202, article 104981. <https://doi.org/10.1016/j.jecp.2020.104981> (In English)
- Palchik, A. B. (2007) *Vvedenie v nevrologiyu razvitiya [Introduction to developmental neuroscience]*. Saint Petersburg: KOSTA Publ., 367 p. (In Russian)
- Palchik, A. B., Pashkov, A. Yu., Petrova, N. A. et al. (2021) Legkaya nevrologicheskaya disfunktsiya kak vozmozhnyj marker kognitivnykh i povedencheskikh rasstrojstv u detej [Mild neurological dysfunction as a marker of cognitive and behavioral disorders in children]. *Spetsial'noe obrazovanie — Special Education*, no. 1 (61), pp. 167–179. https://doi.org/10.26170/1999-6993_2021_01_13 (In Russian)
- Peters, L. H. J., Maathuis, C. G. B., Hadders-Algra, M. (2011) Limited motor performance and minor neurological dysfunction at school age. *Acta Paediatrica*, vol. 100, no. 2, pp. 271–278. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2010.01998.x> (In English)
- Punt, M., De Jong, M., De Groot, E., Hadders-Algra, M. (2010) Minor neurological dysfunction in children with dyslexia. *Developmental Medicine and Child Neurology*, vol. 52, no. 12, pp. 1127–1132. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2010.03712.x> (In English)
- Richland, L. E., Morrison, R. G., Holyoak, K. J. (2006) Children's development of analogical reasoning: Insights from scene analogy problems. *Journal of Experimental Child Psychology*, vol. 94, no. 3, pp. 249–273. <https://doi.org/10.1016/j.jecp.2006.02.002> (In English)
- Richland, L. E., Simms, N. (2015) Analogy, higher order thinking, and education. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*, vol. 6, no. 2, pp. 177–192. <https://doi.org/10.1002/wcs.1336> (In English)
- Soorani-Lunsing, R. J., Hadders-Algra, M., Olinga, A. A. et al. (1993) Is minor neurological dysfunction at 12 years related to behaviour and cognition? *Developmental Medicine and Child Neurology*, vol. 35, no. 4, pp. 321–330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.1993.tb11644.x> (In English)
- Tanabe, M. K., Whitaker, A. M., O'Callaghan, E.T. et al. (2014) Intellectual ability as a predictor of performance on the Wisconsin card-sorting test. *Applied Neuropsychology: Child*, vol. 3, no. 4, pp. 275–283. <https://doi.org/10.1080/21622965.2012.757700> (In English)
- Teplyuk, S. N. (2010) *Aktual'nye problemy razvitiya i vospitaniya detej ot rozhdeniya do trekh let: posobie dlya pedagogov doshkol'nykh uchrezhdenij [Actual problems of development and education of children from birth to three years: A guide for preschool teachers]*. Moscow: Mozaika-Sintez Publ., 144 p. (In Russian)
- Thibaut, J. P., French, R., Vezneva, M. (2010) The development of analogy making in children: Cognitive load and executive functions. *Journal of Experimental Child Psychology*, vol. 106, no. 1, pp. 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.jecp.2010.01.001> (In English)

- Tikhonravov, D. L., Dubrovskaya, N. M., Zhuravin, I. A. (2018) The notions of size and shape in old world monkeys (*Macaca mullata*): A comparative analysis of the formation process. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 54, no. 3, pp. 234–241. <https://doi.org/10.1134/s0022093018030080> (In English)
- Towen, B. C. L. (1979) *Examination of the child with minor neurological dysfunction*. 2nd ed. London: Heinemann Publ., pp. 56–70. (In English)
- Vygotskij, L. S., Luriya, A. R. (1993) *Etyudy po istorii povedeniya: Obez'yana. Primitiv. Rebenok [Studies in the history of behavior: Ape. Primitive. Child]*. Moscow: Pedagogika-Press Publ., 224 p. (In Russian)
- Walker, C. M., Bridgers, S., Gopnik, A. (2016) The early emergence and puzzling decline of relational reasoning: Effects of knowledge and search on inferring abstract concepts. *Cognition*, vol. 156, pp. 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.cognition.2016.07.008> (In English)
- Xu, F., Cote, M., Baker, A. (2005) Labeling guides object individuation in 12-month-old infants. *Psychological Science*, vol. 16, no. 5, pp. 372–377. <https://doi.org/10.1111/j.0956-7976.2005.01543.x> (In English)
- Zakrzewski, A. C., Church, B. A., Smith, J. D. (2018) The transfer of category knowledge by macaques (*Macaca mulatta*) and humans (*Homo sapiens*). *Journal of Comparative Psychology*, vol. 132, no. 1, pp. 58–74. <https://doi.org/10.1037/com0000095> (In English)
- Zavadenko, N. N. (2009) *Factory riska dlya formirovaniya defitsita vnimaniya i giperaktivnosti u detej [Risk factors for the formation of attention deficit hyperactivity disorder in children]*. Moscow: Eksmo-Press Publ., 104 p. (In Russian)



Check for updates

Экспериментальные статьи

УДК 57.024

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-443-454>

Обучение макак-резусов задаче отсроченного сравнения с образцом на сенсорном мониторе

Д. Н. Подвигина^{✉1}, Л. Е. Иванова¹, А. К. Хараузов¹

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

Сведения об авторах

Дарья Никитична Подвигина,
SPIN-код: 9627-9299,
Scopus AuthorID: 15751663700,
ORCID: 0000-0003-0318-109X,
e-mail: daria-da@yandex.ru

Любовь Евгеньевна Иванова,
SPIN-код: 9963-8525,
Scopus AuthorID: 57198427294,
e-mail: liubaivanova@mail.ru

Алексей Кольмарович Хараузов,
Scopus AuthorID: 9733389300,
Researcher ID: AAA-8837-2021,
ORCID: 0000-0002-1352-5805,
e-mail: harauzov@gmail.com

Для цитирования:

Подвигина, Д. Н., Иванова, Л. Е.,
Хараузов, А. К.
(2021) Обучение макак-резусов
задаче отсроченного сравнения
с образцом на сенсорном
мониторе. *Интегративная
физиология*, т. 2, № 4, с. 443–454.
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-443-454>

Получена 2 октября 2021; прошла
рецензирование 29 ноября 2021;
принята 30 ноября 2021.

Финансирование: Работа
выполнена при финансовой
поддержке Программы
фундаментальных научных
исследований государственных
академий на 2014–2020 годы
(ГП-14, раздел 63).

Права: © Д. Н. Подвигина,
Л. Е. Иванова, А. К. Хараузов
(2021). Опубликовано Российским
государственным педагогическим
университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях
лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Задача отсроченного сравнения с образцом (delayed matching-to-sample task, DMTS) традиционно используется в исследованиях рабочей памяти животных. В классической DMTS парадигме животному демонстрируют образец (трехмерный объект или изображение), а спустя некоторое время — от секунд до минут — предъявляют два стимула для выбора, один из которых идентичен образцу, а второй — новый. Животное получает подкрепление за выбор стимула, идентичного образцу. При работе с обезьянами применяют компьютеризированные версии данного теста с использованием сенсорных мониторов для предъявления стимулов и фиксации ответов. Однако в литературе не описывается процесс обучения животных выполнению данной задачи на сенсорном экране, а это зачастую представляет для экспериментатора существенную сложность. В статье мы приводим описание процедуры обучения макак-резусов (*Macaca mulatta*) выполнению задачи отсроченного сравнения с образцом на сенсорном мониторе, где предъявляются стимулы — геометрические фигуры разных цветов. Для обучения животных мы использовали тренировочный вариант задачи с движением образца, в котором он с заданной скоростью смещается в направлении одной из позиций стимулов для выбора на экране. Это позволило существенно ускорить обучение шести самцов макак-резусов выполнению задачи отсроченного сравнения с образцом. Кроме того, мы постепенно усложняли задачу сравнения, увеличивая количество образцов для запоминания. Пятеро из шести животных освоили вариант задачи, в котором для запоминания демонстрировались одновременно два образца, и перешли к освоению задачи с тремя образцами. Разработанный алгоритм обучения обезьян задачам выбора по образцу с разным числом образцов для запоминания позволит широко применять данный тест с сенсорным монитором вместо реальных физических объектов, что может существенно расширить возможности исследований когнитивных способностей обезьян.

Ключевые слова: макаки-резусы, обучение, рабочая память, отсроченное сравнение с образцом, сенсорный монитор

Training rhesus monkeys to perform the delayed matching-to-sample task on a touchscreen monitor

D. N. Podvigina^{✉1}, L. E. Ivanova¹, A. K. Kharauzov¹

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

Authors

Daria N. Podvigina,
SPIN: 9627-9299,
Scopus AuthorID: 15751663700,
ORCID: 0000-0003-0318-109X,
e-mail: daria-da@yandex.ru

Lyubov E. Ivanova,
SPIN: 9963-8525,
Scopus AuthorID: 57198427294,
e-mail: liubaivanova@mail.ru

Alexey K. Kharauzov,
Scopus AuthorID: 9733389300,
Researcher ID: AAA-8837-2021,
ORCID: 0000-0002-1352-5805,
e-mail: harauzov@gmail.com

For citation:

Podvigina, D. N., Ivanova, L. E., Kharauzov, A. K. (2021) Training rhesus monkeys to perform the delayed matching-to-sample task on a touchscreen monitor. *Integrative Physiology*, vol. 2, no. 4, pp. 443–454. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-443-454>

Received 2 October 2021;
reviewed 29 November 2021;
accepted 30 November 2021.

Funding: The study was carried out with the financial support of the Program of Basic Scientific Research of State Academies for 2014-2020 (GP-14, section 63).

Copyright: © D. N. Podvigina, L. E. Ivanova, A. K. Kharauzov (2021). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Abstract. The delayed matching-to-sample task (DMTS) is often used in animal working memory studies. In the classical DMTS paradigm, an animal is presented with a sample (three-dimensional object or image), and after some time—from seconds to minutes—with two stimuli, one of which is identical to the sample, while the other one is new. The animal gets reinforcement for choosing a stimulus identical to the sample. In non-human primate studies, researchers often use computerized versions of this test, with a touchscreen monitor for presenting stimuli and recording animal responses. However, these researchers do not normally discuss the process of teaching animals to perform this task on a touchscreen monitor, which is often a challenge for the experimenter. In this work, we describe the procedure for teaching rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) to perform the DMTS task, using a computerized setup with a touchscreen monitor for stimulus presentation (geometric shapes of different colours). To teach monkeys, we used a training version of the task, where the sample is not just replaced by stimuli for matching, but shifts in the direction of one of the positions of stimuli for matching. With this training version of the task, it took us only one experimental session to teach six male monkeys to perform the DMTS task with a moving stimulus. Furthermore, we gradually increased task complexity by increasing the number of samples simultaneously presented for memorisation. Five out of six monkeys learned the more complex version of the task with two samples and proceeded to performing the task with three samples. This procedure for teaching monkeys to perform the DMTS task with varying numbers of samples presented for memorisation will promote the use of sensor screens for this test instead of actual physical objects, which will expand the opportunities for cognitive research on monkeys.

Keywords: rhesus monkeys, learning, working memory, delayed matching-to-sample task, touchscreen monitor

Введение

Животные модели широко применяются в фундаментальных и прикладных исследованиях, и, хотя наиболее часто используемыми лабораторными животными являются грызуны, филогенетически ближе всего к человеку обезьяны, поэтому они более предпочтительны для исследований сложных когнитивных функций и их нарушений различной этиологии (Bondar et al. 2019; Camus et al. 2015; Goldman-Rakic et al. 1992; Rodriguez, Paule 2009). В исследованиях такого рода зачастую применяют экспериментальные методики и тесты, изначально разра-

ботанные для людей и адаптированные для животных. Так, в последние десятилетия в исследованиях на обезьянах используют Кембриджскую автоматизированную батарею нейропсихологических тестов (Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery, CANTAB), разработанную для оценки когнитивных нарушений у людей, страдающих нейродегенеративными заболеваниями или получивших мозговые травмы (Ryan et al. 2019; Weed et al. 1999). Батарея включает в себя компьютеризированные тесты на память, внимание и исполнительные функции. Одним из таких тестов является отсроченное сравнение с образцом

(или отсроченный выбор по образцу — *delayed matching-to-sample*, DMTS) — тест, направленный на оценку рабочей памяти. Данный тест применяется в исследованиях мнемических способностей животных разных видов, как в компьютерной версии, так и с использованием реальных трехмерных объектов (Lind et al. 2015). Классическая парадигма DMTS выглядит следующим образом: животному демонстрируют образец (трехмерный объект или изображение), затем образец исчезает, а спустя некоторое время — от секунд до минут — предъявляют два стимула для выбора, один из которых идентичен образцу, а второй — новый. Животное получает подкрепление за выбор стимула, идентичного образцу (Rodriguez, Paule 2009). Также в исследованиях используют версию данной задачи — отсроченный выбор отличающегося от образца стимула (*delayed nonmatching-to-sample task*), когда животное получает подкрепление за выбор нового объекта, не предъявлявшегося в качестве образца (Young et al. 2014). В компьютеризированных вариантах теста DMTS и его версий стимулы предъявляются на мониторе компьютера, и животное дает ответ, касаясь экрана либо оперируя джойстиком; в зарубежных работах для реализации теста в последние десятилетия часто применяют сенсорные мониторы (Hampson et al. 2004; Hoffman et al. 2009; Plagenhoef et al. 2021; Taubert et al. 2019). Однако в работах не описывается подробно процесс обучения животных выполнению задачи, например, как животным «объясняют» задачу, сколько времени им требуется, чтобы освоить ее и выйти на стабильный уровень верных ответов, и так далее. В то же время подобные детали процесса тренировки животных зачастую представляют существенный интерес для исследователей.

Целью данной работы было разработать и апробировать методику исследования характеристик рабочей памяти макак-резусов с использованием задачи «отсроченное сравнение с образцом», реализуемой на сенсорном мониторе. Еще одной нашей задачей было разработать процедуру обучения макак-резусов выполнению данного теста. Кроме описания методики исследования, в работе представлены результаты экспериментов, в которых обезьянам для запоминания предъявляли два и более образцов, чтобы оценить способность приматов к удержанию в памяти нескольких объектов и изучить влияние количества объектов на успешность выполнения задачи сравнения.

Материалы и методы

Экспериментальные животные

Исследование проводили на шести самцах *Macaca mulatta* в возрасте 6–15 лет (ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем»). Вес животных — 7,3–12,6 кг. Все животные были рождены и выращены в неволе и имели опыт участия в поведенческих экспериментах. Эксперименты проводили в соответствии с положениями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях (European Union Directive 2010/63/EU, EU 2010).

Экспериментальная установка

Обучение животных и проведение эксперимента осуществляли с помощью экспериментального комплекса для проведения психофизических и поведенческих исследований на обезьянах, разработанного в Институте физиологии им. И. П. Павлова РАН. Основу комплекса составляет компьютер с сенсорным дисплеем Iiyama prolite t2250mts на основе оптической технологии регистрации прикосновений с размером видимой области 268 × 477 мм. Данная технология позволяет фиксировать прикосновения к экрану при любой силе нажатия любым предметом, что особенно важно при работе с животными. Компьютерная установка позволяет проводить зрительную и слуховую стимуляцию любой сложности, автоматически регистрировать ответную реакцию животного и обеспечивать пищевое и питьевое подкрепление в случае правильного ответа. Система пищевого подкрепления реализована с помощью механического дискового раздатчика орехов, приводимого в движение шаговым двигателем. Двигатель управляется программируемым микроконтроллером, который получает сигнал от компьютерной программы, осуществляющей стимуляцию и регистрирующей ответы испытуемого. Питьевое подкрепление тоже может быть использовано в экспериментах и контролируется электромагнитным клапаном, также управляемым программой. Синхронизация систем подкрепления и системы предъявления стимулов осуществляется по последовательному протоколу СОМ-порта.

Во время эксперимента обезьяна находится в специальной передвижной клетке из прозрачного оргстекла с отверстием для передних

конечностей и встроенными системами подкрепления (рис. 1). Расстояние между клеткой и сенсорным экраном составляет 20 см. Более подробно экспериментальная установка описана в статье Ивановой и соавторов (Ivanova et al. 2016).

