



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. 3 № 1 2022

VOL. 3 No. 1 2022



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/10.33910/2687-1270-2022-3-1>
2022. Том 3, № 1
2022. Vol. 3, no. 1

Интегративная физиология Integrative Physiology

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

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

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

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

Редакция

Главный редактор
А. П. Филаретова (Санкт-Петербург, Россия)
Заместитель главного редактора
Е. А. Никитина (Санкт-Петербург, Россия)
Ответственный редактор
О. А. Любашина (Санкт-Петербург, Россия)

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. Джебоза (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)

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

Объем 10,8 Мб
Подписано к использованию 30.06.2022

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

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)

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)

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

Published at 30.06.2022

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*
Редактор английского текста *И. А. Наговицына*
Корректор *А. Ю. Гладкова*
Оформление обложки *О. В. Рудневой*
Верстка *А. М. Ходан*



Санкт-Петербург, 2022
© Российский государственный
педагогический университет им. А. И. Герцена, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

Приветствие главного редактора.....	4
Персоналии.....	6
<i>Chan J. Y. H.</i> Congratulatory message from the President of the International Union of Physiological Sciences (IUPS) regarding the establishment of world-class research centre (WCRC) Pavlov Centre for Integrative Physiology	6
Обзоры.....	9
<i>Орбели А. А.</i> Воспоминания о Леоне Абгаровиче Орбели	9
<i>Андреева Л. Е.</i> Анна Васильевна Тонких. 58 лет служения науке	16
<i>Силькис И. Г.</i> Гипотетический нейронный механизм слепоты невнимания.....	23
Экспериментальные статьи.....	41
<i>Деркач К. В., Бахтюков А. А., Басова Н. Е., Бондарева В. М., Шпаков А. О.</i> Интраназально вводимый инсулин, но не С-пептид проинсулина, нормализует гормональные показатели и экспрессию гипоталамических генов у самцов крыс с диабетом 2-го типа и ожирением	41
<i>Халисов М. М., Пеннийнен В. А., Анкудинов А. В., Подзорова С. А., Крылов Б. В.</i> Применение методов атомно-силовой микроскопии и органотипической культуры ткани для исследования действия на мембрану сенсорного нейрона аргининсодержащего короткого пептида, претендующего на роль анальгетической лекарственной субстанции.....	58
<i>Михайленко В. А., Буткевич И. П., Вершинина Е. А.</i> Неонатальная воспалительная боль, когнитивная и стресс-реактивная функции у взрослых самцов и самок крыс.....	69
<i>Медведева А. В., Сафарова Д. Д., Щеголев Б. Ф., Никитина Е. А., Савватеева-Попова Е. В.</i> Влияние гипоксии на состояние хромосомного аппарата дрозофилы в условиях накопления 3-гидроксикинурина	80
<i>Голубева И. Ю., Тихонравов Д. Л.</i> Формирование эмпирических понятий у приматов разных таксономических групп	89
<i>Акимов А. Г., Егорова М. А.</i> Влияние гипотермии на импульсную активность нейронов первичной слуховой коры домового мыши (<i>Mus musculus</i>)	100
Краткие сообщения.....	110
<i>Савочкина Е. В., Дмитриева Ю. В., Павлова М. Б., Алексеева А. С., Груздков А. А., Громова Л. В.</i> Структурные и функциональные параметры кишечника у крыс с различной возбудимостью нервной системы.....	110

CONTENTS

Letter from the Editor-in-Chief.....	4
Personalities.....	6
<i>Chan J. Y. H.</i> Congratulatory message from the President of the International Union of Physiological Sciences (IUPS) regarding the establishment of world-class research centre (WCRC) Pavlov Centre for Integrative Physiology.....	6
Reviews.....	9
<i>Orbeli A. L.</i> Memories of Leon A. Orbeli.....	9
<i>Andreeva L. E.</i> Anna V. Tonkikh: 58 years serving science.....	16
<i>Silkis I. G.</i> A hypothetical neural mechanism for inattentive blindness.....	23
Experimental articles.....	41
<i>Derkach K. V., Bakhtyukov A. A., Basova N. E., Bondareva V. M., Shpakov A. O.</i> Insulin administered intranasally, but not proinsulin C-peptide, normalises hormonal parameters and hypothalamic gene expression in male rats with type 2 diabetes and obesity.....	41
<i>Khalisov M. M., Penniyaynen V. A., Ankudinov A. V., Podzorova S. A., Krylov B. V.</i> The use of atomic force microscopy and organotypic tissue culture to study the effect of a short arginine-containing peptide with analgesic potential on the sensory neuron membrane.....	58
<i>Mikhailenko V. A., Butkevich I. P., Vershinina E. A.</i> The impact of neonatal inflammatory pain on cognitive and stress-reactive functions in adult male and female rats.....	69
<i>Medvedeva A. V., Safarova D. D., Shchegolev B. F., Nikitina E. A., Savvateeva-Popova E. V.</i> The impact of hypoxia on <i>Drosophila</i> chromosomal apparatus in 3-hydroxykynurenine accumulation.....	80
<i>Golubeva I. Yu., Tikhonravov D. L.</i> Formation of empirical concepts in primates of various taxonomic groups.....	89
<i>Akimov A. G., Egorova M. A.</i> Effect of hypothermia on discharge properties of neurons in the house mouse (<i>Mus musculus</i>) primary auditory cortex.....	100
Brief notes.....	110
<i>Savochkina E. V., Dmitrieva Yu. V., Pavlova M. B., Alekseeva A. S., Gruzdkov A. A., Gromova L. V.</i> Structural and functional parameters of intestine in rats with different nervous system excitability.....	110

Приветствие главного редактора

Глубокоуважаемые коллеги!

Перед вами первый в 2022 году номер журнала «Интегративная физиология», который выходит в год, объявленный ООН Международным годом фундаментальных наук. Главным инициатором проведения Года фундаментальных наук стала всемирная организация ЮНЕСКО. Хотелось бы надеяться, что это будет способствовать повышению значимости фундаментальных наук для устойчивого развития.

Журнал «Интегративная физиология» выступает за укрепление позиций физиологии, одной из важнейших фундаментальных наук, без прогресса которой невозможно представить устойчивое развитие. Весомой победой физиологии и несомненным признанием ее значимости является создание научного центра мирового уровня Павловский центр «Интегративная физиология». Неоценимая поддержка на пути борьбы за это признание была получена от Президента Международного союза физиологических наук профессора Джулии Чен (Julie Chan). Профессор Джулия Чен является почетным гостем и активным участником наших конференций по интегративной физиологии и стрессу. В прошедшем году в связи с пандемией это участие, к сожалению, было заочным. Для нашего журнала Джулия Чен подготовила статью с поздравлением в адрес центра, подчеркивающим важность его создания для развития физиологии.

Первый номер журнала за 2022 год продолжает сложившуюся традицию публиковать обзорные статьи по истории физиологии. В наступившем году исполняется 140 лет со дня рождения выдающегося физиолога, ближайшего ученика и последователя Ивана Петровича Павлова — академика Леона Абгаровича Орбели. Подарком для журнала стало получение рукописи с воспоминаниями о Леоне Абгаровиче от его усыновленного внука Абгара Леоновича Орбели. Перед читателями номера открывается редкая возможность глазами ближайшего человека посмотреть на истоки неслышимой твердости духа, смелости, выносливости, порядочности Леона Абгаровича. В статье звучат столь значимые слова о «зависимости любой науки от силы и высоких моральных принципов тех людей, чьими руками она делается». Достойной ученицей Леона Абгаровича Орбели была Анна Васильевна Тонких. Ее долговому служению науке посвящена обзорная статья номера. Мы надеемся в текущем году продолжить публикации о Леоне Абгаровиче Орбели и его учениках.

В первом номере журнала «Интегративная физиология» вниманию читателей предлагаются статьи, подготовленные на основе пленарных лекций и устных докладов избранных участников недавно прошедшей и уже ставшей традиционной конференции «Интегративная физиология — 2021».

Приветствуя читателей первого номера журнала «Интегративная физиология», выражаю надежду на получение рукописей, содержащих новые знания о физиологических процессах организма, ярко иллюстрирующих значимость интегративной физиологии для медицины и здравоохранения.

С благодарностью ко всем, кто сделал реальностью выпуск первого номера журнала «Интегративная физиология» за 2022 год.

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

Greeting from the Editor-in-Chief

Dear Colleagues,

What you see is the first issue of the journal “Integrative Physiology” published in 2022, the International Year of Basic Sciences proclaimed by the United Nations. Notably, it was UNESCO that spearheaded the initiative to proclaim this year as the Year of Basic Sciences. Hopefully, this will contribute to increasing the importance of basic sciences for sustainable development.

The aim of the journal “Integrative Physiology” is to promote the science of physiology. It is one of the most important basic sciences and its progress is crucial for sustainable development. The importance of physiology was clearly recognised through the creation of a world-class research center Pavlov Center “Integrative Physiology”, a significant victory for physiology. In the struggle for this recognition, Professor Julie Chan, the President of the International Union of Physiological Sciences, played an invaluable role. Professor Julie Chan is an honoured guest and an active participant in our conferences on integrative physiology and stress. Unfortunately, last year the pandemic forced the Professor to participate remotely. For this issue, Julie Chan has prepared an article congratulating the Center and emphasising the importance of its creation for the development of physiology.

The first issue of the journal for 2022 continues our established tradition of publishing review articles on the history of physiology. This year marks the 140th anniversary of the birth of Leon A. Orbeli, an outstanding physiologist, the closest disciple and follower of Ivan P. Pavlov and a member of the Academy of Sciences. A manuscript with memories of Leon that the journal received from his adopted grandson Abgar L. Orbeli was a real gift for us. The readers of this issue have a rare opportunity to see the origins of Leon’s strong spirit, courage, resilience and moral character through the eyes of a person who was so close to him. Notably, the article highlights “the dependence of any science on the strength and high moral principles of those people whose hands it is made by”. Leon A. Orbeli found a worthy student in Anna V. Tonkikh; her long service to science is the focus of this issue’s review article. We hope to continue publishing materials about Leon A. Orbeli and his disciples this year.

The first issue of the journal “Integrative Physiology” presents articles following selected plenary lectures and oral presentations by participants of the recent “Integrative Physiology—2021” conference, which has already become a tradition.

I welcome the readers of the first issue of the journal “Integrative Physiology” and invite manuscripts containing new knowledge about the body’s physiological processes, the knowledge that highlights the importance of integrative physiology for medicine and healthcare.

I would like to extend my appreciation to all those who made the first issue of the journal “Integrative Physiology” for 2022 the reality.

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



УДК 612

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-6-8>

Congratulatory message from the President of the International Union of Physiological Sciences (IUPS) regarding the establishment of world-class research centre (WCRC) Pavlov Centre for Integrative Physiology

J. Y. H. Chan ¹

¹ Institute for Translational Research in Biomedicine, Chang Gung Memorial Hospital, Kaohsiung 83301, Taiwan

Authors

Julie Y. H. Chan, Scopus AuthorID: [10539420300](https://orcid.org/10539420300), ORCID: [0000-0001-8036-4645](https://orcid.org/0000-0001-8036-4645), e-mail: julieyhchan@gmail.com

For citation: Chan, J. Y. H. (2022) Congratulatory message from the President of the International Union of Physiological Sciences (IUPS) regarding the establishment of world-class research centre (WCRC) Pavlov Centre for Integrative Physiology. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 1, pp. 6–8. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-6-8>

Received 11 February 2022; accepted 22 February 2022.

Copyright: © J. Y. H. Chan (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

In 2021, one of the most exciting developments in global physiology was the establishment of WCRC Pavlov Centre for Integrative Physiology: Medicine, High-Tech Healthcare and Stress Resilience Technologies in the Russian Federation. I would like to extend my heartfelt congratulations to member of the Academy of Sciences Ludmila Filaretova, who was the central pillar of the monumental undertaking required to accomplish this formidable task. I also wish to pay tribute, in my capacity as the President of IUPS, to the contribution of Russian physiologists to global physiology.

The founders of this new WCRC include the Institute of Physiology and the Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, named after two distinguished Russian physiologists: Ivan P. Pavlov and Ivan M. Sechenov. Ivan Pavlov, who was the first Russian Nobel Laureate for physiology or medicine, contributed to many areas of physiology and neurological sciences. He is most famous for his work on classical conditioning behaviour. Ivan Sechenov is widely seen as the “father of Russian physiology and scientific psychology” for his evolutionary discovery of higher brain centres inhibiting the spinal reflex. He is also considered one of the originators of objective psychology. Both names are the pride of both Russian and global physiological and scientific community.

Member of the Academy of Sciences Ivan Pavlov founded the Institute of Physiology in 1925 and was its first director. In its early days, Institute research mainly focused on using conditioned reflexes to study the physiology of the brain hemispheres. From there, it expanded to brain functions in primates, structural and physio-chemical foundations of animal and human brain physiology and psychology, evolutionary and comparative physiology in the 1940–1950s; cell biochemistry and biophysics and physiology of sensory and visceral systems in the 1960–1970s. With the advances in cellular and molecular biology and genetics in the 1980s and 1990s, research interests of faculty members were extended to molecular, cellular, genetic and systemic mechanisms of adaptive behaviour, principles of information perception and processing by sense organs and structural-functional organisation of central control mechanisms of the visceral organs. Peripheral and central mechanisms regulating circulation, vascular tone and respiration were introduced in the 2000s. Most recently, the Institute also focused on neurophysiological mechanisms of spinal locomotion and the role of the genes controlling the nervous system, as well as adaptation and learning processes.

At present, the Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences is the largest physiological institute in Russia engaged in research

in all the fields of physiology. The Institute in the City of Science built by Ivan Pavlov at Koltushi remains a Mecca for physiologists around the world, and is one of the best places in the world to brainstorm ways to promote physiology, encourage the interchange of ideas and conduct vibrant international research in the field of integrative physiology. I had the pleasure to personally witness the—very successful—first brainstorming event aimed at promoting physiology, which was held at the Pavlov Institute of Physiology on 23–26 September 2019, in conjunction with the 170 Anniversary of the Birthday of member of the Academy of Sciences Ivan P. Pavlov. I deeply appreciate the prominent physiologists from around the globe who accepted the invitation from Professor Ludmila Filaretova to join their Russian colleagues in brainstorming the IUPS mission to “return physiology to centre stage” in contemporary biomedicine. Under the capable leadership of Professor Filaretova, two scientific events—IUPS-BRICS Symposium on Stress and Conference on “Integrative Physiology”—were successfully held at the Pavlov Institute of Physiology, offering excellent lectures and fruitful discussions (Fig. 1).

IUPS is a collective of national societies and regional federations of the global physiological

community. The mission of IUPS is to foster physiology research and education worldwide. Its members hail from six continents; IUPS currently represents more than 60 member organisations worldwide. Steered by a stellar group of physiologists on the Executive Committee and Council, IUPS pledges to provide service to the global scientific community that befits our motto, “Physiology Without Borders”. Our vision is to work with physiological societies and other organisations worldwide to facilitate initiatives that strengthen the discipline of physiology. It is in this vein that—with enthusiastic support of the Executive Committee—I became a strong advocate for the establishment of WCRC Pavlov Centre for Integrative Physiology: Medicine, High-Tech Healthcare and Stress Resilience Technologies as soon as I assumed my tenure as the President of IUPS in 2017. This is because I keenly believe that this WCRC will not only promote the discipline of physiology, but will also significantly contribute to the Physiome Project, one of the most important initiatives launched by the IUPS in recent years.