Стимулы

Задача «отсроченное сравнение с образцом» реализована в программной среде EventIDE (разработчик OkazoLab Ltd.). В качестве стимулов использовали набор из 11 геометрических фигур восьми цветов; в ходе предъявления любой цвет в случайном порядке мог быть присвоен программой каждой из фигур. Таким образом, в алфавите было 88 разных объектов. Фигуры для алфавита стимулов были подобраны нами опытным путем с учетом их размера и предпочтений животных так, чтобы в наборе не было стимулов, выделяющихся своей формой и привлекающих тем самым внимание обезьян. Так, например, обезьяны предпочитали фигуру «восьмиконечная звезда» и нажимали на нее чаще остальных, невзирая на задачу. Такие фигуры были удалены из набора.

Размер стимулов на экране составлял 12,7 угл. град. (один образец), 11,3 угл.град. (два образца), 9,9 угл. град. (три образца) или 9,4 угл. град. (четыре образца).

Процедура предъявления

Предъявление стимулов в ходе одной пробы схематично представлено на рисунке 2. За секунду до начала каждой пробы животному подавали короткий звуковой сигнал, предупреждающий о начале предъявления фигуры-образца. Выработать такой рефлекс было необходимо, так как без привлечения внимания к образцу и без его запоминания дальнейший выбор становится бессмысленным. Затем предъявляли фигуру-образец (рис. 2а). Время предъявления образца (t_1) экспериментатор устанавливает перед началом опыта. В наших экспериментах это время варьировало от 300 мс для одного образца до 1500 мс для двух и более образцов. После исчезновения образца экран оставался пустым на время t_2 (время удержания информации в памяти). Интервал t_2 изменяли в пределах от 100 мс при обучении до 3000 мс.

Затем на экране появлялись две фигуры для выбора: одна аналогичная образцу, вторая — альтернативная. Положение верного ответа — образца — на экране (справа или слева) изменялось в каждой пробе в случайном порядке. За нажатие на верный ответ животное автоматически получало пищевое подкрепление. Фигуры для выбора оставались на экране до того момента, как обезьяна нажмет на экран. Если по каким-то причинам обезьяна игнорировала



Рис. 1. Животное в экспериментальной установке в процессе решения задачи сравнения с образцом (фото Л. Е. Ивановой, 2021)

Fig. 1. An animal in the experimental setup performing a delayed matching-to-sample task (photo by L. E. Ivanova, 2021)

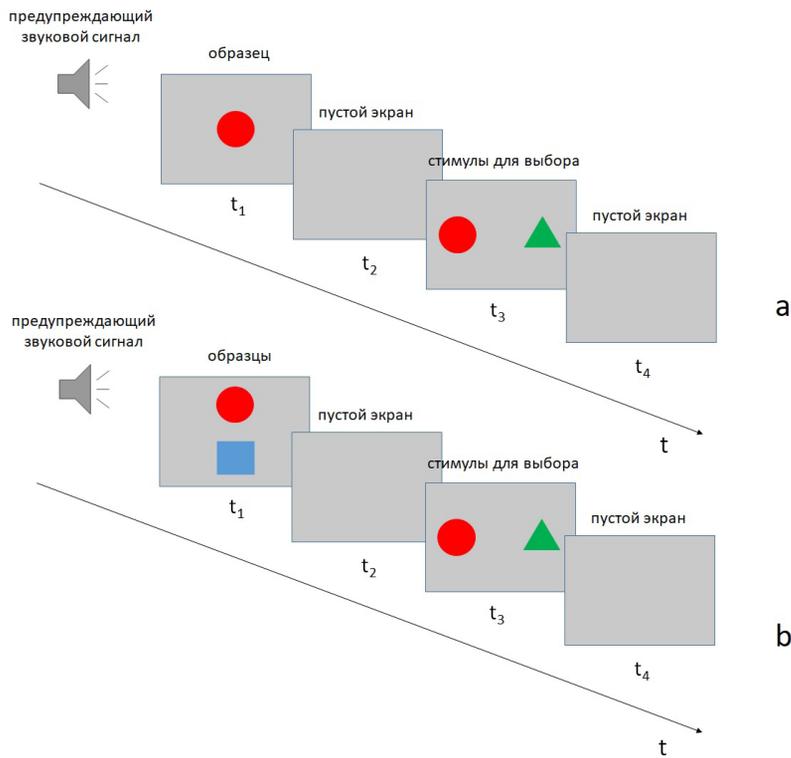


Рис. 2. Схема предъявления стимулов в тесте «отсроченное сравнение с образцом». а — животному для запоминания предъявляется один образец, б — для запоминания предъявляются два образца, один из которых затем присутствует среди стимулов для выбора. Значения временных интервалов t_1 , t_2 , t_3 и t_4 устанавливаются экспериментатором в начале опыта

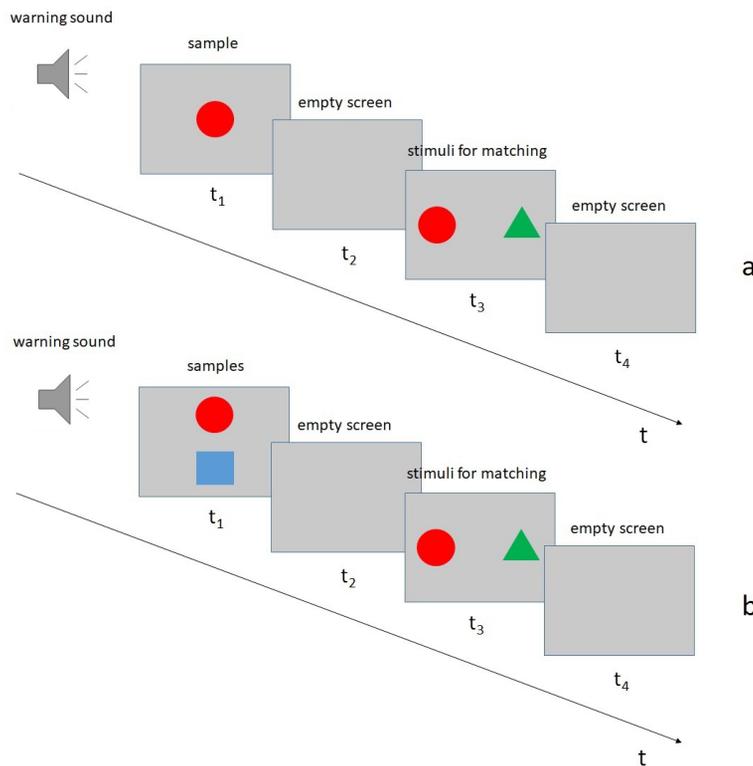


Fig. 2. Schematic representation of an experimental probe in the delayed matching-to-sample task. a— one sample for memorization, b— two samples for memorization, one of which is then presented along with another stimulus for matching. The values of time intervals t_1 , t_2 , t_3 and t_4 are set before the experiment

тест, фигуры исчезали через задаваемое время ожидания t_3 . Это время оставалось постоянным в ходе экспериментов и составляло 2000 мс. Затем через интервал t_4 цикл повторялся. Значение интервала t_4 случайным образом изменялось в диапазоне от 4000 до 5000 мс. Такое время между циклами было выбрано неслучайно. В случае верного ответа обезьяна успевала проглотить подкрепление до начала следующей пробы. В случае неверного ответа у обезьяны было время «подумать над ошибками» — если бы такого интервала не было, она бы нажимала наугад, гарантированно получая подкрепление в 50% случаев.

Созданная экспериментальная программа позволяет изменять сложность задачи, не только увеличивая временную задержку между предъявлением образца и выбором, но и увеличивая количество одновременно предъявляемых для запоминания образцов до пяти. Схема пробы с двумя образцами изображена на рисунке 2b. Образцы предъявляли одновременно по центру экрана на время t_1 , далее процедура соответствовала ходу пробы с одним образцом.

Алгоритм обучения с применением тренировочной программы

Поскольку животным невозможно дать словесную инструкцию, экспериментаторы сталкиваются с проблемой: как объяснить «испытуемым» задачу, то есть дать понять, что первое изображение (образец) надо запомнить, а затем, дождавшись появления на экране двух фигур, коснуться той, что предъявлялась в качестве образца? Начав обучение макак-резусов задаче отсроченного сравнения с образцом, мы в течение месяца не смогли добиться решения ими этой задачи на уровне верных ответов, значимо превышающем случайное гадание. Тогда для обучения животных нами был разработан специальный тренировочный вариант задачи, в котором образец не просто сменялся стимулами для выбора, а с заданной скоростью смещался в направлении одной из позиций стимулов для выбора на экране. То есть сначала обезьяна в течение некоторого времени видела фигуру в центре экрана, которая затем начинала двигаться в левую или правую часть экрана, а после ее остановки в заданной позиции в противоположной части монитора возникал альтернативный стимул (рис. 3). Обезьяны могли нажимать на двигающуюся фигуру (и, чаще всего, они так и делали), однако только после остановки нажатие на фигуру-образец регистрировалось как верный ответ и подкреплялось. Направление движения образца могло быть

либо влево, либо вправо, с равной вероятностью. Нажатие на любую другую область экрана, включая область появления альтернативной фигуры, не подкреплялось, и цикл повторяли через 4–5 секунд. Таким образом, отслеживая движение образца — целевого стимула, животное осваивало задачу.

Обучение начинали с относительно медленного движения фигуры-образца — 67 угл. град./с; в этом случае обезьяна успевала отследить смещение, не теряя интереса к задаче. После того как животное усваивало, что получит подкрепление, только нажав на фигуру, которая двигалась, но лишь после остановки движения (давало не менее 75% верных ответов), скорость движения увеличивали до 80 угл. град./с и так далее, постепенно доходя до максимального значения — 200 угл. град./с. Фактически при максимальной скорости фигура исчезала из центра экрана, появлялась на 1 кадр (примерно 20 мс) на середине пути и в следующем кадре оказывалась в конечной точке, одновременно с предъявлением альтернативной фигуры в противоположной стороне экрана. Другими словами, это выглядело уже не как движение, а как скачок.

Следующим шагом, по мере достижения обезьяной 75% верных ответов, движение отключали. При этом время между исчезновением образца и предъявлением стимулов для выбора составляло 100 мс. Регистрировали количество экспериментальных сессий, которое требовалось животному для освоения задачи с данными параметрами предъявления, поскольку именно переход от правильного выбора движущегося образца к верному решению задачи в отсутствие движения мы считали собственно обучением задаче отсроченного сравнения с образцом. Затем, по мере освоения животным задачи, время между образцом и стимулами поэтапно увеличивали с шагом 100 мс, пока не доходили до 1000 мс.

Алгоритм основного эксперимента

После успешного окончания обучения задаче без движения образца (тренировки) переходили к основной программе эксперимента. Животные выполняли задачу сравнения с одним образцом, без движения образца; параметры предъявления стимулов были следующими: время предъявления образца — 300 мс, время между образцом и стимулами — 1000 мс, время предъявления стимулов для выбора — 2000 мс.

Те животные, которые успешно освоили задачу выбора по одному образцу, переходили к более сложной задаче: им надо было запомнить

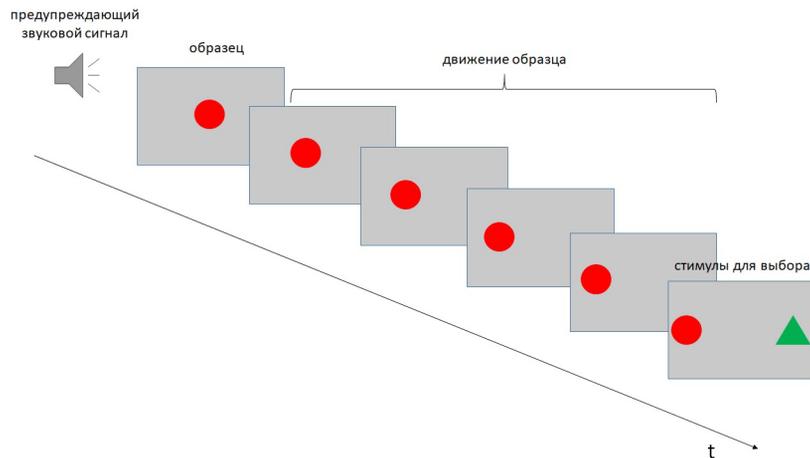


Рис. 3. Схематичное представление работы обучающей программы. Фигура-образец постепенно перемещается из центра к краю экрана. В конце движения на противоположной стороне экрана появляется альтернативный стимул. Задача обезьяны — нажать на фигуру-образец сразу после ее остановки

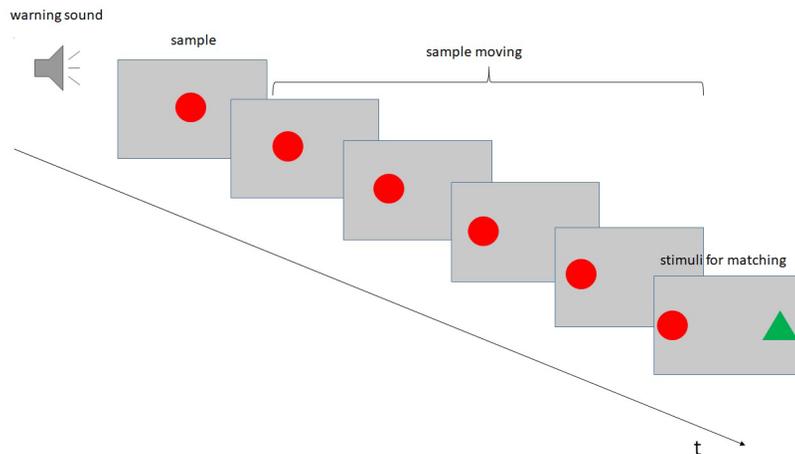


Fig. 3. Schematic representation of a training probe. The sample gradually moves from the centre to the edge of the screen. At the end of the movement, an alternative stimulus appears on the opposite side of the screen. The task of the monkey is to touch the sample shape immediately after its motion stops

два предъявляемых образца, и затем выбрать один из них среди двух стимулов (рис. 2b). Время предъявления образцов было при этом увеличено до 1500 мс. Животные также вначале обучались данной задаче сначала в режиме движения образца. В случае с двумя образцами движение осуществляла одна из фигур, а вторая пропадала по истечении времени демонстрации образца. После достижения обезьяной 75% уровня верных ответов с движением образца переходили к варианту без движения. После освоения этой задачи без движения образца, с интервалом 1000 мс между образцом и стимулами, проводили обучение выбору по трем образцам.

Сессия, как обучающая, так и экспериментальная, составляла 80–130 проб (в зависимости от работоспособности животного) и длилась 15–20 минут. За один день каждое животное участвовало в одной сессии. По результатам сессии рассчитывали процент верных ответов каждого животного.

Обработка результатов

Обработку и анализ результатов проводили с использованием пакетов программ Microsoft Excel 2013 и IBM SPSS Statistics ver. 22. Для статистического анализа результатов использовали одновыборочный t-критерий.

Для уточнения стратегии решения животными задачи с разным количеством образцов

был рассчитан теоретический процент верных ответов при использовании стратегии запоминания только одного из предъявляемых образцов во время решения задачи с одним, двумя, тремя и четырьмя образцами. При условии, что выбранный для запоминания образец верно опознается в 100% случаев, а остальные образцы случайно угадываются, этот процент составит 100% для одного образца, 75% для двух образцов, 66,6% для трех и 62,5% для четырех образцов. Теоретический процент верных ответов для каждого значения числа образцов в задаче рассчитывается по формуле:

$$\frac{100}{n} + \frac{100(n-1)}{2n},$$

где n — количество образцов. По рассчитанным таким образом значениям строили теоретическую (расчетную) кривую.