The Physiome Project and Integrative Physiology are indeed two physiological projects aiming to explain how each and every component in the body works as a part of the integrated whole, both



Fig. 1. Visit to the Pavlov Institute of Physiology, September 2019. Photo by J. Y. H. Chan, 2019

in healthy individuals and those affected by disease. We realise that major chronic diseases, including cancer, neurological and cardiovascular diseases, are complex in nature, involving factors from genes to environment, lifestyle and aging. Integrating knowledge of all these different components into robust and reliable computational models will yield enormous advances in future medicine in the shape of new diagnostic and therapeutic tools. The ultimate goal of the exercise is to piece together a complete virtual physiological human: a personalised 3D model of the individual's unique physiological make-up. Clinicians would then use these virtual individuals for applications such as trialling drugs, personalising medicine and performing virtual "surgery" to gauge the outcome of a proposed operation.

Following the completion of the Human Genome Project and the advent of the large-scale unbiased "-omics" techniques, scientists have come to the recognition of the importance of systems biology to decipher the functional significance of the data collected from multiple omics. Systems biology aims to move away from the traditional reductionist molecular approach, which focused on understanding the role of single genes or proteins, and towards a more holistic approach. This holistic approach would entail studying networks and interactions between individual components of networks (Kuster et al. 2011). This is where integrative physiology takes a leading role in advocating process interconnection and integration at the various levels of complexity and organisation within the pyramid of life (Fig. 2).

Inauguration of the WCRC Pavlov Centre for Integrative Physiology: Medicine, High-Tech Healthcare and Stress Resilience Technologies epitomises



Fig. 2. Integrative physiology.
Figure by J. Y. H. Chan, 2019

both the continuing physiological legacy of the Russian scholars pioneered by member of the Academy of Sciences Ivan P. Pavlov and the new frontiers for promoting research in physiology, encouraging the interchange of ideas and stimulating collaboration between persons and institutions from Russia and other countries to champion excellence in physiology research. I am fully confident that the development of joint integrative physiology programmes by IUPS and WCRC Pavlov Centre for Integrative Physiology will strengthen physiology as a real foundation for medicine and make Pavlov's dream "... that medicine, being daily enriched by new physiological facts, will at length grow into what it ideally must become, namely, the art of repairing the damaged machinery on the human body, based upon exact knowledge or in other words, applied physiology" come true.

References

Kuster, D. W. D., Merkus, D., van der Velden, J. et al. (2011) 'Integrative Physiology 2.0': Integration of systems biology into physiology and its application to cardiovascular homeostasis. *Journal of Physiology*, vol. 589, no. 5, pp. 1037–1045. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.201533>



Check for updates

Обзоры

УДК 929 + 612

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-9-15>

Воспоминания о Леоне Абгаровиче Орбели

А. Л. Орбели^{✉1}

¹ Физико-технический институт им. А. Ф. Иоффе Российской академии наук, 194021, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 26

Сведения об авторе

Абгар Леонович Орбели, e-mail: orbeli@mail.ioffe.ru

Для цитирования: Орбели, А. Л. (2022) Воспоминания о Леоне Абгаровиче Орбели. *Интегративная физиология*, т. 3, № 1, с. 9–15. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-9-15>

Получена 9 февраля 2022; прошла рецензирование 9 марта 2022; принята 10 марта 2022.

Права: © А. Л. Орбели (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Краткие воспоминания усыновленного внука о блестящем ученом и общественном деятеле Леоне Абгаровиче Орбели. Лучший ученик и близкий друг И. П. Павлова, академик Л. А. Орбели внес выдающийся вклад в науку и победу страны в Великой Отечественной войне. Среди наиболее ярких достижений школы Орбели, ставшей наиболее авторитетной физиологической научной школой СССР, следует назвать открытие адаптационно-трофической функции симпатической нервной системы, создание новых представлений о функциях мозжечка, выявление влияния подкорковых центров на функциональное состояние коры головного мозга, вклад в изучение физиологии и патологии высшей нервной деятельности человека, а также многое другое. Школу Л. А. Орбели характеризует редкое долголетие, могучая созидательная сила и высокое прикладное значение для различных отраслей народного хозяйства, включая здравоохранение, сельское хозяйство, военное и водолазное дело, освоение космоса. Л. А. Орбели пользовался широкой популярностью и глубоким уважением в обществе благодаря своему подлинному гуманизму, выраженной гражданской позиции, непреклонности в отстаивании своих убеждений. И по сей день личность Л. А. Орбели остается духовно-нравственным ориентиром, вдохновляющим нынешние и будущие поколения.

Ключевые слова: Л. А. Орбели, академик, история физиологии, история науки, история медицины

Memories of Leon A. Orbeli

A. L. Orbeli^{✉1}

¹ Ioffe Physico-Technical Institute, Russian Academy of Sciences, 26 Politekhnicheskaya Str., Saint Petersburg 194021, Russia

Author

Abgar L. Orbeli, e-mail: orbeli@mail.ioffe.ru

For citation: Orbeli, A. L. (2022) Memories of Leon A. Orbeli. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 1, pp. 9–15. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-9-15>

Received 9 February 2022; reviewed 9 March 2022; accepted 10 March 2022.

Copyright: © A. L. Orbeli (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. This brief article presents memories of Leon A. Orbeli, a brilliant scientist and public figure, shared by his adopted grandson. The best student and close friend of I. P. Pavlov, member of the Academy of Sciences L. A. Orbeli made an outstanding contribution to science and the country's victory in the Great Patriotic War. The most striking achievements of the Orbeli school, which became the most prominent school of thought in Soviet physiological science, include the discovery of the adaptive and trophic role of the sympathetic nervous system, new understanding of the cerebellum's functions, recognition of the influence of subcortical centres on the functional state of the cerebral cortex, contributions to the study of physiology and pathology of human higher nervous activity and many more significant developments. The L. A. Orbeli school is characterised by rare longevity, a powerful creative force and high practical importance for applications in various sectors of the national economy, including health care, agriculture, military, diving and space exploration. L. A. Orbeli enjoyed wide popularity and deep respect in society due to his true humanism, civic activism and conviction in upholding his beliefs. To this day, the personality of L. A. Orbeli remains a spiritual and moral role model that inspires current and future generations.

Keywords: L. A. Orbeli, member of the Academy of Science, history of physiology, history of science, history of medicine

Год 2022-й теми людьми, которые небезразличны к именам братьев Орбели, воспринимается как «юбилейный»: Леону Абгаровичу Орбели было бы 140 лет, Иосифу Абгаровичу Орбели — 135 лет. Для Рубена Абгаровича Орбели и его деятельности он тоже «юбилейный» — 85 лет успешной экспедиции ЭПРОН на Южном Буге (1937 год). Автор искренне благодарен редакции и лично академику Л. П. Филаретовой за внимание к этому тексту и за предложение опубликовать его в уважаемом журнале.

Этот текст был подготовлен к печати в 1983 году на основании статьи автора о Л. А. Орбели, написанной еще в 1960-е годы. За эти 40 лет многое изменилось. Мы жили тогда в другой стране, «на планете другой». Кроме того, сейчас я считаю нужным воспринимать трех братьев Орбели с их индивидуальными достижениями, проблемами и чертами как единую семью, единое целое. Абсолютно уверен, что такое восприятие (с их общими нравственными принципами, трудолюбием, бескорыстностью, демократичностью, толерантностью и гражданским героизмом, смелостью; с их европейской интеллигентностью, широкой эрудицией и готовностью к просветительству) будет поддерживать их символичную популярность и сможет служить примером для формирования личности не только будущих ученых, но и просто Граждан своей страны, какими, безусловно, являлись братья Орбели.

Генерал-полковник медицинской службы, академик Леон Абгарович Орбели в течение многих лет был признанным главой советской физиологической школы. Развивая и внедряя в медицинскую практику теории своего учителя И. П. Павлова, он снискал высочайший авторитет как в нашей стране, так и среди физиологов всего мира. Его работы были высоко оценены советским правительством, удостоившим его Сталинской премии первой степени, звания Героя Социалистического Труда, наградившего четырьмя орденами Ленина и многими другими орденами и медалями. Л. А. Орбели избран действительным членом Парижского биологического общества и Германской академии естествоиспытателей «Леопольдина».

Среди исключительно важных и признанных фундаментальных достижений его Школы следует назвать выявление адаптационно-трофической функции симпатической нервной системы (феномен Орбели — Гинецинского), создание нового представления о функции мозжечка как регулятора вегетативных функций организма, исследования взаимодействия афферентных систем, изучение влияния подкорковых центров

на функциональное состояние коры головного мозга, исследование физиологии и патологии высшей нервной деятельности человека, разработку проблемы боли и физиологии анализаторов (Орбели 1961–1968).

Необходимо особо отметить введение в физиологию эволюционного принципа, применение его при изучении всех звеньев нервной системы животных и человека, приведшее к созданию нового направления науки — эволюционной физиологии. Особого внимания это заслуживает еще и потому, что здесь ярко проявляется его приверженность принципам диалектического материализма, которые последовательно применялись им во всей его научной деятельности.

Признанные современной историей науки достижения школы Л. А. Орбели общеизвестны. О них много написано в учебниках и монографиях (Григорьев, Григорьян 2007; Пастухов 2005), и мне не хотелось бы здесь вдаваться в их недостаточно квалифицированные перечисления.

Среди исключительных заслуг Леона Абгаровича нельзя не упомянуть инициирование и организацию первых исследований по изучению влияния на человеческий организм экстремальных условий повышенного и пониженного давления, температур, ускорений, радиации, т. е. начало таких жизненно важных в настоящее время исследований, как, например, космическая медицина, которые занимают сейчас почетное и важнейшее место среди разделов практической медицины.

Леон Абгарович вел грандиозную научно-организаторскую работу, являясь вице-президентом АН СССР, академиком-секретарем Отделения биологических наук, начальником Военно-медицинской академии, директором нескольких ведущих физиологических институтов и лабораторий в Ленинграде и Москве.

Перечисленного было бы вполне достаточно для понимания того значительного места, которое имя Леона Абгаровича занимает в истории отечественной и мировой физиологии и медицины, однако в историю науки, в память ученых как его поколения, так и последующих, Орбели вошел не только как выдающийся физиолог и организатор науки. Орбели — это символ исключительно высокой научной правдивости, принципиальности, символ несгибаемой твердости духа, смелости, выносливости, в сочетании с редкостной отеческой добротой, отзывчивостью по отношению к широчайшей массе людей.

Возможно, для кого-то покажется странным упоминание о том, что для ученого столь

значительными являются честность, принципиальность, стойкость духа. Однако я надеюсь, что это не требует специальных комментариев. Те люди, которые сами занимаются наукой, знают это хорошо, а те, которые не занимаются, достаточно хорошо знакомы с ее историей и ходом развития. Успех и значение любой науки зависит от силы и высоких моральных принципов тех людей, чьими руками она делается.

Тут же надо сказать о том исключительном общественном признании, которым пользовался Леон Абгарович не только из-за своих высоких должностей, а благодаря редкостной доброжелательности, отзывчивости, готовности помочь, поддержать... Постоянная вереница посетителей, ожидавших его как в должностных кабинетах, так и дома, сотни телефонных звонков, писем, обращенных к нему с просьбами и вопросами в разные периоды его жизни (когда он более или менее легко мог выполнять их и когда не мог, но тем не менее выполнял), и немислимая толпа народа, собиравшаяся в Большом конференц-зале Академии наук и около него на Университетской набережной, толпа людей, пришедших в декабре 1958 года проститься с ним, являются свидетельством того.

В этом смысле нельзя говорить только о Леоне Абгаровиче, не вспомнив о его замечательных братьях — старшем Рубене и младшем Иосифе. Эта семья, эти три брата могут претендовать на то, чтобы их рассматривать не как отдельных выдающихся ученых, а как некое социальное явление, оказавшее заметное влияние на жизнь целого поколения людей. Не случайно поэтому, что имя Орбели увековечено не только в названиях улиц, учреждений, не только в памятниках и портретах, но в памяти народа, памяти, передающейся как легенда из поколения в поколение. Как же это случилось? Как произошло, что три сына, родившиеся в скромной интеллигентной армянской семье, заняли столь значительное место в истории не только армянского и русского народа, но и в истории всей страны?

Мне хочется в этом коротком очерке постараться изложить мысли о корнях, о происхождении и становлении этого редкого социального явления. Если вернуться к образу Леона Абгаровича, то самой первой фигурой, определяющей развитие его личности, был отец. Про него Леон Абгарович рассказывал не очень много. Очень популярный в народе судья, работавший в различных районах Армении и Грузии (с чем связаны переселения семьи в последние годы в Тбилиси, где дети учились

в гимназии) был очень занятым человеком. Я не помню каких-либо рассказов о его играх, о занятиях с детьми. Однако высочайший авторитет, граничивший с «культом» в глазах мальчиков, был связан с тем уважением, которым пользовался Абгар Иосифович со стороны самых широких слоев населения, благодаря исключительной принципиальности, бескорыстности и доступности.

Другой значительной фигурой, повлиявшей на становление мировоззрения и личности Леона Абгаровича, был его учитель — Иван Петрович Павлов. Нобелевский лауреат, создатель современной физиологии, он был человеком очень сложным, неровным, вспыльчивым. Работа под его руководством и совместно с ним подчас была непростой, но высочайшая требовательность к себе и своим сотрудникам, исключительная щепетильность в отношении достоверности научных результатов, правдивость и принципиальность, граничившая с невежливостью, безусловно, повлияли на становление той высокой научной и гражданской принципиальности Леона Абгаровича, которая стала легендой и во многом определила его авторитет и общественное положение.

Мать Леона Абгаровича Варвара Моисеевна (дочь князя Аргутинского-Долгорукова), под чьим постоянным вниманием прошли детские и гимназические годы братьев Орбели, имела весьма демократические взгляды и своей постоянной заботой об окружающих заложила корни того гуманизма, который стал впоследствии столь сильной чертой в характере братьев. В большом доме на Бейбутовской, где фасадную часть здания занимала семья Абгара Иосифовича, в боковой части жило семейство его кучера Аршака. Когда собственные дети, окончив гимназию, переселились в Петербург, Варвара Моисеевна очень много времени и внимания уделяла дочерям Аршака, занималась с одной из них музыкой, развив дарование девочки настолько, что та впоследствии стала известной пианисткой.

Леон Абгарович окончил Военно-медицинскую академию в 1904 году. Начало его научной работы и первые его самостоятельные шаги в жизни относятся к тому замечательному, героическому периоду в жизни нашей страны, когда не было места безразличию, равнодушию и аполитичности, когда жизнь страны была личным делом каждого. Подчеркнутая гражданская ответственность и исключительно высокое политическое сознание, зародившееся в те исторические годы, стали потом отличительными чертами Орбели-ученого, Орбели-

руководителя, приведшие его к заслуженно высокому авторитету как среди коллег (во всем мире), так и среди государственных деятелей в нашей стране, и позволившие ему (беспартийному) занять столь ответственные руководящие должности, как начальник Военно-медицинской академии и вице-президент Академии наук.

Упоминание о высоком должностном положении Леона Абгаровича чрезвычайно важно здесь совсем не для того, чтобы этим объяснить исключительную его популярность, скорее наоборот. Жизнь Леона Абгаровича далеко не всегда была так благополучна, как это может показаться при чтении официальной биографии.

В 1949 году умерла горячо любимая его единственная дочь.

В 1949 году Л. А. Орбели не поддержал развернутую в стране (санкционированную «свыше») антигенетическую кампанию, остался верен павловским традициям правдивости и бескомпромиссности в науке. Он твердо стоял на позициях своего учителя, установившего бюст великого основателя современной генетики — Менделя — в Колтушах, непосредственно перед зданием лаборатории (ставшим впоследствии известным как «старая лаборатория»), и начертанного на стене лаборатории прямо над бюстом вошедшие в историю науки слова «Экспериментальная генетика высшей нервной деятельности».