Результаты и обсуждение

Используя тренировочный вариант программы с движением образца, мы обучили всех шестерых обезьян выполнению задачи сравнения с образцом при его смещении, причем в первом же эксперименте с предъявлением

движущегося образца обезьяны начинали его отслеживать и давали таким образом более 75% верных ответов. Как мы упоминали ранее, до начала использования тренировочного варианта программы макаки в течение месяца не могли освоить задачу сопоставления стимулов с образцом. Постепенно увеличивая скорость движения образца, мы перешли к варианту предъявления без движения образца, но с минимальным временным интервалом между образцом и стимулами для выбора — 100 мс, то есть к задаче отставленного сравнения. Трое из шести обезьян продолжили успешно работать при изменении параметров предъявления (давать больше 75% верных ответов), один самец по кличке Лев достиг 75% уровня правильных ответов отсутствие движения образца через 11 дней, а остальные двое — Лиман и Филин — нуждались в дальнейшей тренировке с движением образца и смогли перейти к выполнению задачи без движения только спустя месяц. На рисунке 4 видно, что в задаче с одним образцом пятеро животных (все, исключая Лимана) давали более 75% верных ответов (в среднем — 80%), процент решения задачи каждой обезьяной был достоверно выше 50% уровня случайного гадания (одновыборочный t -критерий, $p < 0,05$).

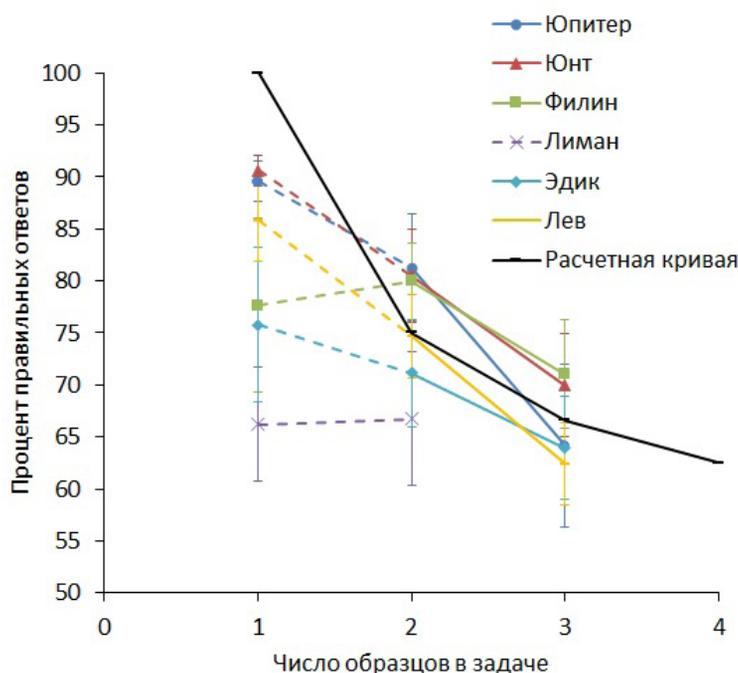


Рис. 4. Индивидуальные результаты выполнения животными задачи на запоминание с различным количеством образцов. Показаны средние значения процента правильных ответов в каждом из вариантов задачи. Разброс — стандартное отклонение. В задаче с одним образцом время предъявления образца составляло 300 мс, с двумя и тремя образцами — 1500 мс. Показана также расчетная кривая верных ответов при использовании стратегии запоминания только одного из образцов (пояснения в тексте)

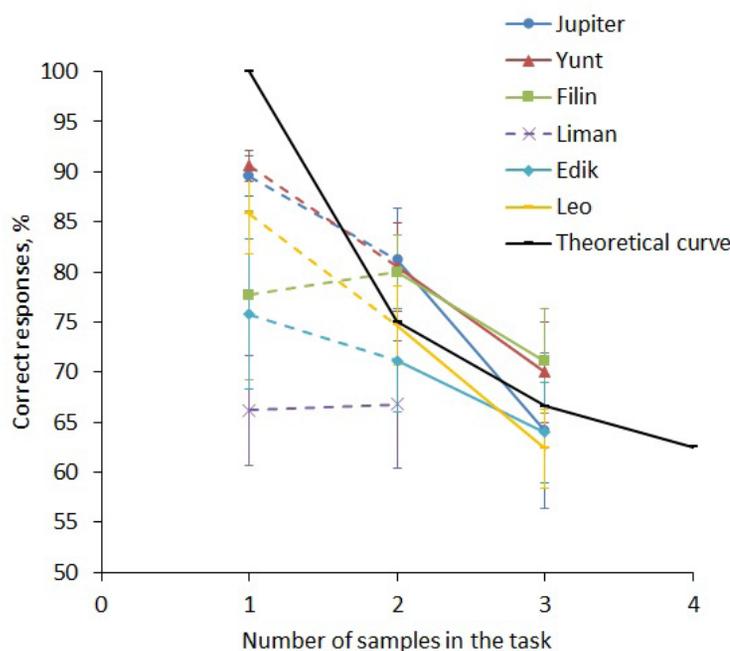


Fig. 4. Individual results of animals performing the DMTS task with different numbers of samples. The average percentage of correct responses is shown for each version of the task. Error bars are the standard deviation. In the task with one sample, the sample presentation time was 300 ms, with two and three samples—1500 ms. There is a theoretical curve in the plot, which represents the number of correct responses in the case of using the strategy of memorising only one of the samples (for details see text)

В целях усложнения задачи мы пробовали увеличивать временную задержку между предъявлением образца и стимулами для выбора у четырех обезьян. Двое животных демонстрировали стабильные результаты при увеличении времени задержки вплоть до 3000 мс. Процент их верных ответов оставался на уровне 75–80%. Однако остальные двое, в силу особенностей их темперамента и меньшей мотивированности, стали значительно чаще отвлекаться от задачи при увеличении времени ожидания, ухудшая свои результаты. Поэтому в дальнейших экспериментах мы остановились на значении 1000 мс. Однако при последующем увеличении временной задержки между образцом и стимулами для выбора мы, вероятно, смогли бы наблюдать постепенное снижение процента верных ответов. Так, в работе Хэмпсона и соавторов, где интервал удержания информации об образце составлял от единиц до десятков секунд, было показано, что увеличение этого интервала негативно влияет на успешность выполнения задачи, но только начиная с десяти секунд (Hampson et al. 2004).

Другой способ усложнения задачи — это увеличение количества образцов, т. е. инфор-

мации для запоминания. При увеличении количества образцов до двух обучающий вариант задачи с движущейся фигурой играл уже скорее роль подсказки, и животные после одной-двух сессий с такой подсказкой переходили к обучению данной задаче без движения. Пятеро животных обучились выполнению задачи с двумя образцами (достигли уровня 75% верных ответов в задаче без движения образца) в среднем за 6,6 дня ($SD = 2,7$). Хотя один макак по кличке Эдик, преодолев порог в 75% верных ответов, т. е. освоив задачу, в последующей серии опытов немного снизил показатели и в итоге продемонстрировал результат 71% (рис. 4). У шестого животного по кличке Лиман на освоение этой задачи без подсказки ушло больше двух месяцев, причем он так и не преодолел границу 75% правильных ответов и давал в среднем 66% правильных ответов (рис. 4), при этом значимо превышая уровень случайного гадания (50%). В среднем в задаче с двумя образцами уровень правильных ответов пяти обезьян составил 75%, и для каждого животного процент верных ответов значимо превышал 50% уровень (одновыборочный t-критерий, $p < 0,05$).

Далее те же пять обезьян перешли к выполнению задачи с тремя образцами. Причем предварительного обучения с движущимися образцами им уже не требовалось — макаки усвоили задачу, и увеличение количества образцов не привело к снижению процента верных ответов до уровня случайного гадания. В настоящее время они продолжают практиковаться и показывают в среднем около 66% правильных ответов, также значимо превышая уровень 50% случайного выбора (одновыборочный t-критерий, $p < 0,05$).

Наблюдая за животными во время выполнения ими задачи выбора, мы предположили, что при увеличении количества образцов они могли бы запоминать по крайней мере один из них, игнорируя остальные. При этом уровень верных ответов превышал бы уровень случайного гадания, но постепенно снижался с увеличением количества образцов. Мы рассчитали процент верных ответов при использовании этой стратегии во время решения задачи с одним, двумя, тремя и четырьмя образцами (при условии, что выбранный для запоминания образец верно опознается в 100% случаев, а остальные образцы случайно угадываются) и построили соответствующую кривую (рис. 4). Из рисунка 4 видно, что при выполнении задачи с двумя образцами три обезьяны дают верные ответы с вероятностью, больше рассчитанной; это позволяет предполагать, что они не прибегают к данной стратегии и пытаются запомнить оба образца. В случае с тремя образцами три из пяти обезьян, возможно, используют стратегию запоминания одного образца, хотя, вероятно, они просто еще не освоили до конца эту задачу.

Заключение

Нам удалось создать компьютеризированную методику изучения характеристик рабочей памяти приматов с использованием теста «отсроченное сравнение с образцом», а также разработать алгоритм обучения обезьян задачам различных уровней сложности. Для обучения животных мы использовали «подсказку» в виде движения образца, что позволило всем шести макакам быстро освоить задачу выбора по одному образцу. Уровень сложности задания регулировали количеством фигур-образцов, предъявляемых для запоминания. Пятеро из шести животных освоили вариант задачи, в котором для запоминания демонстрировались одновременно два образца, и перешли к освоению задачи с тремя образцами. С увеличением коли-

чества образцов у животных предсказуемо снижался процент верных ответов, то есть повышалась субъективная сложность задачи. В дальнейшем мы планируем увеличить число фигур для запоминания до четырех, а затем, возможно, до пяти — в зависимости от того, как макаки будут справляться с задачей. Исследования с участием людей показывают, что четыре объекта — это близкое к максимальному количеству единиц, которые испытуемый может одновременно удерживать в рабочей памяти (Velichkovskiy 2015). Использование компьютеризированной методики существенно упростит сравнительные исследования характеристик и механизмов рабочей памяти людей и макак-резусов и позволит варьировать количество образцов для запоминания, апеллируя тем самым к объему рабочей памяти. Ранее было проведено сравнение поведенческих характеристик и способностей к выполнению задачи выбора по образцу у макак, шимпанзе и детей с использованием реальных трехмерных объектов в качестве стимулов (Kuznetsova, Golubeva 2014). В работе использовали один образец, а сложность задачи изменялась за счет усложнения изображения для запоминания.

В целом применение компьютеризированной версии теста «отсроченное сравнение с образцом» с сенсорным монитором вместо реальных физических объектов существенно расширяет возможности исследований когнитивных способностей обезьян, в том числе в области использования последних в качестве животных моделей для изучения различных патологий центральной нервной системы, сопровождаемых нарушениями памяти.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Соответствие принципам этики

Эксперименты проводили в соответствии с положениями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях (European Union Directive 2010/63/EU, EU 2010).

Ethics Approval

Experiments were made according to the provisions of Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes (European Union Directive 2010/63/EU, EU 2010).

Вклад авторов

а. Дарья Никитична Подвигина — разработка процедуры обучения и эксперимента, проведение экспериментов, обработка и анализ данных, написание и оформление текста статьи;

б. Любовь Евгеньевна Иванова — разработка процедуры обучения и эксперимента, проведение экспериментов, обработка и анализ данных, участие в оформлении и редактировании текста статьи;

с. Алексей Кольмарович Хараузов — разработка процедуры обучения и эксперимента, обработка и анализ данных, редактирование текста статьи.

Author Contributions

a. Daria N. Podvigina: development of training and experiment procedure, experiments, data processing and analysis, writing and layout of the article;

b. Ljubov E. Ivanova: development of a training and experiment procedure, conducting experiments, processing and analysis of data, participation in the layout and editing of the article;

c. Alexey K. Kharauzov: development of training and experiment procedure, data processing and analysis, editing of article text.

References

- Bondar, I. V., Vasileva, L. N., Tereshchenko, L. V. et al. (2019) Training of rhesus macaques to complex cognitive tasks. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 49, no. 8, pp. 996–1007. <https://doi.org/10.1007/s11055-019-00829-6> (In English)
- Camus, S., Ko, W. K. D., Pioli, E., Bezaud, E. (2015) Why bother using non-human primate models of cognitive disorders in translational research? *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 124, pp. 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.06.012> (In English)
- Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*, vol. L 276, pp. 33–79. [Online]. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv%3AOJ.L.2010.276.01.0033.01.ENG&toc=OJ%3AL%3A2010%3A276%3ATOC> (accessed 02.10.2021). (In English)
- Goldman-Rakic, P. S., Lidow, M. S., Smiley, J. F., Williams, M. S. (1992) The anatomy of dopamine in monkey and human prefrontal cortex. In: A. H. Tuma, E. M. Stricker, S. Gershon (eds.). *Advances in Neuroscience and Schizophrenia*. Vienna: Springer Publ., pp. 163–177. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9211-5_8 (In English)
- Hampson, R. E., Pons, T. P., Stanford, T. R., Deadwyler, S. A. (2004) Categorization in the monkey hippocampus: A possible mechanism for encoding information into memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 101, no. 9, pp. 3184–3189. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400162101> (In English)
- Hoffman, M. L., Beran, M. J., Washburn, D. A. (2009) Memory for “what”, “where”, and “when” information in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Journal of Experimental Psychology: Animal Learning and Cognition*, vol. 35, no. 2, pp. 143–152. <https://doi.org/10.1037/a0013295> (In English)
- Ivanova, L. E., Korzhanova, Z. N., Varovin, I. A. et al. (2016) Izuchenie vzaimodejstviya makak-rezuzov s taktil'nymi monitorami pri nablyudenii nizkochastotnykh testovykh izobrazhenij [Studying the interaction of rhesus monkeys with the tactile monitors during their observation of low-frequency visual test images]. *Rossiyskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 102, no. 8, pp. 931–939. (In Russian)
- Kuznetsova, T. G., Golubeva, I. Yu. (2014) Sravnitel'nyj analiz vybora po obraztsu u primatov [Comparative analysis of matching-to-sample results among primates]. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 12. Psihologiya. Sotsiologiya. Pedagogika — Vestnik of Saint-Petersburg University. Series 12. Psychology. Sociology. Education*, no. 2, pp. 109–118. (In Russian)
- Lind, J., Enquist, M., Ghirlanda, S. (2015) Animal memory: A review of delayed matching-to-sample data. *Behavioural Processes*, vol. 117, pp. 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2014.11.019> (In English)
- Plagenhoef, M. R., Callahan, P. M., Beck, W. D. et al. (2021) Aged rhesus monkeys: Cognitive performance categorizations and preclinical drug testing. *Neuropharmacology*, vol. 187, article 108489. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108489> (In English)
- Rodriguez, J. S., Paule, M. G. (2009) Working memory delayed response tasks in monkeys. In: *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis Publ. [Online]. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5227/> (accessed 02.10.2021). (In English)

- Ryan, A. M., Berman, R. F., Bauman, M. D. (2019) Bridging the species gap in translational research for neurodevelopmental disorders. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 165, article 106950. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.10.006> (In English)
- Taubert, J., Flessert, M., Liu, N., Ungerleider, L. G. (2019) Intranasal oxytocin selectively modulates the behavior of rhesus monkeys in an expression matching task. *Scientific Reports*, vol. 9, no. 1, article 15187. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51422-3> (In English)
- Velichkovskiy, B. B. (2015) *Rabochaya pamyat' cheloveka. Struktura i mekhanizmy [Human working memory. Structure and mechanisms]*. Moscow: Cogito Centre Publ., 247 p. (In Russian)
- Weed, M. R., Taffe, M. A., Polis, I. et al. (1999) Performance norms for a rhesus monkey neuropsychological testing battery: Acquisition and long-term performance. *Cognitive Brain Research*, vol. 8, no. 3, pp. 185–201. [https://doi.org/10.1016/S0926-6410\(99\)00020-8](https://doi.org/10.1016/S0926-6410(99)00020-8) (In English)
- Young, M. E., Ohm, D. T., Dumitriu, D. et al. (2014) Differential effects of aging on dendritic spines in visual cortex and prefrontal cortex of the rhesus monkey. *Neuroscience*, vol. 274, pp. 33–43. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.05.008> (In English)



УДК 612.8.04

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-455-462>

Роль центральных отделов миндалевидного комплекса мозга в процессах регуляции гемодинамики крыс на фоне стресс-реакции

Е. И. Бакулина^{✉1}, А. Д. Юданова¹, И. Д. Романова¹, А. Н. Инюшкин¹

¹ Самарский национальный исследовательский университет им. академика С. П. Королева, 443086, Россия, г. Самара, Московское шоссе, д. 34

Сведения об авторах

Екатерина Ивановна Бакулина,
e-mail: bakulinae@inbox.ru

Анастасия Дмитриевна Юданова,
e-mail: judanova-nastja@ Rambler.ru

Ирина Дмитриевна Романова,
SPIN-код: 3343-7640,
Scopus AuthorID: 7006684843,
ORCID: 0000-0002-6128-7215,
e-mail: romanova_id@mail.ru

Алексей Николаевич Инюшкин,
SPIN-код: 4754-2708,
Scopus AuthorID: 7004026670,
ORCID: 0000-0002-3678-2636,
e-mail: ainyushkin@mail.ru

Для цитирования:

Бакулина, Е. И., Юданова, А. Д., Романова, И. Д., Инюшкин, А. Н. (2021) Роль центральных отделов миндалевидного комплекса мозга в процессах регуляции гемодинамики крыс на фоне стресс-реакции. *Интегративная физиология*, т. 2, № 4, с. 455–462. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-455-462>

Получена 4 октября 2021; прошла рецензирование 17 ноября 2021; принята 7 декабря 2021.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РФФИ №18-29-14073.

Права: © Е. И. Бакулина, А. Д. Юданова, И. Д. Романова, А. Н. Инюшкин (2021). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Стресс оказывает неблагоприятное влияние на здоровье и является фактором риска развития многих заболеваний. Современные нейробиологические исследования показывают, что в стрессовых условиях происходит гиперактивация структур миндалины. Таким образом, их участие в формировании стрессового синдрома не вызывает сомнений. Однако характер и механизм этих воздействий остаются неясными. Мы рассмотрели влияние миндалины на сердечно-сосудистую систему крыс, находящихся в состоянии хронического стресса, что в будущем может быть полезно для выявления роли комплекса миндалины в осуществлении стрессовых реакций у крыс. Работа велась на зрелых самках крыс, разделенных поровну на две группы: экспериментальную и контрольную. Во-первых, животным была проведена центральная миндалэктомия под внутривентрикулярной нембутальной анестезией. В экспериментальной группе крыс исследуемую структуру разрушали электролитическим методом, контрольную группу подвергали ложному «разрушению» миндалины. Во-вторых, животные проходили восстановительный период в течение семи дней. Затем обе группы подвергали хроническому легкому стрессу в течение двух недель. После этого мы измерили гемодинамические параметры сердечно-сосудистой системы и изучили анализы крови. Результаты, полученные в ходе нашего эксперимента, показывают, что поражение центрального ядра комплекса миндалины приводит к изменениям гемодинамических параметров деятельности сердечно-сосудистой системы.

Ключевые слова: миндалевидный комплекс, центральное ядро миндалины, сердечно-сосудистая система, амигдалэктомия, крысы, стресс-реакция

The role of the central parts of the amygdala in regulating rat hemodynamics under stress

E. I. Bakulina^{✉1}, A. D. Yudanova¹, I. D. Romanova¹, A. N. Inyushkin¹

¹ Samara National Research University, 34 Moskovskoye Rd., Samara 443086, Russia

Authors

Ekaterina I. Bakulina,

e-mail: bakulinae@inbox.ru

Anastasia D. Yudanova,

e-mail: judanova-nastja@rambler.ru

Irina D. Romanova,

SPIN: 3343-7640,

Scopus AuthorID: 7006684843,

ORCID: 0000-0002-6128-7215,

e-mail: romanova_id@mail.ru

Alexey N. Inyushkin,

SPIN: 4754-2708,

Scopus AuthorID: 7004026670,

ORCID: 0000-0002-3678-2636,

e-mail: ainyushkin@mail.ru

For citation:

Bakulina, E. I., Yudanova, A. D., Romanova, I. D., Inyushkin, A. N. (2021) The role of the central parts of the amygdala in regulating rat hemodynamics under stress.

Integrative Physiology, vol. 2, no. 4, pp. 455–462.

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-455-462>

Received 4 October 2021;

reviewed 17 November 2021;

accepted 7 December 2021.

Funding: The study was supported by RFBR grant No. 18-29-14073.

Copyright: © E. I. Bakulina, A. D. Yudanova, I. D. Romanova, A. N. Inyushkin (2021). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Stress has an adverse effect on health and is a risk factor for the development of many diseases. Modern neurobiological studies show that amygdala structures are hyperactivated under stressful conditions, making it clear that they play a role in the stress syndrome. However, the nature and mechanism of the connection between amygdala and stress are still unclear. We have studied the influence of the amygdala on the cardiovascular system of rats under chronic stress, which in the future may be useful for identifying the role of the amygdala complex in the implementation of stress reactions in rats. The work was carried out on mature female rats divided equally into the experimental and control groups. First, the animals underwent a central amygdectomy under intraperitoneal nembutal anaesthesia. In the experimental group of rats, the structure under study was destroyed by the electrolytic method, the control group underwent a false “destruction” of the amygdala. Second, the animals were allowed a recovery period of seven days. Then, both groups were subjected to chronic mild stress for two weeks. After that, we measured the hemodynamic parameters of their cardiovascular systems and analysed their blood tests. The results obtained during our experiment show that the destruction of the central nucleus of the amygdala complex leads to changes in hemodynamic parameters of the cardiovascular system.

Keywords: amygdala, central nucleus of the amygdala, cardiovascular system, amygdectomy, rats, stress response

Введение

Стресс оказывает неблагоприятное воздействие на здоровье и является фактором риска развития многих заболеваний. Современные нейробиологические исследования показывают, что структуры миндалевидного комплекса (МК) могут играть существенную роль в реакции организма на стресс. Установлено, что в стрессовых условиях происходит гиперактивация структур МК (Hölzel et al. 2010). Однако в других исследованиях (Carter et al. 2004) показано, что обширное разрушение центрального ядра (Ce) МК не сильно влияет на адаптацию к действию острого и хронического стресса. Такое поражение МК не предотвращает быструю активацию

гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси при развитии острого стресса, но отсрочивает адаптацию структур гипоталамуса к действию кортикостероидов при хроническом стрессе. Те же авторы указывают, что локальное разрушение МК может усугубить острую реакцию организма на стресс и блокировать привыкание структур гипоталамуса к высоким концентрациям кортикостероидов.

В модельных экспериментах (Wei et al. 2018) было продемонстрировано, что длительный непредсказуемый стресс вызывает уменьшение активности глутаматергических проекций от пирамидных нейронов префронтальной коры к ГАМКергическим интернейронам в базолатеральной миндалине. Это приводило к потере

прямого ингибирования и, как следствие, к повышенной возбудимости нейронов базолатеральной миндалины. В то же время Вэй-Чжу Лю с соавторами установлено, что при хроническом иммобилизационном стрессе дисрегуляция происходит в первой популяции нейронов (нейроны проекции базолатеральной миндалины, получающие однонаправленные входы из дорсомедиальной префронтальной коры), а не во второй популяции (нейроны, взаимно связанные с дорсомедиальной префронтальной корой). При этом происходит сдвиг возбуждающе-тормозного баланса, управляемый дорсомедиальной префронтальной корой, в сторону возбуждения в первой популяции нейронов. Такая специфичность характерна для соединений, создаваемых дорсомедиальной префронтальной корой, вызванных усиленным пресинаптическим высвобождением глутамата, что коррелирует с повышенным тревожным поведением у стрессированных мышей (Liu et al. 2020). Авторы предполагают, что расхождение полученных результатов с данными других исследователей может быть обусловлено выбором методики стрессирующего воздействия на животных. Таким образом, участие структур миндалины в формировании стресс-синдрома не подвергается сомнению. Однако характер этих влияний, а также их механизмы требуют дальнейшего изучения.

Методика

Работа выполнена на 12 половозрелых самках крыс (стадия диэструса), разделенных на две группы поровну: экспериментальную и контрольную. Разрушение Се МК проводили под нембуталовым наркозом (50 мг/кг), введенным внутривенно. У животных экспериментальной группы изучаемая структура была разрушена электролитическим методом (анодный ток 0,1 А в течение 10 секунд) (Buresh et al. 1991) по координатам: Р — 1,8 мм, L — 3,8 мм, V — 7,8 мм в соответствии с атласом мозга крыс (Paxinos, Watson 1986). В контрольной группе проводили введение электрода по координатам структуры без действия тока. Восстановительный период от хирургической операции до момента начала исследования составил 7 дней. В течение этого времени каждая особь находилась в отдельной клетке (Belyakov, Inyushkina 2008).

Измерение параметров деятельности сердечно-сосудистой системы (ССС) крыс проводили неинвазивным методом с использованием аппарата CODA Monitor (CODA Monitor... 2021).

Первоначально всех животных приучали свободно входить в держатель и находиться в нем, чтобы избежать дополнительного стрессирования при проведении эксперимента. Регистрировали систолическое давление (СД), диастолическое давление (ДД), среднее давление (СрД), частоту сердечных сокращений (ЧСС), минутный объем крови (МОК), объем циркулирующей крови (V). Запись данных показателей у каждого животного осуществляли 6–8 раз подряд, поскольку параметры деятельности сердечно-сосудистой системы могут варьировать в небольшом диапазоне, на основании полученных данных рассчитывали моду. Пульсовое давление (ПД) рассчитывали по полученным данным. Регистрацию параметров гемодинамики в каждой группе проводили до моделирования хронического мягкого стресса (ХМС) и после двухнедельного стресса.

Для моделирования ХМС мы использовали методику Уиллнера, которая заключается в том, что на протяжении конкретного промежутка времени грызуны ежедневно подвергаются действию различных стрессогенных раздражителей в случайной последовательности (Willner 1997). Модель ХМС для обеих групп создавали в течение двух недель посредством ежедневной смены в непредсказуемом для крыс порядке слабых факторов стресса: тесная клетка, отсутствие освещения, яркое искусственное освещение (200 люксов), пищевая и питьевая депривация, воздействие резкого запаха, наклон клетки под углом 30° (рис. 1).

Выраженность стресс-реакции определяли анализом лейкоцитарной формулы. Пробы нативной крови для приготовления мазков получали путем ампутации кончика хвоста у крыс. Для окраски использовали метод Романовского — Гимзы. Исследование мазков производили под микроскопом с иммерсией. Для подсчета лейкоцитарной формулы исследовали 200 клеток крови с последующим определением соотношения различных форм лейкоцитов (Voronin et al. 2014).

Статистическую обработку данных производили с помощью программы SigmaPlot 12.5 (SYSTAT Software). Нормальность распределения определяли с помощью теста Шапиро — Уилка, однородность распределения выборок оценивали с использованием критерия Левена. Для сравнения выборок использовали парный и непарный t-тест, тест Манна — Уитни, тест Вилкоксона. Значимыми считали различия с уровнем $p < 0,05$.

Стрессогенный фактор	Дни недели														
	Пн	Вт	Ср	Чт	Пт	Сб	Вс	Пн	Вт	Ср	Чт	Пт	Сб	Вс	
Тесная клетка	■														
Отсутствие освещения		■						■			■				
Искусственная освещенность						■			■						
Пищевая депривация						■							■		
Питьевая депривация	■							■							
Воздействие резкого запаха		■													
Грязная клетка											■				
Наклон клетки под углом 30°								■							

Рис. 1. Модель мягкого непредсказуемого хронического стресса (ХМС) продолжительностью 14 дней

Stress factor	Day of week														
	Mo	Tu	We	Th	Fr	Sa	Su	Mo	Tu	We	Th	Fr	Sa	Su	
Cramped cage	■														
Lack of lighting		■						■			■				
Artificial lighting						■			■						
Food deprivation						■							■		
Water deprivation	■							■							
Pungent smell		■													
Dirty Cage											■				
The slope of the cage at an angle of 30°								■							

Fig. 1. A model of unpredictable chronic mild stress (CMS) lasting 14 days

Результаты исследования

При анализе влияния разрушения Се миндалина на гемодинамические показатели крыс нами было выявлено, что показатели СД, АД и СрД в покое выше у контрольных крыс, чем у животных экспериментальной группы, остальные параметры системной гемодинамики у контрольных и экспериментальных крыс не различались (рис. 2).

После моделирования ХМС у крыс экспериментальной группы, с разрушенным Се, наблюдали возрастание таких параметров артериального давления, как СД, АД и СрД. Однако МОК, ЧСС и V остались без изменений. В то же время у животных контрольной группы нами отмечено снижение СД, АД и СрД (рис. 3).

До воздействия ХМС у животных с разрушенным Се отмечено повышенное содержание эозинофилов по сравнению с интактными крысами. После воссоздания модели ХМС у крыс данной группы наблюдали резкое падение

количества эозинофилов, что является реакцией, характерной для развития стресс-синдрома. Кроме того, в этих условиях у крыс экспериментальной группы отмечено увеличение количества лимфоцитов, что в совокупности с эозинопенией указывает на выраженную стресс-реакцию (Selye 1960). Подобных реакций у крыс контрольной группы не отмечено (рис. 4).

Снижение артериального давления после разрушения Се миндалина в определенной мере согласуется с данными других авторов. Так, в экспериментах на спонтанно гипертензивных (SHR) крысах (Folkow et al. 1982), а также в исследованиях на самцах пограничных гипертензивных крыс (Sanders et al. 1994) было показано, что у амигдалоэктамированных крыс в покое наблюдается снижение параметров артериального давления по сравнению с контрольными группами животных. У новозеландских кроликов после радиочастотного поражения Се также наблюдалась брадикардия (Karp et al. 1979).

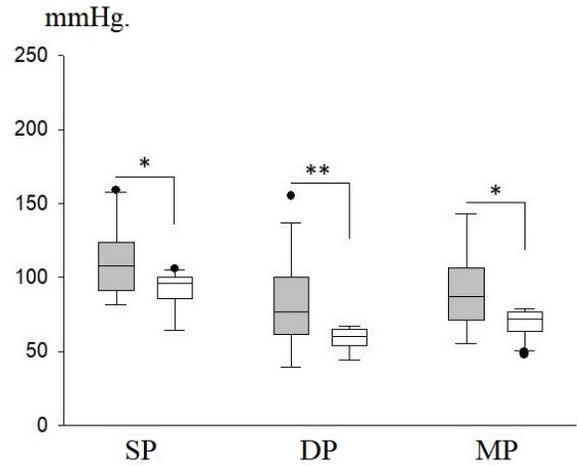
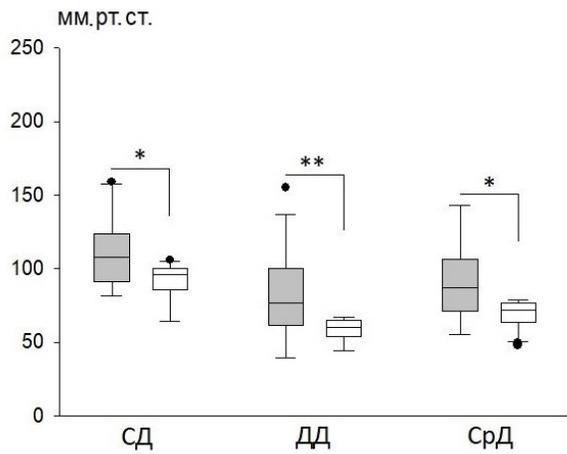


Рис. 2. Значения систолического (СД), диастолического (ДД) и среднего (СрД) давления у крыс контрольной группы и крыс, подвергшихся разрушению Се.

Fig. 2. Values of systolic (SP), diastolic (DP) and mean (MP) pressure in rats of the control group and rats exposed to Ce destruction.