Занявший принципиальную, павловскую позицию в период антигенетической кампании (Лейбсон 1990), Орбели вызвал сначала скрытое, а вскоре и вполне явное недовольство официальных руководителей науки (и государства). Его независимое мнение и высочайший авторитет в самых широких кругах научной общественности привели к тому, что в 1950 году была организована и широко развернута очередная государственная кампания — антиорбелевская, начавшаяся с так называемой объединенной сессии двух (АН СССР и АМН СССР) академий и превратившаяся по сути дела в антифизиологическую, т. к. она под видом борьбы с «идеализмом» и «искажениями в павловском учении» фактически привела к остановке, задержке и, в конечном результате, к значительному отставанию самых актуальных для развития физиологии направлений.

Бывший «глава советской физиологии» был обвинен «в семи смертных грехах» и признан «идеалистом» (тогда это слово, противопоставленное материалисту, означало противопоставление марксизму) и почти что «врагом народа», был отстранен не только от всех занимаемых им должностей, но практически потерял возможность вести научную работу. Индивидуаль-

ная группа академика Орбели при Естественно-научном институте им. П. Ф. Лесгафта, организованная после его обращения в Президиум АН в 1951 году, состояла из восьми человек. Какую силу и твердость духа надо было иметь, чтобы после всего этого не только сохранить жизнь, здоровье, высоко поднятую голову, веру в свою правоту, но и продолжать работать!.. Работает Леон Абгарович в это время чуть ли не больше, чем раньше. Для устранения сомнений в правильности понимания марксистско-ленинской философии штудируются десятки томов основоположников материализма, и как результат в течение года создается замечательная (совершенно необычная для Орбели по стилю) философская работа «Об объективном и субъективном».

Думая об источниках этой необыкновенной силы духа, я могу найти ей объяснение только в обостренном чувстве ответственности перед окружающими, чувстве необходимости («выдерживать ради других»). Кроме безусловного сознания своей правоты, правоты своего дела, его поддерживала ответственность перед собственным авторитетом. Ему верили люди, на него смотрели ученики, и он должен был выдерживать. Это можно сравнить только со стойкостью идущих на казнь борцов за правду, за идею, да и то, возможно, им было легче, так как за казнь, за смертью — уход, облегчение, отдых. Здесь же нужно было жить, работать и твердостью своей жизни доказать свою правоту, оправдать человеческую веру в него, в справедливость своего авторитета. Он знал, что нужен окружающим его более слабым людям, знал, что еще может быть им полезен, а значит — должен выдерживать.

Эту силу добра, силу веры в необходимость добра я сейчас могу назвать религией. Внук известного священника, Леон Абгарович всю жизнь исповедовал принципы, присущие христианской морали, нашел свою современную материалистическую основу для поддержания своих духовных и физических сил в чувстве необходимости добра, в сознании полезности и нужности людям.

Интересно его собственное высказывание на эту тему. Он выжил, выдержал, дожил до «снятия осады», до «оттепели», до создания Института эволюционной физиологии им. И. М. Сеченова (правда, не до завершения строительства на Старо-Парголовском проспекте). Выступая в 1957 году во время чествования его в связи с 75-летним юбилеем, он говорил, что «родился в рубашке, что ему с самого детства, всю жизнь везло...». В чем же он видел это постоянное

везение? «Прежде всего родители, которые были действительно замечательными и дали много..., братья, без контакта с которыми в течение всей жизни не было бы..., гимназия (учителя, привившие...). ВМА, приведшая его к И. П. Павлову; сам Павлов как центральная фигура, определившая не только научные, но и моральные принципы. Жена, которая столько лет (кстати, в 1958 году была золотая свадьба) была надежной опорой... Ученики и сотрудники (мне о них хочется сказать отдельно, чуть позже); государство (партия и правительство) (он придавал этому очень большое значение) — все замечательно, но в чем же главное счастье?» «В том, что на протяжении всей своей жизни я довольно часто и много имел возможности делать людям добро». Заметьте: «возможность»! Чем больше времени проходит с тех пор, как я услышал эти слова, тем значительнее они для меня становятся. Подумайте, какая потребность в добре должна быть у человека, если возможность его делать составляет основное счастье жизни!

То, что я написал пока, — это не воспоминания, это рассуждения на тему о...

А воспоминания? У меня ли им не быть? Я вырос у него на руках. С самого рождения жил вместе, а после смерти матери, в 10-летнем возрасте, был им даже усыновлен. Это мой дед и отец не только по документам, а по самой жизни. Но я не умею и не очень хочу писать воспоминания. Когда пришел, что сказал, как посмотрел, что пил, что ел, что любил...

Основные воспоминания — это много, много людей. Люди, окружающие человека, — это часть его самого. У Леона Абгаровича таких частей было много. Постоянная любовь, забота и уважение Леона Абгаровича ко всем к ним определили и мою любовь, мои теплые чувства и добрую память о тех, кого сейчас уже нет. Боюсь, что трудно, да и неправильно было бы говорить, кто был Леону Абгаровичу ближе, дороже, кого больше любил. Он был очень открытый, очень простой человек. Ко всем умел найти свой подход (нет, не «умел» — находил — это было само собой, естественно), свой язык. Разговаривать с ним, общаться, даже молчать вместе всегда было очень приятно (видимо, для всех), и он сам находил большое удовольствие в общении с разными людьми, и к каждому у него была своя любовь, основанная на уважении и понимании.

Первый и самый близкий — это, конечно, любимый младший брат Иосиф Абгарович, переживший Леона Абгаровича на несколько лет, перенявший из его рук эстафету удовлет-

ворять мою потребность в общении. Видимо, только ему открывал Леон Абгарович самые сокровенные мысли, самые сложные и опасные внутренние сомнения. В тяжелые пятидесятые годы (для Юси, И. А. Орбели, они тоже были тяжелыми) стали регулярными комаровские прогулки. Многие жившие тогда в академическом поселке помнят, как медленно, то и дело останавливаясь, идут два брата прямо по улице (почему-то они любили гулять не по своим достаточно большим участкам, а по дороге, якобы провожая друг друга), заложив руки за спину. Юся с неизменной папиросой или в то время полюбившимися ему четками; идут тихо и даже не всегда говорят.

Друг номер два — сотрудники, такой замечательный «коллектив». Видимо, это слово совершенно не годится. Я бы сказал, что это был «ансамбль солистов». Каждый сам по себе, со своей яркой индивидуальностью, не походит на другого, каждый чем-то дорогой и нужный. Мне сейчас кажется, что и общаться-то со всеми Леон Абгарович любил по одному. Тогда удавалось открыть и глубже все понять и почувствовать. Трудно перечислять. Страшно не назвать кого-нибудь, обидеть.

Анна Васильевна Тонких — самый надежный сотрудник, но трудный абсолютной бескомпромиссностью, резкостью суждений.

Надежда Исаевна Михельсон — самый близкий, видимо, тоньше и глубже других помощник. Ее долгая тяжелая болезнь была собственной болезнью Леона Абгаровича. Смерть ее была для него большим горем.

Александр Григорьевич Гинецинский, Арарат Мартынович Алексанян — верные ученики, основавшие собственные школы, существование которых в тяжелые годы было большой моральной поддержкой.

Федор Романович Дунаевский — тихий, мудрый человек, попавший в физиологию случайно, но исключительно честный, верный и надежный друг, помощь и поддержка которого часто оказывались полезны не только самому Леону Абгаровичу, но и всему коллективу.

Евгений Александрович Моисеев — рафинированный аристократ, меломан, человек высочайшей культуры и безукоризненной грамотности. Его эрудиция была, видимо, шире, чем у самого Леона Абгаровича, и их длинные беседы доставляли нескрываемое удовольствие обоим.

Зоя Ивановна Барбашова и Алексей Валентинович Войно-Ясенецкий, очень разные (она искрящаяся энергией, оптимизмом с налетом чего-то цыганского, он строгий, всегда уравновешенный...), были любимыми сотрудниками

Леона Абгаровича из последней (послевоенной) плеяды, близкими друзьями дома, и наиболее героически проявили себя в тяжелые 1950-е годы. Оба, не думая о себе, самоотверженно боролись за правое дело своего Учителя.

Несправедливо было бы упоминать только ученых, когда самым главным, самым нужным помощником всегда, когда надо, днем и вечером, была милая, родная Гаяна Павловна Цуринова, отдавшая всю себя, все свои силы, здоровье ему, его делу, а после его смерти — его биографии вместе с Львом Германовичем Лейбсоном, создавшим единственную строго документальную и очень верную по духу книгу (Лейбсон 1990), которая в силу второстепенных обстоятельств, к сожалению, не переиздается.

А шоферы! Павел Алексеевич Черемшанов и Леша Буров — это же члены нашей семьи, без них воспоминания о жизни нашего дома были бы просто неверны.

Общение — это не только кабинетные беседы или прогулки один на один, совещания, когда собирались все; это и застолья. Разницы между беседой в кабинете и за столом никогда не было. Та же непринужденность, те же шутки, анекдоты, порой добродушные, порой безжалостные. Чувство юмора — неперемное условие для вступления в Орбелевский коллектив, в наш дом. Наиболее полно, наиболее лирично Леон Абгарович раскрывался в Москве. Там, в доме номер 25 по улице Чайковского, у Леона Абгаровича была квартира. Небольшая двухкомнатная квартира на 5-м этаже с балкончиком, выходящим во двор американского посольства (сначала на пустырь — посольство строили у нас на глазах; потом во дворе появились гараж и детская площадка). Эта квартира занимала совершенно особое, значительное место в душе, в сердце Леона Абгаровича. Необходимость часто ездить в Москву, т. е. счастье появления там хозяина, и исключительно тактичная, но неустанная забота замечательной «надзирательницы» Веры Яковлевны Костыговой привели к тому, что атмосфера там была совершенно жилая, несмотря на то что жили мы все-таки в основном в Ленинграде. Это глубокое лирическое отношение к московской квартире является интересной характеристикой Леона Абгаровича. Квартира на его языке называлась «раек». Он хозяйничал там сам. Ужасно это любил, никому не позволял помогать. Время от времени, когда у самого Леона Абгаровича не хватало времени на продуктивно-хозяйственные покупки (хотя делать их он тоже очень любил), давались поручения московскому шоферу — Дмитрию Прохоровичу Антонову

(который, как и Павел Алексеевич, являлся членом семьи), и тогда основными домашними наслаждениями для Леона Абгаровича были ванна, приготовление еды (готовить любил и умел очень хорошо), прием немногочисленных постоянных гостей. Эти вечера в московской квартирке — целая глава в жизни Леона Абгаровича. Как хорошо там было, как дружно, уютно, по-человечески тепло! «Раек» просуществовал недолго (1940–1952 гг.), но захватил замечательно важный и интересный период жизни Леона Абгаровича.

Во все времена, тяжелые и радостные, вечерние визиты близких друзей поддерживали, укрепляли, давали необходимую зарядку бодрости. Кто же входил в этот замечательный узкий московский кружок? Первым делом, конечно, Вера Владимировна Беленицкая, постоянный верный помощник во всех делах, постоянный референт Леона Абгаровича в Москве, ставшая не просто «родственником» и давшая Леону Абгаровичу больше, чем любой из нас.

«Маленький генерал» Гавриил Васильевич Крайванов (генерал-майор в доме генерал-полковника). Это название сохранилось за ним. Он не обижался. Леон Абгарович очень любил его. Очень радовался его приходу. Ждал, звонил, звал.

Вера Георгиевна Самсонова и Люся Ивановна Мкртычева. Я их почему-то по тем временам встречал всегда вместе. Обе смеющиеся, остроумные, веселые, вносящие много шума и оптимизма в жизнь «райка». Иногда Татьяна Николаевна Несмеянова, более серьезная, но не менее любимая, и реже Наталья Марковна Шамарина.

Это замечательный коллектив. Я помню, как нужно было Леону Абгаровичу общение с ними. Как его поддерживало это. Как было ему тяжело, когда не стало «райка».

1941–1945 гг., война, Леон Абгарович в непрерывных поездках: Балаклава (где идут испытания), Казань (где в эвакуации находится семья и продолжается работа Физиологического института), Ленинград (где, несмотря на блокаду, в ВМА продолжается оборонная работа), Президиум АН в Москве (В. Л. Комаров), Управление тыла (И. Х. Баграмян), ГВМУ (Е. И. Смирнов).

1945–1950 гг. Небывалый послевоенный размах работ. Не знаю, как оценит это время истории физиологии, но думаю, что в развитии науки это должен быть значительный этап.

1950–1952 гг. Тяжелые времена. Поездки в Москву стали редкими настолько, что в 1952 году Леон Абгарович решает отказаться от квартиры.

Можно ли говорить о «хобби» Леона Абгаровича? Прежде всего, это не нарды, не музыка, не садоводство, а люди. Нарды действительно любил, но думаю, что как занятие автоматическое, избавляющее от лишних вопросов и позволяющее уйти в себя и молча подумать. Людей, общение с ними он любил больше всего на свете, жить без этого не мог. Будучи тяжело больным в 1957–1958 годах, обязательно требовал, чтобы пускали к нему. Очень любил беседы с Михаилом Павловичем и Александром Павловичем Бресткиными, Всеволодом Ивановичем Медведевым, Евгением Александровичем Моисеевым. Они, такие разные, были одинаково полезны ему, как лекарство, как кислород.

Музыку Леон Абгарович любил как-то особенно, по-своему. В детстве учился играть на флейте, но неудачно. Ходить на концерты не любил (думаю, что мешали люди, окружающие). Радио и пластинки — видимо, то, что было нужно, но всегда некогда было. Приходил ко мне в комнату, садился (симфония Моцарта, сольминор), но что-то всегда мешает, телефон или визитеры или просто необходимость что-то прочесть. Кстати, в последние годы (до 1956 года) выработался интересный ритм жизни.

Часов в 12 ночи все ложились спать, и Леон Абгарович тоже. Часа в 2 ночи он вставал и работал. Читал и писал часов до 5. Никто не мешает. А потом ложился снова и спал долго, вставал не раньше 9, а то и в 10 часов утра.

«Садоводство» — это значит не трогать лес, дать ему расти, как он хочет. Только где-то расчистить от сушняка, где-то зарыть канавку... любил иван-чай...

Основное, что сейчас можно сказать о Леоне Абгаровиче, — это был очень нужный всем человек. И сейчас я твердо знаю, что не только мне, а всем, кто его знал, его очень и очень недостает. И единственное, что остается как помощь, как поддержка, как очищение и как стимул, — это обращение к его светлой памяти.

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

- Григорьев, А. И., Григорьян, Н. А. (2007) *Научная школа академика Леона Абгаровича Орбели*. М.: Наука, 378 с.
- Лейбсон, Л. Г. (1990) *Академик Леон Абгарович Орбели. Неопубликованные главы биографии*. Л.: Наука, 188 с.
- Орбели, А. Л. (1961–1968) *Избранные труды: в 5 т.* М.; Л.: Изд-во Академии наук СССР.
- Пастухов, В. А. (2005) *Академик Л. А. Орбели в Павловских Колтушах*. СПб.: Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 144 с.

References

- Grigorev, A. I., Grigoryan, N. A. (2007) *Nauchnaya shkola akademika Leona Abgarovicha Orbeli [Academic School of Academician Leon Abgarovich Orbeli]*. Moscow: Nauka Publ., 378 p. (In Russian)
- Lejbson, L. G. (1990) *Akademik Leon Abgarovich Orbeli. Neopublikovannye glavy biografii [Academician Leon Abgarovich Orbeli. Unpublished biography chapters]*. Leningrad: Nauka Publ., 188 p. (In Russian)
- Orbeli, L. A. (1961–1968) *Isbrannnye trudy: v 5 t. [Selected works: In 5 vols.]*. Moscow; Leningrad: USSR Academy of Sciences Publ. (In Russian)
- Pastukhov, V. A. (2005) *Akademik L. A. Orbeli v Pavlovskikh Koltushakh [Academician L. A. Orbeli in Pavlovsky Koltushi]*. Saint Petersburg: Pavlov Institute of Physiology of Russian Academy of Sciences Publ., 144 p. (In Russian)



УДК 9.929.5

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-16-22>

Анна Васильевна Тонких. 58 лет служения науке

Л. Е. Андреева^{✉1}

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

Сведения об авторе

Лариса Евгеньевна Андреева, e-mail: koltushi.muzei@infran.ru

Для цитирования: Андреева, Л. Е. (2022) Анна Васильевна Тонких. 58 лет служения науке. *Интегративная физиология*, т. 3, № 1, с. 16–22. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-16-22>

Получена 17 января 2022; прошла рецензирование 28 февраля 2022; принята 1 марта 2022.