Условные обозначения: серые столбцы — контрольная группа; белые столбцы — экспериментальная группа.
* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$

Symbols: grey columns—control group; white columns—experimental group.
* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$

Нейротоксические поражения МК у самцов крыс замедляли привыкание нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса к действию кортикостерона, выражающееся в снижении экспрессии мРНК и *c-fos* (Carter et al. 2004). Было сделано заключение о существенной роли МК в процессах адаптации, при этом предполагает-

ся особая роль Се МК в развитии стресс-синдрома. Авторы считают, что МК, и Се в частности, не являются необходимыми для активации ССС в ответ на стресс, но модулируют стресс-реакцию, поскольку локальное разрушение Се МК может усугубить острую реакцию организма на стресс и блокировать чувствительность структур

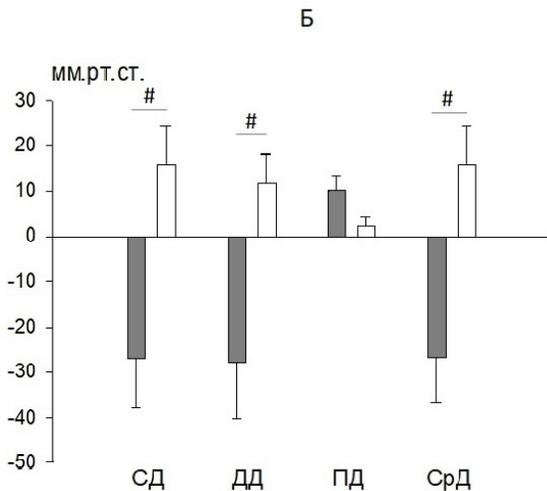
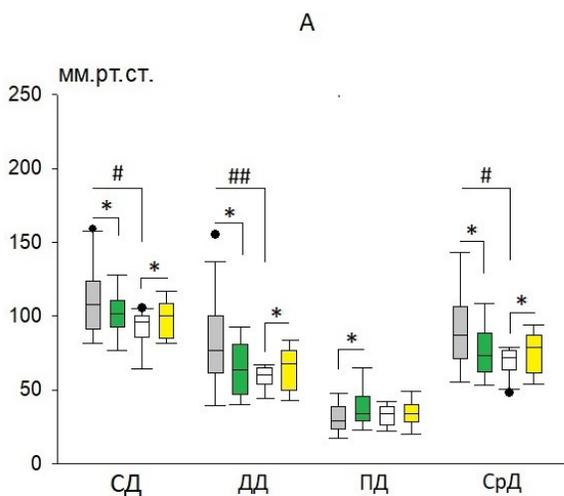


Рис. 3. Изменение параметров артериального давления в результате ХМС у крыс контрольной группы и животных после разрушения Се (экспериментальная группа). А — абсолютные значения параметров артериального давления. Б — отклонения параметров артериального давления у животных контрольной и экспериментальной групп от исходного уровня в результате ХМС. Условные обозначения: А. Серые столбцы — контрольная группа до ХМС, зеленые столбцы — контрольная группа после ХМС, белые столбцы — экспериментальная группа до ХМС, желтые столбцы — экспериментальная группа после ХМС. Б. Серые столбцы — контрольная группа; белые столбцы — экспериментальная группа. * — $p < 0,05$ (в пределах одной группы до и после ХМС); # — $p < 0,05$; ## — $p < 0,01$ (между группами до и после ХМС)

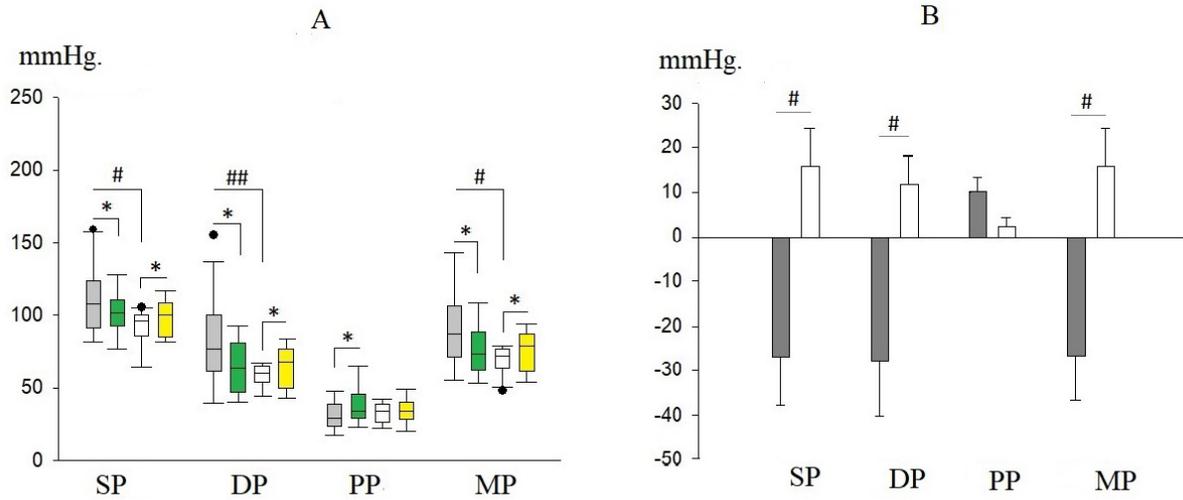


Fig. 3. Changes in blood pressure parameters as a result of CMS in control group rats and rats after Ce destruction (experimental group). A—absolute values of blood pressure parameters. B—deviations of blood pressure parameters in animals of the control and experimental groups from the baseline level as a result of CMS. Symbols: A. Grey columns—control group before CMS, green columns—control group after CMS, white columns—experimental group before CMS, yellow columns—experimental group after CMS. B. Grey columns—control group, white columns—experimental group. *— $p < 0.05$ (within the same group before and after CMS); #— $p < 0.05$; ##— $p < 0.01$ (between groups before and after CMS)

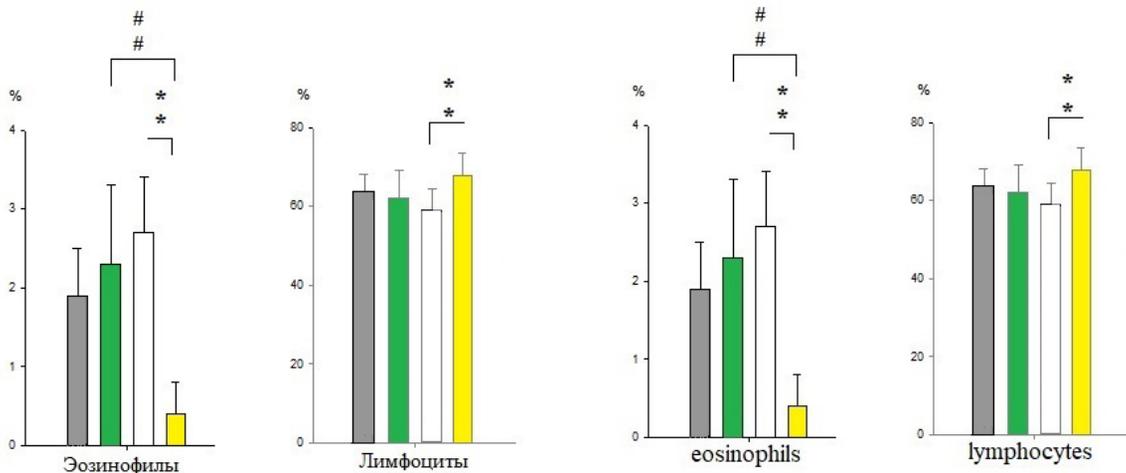


Рис. 4. Процентное соотношение эозинофилов и лимфоцитов до и после хронического мягкого стресса (ХМС). Условные обозначения: серые столбцы — контрольная группа до ХМС, зеленые столбцы — контрольная группа после ХМС, белые столбцы — экспериментальная группа до ХМС, желтые столбцы — экспериментальная после ХМС. ** — статистически значимые различия внутри исследуемых групп ($p < 0,01$). # — статистически значимые различия между исследуемыми группами ($p < 0,01$)

Fig. 4. The percentage of eosinophils and lymphocytes before and after chronic mild stress (CMS). Symbols: grey columns—control group before CMS, green columns—control group after CMS, white columns—experimental group before the CMS, yellow columns—experimental group after the CMS. **—statistically significant differences within the study groups ($p < 0.01$). #—statistically significant differences between the study groups ($p < 0.01$)

гипоталамуса к высоким концентрациям кортикостероидов. Заметим, что в данном исследовании в качестве стрессирующего фактора была использована 30-минутная иммобилизация.

Между тем имеются сведения о том, что характер влияния ядер МК на развитие адаптивных процессов существенно зависит от условий эксперимента, в частности от характера стрес-

сирующего агента (Liu et al. 2020). В связи с этим характер и механизмы влияния МК, на развитие стресс-синдрома требуют дальнейших исследований. В частности, необходимо исследование влияния Се на гемодинамику и другие параметры гомеостаза в условиях как хронического, так и острого стресса.

Заключение

В настоящей работе рассмотрено влияние МК на ССС крыс в условиях хронического стресса. Полученные результаты указывают на выраженную дезадаптацию крыс с разрушенным Се, что выражается в повышении значений артериального давления (СД, ДД и СрД). На основании того, что крысы контрольной группы демонстрируют более выраженные адаптивные возможности, можно сделать заключение о том, что МК является важнейшим стресс-мобилизующим центром, обеспечивающим процесс адаптации.

Список сокращений

МК — миндалевидный комплекс; Се — центральное ядро, СД — систолическое давление; ДД — диастолическое давление, СрД — среднее давление; ЧСС — частота сердечных сокращений; МОК — минутный объем крови; ПД — пульсовое давление; V — объем циркулирующей крови; ХМС — хронический мягкий стресс; ССС — сердечно-сосудистая система; CMS — mild unpredictable chronic stress; SP — systolic pressure; DP — diastolic pressure; MP — mean pressure; PP — pulse pressure.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Соответствие принципам этики

При проведении эксперимента все этические правила при работе и содержанию животных были соблюдены в соответствии с биоэтическими нормами и действовали в рамках Европейской конвенции о защите позвоночных животных,

используемых для экспериментов или в иных научных целях, заключенной 18 марта 1986 г. в Страсбурге, и одобрены комиссией по биоэтике Самарского национального исследовательского университета им. академика С. П. Королева (протокол № 3 от 20 июня 2020 года).

Ethics Approval

During the experiment, all ethical rules for working and keeping animals were observed in accordance with bioethical norms. The experimenters operated within the framework of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes of 18 March 1986, Strasbourg. The experiment was approved by the commission on biological ethics of Samara National Research University (protocol No. 3 from 20 June 2020).

Вклад авторов

a. Екатерина Ивановна Бакулина — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка данных, написание текста, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи;

b. Анастасия Дмитриевна Юданова — сбор и обработка материала, статистическая обработка данных, написание текста;

c. Ирина Дмитриевна Романова — концепция и дизайн исследования, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи;

d. Алексей Николаевич Инюшкин — концепция исследования, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи.

Author Contributions

a. Ekaterina I. Bakulina: concept and design of the research, collection and processing of material, statistical data processing, writing, editing, approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article;

b. Anastasia D. Yudanova: material collection and processing, statistical data processing, writing of the text;

c. Irina D. Romanova: concept and design of the research, editing, approval of the final version of the article;

d. Alexey N. Inyushkin: concept of the research, editing, approval of the final version of the article.

References

- Belyakov, V. I., Inyushkina, E. M. (2008) *Laboratornye krysy: sodержanie, razvedenie, kormlenie i ispol'zovanie v biomeditsinskikh issledovaniyakh: uchebnoe posobie [Laboratory rats: Maintenance, breeding, feeding and use in biomedical research: training manual]*. Samara: Samara State University Publ., 40 p. (In Russian)
- Buresh, Ya., Bureshova, O., Houston, D. P. (1991) *Metodiki i osnovnye eksperimenty po izucheniyu mozga i povedeniya [Methods and basic experiments on the study of the brain and behavior]*. Moscow: Vysshaya shkola Publ., 399 p. (In Russian)
- Carter, R. N., Pinnock, S. B., Herbert, J. (2004) Does the amygdala modulate adaptation to repeated stress? *Neuroscience*, vol. 126, no. 1, pp. 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.01.018> (In English)
- CODA Monitor. User's Guide. (2021) [Online]. Available at: https://www.kentscientific.com/Customer-Content/www/products/Files/CODA_Monitor_Users_Guide_May_2021.pdf (accessed 02.10.2021). (In English)
- Folkow, B., Hallback-Nordlander, M., Martner, J., Nordborg, C. (1982) Influence of amygdala lesions on cardiovascular responses to altering stimuli on behaviour and on blood pressure development in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiologica Scandinavica*, vol. 116, no. 2, pp. 133–139. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1982.tb07121.x> (In English)
- Hölzel, B. K., Carmody, J., Evans, K. C. et al. (2010) Stress reduction correlates with structural changes in the amygdale. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, vol. 5, no. 1, pp. 11–17. <https://doi.org/10.1093/scan/nsp034> (In English)
- Kapp, B. S., Frysinger, R. C., Gallagher, M., Haselton, J. R. (1979) Amygdala central nucleus lesions: Effects on heart rate conditioning in the rabbit. *Physiology and Behavior*, vol. 23, no. 6, pp. 1109–1117. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(79\)90304-4](https://doi.org/10.1016/0031-9384(79)90304-4) (In English)
- Liu, W-Z., Zhang, W-H., Zheng, Z-H. et al. (2020) Identification of a prefrontal cortex-to-amygdala pathway for chronic stress-induced anxiety. *Nature Communications*, vol. 11, no. 1, article 2221. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15920-7> (In English)
- Paxinos, G., Watson, C. (1998) *The rat brain in stereotaxis coordinates*. San Diego: Academic Press, 237 p. (In English)
- Sanders, B. J., Wirtz-Nole, C., DeFord, S. M., Erling, B. F. (1994) Central amygdaloid lesions attenuate cardiovascular responses to acute stress in rats with borderline hypertension. *Physiology and Behavior*, vol. 56, no. 4, pp. 709–713. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(94\)90231-3](https://doi.org/10.1016/0031-9384(94)90231-3) (In English)
- Selye H. (1960) *Ocherki ob adaptatsionnom sindrome [The story of the adaptation syndrome]*. Moscow: Medgiz Publ., 254 p. (In Russian)
- Voronin, E. S., Kovalev, S. P., Snoz, G. V (2014) *Praktikum po klinicheskoy diagnostike s rentgenologiej: uchebnoe posobie [Practicum on clinical diagnostics with radiology: Training manual]*. Moscow: Infra-M Publ., 336 p. (In Russian)
- Wei, J., Zhong, P., Qin, L. et al. (2018) Chemicogenetic restoration of the prefrontal cortex to amygdala pathway ameliorates stress-induced deficits. *Cerebral Cortex*, vol. 28, no. 6, pp. 1980–1990. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx104> (In English)
- Willner, P. (1997) Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: A 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology*, vol. 134, no. 4, pp. 319–329. <https://doi.org/10.1007/s002130050456> (In English)



УДК 612.014.1 + 620.3

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-463-470>

Водорастворимое производное фуллерена C_{70} как регулятор уровня активных форм кислорода в культивируемых клетках человека

Е. А. Савинова¹, Л. В. Каменева¹, Е. С. Ершова¹, Е. В. Проскурнина¹, П. Е. Умрюхин^{1,2},
И. В. Родионов^{1,2}, О. А. Долгих¹, О. А. Краевая³, П. А. Трошин^{3,4}, Н. Н. Вейко¹,
С. В. Костюк¹

¹ Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова,
115522, Россия, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 1
19991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

³ Институт проблем химической физики РАН,
142432, Россия, г. Черноголовка, пр. академика Семенова, д. 1

⁴ Силезский технологический университет, 44-100, Польша, г. Гливице, ул. Академицка, д. 2А

Сведения об авторах

Екатерина Алексеевна Савинова,
SPIN-код: 7359-6438,
Scopus AuthorID: 57207764679,
ORCID: 0000-0001-5286-516X,
e-mail: savinova.ekaterina96@yandex.ru

Лариса Владимировна Каменева,
SPIN-код: 9930-1695,
Scopus AuthorID: 35272189300,
ORCID: 0000-0001-8475-643,
e-mail: larisa.cameneva@yandex.ru

Елизавета Сергеевна Ершова,
SPIN-код: 5488-0201,
Scopus AuthorID: 7004664097,
ResearcherID: E-3220-2015,
ORCID: 0000-0003-1206-5832,
e-mail: es-ershova@rambler.ru

Елена Васильевна Проскурнина,
SPIN-код: 8072-7745,
Scopus AuthorID: 6507062408,
ORCID: 0000-0002-8243-6339,
e-mail: proskurnina@gmail.com

Павел Евгеньевич Умрюхин,
SPIN-код: 2250-0749,
Scopus AuthorID: 6602247817,
ORCID: 0000-0001-8628-7353,
e-mail: pavelum@mail.ru

Иван Владимирович Родионов,
ORCID: 0000-0001-7042-4288,
e-mail: vano121099@mail.ru

Ольга Адольфовна Долгих,
SPIN-код: 6726-6814,
Scopus AuthorID: 57192896923,
ORCID: 0000-0002-4426-8864,
e-mail: dolgiko@med-gen.ru

Аннотация. Производные фуллеренов C_{60} и C_{70} исследуются как потенциальные средства доставки лекарств в организм. Кроме того, эти соединения обладают способностью эффективно связывать активные формы кислорода (АФК) в растворах и могут быть использованы в качестве радиопротекторов и антиокислителей. Однако исследование водорастворимого фуллерена C_{60} ранее показало, что это соединение способно не только блокировать АФК, но и индуцировать вторичный окислительный стресс, связанный с ответом клеток на значительное снижение уровня АФК. С целью дальнейшего анализа ответа клеток человека на присутствие фуллерена в среде мы исследовали действие водорастворимого производного фуллерена C_{70} на культивируемые фибробласты кожи человека. Фуллерен C_{70} в нетоксичной концентрации вызывает транзиторный окислительный стресс, который проявился в краткосрочном увеличении уровня окисления клеточной ДНК. Стресс возникает через 3 часа на фоне индуцированного фуллереном снижения активности гена антиокислительного ответа *NRF2* и увеличения активности гена *NOX4*, который кодирует фермент, катализирующий синтез пероксида водорода. Через 24 часа уровень окисления ДНК снижается до контрольных значений. Высказано предположение, что фуллерены могут найти применение не только в качестве антиокислителей, но и в качестве потенциальных индукторов адаптивного ответа, который повышает выживаемость клеток при негативных воздействиях среды.