Права: © Л. Е. Андреева (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. 15 февраля 2022 г. исполнилось 136 лет со дня рождения доктора биологических наук, заслуженного деятеля науки, первой русской женщины — военного врача, профессора Анны Васильевны Тонких. Более 30 лет А. В. Тонких отработала в Институте физиологии им. И. П. Павлова: с 1936 г. по 1950 г. в должности заместителя директора по науке, с 1950 г. по 1966 г. возглавляла лабораторию вегетативной нервной системы и нервной трофики, с 1966 г. по 1973 г. являлась научным консультантом института. А. В. Тонких — автор ряда классических исследований, получивших мировое признание. Анна Васильевна оставила яркий след в науке. Ее работы стали золотым фондом отечественной и мировой физиологии, где особое место заняли исследования влияния симпатического отдела вегетативной нервной системы на ЦНС, изучение сна, сонноподобных состояний, функций гипоталамус-гипофизарно-адреналовой системы, экспериментального гипертиреоза. А. В. Тонких была ученицей академика Л. А. Орбели, но в дальнейшем развивала свое оригинальное научное направление — изучение роли высших вегетативных центров в возникновении цепных нейрогормональных реакций. В статье дан краткий обзор научной деятельности А. В. Тонких, а также впервые приводятся архивные материалы о происхождении и о семье Тонких. В статью включен материал о братьях и сестрах А. В. Тонких.

Ключевые слова: А. В. Тонких, Л. А. Орбели, трофическая функция нервной системы, история физиологии, история Института физиологии им. И. П. Павлова

Anna V. Tonkikh: 58 years serving science

L. E. Andreeva^{✉1}

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

Author

Larisa E. Andreeva, e-mail: koltushi.muzei@infran.ru

For citation: Andreeva, L. E. (2022) Anna V. Tonkikh: 58 years serving science. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 1, pp. 16–22. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-16-22>

Received 17 January 2022; reviewed 28 February 2022; accepted 1 March 2022.

Copyright: © L. E. Andreeva (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. 15 February 2022 is the 136th anniversary of the birth of Professor Anna V. Tonkikh, a Doctor of Sciences (Biology), a renowned scholar and the first Russian female military doctor. A. V. Tonkikh worked at the Pavlov Institute of Physiology for more than thirty years: as Deputy Director for Science from 1936 to 1950, as the head of the Laboratory of the Vegetative Nervous System and Nervous Trophic from 1950 to 1966 and as institute scientific consultant from 1966 to 1973. A. V. Tonkikh was the author of a number of foundational studies that received world recognition. Indeed, she made a significant impact on physiology. Many of her works have become part of the heritage of Russian and global physiology, particularly her research on the influence of the sympathetic vegetative nervous system on the central nervous system, as well as research on sleep and sleep-like states, the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and experimental hyperthyroidism. A. V. Tonkikh was a student of L. A. Orbeli, but then focused on her original area of research—the study of the role of higher vegetative centres in chain neurohormonal reactions. The article provides a brief overview of A. V. Tonkikh's research and makes the first report of some archival materials about Tonkikh family origin and life. The article also includes materials about A. V. Tonkikh's brothers and sisters.

Keywords: A. V. Tonkikh, L. A. Orbeli, vegetative nervous system and nervous trophic, history of physiology, history of Pavlov Institute of Physiology

Введение

15 февраля 2022 г. исполнилось 136 лет со дня рождения заслуженного деятеля науки, первой русской женщины — кадрового военного врача, одного из основателей Общества российских физиологов (ныне Физиологическое общество им. И. М. Сеченова) Анны Васильевны Тонких. Ее работы стали золотым фондом отечественной и мировой физиологии, где особое место заняли исследования влияния симпатического отдела вегетативной нервной системы на ЦНС, изучение сна, сонopodobных состояний, функций гипоталамус-гипофизарно-адреналовой системы, экспериментального гипертиреоза.

Семья и годы учебы

Анна Васильевна родилась в селе Тонтой станицы Копунской Забайкальской области (ныне это Сретенский район Читинской области) в многодетной семье казака. Отец Анны Василий Гаврилович был приписан к Забайкальскому казачьему войску, имел надел земли и добротный деревянный дом.

Забайкальское казачье войско было образовано в середине XIX века из части сибирских казаков. Подразделение несло внутреннюю службу по охране государственной границы с Китаем. В начале XX века правительство России прекратило выплату денежного пособия казакам, наделив всех земельными участками. В свободное от службы время казак занимался сельским хозяйством. Благодаря трудолюбию Василия Гавриловича и его умению вести хозяйство семья Тонких не бедствовала. Глава семейства был уважаемым в станице человеком. Василий Гаврилович не раз избирался на должность почетного блюстителя церковно-приходского училища в селе Большой Тонтой. По своей должности он был обязан заботиться не только о материальном состоянии училища, но и о морально-нравственном воспитании учащихся. Мать Анны Васильевны Параскева Степановна во всем помогала супругу, вела домашнее хозяйство, занималась воспитанием детей, а детей в семье было много: Иван (1877 г. р.), Константин (1884 г. р.), Анна (1886 г. р.), Илья (1891 г. р.), Наталья (1895 г. р.) и Вера (1897 г. р.). Все они получили начальное образование в родном селе, а потом разлетелись по всей стране.

Старший, Иван Васильевич, выбрал карьеру военного, дослужился до чина полковника Генерального штаба в царской России, был полиглотом — знал пять языков: английский,

французский, немецкий, монгольский и китайский. Часто бывал в Монголии и Китае, занимался изучением этого региона.

Константин Васильевич решил посвятить себя преподавательской деятельности. Учился в Нерчинском Духовном училище, а затем прослушал полный курс Читинской учительской семинарии. Около 10 лет служил народным учителем в родном Забайкалье. По его стопам пошли младшие сестры Наталья и Вера. Анна и Илья решили продолжить учебу в лучших высших учебных заведениях страны.

В 1908 г. золотая медалистка, выпускница 1-й Читинской Женской гимназии Анна Тонких приехала в Санкт-Петербург, держа в руках направление от Забайкальского военного округа в Женский медицинский институт. Это был первый случай, когда казачье войско решило оплатить обучение девушки, чтобы после учебы она стала военным врачом. Анна Васильевна не подвела: в 1914 г., получив диплом лекаря с отличием, возвратилась в родные края и поступила на военную службу в Забайкальское войско (рис. 1).

Летом 1914 г. грянула Первая мировая война, внесшая свои коррективы в мирную жизнь.



Рис. 1. А. В. Тонких, 1914 г., фотография из выпускного альбома женского медицинского института. Данная фотография предоставлена сотрудниками музея Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И. П. Павлова

Fig. 1. A. V. Tonkikh, 1914, photograph from the graduation album of the Women's Medical Institute. This photo was provided by the staff of the Museum of the Pavlov University

Василий Гаврилович имел уже солидный возраст и не был призван на военную службу, а все его сыновья ушли на фронт. Иван как кадровый военный был отправлен на Западный фронт. Константин мобилизован и отправлен в Оренбургское военное училище для прохождения ускоренного курса обучения. После окончания военного училища был командирован на Кавказский (Турецкий) фронт во Второй Аргунский полк, где пробыл до конца войны. Награжден орденом Св. Станислава 3-й степени с мечами и бантом, орденом Св. Анны 4-й степени с надписью «За доблесть». В 1916 г. произведен в есаулы. Двадцатитрехлетний Илья, вчерашний студент Киевского университета, мобилизован и отправлен в Иркутское военное училище, а после в звании прапорщика также воевал на Кавказе.

В ноябре 1915 г. Анна Васильевна получает разрешение военного министра на демобилизацию, по ходатайству медицинского института возвращается в Санкт-Петербург в качестве ассистента на кафедру физиологии. Руководство института намеревалось во что бы то ни стало вернуть талантливую выпускницу. Еще будучи студенткой, Анна Васильевна выполнила две научные работы, результаты которых привлекли внимание и заслужили одобрение самого Ивана Петровича Павлова: «К вопросу об условных рефлексах у старой собаки» (Тонких 1913) и «Условный рефлекс и тормоз на железы желудка» (Тонких 1914). По настоянию академика в 1913 г. Анна Васильевна прочитала доклад о результатах своих экспериментов на заседании Общества русских врачей. Профессора В. И. Вартанов и И. С. Цитович сумели разглядеть в хрупкой девушке не только потенциал будущего ученого, но и педагогический дар. Учебный процесс в институте был построен таким образом, что студентки старших курсов должны были вести практические занятия и семинары для младших слушательниц. Занятия Анны отличались строгой логичностью и тщательной подборкой демонстрационного материала. В 1914 г. Анна, еще студентка пятого курса, состояла ассистенткой по физиологии на педагогических курсах Фрёбелевского общества (Фрёбелевские курсы — учебное заведение, готовившее воспитательниц для семей и детских садов по системе немецкого педагога Ф. Фрёбеля (1782–1852)).

Очередные испытания на долю семьи Тонких выпали в послереволюционные годы. В 1917–1918 учебном году молодой преподаватель А. В. Тонких сдала экзамены на степень доктора медицины и в мае 1918 г. уехала на каникулы к родителям в Забайкалье. Вернуться назад в Петроград

к началу нового учебного года ей не удалось: в стране шла Гражданская война. Сибирь оказалась отрезанной от европейской части России возникшим фронтом. Тонких пришлось два года работать преподавателем на кафедре фармакологии Томского университета, успевая проводить научные исследования. В 1919 г. А. В. Тонких совместно с профессором Б. И. Слобцовым публикует статью «Действие дрожжевого экстракта на пищеварительные ферменты» (Личное дело А. В. Тонких 1973, 7). В августе 1920 г. А. В. Тонких, движимая любовью к физиологии, вернулась в Петроград.

Совсем иной выбор сделали ее старшие братья Иван и Константин. В 1918 г. они примкнули к армии А. В. Колчака, а после его разгрома эмигрировали вместе со своими семьями в Китай. Константин в 1920 г. с частями Дальневосточной армии эвакуирован в Гензан (Корея), в 1923 г. выехал в Пекин, а оттуда в том же году — в Маньчжурию (рис. 2). Остался в эмиграции навсегда, работал учителем, состоял в Дальневосточном Союзе военных. «Человек высокой порядочности, офицер в полном смысле этого слова. Среди военных пользуется уважением и доброй славой, как работник в частной жизни — аккуратный, исполнительный и честный. Держится принципа, которому не изменяет: работать не за страх, не за деньги, а за совесть». Такую характеристику К. В. Тонких в 1936 г. дал начальник Дальневосточного Союза военных есаул Е. Пастухин (Российские эмигранты в Маньчжурии 2022). После 1936 г. следы К. В. Тонких затерялись.

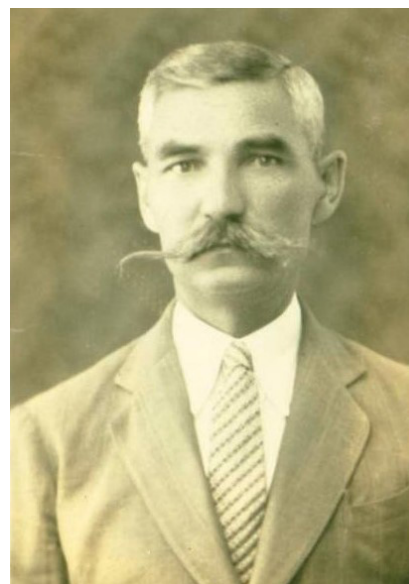


Рис. 2. К. В. Тонких, фотография из личного дела (ГАХк Ф-Р 830, О. 3, д. 12241, 1)

Fig. 2. K. V. Tonkikh, a photograph from the personal file (Khabarovskiy Region Archive, F-R 830, O. 3, file 12241, 1)

Иван поменял свое отношение к Советскому Союзу. В 1927 г. Иван Васильевич Тонких был принят на должность военного атташе Полномочного Представительства СССР в Китае. В 1928 г. китайцы обвинили его в шпионаже, арестовали, но после переговоров с Советским правительством отпустили и выслали из Китая. Остаток своих лет И. В. Тонких провел в Москве, преподавал на специальных курсах Московской объединенной пехотной школы, работал библиотекарем в библиотеке Центрального дома Красной Армии, в 1935 г. вышел на пенсию. Возможно, ему тогда казалось, что жизнь удалась: квартира в Москве на Чистых прудах, взрослые дети, хорошая военная пенсия... Но судьба бывает порой очень жестокой. 22 августа 1937 г. Иван Васильевич снова был назван шпионом, но уже спецслужбами СССР, арестован и расстрелян 3 июля 1939 г.

Василий Гаврилович в 1920 г. овдовел; владец 50 десятин земли, он уже не мог без помощников справляться с хозяйством и нанял на работу семейную пару. За это в 1927 г. был признан эксплуататором и лишен избирательного права, а в 1930 г. назван кулаком и осужден. В 1931 г. Василий Гаврилович Тонких умер в возрасте 74 лет.

К младшим детям судьба была более добра. Илья Васильевич после Гражданской войны вернулся к прежней жизни, уехал в Ростов-на-Дону, стал научным сотрудником в Институте рыбоводства, к 1936 г. дослужился до заведующего лабораторией.

Вера Васильевна Феоктистова (урожд. Тонких) стала учителем в средней школе и всю жизнь отработала в Читинской области, награждена орденом Ленина и медалью «За доблестный труд в Великой Отечественной войне».

Наталья Васильевна тоже стала учителем, жила в Луге (Ленинградская область). Из всей семьи сестры Анна и Наталья были наиболее близки между собой и поддерживали теплые отношения до конца своих дней.

Путь в науке

В августе 1920 г. Анна Васильевна вернулась в Петроград и продолжила педагогическую и научную работу на кафедре физиологии Женского медицинского института. Возвращение в город на Неве подарило Анне Васильевне

встречу, которая определила ее дальнейший путь в науке. За время ее отсутствия на кафедре произошли кадровые изменения: на смену трагически погибшему профессору В. И. Вартанову новым заведующим кафедрой был назначен академик Л. А. Орбели, а также пришли новые сотрудники из числа учеников И. П. Павлова. Работа с академиком Орбели открыла перед молодым специалистом А. В. Тонких новые направления научной деятельности. В этот период А. В. Тонких совместно с В. В. Савичем (учеником И. П. Павлова) исследовала механизмы секреции адреналина, а также впервые в поле научных интересов Тонких попадает физиология симпатической нервной системы. Она интересуется проблемами взаимодействия между симпатической и центральной нервной системами. А. В. Тонких были получены данные о том, что раздражение симпатических нервов вызывает глубокие сдвиги в функциональных свойствах спинного мозга, изменяющих характеристику спинальных рефлексов. В 1924 г. она представила к защите экспериментальную работу «К физиологии поджелудочной железы» и получила звание ученого специалиста. Это звание приравнивалось к дореволюционному научному званию доктора медицины. В 1926 г. Анна Васильевна получает звание приват-доцента по физиологии и ведет активную преподавательскую деятельность не только в родном институте, но и в Военно-медицинской академии (ВМА) РККА в должности старшего преподавателя на кафедре физиологии. В конце 1920-х годов А. В. Тонких удалось получить новые данные, поясняющие феномен Сеченовского торможения, и установить роль симпатической нервной системы в этом процессе. Позднее работы ученых из школы А. А. Ухтомского полностью подтвердили факты, обнаруженные Тонких. Логическим продолжением изучения физиологии симпатической нервной системы стали работы Анны Васильевны, выполненные на кафедре физиологии ВМА под началом Л. А. Орбели, о роли симпатической нервной системы в повышении температуры при тепловом уколе.

В 1931 г. А. В. Тонких переходит на постоянную службу в Военно-медицинскую академию. В 1934 г. получает ученую степень доктора биологических наук, в 1936 г. утверждена в звании профессора ВМА им. С. М. Кирова. Здесь на

кафедре физиологии под руководством Л. А. Орбели раскрылся еще один талант этой незаурядной женщины — талант руководителя и организатора. Тонких часто приходилось замещать Леона Абгаровича не только как лектора, но и как начальника кафедры, осуществлять руководство во время многочисленных командировок Орбели. Ее организаторские способности оказались востребованы и во Всесоюзном Институте экспериментальной медицины при создании там нового отдела специальной и эволюционной физиологии. В 1930-е годы Тонких ведет активную научную и просветительскую деятельность, выступает на предприятиях Ленинграда с публичными лекциями о роли физиологии в современном обществе, о проблемах медицины и сохранения здоровья, участвует в работе научных конференций и симпозиумов. В 1935 г. Анна Васильевна в числе лучших физиологов СССР представляла страну на XV Международном конгрессе физиологов. Она выступила с докладом на секции физиологии центральной нервной системы и высшей нервной деятельности. «Дала в своем докладе доказательства того, что гипноз у лягушек протекает при непрямом участии симпатической нервной системы. Этот многозначительный факт расширяет наши представления о механизме гипноза у низших животных» (Збарский 1936, 61).

В 1936 г. после смерти И. П. Павлова директором Физиологического института АН СССР назначили Л. А. Орбели. Анна Васильевна Тонких уходит в отставку и принимает приглашение Орбели стать его заместителем по науке. Работа в Физиологическом институте (с 1950 г. — Институт физиологии им. И. П. Павлова АН СССР) стала очень ярким последним этапом в научной карьере Тонких.

В годы Великой Отечественной войны Анне Васильевне на основе еще довоенных исследований удалось объяснить причины возникновения пневмоний и отека легких как наиболее частых последствий при операциях грудной полости. Изменив по рекомендации Тонких методику проведения таких вмешательств, хирургам удалось сократить смертность от ранений в область грудной клетки. Как итог этого исследования, в 1949 г. вышла в свет монография А. В. Тонких «Нервные и гуморальные факторы происхождения пневмоний и отека легких».

После увольнения Л. А. Орбели в 1950 г. А. В. Тонких ушла с поста заместителя директора института и возглавила лабораторию физиологии вегетативной нервной системы и нервной трофики. Теперь у нее была своя научная школа. Под ее руководством продолжалась начатая еще до войны серия исследований, посвященных экспериментальному гипертиреозу — базедовой болезни (рис. 3). Опыты Тонких показали, что наблюдаемое повышение уровня обмена веществ нужно рассматривать как результат гиперфункции щитовидной железы и как прямое влияние симпатических нервов на гипоталамус.

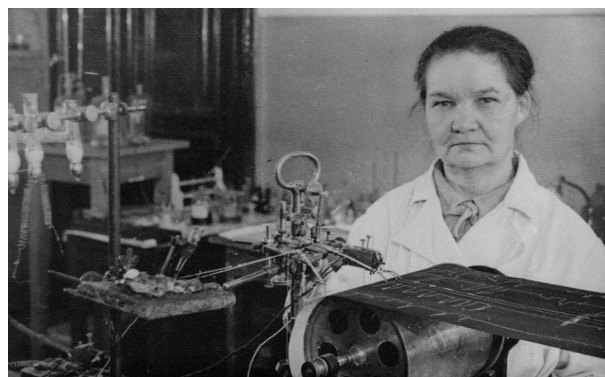


Рис. 3. А. В. Тонких в лаборатории физиологии вегетативной нервной системы и нервной трофики. Фотография из архива Института физиологии им. И. П. Павлова РАН

Fig. 3. A. V. Tonkikh in the laboratory of physiology of the autonomic nervous system and nervous trophism. Photo from the archive of the Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences

В 1960-е годы лаборатория Тонких работала над решением сложной и запутанной проблемы гипоталамо-гипофизарных отношений и роли центральной нервной системы в регуляции работы всех эндокринных органов. Исследования А. В. Тонких в этой области позволили по-новому осветить роль таких гормонов, как адреналин и вазопрессин, в процессах возникновения гипертонии и инфаркта миокарда. В 1968 г. ей была присуждена премия Л. А. Орбели за монографию «Гипоталамо-гипофизарная область и регуляция физиологических функций органов» (Тонких 1968).

Начиная с исследований, выполненных на кафедре физиологии Военно-медицинской ака-

демии, и на протяжении всей научной карьеры А. В. Тонких часто разрабатывала так называемые специальные темы. Одной из таких тем была работа по изучению патогенеза лучевой болезни, выполненная в стенах Института физиологии им. И. П. Павлова. Безусловный интерес представляют ее эксперименты по изучению гипнотических состояний и сна у животных, влияния ультракоротких волн на обмен веществ, влияния дыхания в противогазе на организм человека.

Прекрасное знание трех иностранных языков помогало А. В. Тонких делать интересные доклады на международных симпозиумах и конференциях, а также руководить подготовкой научных кадров для зарубежных стран. В 1959 г. Анна Васильевна выступила на конгрессе физиологов в Аргентине, в 1960 г. принимала участие в работе Международного съезда эндокринологов в Дании. Анна Васильевна свободно говорила на английском и немецком, могла изъясняться и на французском языке (рис. 4).



Рис. 4. Празднование 75-летнего юбилея А. В. Тонких в лаборатории. Фотография из архива Института физиологии им. И. П. Павлова РАН

Fig. 4. The celebration of A. V. Tonkikh's 75th birthday in the laboratory. Photo from the archive on the Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences

В 1966 г. в возрасте 80 лет Анна Васильевна Тонких ушла на заслуженный отдых, продолжая до 1973 г. консультировать сотрудников своей лаборатории. К 1971 г. ею было написано более 150 научных и научно-популярных работ. Не стало А. В. Тонких в январе 1980 г.

Труд А. В. Тонких отмечен высокими правительственными наградами: двумя орденами Ленина, орденом Трудового Красного Знамени и медалью «За доблестный труд в Великой Отечественной войне» (рис. 5). Ей было присвоено почетное звание заслуженного деятеля науки РСФСР.



Рис. 5. А. В. Тонких. Фотография из архива Института физиологии им. И. П. Павлова РАН

Fig. 5. A. V. Tonkikh. Photo from the archive of the Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences

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

- Бекаури, Н. В., Борковская, Ю. А., Захаржевская, Н. Л. (1968) Анна Васильевна Тонких. В кн.: Е. Н. Сперанская (ред.). *Ценные нейрогормональные реакции и симпатно-адреналовая система*. Л.: Наука, с. 3–8.
- Збарский, В. И., Каганов, В. М. (1936) XV международный физиологический конгресс: 9–17 августа 1935 г. (Ленинград — Москва). *Обзор докладов на секционных заседаниях и др. материалы*. М.; Л.: Биомедиздат, 161 с.
- Личное дело А. В. Тонких. (1973) *Архив Института физиологии им. И. П. Павлова РАН*, 215 с.
- Российские эмигранты в Маньчжурии. (2022) *Государственный архив Хабаровского края*. [Электронный ресурс]. URL: <https://gakhk.khabkrai.ru/projects/brem/> (дата обращения 15.01.2022).
- Тонких, А. В. (1913) К вопросу об условных рефлексах у старой собаки. В кн.: *Труды Общества русских врачей в ПБГ*. СПб.: [б. и.], с. 74.
- Тонких, А. В. (1914) Условный рефлекс и тормоз на железы желудка. В кн.: *Труды Общества русских врачей в ПБГ*. СПб.: [б. и.], с. 10.
- Тонких, А. В. (1949) *Нервные и гуморальные факторы происхождения пневмоний и отека легких*. М.: Медгиз, 104 с.
- Тонких, А. В. (1968) *Гипоталамо-гипофизарная область и регуляция физиологических функций организма*. Л.: Наука, 330 с.
- Тонких, А. В., Слоvtцов, Б. И. (1919) Действие дрожжевого экстракта на пищеварительные ферменты. *Известия Народного Комиссариата Здравоохранения*, № 7–8, с. 12.

References

- Bekauri, N. V., Borkovskaya, Yu. A., Zakharzhevskaya, N. L. (1968) Anna Vasil'evna Tonkikh [Anna Vasilevna Tonkikh]. In: E. N. Speranskaya (ed.). *Tsepnye nejrogormonal'nye reaksii i simpato-adrenalovaya sistema [Chain neurohormonal reactions and sympathetic-adrenal system]*. Leningrad: Nauka Publ., pp. 3–8. (In Russian)
- Lichnoe delo A. V. Tonkikh [Personal file of A. V. Tonkikh]. (1973) *Arkhiv Instituta fiziologii im. I. P. Pavlova RAN [Archive of Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences]*, 215 p. (In Russian)
- Rossijskie emigranty v Man'chzhurii [Russian emigrants in Manchuria]. (2022) *Gosudarstvennyj arkhiv Khabarovskogo kraja [State Archive of the Khabarovsk Territory]*. [Online]. Available at: <https://gakhk.khabkrai.ru/projects/brem/> (accessed 15.01.2022). (In Russian)
- Tonkikh, A. V. (1913) K voprosu ob uslovykhk refleksakh u staroj sobaki [On the question of conditioned reflexes in an old dog]. In: *Trudy Obshchestva russkikh vrachej v PBG [Proceedings of the Society of Russian Doctors in PBG]*. Saint Petersburg: [s. n.], 1913. P. 74. (In Russian)
- Tonkikh, A. V. (1914) Uslovnij refleks i tormoz na zhelezy zheludka [Conditioned reflex and brake on the glands of the stomach]. In: *Trudy Obshchestva russkikh vrachej v PBG [Proceedings of the Society of Russian Doctors in PBG]*. Saint Petersburg: [s. n.], 1914. P. 10. (In Russian)
- Tonkikh, A. V. (1949) *Nervnye i gumoral'nye faktory proiskhozhdeniya pnevmonij i oteka legkikh [Nervous and humoral factors in the origin of pneumonia and pulmonary edema]*. Moscow: Medgiz Publ., 104 p. (In Russian)
- Tonkikh, A. V. (1968) *Gipotalamo-gipofizarnaya oblast' i regulyatsiya fiziologicheskikh funktsij organisma [The hypothalamic-pituitary region and the regulation of the physiological functions of the body]*. Leningrad: Nauka Publ., 330 p. (In Russian)
- Tonkikh, A. V., Slovtsov, B. I. (1919) Dejstvie drozhzhevogo ekstrakta na pischevaritel'nye fermenty [Effect of yeast extract on digestive enzymes]. *Izvestiya Narodnogo Komissariata Zdravookhraneniya*, no. 7–8, p. 12. (In Russian)
- Zbarskij, V. I., Kaganov, V. M. (1936) XV mezhdunarodnyj fiziologicheskij kongress: 9–17 avgusta 1935 g. (Leningrad — Moskva). *Obzor dokladov na sektionnykh zasedaniyakh i dr. materialy [15th International physiological congress: 9–17 August, 1935 (Leningrad — Moscow). Review of the reports of breakout sessions and other materials]*. Moscow; Leningrad: Biomedizdat Publ., 161 p. (In Russian)



УДК 612.822.3

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-23-40>

Гипотетический нейронный механизм слепоты невнимания

И. Г. Силькис^{✉1}

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

Сведения об авторе

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

Для цитирования: Силькис, И. Г. (2022) Гипотетический нейронный механизм слепоты невнимания. *Интегративная физиология*, т. 3, № 1, с. 23–40. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-23-40>

Получена 17 января 2022; прошла рецензирование 19 марта 2022; принята 20 марта 2022.

Права: © И. Г. Силькис (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Одним из подходов к изучению сознания является исследование особенностей слепоты невнимания. Поскольку этот эффект возникает в отсутствие произвольного внимания, изучение механизмов последнего представляет значительный интерес. Нами предположено, что включение произвольного внимания в обработку сенсорной информации требует активации префронтальной коры и гиппокампа, а также выделения дофамина во входной структуре базальных ганглиев — стриатуме. Это способствует растормаживанию нейронов таламуса, а также субталамического и педункулопонтинного ядер, находящихся под тормозным влиянием со стороны базальных ганглиев. Если нейроны вентрального стриатума, на которых конвергируют входы из префронтальной и ретроспленальной областей коры, а также гиппокампа, активируются достаточно сильно, дофаминзависимая реорганизация активности в цепях «кора — базальные ганглии — таламус — кора» способствует формированию нейронных отображений сенсорных стимулов в соответствующих областях коры. Кроме того, облегчаются условия для циркуляции возбуждения в топографически организованных таламо-кортикальных цепях, в цепях, связывающих первичные и высшие области коры через таламические ядра высокого порядка, а также в цепях, связывающих кору и таламус с гиппокампом, мозжечком, субталамическим и педункулопонтинным ядрами. Принято считать, что повторное возбуждение высших областей коры лежит в основе осознанного восприятия. Тогда время, необходимое для осознания сенсорного стимула, должно зависеть от времени циркуляции активности в указанных цепях. Из предлагаемого механизма следует, что вызванное дефицитом дофамина усиление ингибирования таламуса, а также ослабление его возбуждения со стороны коры, мозжечка, субталамического и педункулопонтинного ядер должно приводить к увеличению интервала между двумя стимулами, необходимого для осознания второго. Это следствие согласуется с известными результатами исследований слепоты невнимания, показавшими, что этот интервал действительно увеличивается при болезни Паркинсона, а также при повреждении мозжечка или педункулопонтинного ядра.

Ключевые слова: произвольное внимание, синаптическая пластичность, дофамин, неокортекс, таламус, базальные ганглии, гиппокамп, мозжечок

A hypothetical neural mechanism for inattentional blindness

I. G. Silkis^{✉1}

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

Author

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

For citation: Silkis, I. G. (2022) A hypothetical neural mechanism for inattentional blindness. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 1, pp. 23–40. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-23-40>

Received 17 January 2022; reviewed 19 March 2022; accepted 20 March 2022.

Copyright: © I. G. Silkis (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. One of the approaches to neuroscientific investigation of consciousness is the study of inattentional blindness. Since this effect is the result of the absence of voluntary attention, it is highly interesting to study the latter. We proposed that the involvement of voluntary attention into the processing of sensory information requires the activation of prefrontal cortex and hippocampus, as well as a release of dopamine in the input structure of the basal ganglia, the striatum. This promotes disinhibition of neurons in the thalamus, subthalamic and pedunclopontine nuclei experiencing inhibitory influence of the basal ganglia. If neurons of the ventral striatum (where, the inputs converge from the hippocampus and the prefrontal and retrosplenial cortical areas) are activated strongly enough, the dopamine-dependent activity reorganization in the cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loops facilitates the generation of neuronal representations of sensory stimuli in the corresponding neocortical areas. In addition, it creates the conditions for the circulation of excitation in the topographically organized thalamo-cortical loops, the loops connecting primary and higher cortical areas through high order thalamic nuclei, and loops connecting the neocortex and thalamus with the hippocampus, cerebellum, subthalamic and pedunclopontine nuclei. It is generally accepted that conscious perception is facilitated by re-excitation of higher cortical areas. If so, the time required for the conscious perception of a sensory stimulus should depend on the time of activity circulates in the loops mentioned earlier. It follows from the proposed mechanism that dopamine deficiency increases inhibition of the thalamus and decreases its excitation by the neocortex, cerebellum, subthalamic and pedunclopontine nuclei. This should lead to an increase in the interval between the two stimuli required to become aware of the second one. This consequence is in line with the well-known results of studies of inattentional blindness. They showed a similar increase in this interval in Parkinson's disease and due to the damage of the cerebellum or pedunclopontine nucleus.