Ключевые слова: окислительный стресс, фуллерены, активные формы кислорода, наносоединения, ДНК

Ольга Александровна Краевая,
ORCID: [0000-0003-0622-5393](https://orcid.org/0000-0003-0622-5393),
e-mail: okraevaya@inbox.ru

Павел Анатольевич Трошин,
SPIN-код: [5547-1498](https://spiner.ru/5547-1498),
Scopus AuthorID: [6602075364](https://scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6602075364),
e-mail: troshin2003@inbox.ru

Наталья Николаевна Вейко,
SPIN-код: [8477-2627](https://spiner.ru/8477-2627),
Scopus AuthorID: [7003708619](https://scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7003708619),
ResearcherID: [B-2617-2012](https://orcid.org/B-2617-2012),
ORCID: [0000-0003-1847-0548](https://orcid.org/0000-0003-1847-0548),
e-mail: satelit32006@yandex.ru

Светлана Викторовна Костюк,
SPIN-код: [4022-8214](https://spiner.ru/4022-8214),
Scopus AuthorID: [57205213299](https://scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57205213299),
ResearcherID: [B-2027-2016](https://orcid.org/B-2027-2016),
ORCID: [0000-0003-2116-1244](https://orcid.org/0000-0003-2116-1244),
e-mail: svet-vk@yandex.ru

Для цитирования:

Савинова, Е. А., Каменева, Л. В.,
Ершова, Е. С., Проскурнина, Е. В.,
Умрюхин, П. Е., Родионов, И. В.,
Долгих, О. А., Краевая, О. А.,
Трошин, П. А., Вейко, Н. Н.,
Костюк, С. В.

(2021) Водорастворимое
производное фуллерена C_{70} как
регулятор уровня активных форм
кислорода в культивируемых
клетках человека.

Интегративная физиология, т. 2,
№ 4, с. 463–470.

[https://www.doi.
org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-
463-470](https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-463-470)

Получена 21 октября 2021;
прошла рецензирование 2 ноября
2021; принята 7 ноября 2021.

Финансирование: Работа
выполнена при поддержке гранта
РНФ №18-15-00437, продолжение
(исследования биологических
эффектов водорастворимого
производного фуллерена)
и гранта РНФ № 19-13-00411
(синтез водорастворимого
производного фуллерена).

Права: © Е. А. Савинова,
Л. В. Каменева, Е. С. Ершова,
Е. В. Проскурнина, П. Е. Умрюхин,
И. В. Родионов, О. А. Долгих,
О. А. Краевая, П. А. Трошин,
Н. Н. Вейко, С. В. Костюк (2021).
Опубликовано Российским
государственным педагогическим
университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях
лицензии CC BY-NC 4.0.

Water-soluble C₇₀ fullerene derivative as a regulator of the reactive oxygen species level in cultured human cells

E. A. Savinova¹, L. V. Kameneva¹, E. S. Ershova¹, E. V. Proskurnina¹, P. E. Umriukhin^{✉1,2}, I. V. Rodionov^{1,2}, O. A. Dolgikh¹, O. A. Kraevaya³, P. A. Troshin^{3,4}, N. N. Veiko¹, S. V. Kostyuk¹

¹ Research Centre for Medical Genetics, 1 Moskvorechye Str., Moscow 115522, Russia

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Bld. 2, 8 Trubetskaya Str., Moscow 119991, Russia

³ Institute of Problems of Chemical Physics of Russian Academy of Sciences, 1 Academician Semenov Ave., Chernogolovka 142432, Russia

⁴ Silesian University of Technology, 2A Akademicka Str., Gliwice 44-100, Poland

Authors

Ekaterina A. Savinova,

SPIN: 7359-6438,

Scopus AuthorID: 57207764679,

ORCID: 0000-0001-5286-516X,

e-mail:

savinova.ekaterina96@yandex.ru

Larisa V. Kameneva,

SPIN: 9930-1695,

Scopus AuthorID: 35272189300,

ORCID: 0000-0001-8475-643,

e-mail: larisa.cameneva@yandex.ru

Elizaveta S. Ershova,

SPIN: 5488-0201,

Scopus AuthorID: 7004664097,

ResearcherID: E-3220-2015,

ORCID: 0000-0003-1206-5832,

e-mail: es-ershova@rambler.ru

Elena V. Proskurnina,

SPIN: 8072-7745,

Scopus AuthorID: 6507062408,

ORCID: 0000-0002-8243-6339,

e-mail: proskurnina@gmail.com

Pavel E. Umriukhin,

SPIN: 2250-0749,

Scopus AuthorID: 6602247817,

ORCID: 0000-0001-8628-7353,

e-mail: pavelum@mail.ru

Ivan V. Rodionov,

ORCID: 0000-0001-7042-4288,

e-mail: vano121099@mail.ru

Olga A. Dolgikh,

SPIN: 6726-6814,

Scopus AuthorID: 57192896923,

ORCID: 0000-0002-4426-8864,

e-mail: dolgiko@med-gen.ru

Olga A. Kraevaya,

ORCID: 0000-0003-0622-5393,

e-mail: okraevaya@inbox.ru

Pavel A. Troshin,

SPIN: 5547-1498,

Scopus AuthorID: 6602075364,

e-mail: troshin2003@inbox.ru

Natalya N. Veiko,

SPIN: 8477-2627,

Scopus AuthorID: 7003708619,

ResearcherID: B-2617-2012,

ORCID: 0000-0003-1847-0548,

e-mail: satelit32006@yandex.ru

Svetlana V. Kostyuk,

SPIN: 4022-8214,

Abstract. Fullerene derivatives of C₆₀ and C₇₀ are being investigated as potential tools for drug delivery to the body. Additionally, these compounds have the ability to effectively bind reactive oxygen species (ROS) in solutions and can be used as radioprotectors and antioxidants. However, a study of water-soluble C₆₀ fullerene previously showed that this compound is able not only to block ROS, but also to induce secondary oxidative stress associated with cell response to a significant decrease in ROS levels. In order to further analyse the response of human cells to the presence of fullerene in the medium, we investigated the effect of a water-soluble C₇₀ fullerene derivative on cultured human skin fibroblasts. C₇₀ fullerene in a non-toxic concentration causes transient oxidative stress, which manifested itself in a short-term increase in the cellular DNA oxidation level. Stress occurs 3 hours after fullerene-induced decrease in the antioxidant response gene NRF2 activity and an increase in the activity of the NOX4 gene, which encodes an enzyme catalysing hydrogen peroxide synthesis. 24 hours later, the level of DNA oxidation decreases to the control values. It is suggested that fullerenes can be used not only as antioxidants, but also as potential inducers of an adaptive response that increases cell survival under negative environmental influences.

Keywords: oxidative stress, fullerenes, reactive oxygen species, nanocomposites, DNA

Scopus AuthorID: 57205213299,
ResearcherID: B-2027-2016,
ORCID: 0000-0003-2116-1244,
e-mail: svet-vk@yandex.ru

For citation:

Savinova, E. A., Kameneva, L. V.,
Ershova, E. S., Proskurnina, E. V.,
Umriukhin, P. E., Rodionov, I. V.,
Dolgikh, O. A., Kraevaya, O. A.,
Troshin, P. A., Veiko, N. N.,
Kostyuk, S. V.

(2021) Water-soluble C₇₀ fullerene
derivative as a regulator of the
reactive oxygen species level
in cultured human cells. *Integrative
Physiology*, vol. 2, no. 4, pp. 463–470.
[https://www.doi.
org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-
463-470](https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-463-470)

Received 21 October 2021;
reviewed 2 November 2021;
accepted 7 November 2021.

Funding: The study was supported
by RSF grant No. 18-15-00437,
continuation (studies of biological
effects of a water-soluble fullerene
derivative) and RSF grant
No. 19-13-00411 (synthesis
of a water-soluble fullerene
derivative).

Copyright: © E. A. Savinova,
L. V. Kameneva, E. S. Ershova,
E. V. Proskurnina, P. E. Umriukhin,
I. V. Rodionov, O. A. Dolgikh,
O. A. Kraevaya, P. A. Troshin,
N. N. Veiko, S. V. Kostyuk (2021).
Published by Herzen State
Pedagogical University of Russia.
Open access under [CC BY-NC
License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Введение

Фуллерены C₆₀ и C₇₀ и их растворимые в воде производные с различными функциональными группами относятся к классу наносоединений. В последние годы эти соединения исследуют на предмет их практического применения в различных сферах, в том числе в медицине (Afreeen et al. 2015; Bosi et al. 2003; Kazemzadeh, Mozafari 2019; Mousavi et al. 2017). Вследствие их химической структуры, которая включает большое количество ненасыщенных связей, фуллерены рассматриваются в качестве потенциальных эффективных антиоксидантов, которые могут блокировать окислительный стресс, индуцируемый различными воздействиями, например ионизирующим излучением. Однако исследования показали, что взаимодействие фуллеренов с клетками не сводится только к связыванию активных форм кислорода и азота (АФК) во внеклеточной среде

и клетках (Johnston et al. 2010). В зависимости от природы заместителя фуллерены индуцируют в клетках различные реакции, в том числе могут парадоксальным образом индуцировать дополнительный синтез АФК (Ershova et al. 2016). В рамках данного исследования мы протестировали водорастворимый фуллерен C₇₀ на предмет регулирования транскрипции генов двух основных факторов, влияющих на уровень АФК в клетках в норме и при патологии. Транскрипционный фактор NRF2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2) контролирует транскрипцию генов, отвечающих за антиокислительный ответ (Bellezza et al. 2018). NOX4 (NADPH-оксидаза 4) — это фермент, который катализирует реакцию синтеза пероксида в клетках в ответ на различные стимулы (Bedard, Krause 2007). Было показано, что функционализированный фуллерен C₇₀ способен регулировать транскрипцию этих двух факторов и модулировать уровень АФК в клетках.

Методы

Водорастворимое производное фуллерена C_{70} (рис. 1А) было синтезировано и охарактеризовано в Институте проблем химической физики РАН (Краева et al. 2020). Две линии клеток фибробластов кожи взрослых людей были отобраны из коллекции МГНЦ. Клетки (4–6 пассажа) культивировали в среде ДМЕМ с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (PAA Laboratories, Австрия) и антибиотиков в CO_2 инкубаторе при 37 °С. Исследование проводили на субконфлуентных культурах. Фуллерен добавляли к клеткам на 3 и 24 часа в концентрации 10 мкМ.

МТТ-тест. Использовали реагент МТТ (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) фирмы Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Измерение поглощения проводили на планшетном ридере EnSpire plate reader (EnSpire Equipment, Turku, Finland).

РТ-ПЦР. Для выделения РНК применили набор реагентов RNeasy Mini Kit (Qiagen, ФРГ). Перед проведением обратной транскрипции РНК дополнительно обработали ДНКазой 1. Обратную транскрипцию проводили с использованием набора реагентов Reverse Transcriptase Kit («Силекс», РФ). Амплификацию проводили с использованием набора SYBRgreen PCR MasterMix и прибора StepOne Plus (Applied Biosystems). Праймеры синтезированы фирмой «Силекс», РФ. В качестве стандарта применили ген *TBP*.

Определение содержания 8-oxodG. ДНК из клеток для проведения иммуноферментного анализа на нитроцеллюлозных фильтрах выделяли стандартным методом с использованием экстракции органическими растворителями (Ershova et al. 2016). Концентрацию ДНК определяли в комплексе с ДНК-связывающимся флуоресцентным красителем PicoGreen (Molecular Probes/Invitrogen, CA, USA). Анализ проводили с использованием антител к 8-oxodG, конъюгированных со щелочной фосфатазой, как описано ранее (Malinovskaya et al. 2019).

Определение АФК. Использовали планшетный ридер (EnSpire Equipment, Finland), $\lambda_{в} = 488$ нм, $\lambda_{эм} = 528$ нм. Клетки обрабатывали 5 μ М $H_2DCFH-DA$ (Molecular Probes/Invitrogen, CA, USA) и анализировали флуоресценцию в течение 10–40 мин. Константу синтеза DCF (*kdcf*) определяли из зависимости сигнала от времени инкубирования клеток с реагентом.

Статистический анализ. Все эксперименты были повторены не менее трех раз. На графиках приводятся средние значения измеряемых

параметров и стандартные ошибки. Сравнение проводили с использованием критерия Манна — Уитни. Различия считали достоверными при значениях $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Для исследования из коллекции МГНЦ были отобраны две ранее охарактеризованные клеточные линии фибробластов кожи доноров 35 лет (HSF-66) и 42 лет (HSF-61). Структурная формула производного фуллерена приводится на рисунке 1А. Каркас C_{70} содержит ряд заместителей с отрицательным зарядом и электроноакцепторными свойствами, которые повышают проникновение фуллерена в клетку и увеличивают его способность связывать АФК. В МТТ-тесте было установлено, что 10 мкМ фуллерена является абсолютно нетоксичной концентрацией для клеток. Фуллерен добавляли в среду культивирования субконфлуентных клеток на 3 и 24 часа.

В присутствии фуллерена через 3 и через 24 часа мы фиксировали значительное снижение РНК *NRF2* (рис. 1В) в обеих клеточных линиях. Одновременно со снижением транскрипта гена *NRF2* в клетках снижалось количество РНК гена *HMOX1* (рис. 1С), транскрипция которого регулируется транскрипционным фактором *NRF2*, что подтверждает блокирование антиоксидантного ответа в присутствии фуллерена.

Наряду со снижением уровня экспрессии гена *NRF2* в присутствии фуллерена в несколько раз возрастало количество РНК гена *NOX4*, который кодирует белок, катализирующий синтез пероксида водорода в клетках (рис. 1D).

Очевидно, что оба процесса — снижение экспрессии гена *NRF2* и значительное увеличение экспрессии гена *NOX4* — направлены на поддержание в клетках определенного уровня АФК как ответ на связывание АФК фуллереном. Данные об уровне АФК в клетках приводятся на рисунке 1Е. Через 3 часа происходит значительное снижение общего количества АФК в клетках. Через 24 часа уровень АФК возрастает и для линии клеток HSF-61 превышает контрольный уровень.