Keywords: voluntary attention, synaptic plasticity, dopamine, neocortex, thalamus, basal ganglia, hippocampus, cerebellum

Введение

К настоящему времени накоплен ряд данных, указывающих на участие внимания в обработке и осознании сенсорной информации. Обычно внимание и осознание тесно связаны. Так, известен эффект, называемый слепотой невнимания, когда неожиданные, но явно видимые сенсорные стимулы не осознаются, если внимание сосредоточено на других стимулах (Pugnaghi et al. 2020). Слепота невнимания проявляется и в невозможности детектировать второй из двух последовательно предъявленных целевых стимулов, если отставление второго стимула от первого составляет 200–400 мс (Kranzloch et al. 2005). Исследование механизмов слепоты невнимания является одним из подходов к пониманию механизмов осознанного восприятия (Hutchinson 2019). Согласно одной из точек зрения, внимание и осознание базируются

на сходных механизмах, согласно другой — на различных. Внимание разделяют на произвольное, запускаемое стимулом, и произвольное, которое направляется на пространственное расположение или свойство стимула, облегчая его обработку (Kanai et al. 2006). Реакции на осознанные и неосознанные стимулы также различаются. Так, произвольное внимание сокращало время реакции и повышало точность распознавания стимулов только тогда, когда они воспринимались сознательно (Hsu et al. 2011). Непроизвольное внимание сокращало время реакции на стимулы только тогда, когда они сознательно не воспринимались (Hsu et al. 2011). (Вероятно, большинство таких реакций совершается автоматически.)

Наиболее часто обработку сенсорной информации, направленность внимания на стимул и его осознание рассматривают как отдельные процессы. При этом подразумевают, что фор-

мирование нейронных отображений разных свойств стимула и их объединение происходит в первичных и высших сенсорных областях, тогда как в осознании участвуют высшие фронтальные, височные и теменные области коры, образующие глобальное рабочее пространство (Baars 2005). С точки зрения предложенного нами механизма внимания оно является не отдельным эффектом, а составной частью обработки сенсорной информации и базируется на процессах, происходящих в тех же нейронных сетях, что и обработка (Силькис 2007; 2015; Silkis 2007).

Возможные механизмы включения произвольного и непроизвольного внимания в обработку зрительных и слуховых стимулов изложены в наших предшествующих работах (Силькис 2007; 2015; Silkis 2007). В них был проведен анализ пластических перестроек межнейронных взаимодействий в замкнутых нейронных цепях, включающих новую кору, базальные ганглии (БГ) и таламус (цепях К—БГ—Т—К). Эффективность этих взаимодействий критически зависит от концентрации дофамина, которая увеличивается в присутствии внимания. От характера реорганизации активности в указанных цепях зависят реакции нейронов новой коры на сенсорные стимулы. С учетом современных экспериментальных данных цепь К—БГ—Т—К можно рассматривать как составную часть коннектома, состоящего из топографически связанных областей новой коры, таламуса, БГ, гиппокампа, мозжечка и ряда подкорковых ядер, которые функционируют взаимозависимо (Силькис 2021a; 2021b; 2021c; 2022). В таких коннектомах осуществляется обработка разномодальной сенсорной информации.

Задачей настоящей работы являлся анализ возможных нейронных механизмов включения внимания в обработку сенсорной информации в коннектомах, а также особенностей функционирования коннектомов в отсутствие внимания, что приводит к слепоте невнимания. Решение этой задачи базируется на сопоставлении дофамин-зависимых пластических перестроек нейронных взаимодействий в коннектомах в присутствии и в отсутствие внимания.

Известные экспериментальные данные о вовлеченности разных структур в процессы внимания

Известно, что в переключении произвольного внимания к значимому стимулу участвует верхне-теменная извилина, благодаря чему осуществляется нисходящее влияние внимания

на извлечение информации из памяти (Ciamelli et al. 2008). В этом процессе участвуют гиппокамп, префронтальная кора (ПфК), ретроспленниальная кора (РСК), теменная и ринальная области коры (Zorzo et al. 2021). С помощью функциональной магнитно-резонансной томографии показано, что активность лобно-теменных областей коры увеличивается при выполнении задач на сознательное восприятие, внимание, рабочую память и при извлечении информации из памяти (Naghavi, Nyberg 2005). Из этих данных следует, что одни и те же области коры участвуют в реализации разных задач. Обнаружено, что внимание модулирует активность как в сенсорных и фронтальных областях коры и в таламусе, так и в БГ (Huettel et al. 2001). Гиппокамп вносит существенный вклад в процессы внимания и восприятия (Ekstrom, Yonelinas 2020). При этом активность в гиппокампе специфически связана с управляемым памятью пространственным вниманием (Summerfield et al. 2006). В этих случаях в гиппокампе наблюдали значительное увеличение активности, которое было сильно связано с увеличением активности в зрительных областях коры (Günseli, Aly 2020).

В выполнение задач на переключение внимания, требующих взаимодействия гиппокампа с ПфК, критически вовлечено таламическое ядро реуниенс (РЕ), реципрочно связанное с обеими структурами (Cassel et al. 2021; Linley et al. 2016). Ключевую роль в управляемых памятью процессах внимания могут играть также передние ядра таламуса, к которым относят медиодорзальное (МД) ядро, а иногда и латеродорзальное (ЛД) ядро (Leszczyński, Staudigl 2016). При этом эффективный вклад внимания в отображение информации в памяти требует взаимодействия между связанным с памятью гиппокампом и связанной с вниманием лобно-теменной нейронной сетью (Leszczyński, Staudigl 2016). Примечательно, что уровень сознания наиболее сильно коррелировал с активностью нейронов глубоких слоев лобно-теменной коры и нейронов таламуса и зависел от таламо-кортикальных и кортико-кортикальных взаимодействий (Redinbaugh et al. 2020). Как известно, нейроны глубоких слоев коры проецируются не только в таламус, но и во входную структуру БГ — стриатум (Parent, Hazrati 1995; Sherman 2017). Вследствие этого БГ также должны участвовать в осознанном восприятии. Мозжечок может участвовать в сдвиге внимания благодаря своим связям через таламус с дорзолатеральной ПфК (Chang et al. 2015). Исследования на приматах и грызунах показали, что повреж-

дение ПФК нарушает выполнение задач, требующих переключения осознанного внимания (Birrell, Brown 2000), а таламус способствует контролирующему действию внимания (Halassa, Kastner 2017).

Показано, что субталамическое ядро (СТЯ) является одной из составляющих подкорковой сети, участвующей в пространственном внимании (Vočková et al. 2011; Schmalbach et al. 2014). Это ядро получает иннервацию из разных областей коры и переносит активность из коры в подкорковые структуры (Nishioka et al. 2020). СТЯ является одной из ключевых структур, влияющих на функционирование БГ. С БГ и СТЯ связано и педункулопонтинное ядро (ППЯ), которое взаимодействует с мозжечком и к нему поступают первичные сенсорные входы разных модальностей (Gut, Winn 2016; Mori et al. 2016). Это ядро является ключевым регулятором активности таламуса, а через него активности коры (Gut, Winn 2016; Vitale et al. 2019). ППЯ через проекции в ядро РЕ может влиять и на активность гиппокампа (McKenna, Vertes 2004). Многочисленные афферентные и эфферентные связи ППЯ с другими структурами позволяют ему участвовать в различных процессах, включая внимание (Gut, Winn 2016). В частности, оно может участвовать в сдвиге внимания через свои связи с дорзолатеральной ПФК (Chang et al. 2015). Кроме того, ППЯ может участвовать в процессах внимания вследствие прямых проекций в холинергическую систему переднего мозга (Inglis et al. 2001), которая способствует активации коры и гиппокампа (Schliebs, Arendt 2011).

Несмотря на приведенные выше данные, при исследовании механизмов внимания и сознания преимущественно анализируют роль таламо-кортикальных взаимодействий, а вкладу в активность таламуса и коры таких подкорковых структур, как БГ, гиппокамп, мозжечок, СТЯ и ППЯ, уделяют значительно меньшее внимание.

Гипотетический механизм включения внимания в обработку сенсорной информации в коннектоме

Основные взаимодействия между разными структурами в коннектомах, участвующих в обработке разномодальной информации, схематически представлены на рис. Анализ возможных механизмов взаимозависимого функционирования нейронов в коннектоме, включающем топографически связанные области неокортекса, гиппокампа, БГ, таламуса, мозжечка и связанные с ними различные под-

корковые ядра, проведен нами ранее (Силькис 2021a; 2021b; 2021c; 2022).

Существенное влияние на функционирование коннектома оказывает дофамин, который выделяется в стриатуме и коре при включении внимания в обработку сенсорной информации (Силькис 2007; 2015, Silkis 2007). При произвольном внимании дофамин выделяется в ответ на появление сенсорных стимулов. Возникновению ответов дофаминергических клеток на зрительные стимулы может способствовать растормаживание нейронов верхнего двухолмия (ВД) через прямой путь в БГ (Silkis 2007). (На рисунке этот путь не показан с целью упрощения). Нейроны ВД и реципрокно связанные с ними нейроны ППЯ возбуждают друг друга, а нейроны ППЯ возбуждают дофаминергические клетки (рис.). Поскольку нейроны ВД получают иннервацию также из слухового поля А1 и реагируют на звук (Hirsch et al. 1985), звуковые тоны через ВД также могут приводить к разрядам дофаминергических клеток (Силькис 2015).

При произвольном внимании дофамин может выделяться вследствие активации нейронов ПФК, которые возбуждают дофаминергические клетки как непосредственно, так и через СТЯ (рис.). Кроме того, при произвольном внимании нейроны ПФК по нисходящим кортико-кортикальным аксонам возбуждают нейроны тех областей коры, где обрабатываются свойства сенсорного стимула, на который направлено внимание. Нейроны указанных областей активируются сильнее остальных, поскольку к ним через таламус поступает еще и восходящее возбуждение от сенсорного стимула, обладающего таким свойством.

Нами впервые было указано на то, что дофамин разнонаправленно влияет на эффективность сильных и слабых кортико-стриатных входов (Silkis 2001). Это приводит к дофамин-зависимой реорганизации эффективности межнейронных связей в цепях К—БГ—Т—К. В результате этого выходные ядра БГ оказывают соответственно растормаживающее и ингибирующее действие на первоначально сильно и слабо возбужденные сенсорным стимулом нейроны таламуса и топографически связанные с ними нейроны коры (Силькис 2007; Silkis 2007). Поскольку корковые нейроны, реагирующие на стимул (или свойство стимула), на который было направлено внимание, первоначально активируются наиболее сильно, выделение дофамина в стриатуме и циркуляция активности в цепях К—БГ—Т—К способствуют усилению реакций именно этих нейронов, тогда как ответы корковых нейронов, чувствительных

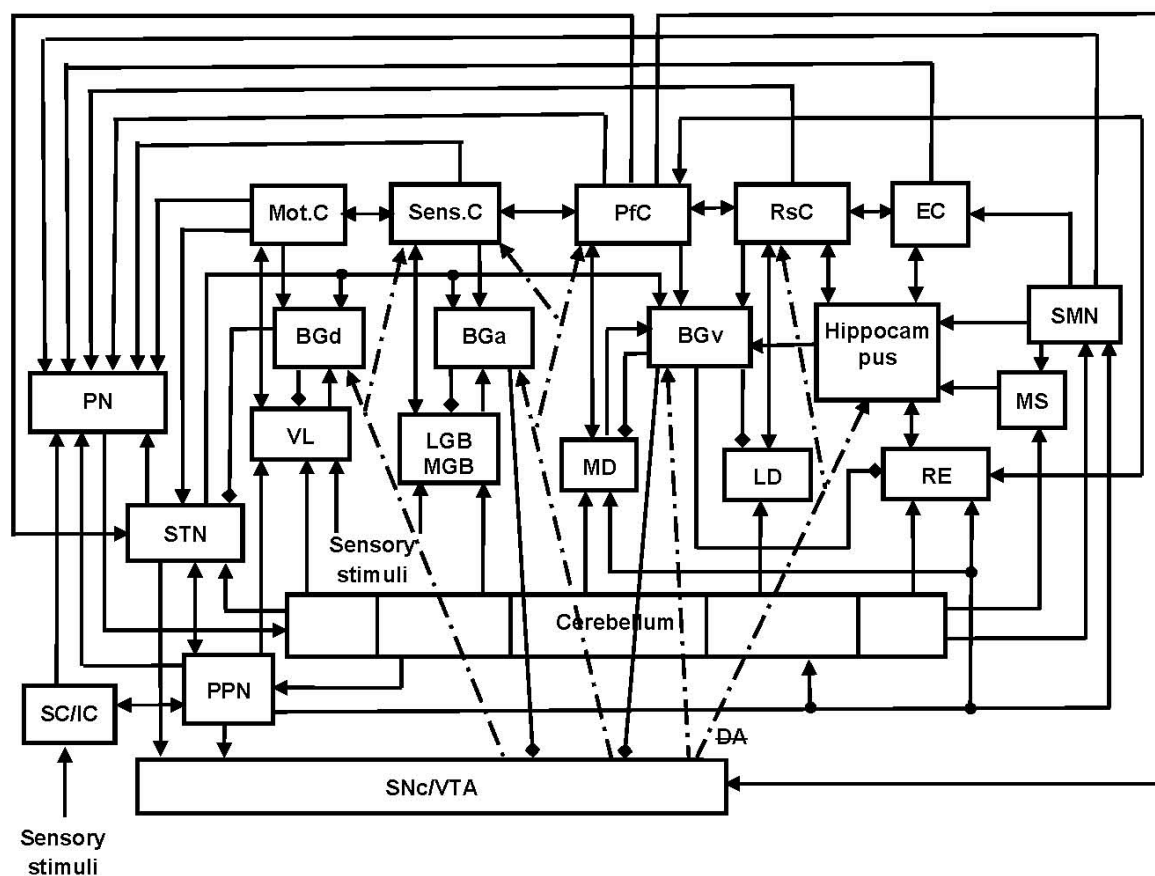


Рис. Топографическая организация нейронных цепей в глобальном коннектоме, состоящем из коннектомов, которые участвуют в обработке моторной, сенсорной и лимбической информации.

Каждый коннектом включает область неокортекса, связанное с ней ядро таламуса, а также соответствующие участки мозжечка, базальных ганглиев, субталамического и педункулопонтинного ядер и ядер моста. Во все коннектомы поступает дофамин. Mot.C и Sens.C — моторная и сенсорные области коры соответственно; PFC, RsC, EC — префронтальная, ретроспленальная кора, энторинальная области коры соответственно; BGd, BGA and BGv — дорзальная, ассоциативная и вентральная части базальных ганглиев соответственно; STN — субталамическое ядро; PPN — педункулопонтинное ядро; SNc — компактная часть черного вещества; VTA — вентральное поле покрышки; VL, MD, LD — вентролатеральное, медиодорзальное, латеродорзальное таламическое ядро соответственно; RE — таламическое ядро реуниенс; LGB и MGB — наружное и внутреннее коленчатое тело соответственно; SC и IC — верхнее и нижнее двухолмие соответственно. PN — ядра моста; MS — медиальная перегородка; SMN — супрамамиллярное ядро; DA — дофамин.