Мы проанализировали методом иммуноферментного анализа содержание в клеточной ДНК маркера окисления оснований — 8-oxodG (рис. 1F). Через 3 часа после добавления в среду культивирования фуллерена происходило значительное увеличение уровня окислительной модификации клеточной ДНК, что коррелировало с максимальными уровнями РНК *NOX4* и минимальными уровнями РНК *NRF2*. Значи-

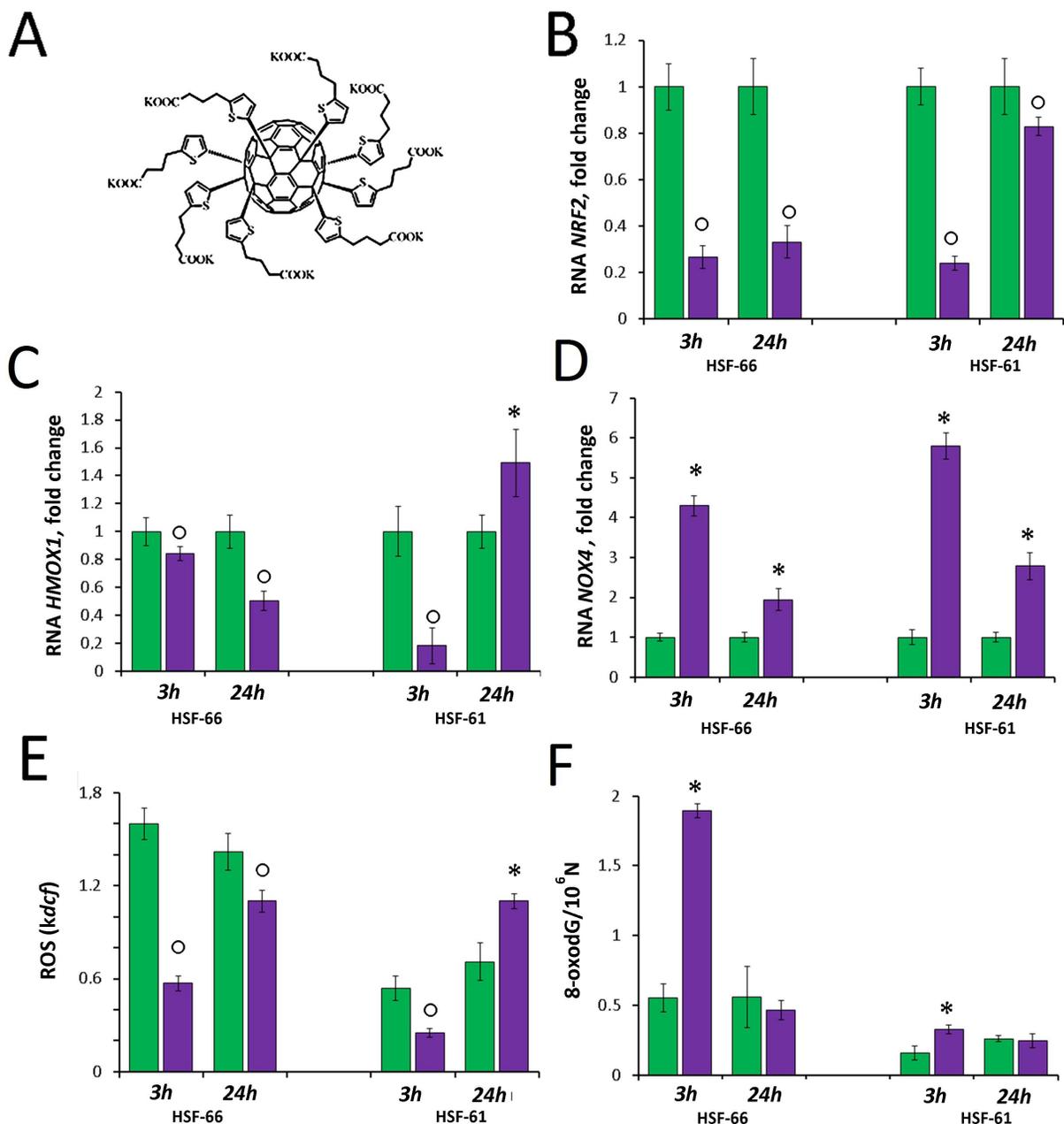


Рис. 1. А — структурная формула водорастворимого фуллерена C_{70} . В, С, D — содержание РНК *NRF2* (В), РНК *HMOX1* (С) и РНК *NOX4* (D). Данные нормированы к содержанию РНК гена *TBP* (внутренний стандарт). Е — уровни АФК в клетках. Приводится константа реакции образования DCF при взаимодействии $H_2DCFH-DA$ с АФК в клеточной культуре. F — содержание маркера 8-oxodG в ДНК, выделенной из клеток. (*), (°) — U-test, $p < 0,05$

Fig. 1. Structure of the water-soluble C_{70} fullerene derivative. (A) Effects of fullerene on gene expression in skin fibroblast cell lines (B-F). A—Structural formula of water-soluble C_{70} fullerene. B, C, D—The content of RNA *NRF2* (B), RNA *HMOX1* (C) and RNA *NOX4* (D). The data are normalised to the RNA content of the *TBP* gene (internal standard). E—ROS levels in the cells. The reaction constant of DCF formation upon interaction $H_2DCFH-DA$ with ROS in the cell culture is shown. F—Content of 8-oxodG marker in DNA isolated from cells. (*), (°)—U-test, $p < 0.05$

тельное увеличение содержания 8-oxodG в ДНК говорит о наличии окислительного стресса в клетках. Окислительный стресс носит транзиторный характер. Через 24 часа содержание маркера окисления 8-oxodG снижалось до кон-

трольных показателей, по-видимому, вследствие активации репарационных процессов.

Таким образом, мы подтвердили способность водорастворимых фуллеренов выступать не только в роли эффективных антиоксидантов,

но и в роли прооксидантов, ранее описанную для водорастворимого производного фуллера на C_{60} (Ershova et al. 2016). По-видимому, суммарный эффект действия фуллеренов на клетки зависит от исходного уровня АФК в клетках и от концентрации и химической природы добавляемого к клеткам фуллера. Супернизкие концентрации фуллера могут связывать АФК до физиологически приемлемого уровня, не индуцируя активность систем, синтезирующих дополнительные АФК на фоне блокировки антиокислительного ответа. Однако, критические концентрации фуллера необходимо подбирать в каждом отдельном случае.

Свойство фуллеренов стимулировать транзитный окислительный стресс и повреждения ДНК при определенных концентрациях может найти практическое применение. Ранее было показано, что транзитный окислительный стресс, вызванный краткосрочной блокировкой активности фактора NRF2 и увеличением количества фермента NOX4 при действии на клетки малых доз ионизирующего излучения, индуцирует в клетках адаптивный ответ, направленный на повышение выживаемости клеток при последующем действии больших доз излучения (Konkova et al. 2020). Возможно, фуллерены могут применяться для повышения устойчивости клеток, в том числе и клеток организма, к действию повреждающих факторов внешней среды. Для этого необходимы дальнейшие исследования биологической активности этих наносоединений.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Вклад авторов

- a. Савинова Екатерина Алексеевна — постановка эксперимента;
- b. Каменева Лариса Владимировна — постановка эксперимента;

с. Ершова Елизавета Сергеевна — постановка эксперимента, математическая обработка данных;

d. Проскурнина Елена Васильевна — постановка эксперимента, математическая обработка данных;

e. Умрюхин Павел Евгеньевич — написание статьи и подбор литературы;

f. Родионов Иван Владимирович — постановка эксперимента, математическая обработка данных;

g. Краевая Ольга Александровна — планирование эксперимента и обсуждение;

h. Трошин Павел Анатольевич — планирование эксперимента и обсуждение;

i. Вейко Наталья Николаевна — написание статьи, подготовка иллюстративного материала, математическая обработка данных;

j. Костюк Светлана Викторовна — осуществление общего руководства экспериментом.

Author Contributions

a. Ekaterina A. Savinova: setting up the experiment;

b. Larisa V. Kameneva: setting up the experiment;

c. Elizaveta S. Ershova: setting up the experiment, mathematical data processing;

d. Elena V. Proskurnina: setting up the experiment, mathematical data processing;

e. Pavel E. Umriukhin: writing the article and selection of literature;

f. Ivan V. Rodionov: setting up the experiment, mathematical data processing;

g. Olga A. Kraevaya: experiment planning and discussion;

h. Pavel A. Troshin: experiment planning and discussion;

i. Natalya N. Veiko: writing the article, preparation of illustrative material, mathematical data processing;

j. Svetlana V. Kostyuk: general management of the experiment.

Список сокращений

АФК — активные формы кислорода; NRF2 — Nuclear factor erythroid 2-related factor 2; 8-oxodG — 8-оксо-2'-дезоксигуанозин; РТ-ПЦР — цепная полимеразная реакция в реальном времени; МТТ — 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолий бромид.

References

- Afreen, S., Muthoosamy, K., Manickam, S., Hashim, U. (2015) Functionalized fullerene (C_{60}) as a potential nanomediator in the fabrication of highly sensitive biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 63, pp. 354–364. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.07.044> (In English)

- Bedard, K., Krause, K. H. (2007) The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: Physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, vol. 87, no. 1, pp. 245–313. <https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2005> (In English)
- Bellezza, I., Giambanco, I., Minelli, A., Donato, R. (2018) Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress. *Biochimica et Biophysica Acta — Molecular Cell Research*, vol. 1865, no. 5, pp. 721–733. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.02.010> (In English)
- Bosi, S., Da Ros, T., Spalluto, G., Prato, M. (2003) Fullerene derivatives: An attractive tool for biological applications. *European Journal of Medical Chemistry*, vol. 38, no. 11-12, pp. 913–923. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2003.09.005> (In English)
- Ershova, E. S., Sergeeva, V., Chaushева, A. I. et al. (2016) Toxic and DNA damaging effects of a functionalized fullerene in human embryonic lung fibroblasts. *Mutatational Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, vol. 805, pp. 46–57. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2016.05.004> (In English)
- Johnston, H. J., Hutchison, G. R., Christensen, F. M. et al. (2010) The biological mechanisms and physicochemical characteristics responsible for driving fullerene toxicity. *Toxicological Sciences*, vol. 114, no. 2, pp. 162–182. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfp265> (In English)
- Kazemzadeh, H., Mozafari, M. (2019) Fullerene-based delivery systems. *Drug Discovery Today*, vol. 24, no. 3, pp. 898–905. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.01.013> (In English)
- Konkova, M., Abramova, M., Kalianov, A. et al. (2020) Mesenchymal stem cells early response to low-dose ionizing radiation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, vol. 8, article 584497. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.584497> (In English)
- Kraevaya, O. A., Peregudov, A. S., Godovikov, I. A. et al. (2020) Direct arylation of C₆₀Cl₆ and C₇₀Cl₈ with carboxylic acids: a synthetic avenue to water-soluble fullerene derivatives with promising antiviral activity. *Chemical Communications*, vol. 56, no. 8, pp. 1179–1182. <https://doi.org/10.1039/C9CC08400B> (In English)
- Malinovskaya, E. M., Ershova, E. S., Okorokova, N. A. et al. (2019) Ribosomal DNA as DAMPs Signal for MCF7 Cancer Cells. *Frontiers in Oncology*, vol. 9, article 445. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00445> (In English)
- Mousavi, S. Z., Nafisi, S., Maibach, H. I. (2017) Fullerene nanoparticle in dermatological and cosmetic applications. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, vol. 13, no. 3, pp. 1071–1087. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.10.002> (In English)



Check for updates

Краткие сообщения

УДК612.282 + 612.216.2

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-471-475>

Респираторные реакции при стимуляции и блокаде ГАМК_A-рецепторов ретротрапециевидного ядра у крыс

А. И. Будаев¹, О. А. Ведясова^{✉1}

¹ Самарский национальный исследовательский университет имени академика С. П. Королева, 443086, Россия, г. Самара, Московское шоссе, д. 34

Сведения об авторах

Александр Иванович Будаев,
ORCID: 0000-0002-3729-0430,
e-mail: budaev.sasha@mail.ru

Ольга Александровна Ведясова,
SPIN-код: 1026-1978,
Scopus AuthorID: 6507837326,
Researcher ID: C-4744-2018,
ORCID: 0000-0002-3392-6112,
e-mail: o.a.vedyasova@gmail.com

Для цитирования:

Будаев, А. И., Ведясова, О. А. (2021) Респираторные реакции при стимуляции и блокаде ГАМК_A-рецепторов ретротрапециевидного ядра у крыс. *Интегративная физиология*, т. 2, № 4, с. 471–475. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-471-475>

Получена 3 октября 2021; прошла рецензирование 4 ноября 2021; принята 12 ноября 2021.

Финансирование:

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-29-14073).

Права: © А. И. Будаев, О. А. Ведясова (2021).

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

Аннотация. В острых опытах на наркотизированных крысах в условиях дыхания обычным атмосферным воздухом изучали респираторные реакции на микроинъекции в ретротрапециевидное ядро (РТЯ) растворов мусцимола и бикукуллина. Установлено, что активация ГАМК_A-рецепторов РТЯ мусцимолом оказывает закономерное тормозное влияние на внешнее дыхание, снижая его минутный объем и объемную скорость инспираторного потока за счет пролонгирования фаз вдоха и выдоха и уменьшения дыхательного объема. Реакции дыхания на микроинъекции в РТЯ блокатора ГАМК_A-рецепторов бикукуллина не имели однозначного характера, однако в большинстве случаев проявлялись ростом минутной вентиляции легких на фоне увеличения дыхательного объема и объемной скорости инспирации. Полученные данные свидетельствуют о том, что ГАМК_A-рецепторы включены в деятельность РТЯ, в том числе являются важным звеном центральных механизмов респираторного контроля у взрослых крыс в условиях дыхания воздухом обычного состава, не вызывающего нарушений газового гомеостаза. Можно считать, что ионотропные рецепторы ГАМК в области РТЯ участвуют в тормозной модуляции активности нейронов, обеспечивающих регуляцию как продолжительности фаз дыхательного цикла, так и уровня глубины дыхания.

Ключевые слова: ретротрапециевидное ядро, ГАМК_A-рецепторы, мусцимол, бикукуллин, внешнее дыхание

Respiratory reactions to stimulation and blockade of GABA_A-receptors of the retrotrapezoid nucleus in rats

A. I. Budaev¹, O. A. Vedyasova^{✉1}

¹ Samara National Research University, 34 Moskovskoe Rd., Samara, 443086, Russia

Authors

Aleksandr I. Budaev,
ORCID: 0000-0002-3729-0430,
e-mail: budaev.sasha@mail.ru

Olga A. Vedyasova,
SPIN: 1026-1978,
Scopus AuthorID: 6507837326,
ResearcherID: C-4744-2018,
ORCID: 0000-0002-3392-6112,
e-mail: o.a.vedyasova@gmail.com

For citation:

Budaev, A. I., Vedyasova, O. A. (2021) Respiratory reactions to stimulation and blockade of GABA_A-receptors of the retrotrapezoid nucleus in rats. *Integrative Physiology*, vol. 2, no. 4, pp. 471–475. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-471-475>

Received 3 October 2021;
reviewed 4 November 2021;
accepted 12 November 2021.

Funding: The work was supported by a grant from the Russian Foundation for Basic Research (project No. 18-29-14073).

Copyright: © A. I. Budaev, O. A. Vedyasova (2021). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The respiratory reactions to microinjections of muscimol and bicuculline solutions into the retrotrapezoid nucleus (RTN) were studied in acute experiments on anesthetized rats breathing ordinary atmospheric air. It was found that the activation of GABA_A-receptors of the RTN by muscimol has inhibitory effect on external respiration, reducing its minute volume and volumetric rate of inspiratory flow due to prolongation of inspiration and expiration and a decrease in the tidal volume. The reactions to microinjections of the GABA_A-receptors antagonist bicuculline into the RTN were not unambiguous, but in most cases they manifested as an increase in minute lung ventilation with an increase in tidal volume and volumetric inspiration rate. The data obtained indicate that GABA_A-receptors are involved in the activity of the RTN, in particular, they are an important link in central mechanisms of respiratory control in adult rats when breathing air of normal composition, which does not cause disruption of gas homeostasis. It is suggested that ionotropic GABA receptors in the RTN region are involved in inhibitory modulation of neurons that regulate both the duration of the respiratory cycle phases and the level of breathing depth.