Линии, заканчивающиеся стрелками и ромбами, — возбуждающие и тормозные связи соответственно.

Штрих-пунктирные линии со стрелками — дофаминергические входы

Fig. Topographic organization of neural loops in the global connectome. It consists of connectomes involved in the processing of motor, sensory and limbic information. Each connectome includes a neocortical area, connected with it thalamic nucleus, as well as the corresponding regions of the cerebellum, basal ganglia, subthalamic and pedunculopontine nuclei, and pontine nucleus. Mot.C and Sens.C—motor and sensory cortical areas, respectively; PFC, RsC, EC—prefrontal, retrosplenial, and entorhinal cortical areas, respectively; BGd, BGA and BGv—dorsal, associative and ventral parts of the basal ganglia, respectively; STN and PPN—subthalamic and pedunculopontine nuclei, respectively; SNc—substantia nigra pars compacta; VTA—ventral tegmental area; VL, MD, LD—ventrolateral, mediodorsal and laterodorsal thalamic nuclei, respectively; RE—thalamic reuniens nucleus; LGB and MGB—lateral and medial geniculate body, respectively; SC and IC—superior and inferior colliculus, respectively; PN—pontine nuclei; MS—medial septum; SMN—supramammillary nucleus; DA—dopamine. Lines ending with arrows and rhombuses represent excitatory and inhibitory inputs, respectively. Dash-dotted lines with arrows are dopaminergic inputs

к другим стимулам (или к другим свойствам стимула), подавляются. Из этого механизма следует, что внимание может модулировать только те компоненты ответов корковых нейронов на сенсорные стимулы, чьи латентные периоды (ЛП) превышают ЛП реакций дофаминергических клеток на эти стимулы (80–100 мс).

На функционирование нейронной сети, участвующей в процессах внимания, должно влиять и модулирующее действие дофамина на моносинаптические таламо-кортикальные входы (Силькис 2015). То, что на этих входах может индуцироваться длительная потенциация и длительная депрессия, было впервые продемонстрировано в наших экспериментах для входов в зрительную и слуховую области коры из наружного и внутреннего коленчатого тел соответственно (Вебер и др. 1988; Силькис 1995). Характер влияния каждого из нейромодуляторов на эффективность синаптической передачи зависит от типа активируемых им постсинаптических рецепторов (Силькис 2002). Согласно правилам модуляции для пирамидных нейронов гиппокампа и коры, воздействие дофамина на рецепторы D1 должно способствовать индукции длительной потенциации эффективности возбуждающих входов к этим нейронам (Силькис 2002). Поэтому выделение дофамина в сенсорной и префронтальной областях коры за счет активации рецепторов D1 может способствовать усилению таламо-кортикального и кортико-кортикального возбуждения, что приведет к увеличению активности нейронов коры. Из механизма функционирования нейронных цепей К—БГ—Т—К следует, что это увеличение должно способствовать улучшению условий для включения произвольного внимания в обработку сенсорной информации. В пользу такой возможности могут свидетельствовать данные об усилении внимания к мишени при введении в ПФК агониста рецепторов D1 (Chudasama, Robbins 2004).

Необходимо учитывать не только процессы, протекающие в цепях К—БГ—Т—К, включающих сенсорные области коры и ПФК, но и процессы, протекающие в цепях К—БГ—Т—К, включающих теменную и цингулярную области, которые играют существенную роль в процессах внимания. Кроме того, в нейронную сеть должны быть включены связанные с гиппокампом, ПФК и РсК таламические ядра РЕ, МД и ЛД, которые проецируются в вентральный стриатум — прилежащее ядро — и являются звеньями лимбических цепей К—БГ—Т—К, а также цепи гиппокамп—БГ—Т—гиппокамп (рис.). Аксонные окончания гиппокампальных нейронов конвергируют на шипи-

ковых клетках прилежащего ядра с аксонными окончаниями нейронов ПФК (Finch 1996) (рис.). Эффективность входа из ПФК в прилежащее ядро мала, и сигналы из ПФК могут приводить к разрядам шипиковых клеток только в присутствии сигналов из гиппокампа (O'Donnel, Grace 1995). Благодаря этому гиппокамп через БГ способствует циркуляции активности в лимбических цепях К—БГ—Т—К и обеспечивает влияние ПФК на активность клеток-мишеней БГ, включая таламус, СТЯ и ППЯ (Силькис 2014). Участвуя в функционировании лимбических цепей, гиппокамп может вносить существенный вклад в процессы произвольного внимания, управляемого памятью.

При проведении анализа возможных механизмов взаимозависимого функционирования нейронов в коннектоме было отмечено, что кора и гиппокамп могут влиять на функционирование мозжечка через таламус и ядра моста (ЯМ), а также через БГ (Силькис 2021a; 2021b; 2021c; 2022). В свою очередь, мозжечок может влиять на процессы внимания, так как воздействует на активность разных полей неокортекса и БГ через таламические ядра. На функционирование гиппокампа мозжечок может влиять через таламическое ядро РЕ, а также через РсК и ПФК (рис.). Кроме того, нейроны глубоких ядер мозжечка возбуждают медиальную перегородку и супрамамиллярное ядро, которые проецируются в гиппокамп и могут облегчать формирование нейронных отображений ассоциаций «объект — место» в разных полях гиппокампа (Силькис 2021c). Эти отображения сохраняются в памяти и, по-видимому, извлекаются оттуда при необходимости обратить произвольное внимание на этот объект (или его свойства), расположенный в определенном локусе пространства. Поскольку гиппокамп и ПФК получают возбуждение от таламических ядер РЕ и МД, активируемых сенсорными стимулами через ВД, а мозжечок получает возбуждение от ВД через ЯМ (рис.), при поступлении сенсорного стимула нейроны гиппокампа и ПФК получают дополнительное возбуждение. Разряды имеющихся в гиппокампе «клеток новизны» и «клеток места», способствуя выделению дофамина, могут облегчить привлечение произвольного и непроизвольного внимания к новым стимулам и к стимулам, расположенным в определенных локусах пространства.

Показано, что в тех случаях, когда внимание управлялось памятью, в ПФК и гиппокампе активность увеличивалась и усиливалась ее связь с активностью в зрительных областях коры (Günseli, Aly 2020). С учетом предлагаемо-

го механизма произвольного внимания активность в зрительных областях коры могла увеличиваться вследствие возрастания нисходящего возбуждения со стороны ПФК. В результате наблюдалось и усиление связей между префронтальной и зрительной областями коры. Следует различать процессы внимания, направленного к стимулу, вызванному из памяти, и внимания к стимулу, который подкрепляется при обучении. В первом случае должна увеличиться активность в гиппокампе и коре. Во втором случае при подкреплении должно увеличиться выделение дофамина в стриатуме, что приведет к реорганизации активности в БГ и связанных с ними структурах. С помощью функциональной магнитно-резонансной томографии показано, что контекстная память и обучение с подкреплением способствуют направленности внимания при визуальном поиске. При этом оказалось, что по мере предъявления проб активность в гиппокампе, а не в стриатуме позволяет предсказать улучшение внимания с помощью контекстной памяти, тогда как активность в стриатуме, а не в гиппокампе позволяет предсказать улучшение внимания вследствие подкрепления ассоциации «стимул — реакция» (Goldfarb et al. 2016). Эти данные указывают на различный вклад стриатума и гиппокампа в функционирование коннектома при выполнении задач, требующих разных видов внимания.

Необходимо учитывать и то обстоятельство, что дофамин-зависимые перестройки в БГ вносят определенный вклад в оculoмоторную активность. Согласно предложенному нами механизму обработки зрительной информации (Силькис 2006), выделение дофамина и растормаживание через БГ нейронов ВД, проецирующихся в глазодвигательные структуры, может способствовать фокусированию глаз на стимул, к которому привлечено внимание, что дополнительно усилит реакции нейронов таламуса и коры.

Значительный вклад в процесс внимания может вносить ретикулярное ядро таламуса (Pazo et al. 2013). Это ядро (на рисунке не представлено с целью упрощения) получает тормозную иннервацию из выходных ядер БГ. Поскольку ГАМКергические нейроны ретикулярного ядра таламуса иннервируют другие таламические ядра, проецирующиеся в кору, при определенных условиях может происходить растормаживание этих ядер, что приведет к усилению таламокортикального возбуждения. Хотя ПФК не имеет прямых проекций в ретикулярное ядро, она может влиять на него через БГ. Полагают, что

эта цепь позволяет улучшить обработку сигналов той модальности, на которую направлено произвольное внимание, и подавить обработку сигналов той модальности, которую нужно игнорировать (Nakajima et al. 2019).

Нами было выдвинуто предположение, что в силу сходства функциональной организации разных коннектомов механизмы обработки стимулов определенной модальности в каждом из них должны быть однотипными (Силькис 2022). Можно предположить, что и включение произвольного внимания в обработку стимулов определенной сенсорной модальности, и их осознание также базируются на сходных механизмах для всех коннектомов.

Особенности функционирования коннектома в отсутствие внимания, приводящего к отсутствию осознанного восприятия

Характер функционирования коннектома в присутствии произвольного внимания и в его отсутствие должен различаться, поскольку, как отмечено ранее, при произвольном внимании активность ПФК и гиппокампа относительно выше, а концентрация дофамина в стриатуме относительно ниже. В отсутствие произвольного внимания высшие фронтальные области коры слабее активируют нижележащие области коры, а восходящее кортико-кортикальное возбуждение не может эффективно переносить специфическую информацию из сенсорных областей коры в высшие вследствие ослабления сигналов по мере их продвижения и увеличения дивергентности. Обычно достаточно сильное входоспецифичное возбуждение может передаваться из низших сенсорных областей коры в более высокие через таламические ядра высокого порядка по трансталамическим путям (Sherman 2017). Однако в отсутствие внимания такому распространению должно препятствовать торможение таламуса со стороны выходных ядер БГ. Усиление этого торможения связано как со слабым возбуждением шипиковых клеток прилежащего ядра нейронами ПФК, РсК и гиппокампа, так и с низкой концентрацией дофамина в стриатуме. В отсутствие внимания дофаминергические клетки разряжаются реже вследствие их слабого возбуждения со стороны ПФК, СТЯ и ППЯ.

В отсутствие произвольного внимания нейроны СТЯ и ППЯ менее активны из-за торможения со стороны выходных ядер БГ. Кроме того, нейроны СТЯ получают более слабое возбуждение со стороны коры, а нейроны ППЯ

получают более слабое возбуждение со стороны СТЯ. В результате слабого возбуждения ЯМ со стороны коры нейроны глубоких ядер мозжечка также менее активны и потому слабее возбуждают нейроны СТЯ и ППЯ. Кроме того, нейроны глубоких ядер мозжечка слабее возбуждают таламус, включая ядро РЕ, а также медиальную перегородку и супрамамиллярное ядро. Это должно привести к снижению активности гиппокампа. Таким образом, в отсутствие произвольного внимания происходит как усиление ингибирования таламуса, так и ослабление возбуждающих взаимодействий между разными частями коннектома. В результате ухудшаются условия для циркуляции возбуждения в коннектомах и затрудняется возвращение возбуждения в кору.

Понимание возможного характера изменений функционирования коннектома в отсутствие произвольного внимания представляется важным в связи с распространенной точкой зрения, что возвращение сигнала в кору по таламо-кортикальным цепям является необходимым условием сознательного восприятия (Edelman et al. 2011). Полагают, что осознание информации человеком базируется на каскаде возвратных циклов, в каждом из которых воспринимается и оценивается текущая ситуация (Madl et al. 2011). Предполагается, что в результате циклической активности в каждой области коры формируется выходной паттерн нейронной активности, тождественный специфическому паттерну входного возбуждения (Сергин 2020). Автор указанной работы выдвинул гипотезу, что этот процесс, названный аутоотождествлением, лежит в основе сенсорного осознания и порождения мысли. Отмечено, что хотя в силу анатомии таламо-кортикальных связей когнитивный цикл является возвратным по природе, однако он реализуется при участии не только фронтальных областей коры, но также стриатума и мозжечка (Madl et al. 2011). В работе (Сергин 2020) указано на то, что в процессе аутоотождествления может участвовать нейронная цепь К—БГ—Т—К. Из функциональной организации коннектомов, включающих цепи К—БГ—Т—К, цепь гиппокамп—БГ—Т—гиппокамп, а также влияющие на их функционирование мозжечок и некоторые подкорковые ядра, непосредственно следует, что различные подкорковые структуры должны существенно влиять на время возвращения сигналов в кору и гиппокамп через таламус (рис.).

Временные параметры осознанного восприятия

Имеются различные экспериментальные данные о времени, необходимом для осознания стимула. Только при осознанном восприятии стимулов наблюдали негативные потенциалы с ЛП 170 мс и 260–300 мс, тогда как при слепоте невнимания эти компоненты ответов отсутствовали (Shafto, Pitts 2015). С осознанием сильно связан компонент ответа Р300 во фронтально-центрально-теменных областях коры, а также ответы с ЛП более 600 мс (Rutiku et al. 2015). Судя по результатам работы (Koivisto et al. 2017), связанный со стимулом потенциал с ЛП 200–300 мс чувствителен к осознанию только факта наличия стимула, тогда как его осознанная идентификация коррелирует с более поздней активностью. При оптимальных условиях осознанное распознавание эпизода происходит через 200–280 мс после предъявления стимула (Madl et al. 2011). Из обзора результатов современных исследований следует, что нейронным коррелятом зрительного осознания можно считать ответы нейронов коры с ЛП свыше 300 мс (Hutchinson 2019). По-видимому, такое время необходимо не только для возвращения сигнала в кору, но и для сопоставления нейронного отображения стимула в коре с извлеченным из памяти отображением аналогичного стимула.

Регистрация активности в прилежащем ядре при выполнении задачи на слепоту невнимания показала, что ответы на первый стимул с ЛП 80–140 мс позволяют определить, будет ли осознан второй стимул (Slagter et al. 2017). На осознанное восприятие второго стимула указывало наличие в прилежащем ядре активности с ЛП 200–400 мс (Slagter et al. 2017). Эти данные свидетельствуют в пользу участия лимбической части БГ в осознанном восприятии и указывают на необходимость окончания обработки первого стимула для осознания второго.

Следствия предлагаемого механизма включения произвольного внимания в обработку сенсорной информации и их сопоставление с результатами экспериментальных исследований слепоты невнимания

Если возвращение сигналов в кору является необходимым условием осознанного восприятия стимула, естественно предположить, что не будут осознаваться те стимулы, обработка информации о которых происходит в течение

времени, которое меньше, чем цикл циркуляции активности в коннектоме. Из предлагаемого механизма функционирования коннектома следует, что время возвращения активности в кору должно зависеть от эффективности возбуждения таламуса со стороны коры, мозжечка, ППЯ и СТЯ, а также от степени его ингибирования со стороны выходных ядер БГ. Время циркуляции возбуждения должно возрасти при увеличении тормозного воздействия на таламус и уменьшении его возбуждения. Тормозное действие на таламус со стороны БГ должно усилиться при снижении концентрации дофамина в стриатуме. При этом усилится также ингибирование СТЯ, ППЯ со стороны БГ и снизится возбуждение мозжечка со стороны СТЯ и ППЯ. В результате увеличится интервал между двумя стимулами, при котором проявляется слепота невнимания. К такому же эффекту должно привести повреждение СТЯ, ППЯ или мозжечка.