Keywords: retrotrapezoid nucleus, GABA_A-receptors, muscimol, bicuculline, external breathing

Введение

Ретротрапезиевидное ядро (РТЯ) представляет собой группу специфических нейронов продолговатого мозга, расположенных вентральнее ядра лицевого нерва (Cream et al. 2002). Фенотип клеток РТЯ детально исследован; показано, что оно состоит из CO₂-чувствительных нейронов, экспрессирующих глутаматный транспортер VGLUT2 (Holloway et al. 2015) и фактор транскрипции Phox2b (Guyenet et al. 2016). Указанные нейроны РТЯ иннервируют понтомедулярные структуры, генерирующие ритм и паттерн дыхания (Vochorishvili et al. 2012). В свою очередь, другие типы нейронов респираторной сети влияют на активность и хемочувствительность нейронов РТЯ посредством возбуждающих и тормозных сигналов, реализуемых через определенные типы синапсов (Wu et al. 2019). Это ставит вопрос о зависимо-

сти функционирования РТЯ при гиперкапнии и гипоксии от синаптических входов, но нейромедиаторная природа последних все еще до конца не уточнена. Вместе с тем показано, что у крыс нейроны РТЯ могут контролировать легочную вентиляцию не только во время гипоксических или гиперкапнических состояний, но и в условиях нормоксии, при этом отмечается модулирующее действие тормозных медиаторов, в том числе ГАМК (Huckstepp et al. 2015; Takakura et al. 2013; Vedyasova et al. 2020). Однако в целом вопрос о роли ГАМКергических механизмов РТЯ в формировании респираторных эффектов в нормальных физиологических условиях не решен.

Цель нашей работы состояла в исследовании роли ГАМК_A-рецепторов области РТЯ в регуляции респираторной активности у крыс при дыхании воздухом обычного состава.

Материалы и методы

Поставлены острые эксперименты на нелинейных крысах массой 250–300 г, наркотизированных уретаном (1,5 г/кг, внутривенно), дышащих обычным атмосферным воздухом. Исследование выполнено с соблюдением правил биоэтики согласно требованиям Community Council Directive 2010/63/ЕЕС. После операции трахеостомии и обнажения крыши черепа крыс размещали в стереотаксическом приборе СЭЖ-3, фиксировали голову и высверливали трепанационное отверстие в окципитальной кости для осуществления микроинъекций в РТЯ. В первой серии опытов ($n = 9$) для микроинъекций использовали раствор ГАМК_A-агониста мусцимола, во второй ($n = 11$) — ГАМК_A-блокатора бикакуллина (Sigma-Aldrich) в концентрации 10^{-7} Моль. Вещества растворяли в искусственной спинномозговой жидкости (ИСЖ) и вводили в РТЯ в объеме 200 нл через стеклянную канюлю (диаметр кончика 20–25 мкм) с помощью микрошприца МШ-1 по стереотаксическим координатам (Cream et al. 2002). В третьей серии (контроль, $n = 6$) в РТЯ в том же объеме вводили ИСЖ, которая не вызывала статистически значимых эффектов, поэтому изменения дыхания, наблюдаемые в первой и второй сериях, сопоставляли с исходными значениями.

Внешнее дыхание регистрировали посредством электронного спирографа (ИМЦ «Новые приборы», Россия), подсоединенного к трахеостомической трубке. Выходные сигналы в виде пневмотахограммы подавались на аналогово-цифровой преобразователь, затем на компьютер и записывались в программе PowerGraph 3.2 Professional (ООО «Интероптика-С») непрерывно в исходном состоянии и в течение 60 мин после микроинъекции. Пневмотахограммы интегрировали в спирограммы, на которых определяли дыхательный объем (ДО, мл), продолжительность вдоха (с) и выдоха (с). По спирограммам рассчитывали частоту дыхания (ЧД, цикл/мин), минутный объем дыхания (МОД, мл/мин), объемную скорость инспираторного потока (V_i , мл/с).

Статистический анализ выполняли в программе SigmaPlot 12.5 («Systat Software» Inc.). Использовали Normality Test Shapiro — Wilk и Paired t-test. Данные представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Микроинъекции мусцимола в РТЯ вызывали у крыс угнетение легочной вентиляции. Уменьшение МОД начиналось на первой минуте воздействия (10,5%; $p < 0,05$) и достигало 23,7% ($p < 0,05$) от исходного уровня ($81,21 \pm 7,52$ мл) на 60 мин (рис. 1А). Данный эффект определялся однонаправленной динамикой ЧД и ДО, причем основной вклад вносила ЧД, которая в конце экспозиции уменьшалась на 17,5% ($p < 0,05$) относительно фона ($60,93 \pm 5,01$ цикл/мин). Изменения ЧД обуславливались пролонгированием обеих фаз дыхательного цикла. Особо стоит отметить удлинение вдоха, которое в ответ на активацию ГАМК_A-рецепторов РТЯ имело нарастающий характер и регистрировалось с первой (12,7%; $p < 0,01$) по 50 мин (21,1%; $p < 0,05$) наблюдений. Значимое увеличение продолжительности выдоха, в отличие от вдоха, формировалось позже, на 20 мин после введения мусцимола, было более выраженным и на 40–60 мин составляло в среднем 25,2% ($p < 0,05$) от исходной величины ($0,60 \pm 0,04$ с). Подтверждением роли ГАМК_A-рецепторов РТЯ в тормозной модуляции дыхания служит уменьшение при действии агониста значений V_i по сравнению с фоном ($3,03 \pm 0,31$ мл/с). Эта реакция быстро развивалась в течение 10 мин после микроинъекции мусцимола. Так, V_i снижалась на первой минуте до $2,59 \pm 0,11$ мл/с ($p < 0,05$), на 10 — до $2,25 \pm 0,30$ мл/с ($p < 0,05$) и оставалась примерно на этом уровне до 60 мин (рис. 1В). Начальное снижение V_i было связано с ростом продолжительности фазы вдоха, а также зависело от величины ДО, достоверное уменьшение которого отмечалось в интервале с 3 по 10 мин действия мусцимола и равнялось в среднем 11,4% ($p < 0,05$) от исходного фона.

Что касается респираторных реакций на микроинъекции в РТЯ раствора бикакуллина, то они имели неоднозначный характер, проявляясь ожидаемой стимуляцией дыхания лишь у части животных ($n = 6$). Следует указать, что изменения отдельных параметров паттерна дыхания при блокаде ГАМК_A рецепторов РТЯ у крыс не всегда совпадали во времени и могли максимально проявляться в разные сроки экспозиции. Так, статистически значимый прирост ДО (на $0,08 \pm 0,009$ мл; $p < 0,05$) относительно исходного уровня ($1,43 \pm 0,06$ мл) наблюдался на 10 мин действия антагониста ($1,51 \pm 0,05$ мл). Наиболее выраженная тенденция усиления МОД формировалась в конце экспозиции и достоверно проявлялась на 60 мин (рис. 1А), что в целом совпадало с динамикой изменений V_i (рис. 1В).

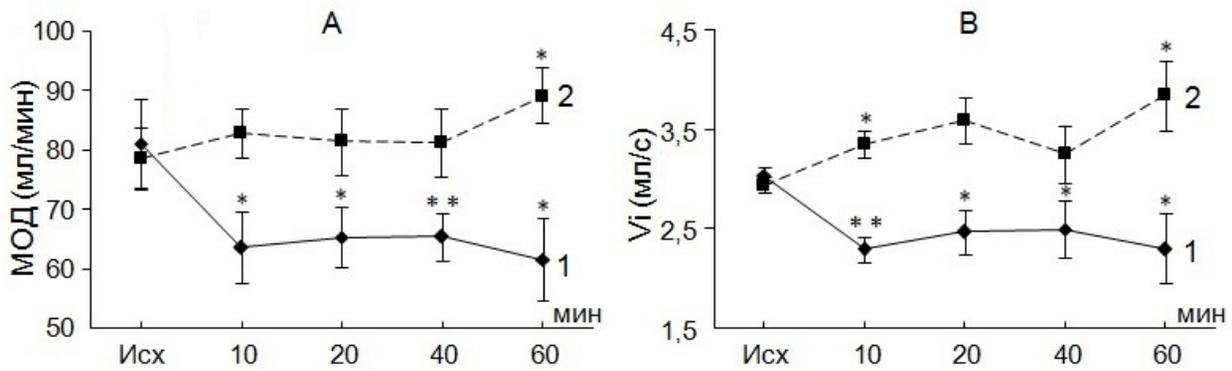


Рис. 1. Изменение минутного объема дыхания (А) и объемной скорости инспираторного потока (В) после микроинъекций мусцимола (1) и бикукуллина (2) в РТЯ у крыс. * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$ — статистически значимые различия с исходным уровнем

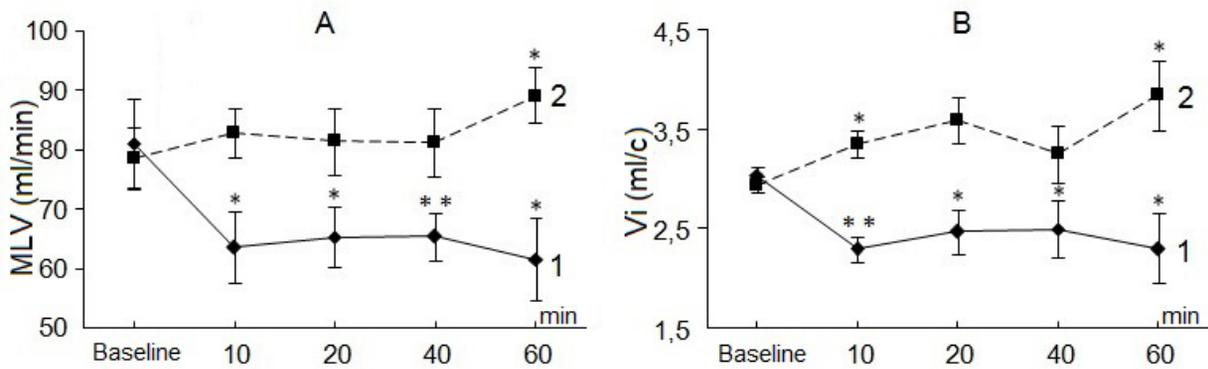


Fig. 1. Changes of minute lung ventilation (A) and volumetric rate of inspiratory flow (B) after microinjections of muscimol (1) and bicuculline (2) into RTN in rats. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$)—statistically significant differences with the baseline

Таким образом, в ответ на микроинъекции мусцимола и бикукуллина в область РТЯ у наркотизированных крыс, дышащих воздухом неизмененного газового состава, происходили изменения частотных и объемных параметров спирограмм, указывающие на угнетение и усиление внешнего дыхания соответственно при стимуляции и блокаде ГАМК_A рецепторов. Наблюдаемые респираторные реакции свидетельствуют о модулирующем влиянии ГАМКергической передачи на нейрональную активность изучаемой области. Отмечаемые у животных изменения легочной вентиляции, видимо, обусловлены влиянием лигандов ГАМК_A-рецепторов на деятельность Phox2b-нейронов, посылающих проекции к премоторным дыхательным нейронам вентральной респираторной группы и ядра солитарного тракта (Bochorishvili et al. 2012). Анализ результатов действия мусцимола и бикукуллина показал, что более выраженные и закономерные респираторные реакции отмечались в случае активации ГАМК_A-рецепторов РТЯ, при этом характерным эффектом являлось снижение ЧД за счет увеличения

продолжительности вдоха. Объяснением этого может служить лиганд-зависимая гиперполяризация (Scott, Aricescu 2019) нейронов РТЯ, имеющих связи с ритмогенерирующими отделами дыхательного центра (Silva et al. 2016b), а также с ядром Келликера — Фьюза, регулирующим продолжительность фаз дыхательного цикла (Silva et al. 2016a). Стимуляция дыхания при микроинъекциях бикукуллина связана, вероятно, с устранением ГАМКергического торможения глутаматергических нейронов РТЯ, проецирующихся в область ростральной вентральной респираторной группы и комплекс пре-Бётцингера (Silva et al. 2016b). В целом результаты проведенного нами исследования подтверждают имеющиеся данные о значении РТЯ для регуляции объемно-временной структуры дыхательного цикла (Huckstepp et al. 2015) и свидетельствуют об участии ГАМКергических механизмов РТЯ, в том числе ГАМК_A-рецепторов, в поддержании оптимального паттерна дыхания в условиях ненарушенного газового гомеостаза.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Соответствие принципам этики

Эксперименты выполнены с соблюдением правил биоэтики в соответствии с требованиями Community Council Directive 2010/63/ЕЕС.

Ethics Approval

The experiments were performed in compliance with the rules of bioethics in accordance with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament

and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

Вклад авторов

а. Александр Иванович Будаев — планирование исследования, постановка экспериментов, анализ результатов, подготовка рукописи;

б. Ольга Александровна Ведясова — идея и координация исследования, анализ и трактовка результатов, подготовка рукописи.

Author Contributions

a. Aleksandr I. Budaev: research planning, conducting experiments, analysing results, writing the paper;

b. Olga A. Vedyasova: idea and coordination of research, analysis and interpretation of results, writing the paper.

References

- Bochorishvili, G., Stornetta, R. L., Coates, M. B., Guyenet, P. G. (2012) Pre-Bötzing complex receives glutamatergic innervation from galaninergic and other retrotrapezoid nucleus neurons. *The Journal of Comparative Neurology*, vol. 520, no. 5, pp. 1047–1061. <https://doi.org/10.1002/cne.22769> (In English)
- Cream, C., Li, A., Nattie, E. (2002) The retrotrapezoid nucleus (RTN): Local cytoarchitecture and afferent connections. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, vol. 130, no. 2, pp. 121–137. [https://doi.org/10.1016/S0034-5687\(01\)00338-3](https://doi.org/10.1016/S0034-5687(01)00338-3) (In English)
- Guyenet, P. G., Bayliss, D. A., Stornetta, R. L. et al. (2016) Proton detection and breathing regulation by the retrotrapezoid nucleus. *The Journal of Physiology*, vol. 594, no. 6, pp. 1529–1551. <https://doi.org/10.1113/JP271480> (In English)
- Holloway, B. B., Viar, K. E., Stornetta, R. L., Guyenet, P. G. (2015) The retrotrapezoid nucleus stimulates breathing by releasing glutamate in adult conscious mice. *European Journal of Neuroscience*, vol. 42, no. 6, pp. 2271–2282. <https://doi.org/10.1111/ejn.12996> (In English)
- Huckstepp, R. T., Cardoza, K. P., Henderson, L. E., Feldman, J. L. (2015) Role of parafacial nuclei in control of breathing in adult rats. *The Journal of Neuroscience*, vol. 35, no. 3, pp. 1052–1067. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2953-14.2015> (In English)
- Silva, J. N., Lucena, E. V., Silva, T. M. et al. (2016a) Inhibition of the pontine Kölliker-Fuse nucleus reduces genioglossal activity elicited by stimulation of the retrotrapezoid chemoreceptor neurons. *Neuroscience*, vol. 328, pp. 9–21. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.04.028> (In English)
- Silva, J. N., Tanabe, F. M., Moreira, T. S., Takakura, A. C. (2016b) Neuroanatomical and physiological evidence that the retrotrapezoid nucleus/parafacial region regulates expiration in adult rats. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, vol. 227, pp. 9–22. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2016.02.005> (In English)
- Scott, S., Aricescu, A. R. (2019) A structural perspective on GABA_A receptor pharmacology. *Current Opinion in Structural Biology*, vol. 54, pp. 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2019.03.023> (In English)
- Takakura, A. C., Moreira, T. S., De Paula, P. M. et al. (2013) Control of breathing and blood pressure by parafacial neurons in conscious rats. *Experimental Physiology*, vol. 98, no. 1, pp. 304–315. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.065128> (In English)
- Vedyasova, O. A., Kovaleva, T. E., Budaev, A. I. (2020) Analiz roli GAMKergicheskikh mekhanizmov v regulyatsii respiratornoj aktivnosti parafatsial'nykh struktur stvola mozga u krysa [Analysis of the role of GABAergic mechanisms in regulation of the respiratory activity of parafacial structures of the brainstem in rats]. *Biomeditsina — Journal Biomed*, vol. 16, no. 1, pp. 56–64. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-1-56-64> (In Russian)
- Wu, Y., Proch, K. L., Teran, F. A. et al. (2019) Chemosensitivity of Phox2b-expressing retrotrapezoid neurons is mediated in part by input from 5-HT neurons. *The Journal of Physiology*, vol. 597, no. 10, pp. 2741–2766. <https://doi.org/10.1113/JP277052> (In English)