На зависимость параметров слепоты невнимания от дофамина указывают данные о том, что частота спонтанных морганий, которая коррелирует с концентрацией дофамина, позволяет предсказать выраженность слепоты невнимания (Colzato et al. 2008). Показано, что у пациентов с болезнью Паркинсона, которая характеризуется дефицитом дофамина в стриатуме, нарушаются те виды обучения, которые требуют внимания (Marinelli et al. 2017). У пациентов с болезнью Паркинсона ухудшается распознавание второй цели по сравнению со здоровыми испытуемыми, т. е. слепота невнимания усиливается (Slagter 2016). У пациентов, у которых в отсутствие лечения была сильно выражена слепота невнимания, использование L-DOPA значительно снижало ее проявления (Slagter et al. 2016). Обучение пациентов с болезнью Паркинсона улучшало и стимуляция СТЯ (Marinelli et al. 2017). Базовые процессы внимания у пациентов с болезнью Паркинсона улучшала и низкочастотная стимуляция ППЯ (Fischer et al. 2015), тогда как повреждение ППЯ приводило к глобальному дефициту внимания (Inglis et al. 2001; Kozak et al. 2005). У пациентов с поражением мозжечка наблюдали более длительный период и более сильную выраженность слепоты невнимания по сравнению со здоровыми испытуемыми (Jiang et al. 2013; Schweizer et al. 2007).

Таким образом, следствия предлагаемого механизма функционирования коннектома в отсутствие произвольного внимания согласуются с известными из литературы результатами экспериментальных исследований слепоты невнимания.

Исследование слепоты невнимания как один из подходов к изучению механизмов сознания

Как отмечено во введении, исследование особенностей слепоты невнимания является одним из подходов к изучению нейробиологических механизмов сознания в условиях, когда оно варьирует. Существующие экспериментальные данные подтвердили фундаментальный вклад внимания в осознанное восприятие (Asplund et al. 2014). При исследовании слепоты невнимания было показано, что осознание возникает на центральных этапах обработки информации по принципу «всё или ничего». Временная задержка между двумя стимулами влияла на вероятность сознательного восприятия испытуемыми второго стимула, но не влияла на точность его представления (Asplund et al. 2014). Результаты указанной работы свидетельствуют о влиянии внимания на вероятность того, что воспринимаемый стимул достигнет сознания. В ряде случаев мог быть распознан весь объект, но не некоторые его свойства. Полагают, что отсутствие эффективного распознавания какого-либо свойства стимула (например, размера или ориентации) связано со слепотой невнимания к этому свойству (Raidvee et al. 2021). Примечательно, что человек не может полностью оценить воспринятый контент без того, чтобы внимание не было явно обращено на каждую модальность (Connell, Lynott 2016).

Некоторые особенности слепоты невнимания могут быть объяснены с помощью предлагаемого механизма включения произвольного внимания в обработку сенсорной информации. Реакция осознания по принципу «всё или ничего», по-видимому, определяется тем, что произвольное внимание связано с ПФК и гиппокампом, где формируются обобщенное представление о стимуле и его пространственное расположение. Однако если требуется осознать, обладает ли стимул определенным свойством, необходимо, чтобы в обработку включилось произвольное внимание, направленное на восприятие именно этого свойства. Для выполнения данного условия ПФК должна дополнительно нисходящим образом активировать ту область сенсорной коры, в которой происходит обработка этого свойства стимула. При этом должна произойти существенная реорганизация активности в той цепи коннектома, которая включает эту область коры и связанные с ней подкорковые структуры.

Следует отметить, что в задаче настоящей работы не входил анализ участия разных областей ПФК в процессах внимания и осознания. Полагают, что дорзолатеральная ПФК сильнее взаимосвязана с областями мозга, участвующими в процессах внимания и когнитивной деятельности, тогда как вентральная ПФК связана с регионами мозга, отвечающими за эмоции. В дальнейшей работе предполагается провести такой анализ с учетом того, что каждая часть медиальной ПФК (агранулярная, передняя цингулярная, прелимбическая, информаимбическая) имеет уникальные афферентные проекции (Hoover, Vertes 2007). Будут также учтены особенности связей различных областей ПФК с разными таламическими ядрами, миндалиной, участками дорзального и вентрального стриатума, а также поля СА1 гиппокампа и субiculum (Kim, Spruston 2012; Saalman 2014; Wang, Barbas 2018; Wang, Pickel 2002). Участие миндалины представляет значительный интерес в связи с увеличением эффективности обработки эмоционально значимых стимулов за счет усиления функционирования систем внимания, опосредованных различными нейронными механизмами в миндалине и взаимосвязанных областях префронтальной коры (Pourtois et al. 2013).

Заключение

Несмотря на наличие связи между вниманием и сознанием, теоретический анализ их механизмов ранее развивался по отдельности для каждого эффекта. В работе (Raffone et al. 2014) предпринята попытка связать теорию сознания, базирующуюся на глобальном рабочем пространстве, с синтезом теорий зрительного внимания. Была разработана объединенная теория внимания и сознания, базирующаяся на едином нейрокогнитивном подходе к явлениям, связанным со зрительным поиском, слепотой невнимания и консолидацией рабочей памяти (Raffone et al. 2014). Эта теория предполагает наличие многих стадий обработки информации от ранних отображений зрительного стимула к отображениям более высокого порядка в глобальном рабочем пространстве, а также вклад внимания в доступ к сознанию. Однако в этой теории зрительное рабочее пространство ограничено только кортико-кортикальными взаимодействиями и взаимодействиями коры с подушкой таламуса, тогда как участие других подкорковых структур не учитывали.

Из предлагаемого нами механизма включения произвольного внимания в обработку инфор-

мации следует, что обработка, внимание и осознание базируются на процессах в одних и тех же нейронных сетях — коннектомах. Включенные в коннектомы подкорковые структуры вносят существенный вклад в формирование и осознание нейронных отображений сенсорных стимулов в новой коре и связанном с ней гиппокампе, которые являются частями глобального рабочего пространства. Известно, что новая кора и гиппокамп имеют иерархическую организацию. Поэтому по мере продвижения сигналов из низших сенсорных областей коры в высшие в каждой области формируются нейронные отображения стимулов более высокого порядка (Силькис 2006; 2007; 2015). По мере продвижения стимулов по трисинаптическому пути через гиппокамп в его полях формируются усложняющиеся нейронные отображения ассоциаций «объект — место» более высокого порядка (Силькис 2011). По-видимому, совокупность нейронов поля СА1 гиппокампа и пирамидных нейронов высших областей коры, на которых базируются отображения высшего порядка, является источником нисходящего возбуждения, определяющего выбор коннектома, в котором реализуется включение произвольного внимания в обработку и осознание сенсорного стимула данной модальности (либо свойства этого стимула). В настоящей работе выдвинуто предположение, что в силу сходства функциональной организации различных коннектомов сходные механизмы лежат в основе включения внимания в обработку и осознание информации определенной модальности. Одновременная обработка и осознание разномодальной сенсорной информации, а также выбор необходимой реакции происходят, по-видимому, во всеобъемлющем коннектоме, состоящем из совокупности сходным образом функционирующих коннектомов (Силькис 2022) (рис.). Не исключено, что всеобъемлющий коннектом может выполнять функции когнитивного, который, согласно выдвинутой в работе (Анохин 2021) гипотезе, представляет собой глобальную нейронную сеть, обеспечивающую познавательные способности мозга. Предполагается, что эта сеть состоит из нейронных групп со специфическими когнитивными свойствами (Анохин 2021). В нашей модели специфика отдельных нейронных групп — коннектомов определяется их функциональной организацией, которая несколько различается для структур, участвующих в обработке разномодальных сенсорных стимулов (тактильных, зрительных, слуховых, обонятельных).

В настоящее время широко обсуждается вопрос о том, происходит ли зрительное осознание на ранних или на поздних стадиях обработки информации в неокортексе (см. обзор: Hutchinsson 2019). Сопоставление известных экспериментальных данных с результатами анализа особенностей включения произвольного и непроизвольного внимания в обработку информации в коннектомах, смогут, по-видимому, способствовать пониманию того, какие уровни обработки могут достигнуть сознания.

Список сокращений

БГ — базальные ганглии; ВД — верхнее двухолмие; ВКТ — внутреннее коленчатое тело; ВЛ — вентролатеральное таламическое ядро; ВПП — вентральное поле покрышки; ГЯМ — глубокие ядра мозжечка; ДА — дофамин; К—БГ—Т—К — нейронная цепь «кора — базальные ганглии — таламус — кора»; ЛД — латеродорзальное ядро таламуса; МД — медиодорзальное ядро таламуса; МП — медиальная перегородка; НД — нижнее двухолмие; НКТ — наружное коленчатое тело; ППЯ — педункулопонтинное ядро; ПФК — префронтальная кора; РЕ — таламическое ядро реуниенс; РСК — ретроспленальная кора; СМЯ — супрамамиллярное ядро; СТЯ — субталамическое ядро; ЧВк — компакт-

ная часть черного вещества; ЭК — энторинальная кора; ЯМ — ядра моста.

List of abbreviations

BG—basal ganglia; C-BG-T-C—cortico-basal ganglia-thalamocortical neuronal loop; DA—dopamine; EC—entorhinal cortex; IC—inferior colliculus; LD—laterodorsal thalamic nucleus; LGB—lateral geniculate body; MD—mediodorsal thalamic nucleus; MGB—medial geniculate body; MS—medial septum; Pfc—prefrontal cortical area; PN—pontine nuclei; PPN—pedunculopontine nucleus; RE—thalamic reuniens nucleus; RsC—retrosplenial cortical area; SC—superior colliculus; SMN—supramammillary nucleus; SNc—substantia nigra pars compacta; STN—subthalamic nucleus; VL—ventrolateral thalamic nucleus; VTA—ventral tegmental area.

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

- Анохин, К. В. (2021) Когнитом: в поисках фундаментальной нейронаучной теории сознания. *Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова*, т. 71, № 1, с. 39–71. <https://doi.org/10.31857/S0044467721010032>
- Вебер, Н. В., Рапопорт, С. Ш., Силькис, И. Г. и др. (1988) Длительные посттетанические изменения импульсных реакций нейронов зрительной коры кошек. *Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова*, т. 38, № 5, с. 963–965. PMID: [3223081](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3223081/)
- Сергин, В. Я. (2020) Автоотождествление и сенсорно-моторное повторение как физиологические механизмы сознания. *Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова*, т. 70, № 5, с. 696–720. <https://doi.org/10.31857/S004446772005010X>
- Силькис, И. Г. (1995) Длительные изменения эффективности возбуждательной синаптической передачи в таламо-кортикальных сетях, вызванные микростимуляцией неокортекса. *Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова*, т. 45, № 2, с. 321–334. PMID: [7597829](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7597829/)
- Силькис, И. Г. (2002) Унифицированный постсинаптический механизм влияния различных нейромодуляторов на модификацию возбуждательных и тормозных входов к нейронам гиппокампа (Гипотеза). *Успехи физиологических наук*, т. 33, № 1, с. 40–57. PMID: [11881334](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11881334/)
- Силькис, И. Г. (2006) Вклад синаптической пластичности в базальных ганглиях в обработку зрительной информации (гипотетический механизм). *Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова*, т. 56, № 6, с. 742–756.
- Силькис, И. Г. (2007) Роль дофамин-зависимых перестроек активности в цепях кора — базальные ганглии — таламус — кора в зрительном внимании (гипотетический механизм). *Успехи физиологических наук*, т. 38, № 4, с. 21–38. PMID: [18064906](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18064906/)
- Силькис, И. Г. (2011) Преимущества иерархического обобщения и хранения отображений ассоциаций «объект — место» в полях гиппокампа (гипотеза). *Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова*, т. 61, № 1, с. 5–23.
- Силькис, И. Г. (2014) Механизмы взаимозависимого влияния префронтальной коры, гиппокампа и миндалина на функционирование базальных ганглиев и выбор поведения. *Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова*, т. 64, № 1, с. 82–100. <https://doi.org/10.7868/S0044467714010110>

- Силькис, И. Г. (2015) О роли базальных ганглиев в обработке сложных звуковых стимулов и слуховом внимании. *Успехи физиологических наук*, т. 46, № 3, с. 76–92.
- Силькис, И. Г. (2021a) Влияние дофамина на взаимозависимое функционирование мозжечка, базальных ганглиев и новой коры (гипотетический механизм). *Успехи физиологических наук*, т. 52, № 1, с. 49–63. <https://doi.org/10.31857/S0301179821010094>
- Силькис, И. Г. (2021b) Возможные механизмы взаимозависимого участия базальных ганглиев и мозжечка в функционировании двигательных и сенсорных систем. *Интегративная физиология*, т. 2, № 2, с. 135–146. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-2-135-146>
- Силькис, И. Г. (2021c) Участие ядер гипоталамуса в формировании ассоциаций «объект — место» на нейронах поля СА2 гиппокампа (гипотетический механизм). *Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова*, т. 71, № 2, с. 147–163. <https://doi.org/10.31857/S0044467721020106>
- Силькис, И. Г. (2022) Механизмы функционирования коннектома, включающего неокортекс, гиппокамп, базальные ганглии, мозжечок и таламус. *Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова*, т. 72, № 1, с. 36–54. <https://doi.org/10.31857/S0044467722010105>
- Asplund, C. L., Fougny, D., Zughni, S. et al. (2014) The attentional blink reveals the probabilistic nature of discrete conscious perception. *Psychological Science*, vol. 25, no. 3, pp. 824–831. <https://doi.org/10.1177/0956797613513810>
- Baars, B. J. (2005) Global workspace theory of consciousness: toward a cognitive neuroscience of human experience. *Progress in Brain Research*, vol. 150, pp. 45–53. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(05\)50004-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(05)50004-9)
- Birrell, J. M., Brown, V. J. (2000) Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. *Journal of Neuroscience*, vol. 20, no. 11, pp. 4320–4324. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-11-04320.2000>
- Bočková, M., Chládek, J., Jurák, P. et al. (2011) Involvement of the subthalamic nucleus and globus pallidus internus in attention. *Journal of Neural Transmission*, vol. 118, no. 8, pp. 1235–1245. <https://doi.org/10.1007/s00702-010-0575-4>
- Cassel, J. C., Ferraris, M., Quilichini, P. et al. (2021) The reuniens and rhomboid nuclei of the thalamus: A crossroads for cognition-relevant information processing? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 126, pp. 338–360. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.03.023>
- Chang, D. I., Lissek, S., Ernst, T. M. et al. (2015) Cerebellar contribution to context processing in extinction learning and recall. *Cerebellum*, vol. 14, no. 6, pp. 670–676. <https://doi.org/10.1007/s12311-015-0670-z>
- Chudasama, Y., Robbins, T. W. (2004) Dopaminergic modulation of visual attention and working memory in the rodent prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*, vol. 29, no. 9, pp. 1628–1636. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300490>
- Ciaramelli, E., Grady, C. L., Moscovitch, M. (2008) Top-down and bottom-up attention to memory: a hypothesis (AtoM) on the role of the posterior parietal cortex in memory retrieval. *Neuropsychologia*, vol. 46, no. 7, pp. 1828–1851. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2008.03.022>
- Colzato, L. S., Slagter, H. A., Spapé, M. M. et al. (2008) Blinks of the eye predict blinks of the mind. *Neuropsychologia*, vol. 46, no. 13, pp. 3179–3183. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2008.07.006>
- Connell, L., Lynott, D. (2016) Do we know what we're simulating? Information loss on transferring unconscious perceptual simulation to conscious imagery. *The Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory and Cognition*, vol. 42, no. 8, pp. 1218–1232. <https://doi.org/10.1037/xlm0000245>
- Edelman, G. M., Gally, J. A., Baars, B. J. (2011) Biology of consciousness. *Frontiers in Psychology*, vol. 25, no. 2, article 4. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2011.00004>
- Ekstrom, A. D., Yonelinas, A. P. (2020) Precision, binding, and the hippocampus: Precisely what are we talking about? *Neuropsychologia*, vol. 138, article 107341. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2020.107341>
- Finch, D. M. (1996) Neurophysiology of converging synaptic inputs from the rat prefrontal cortex, amygdala, midline thalamus, and hippocampal formation onto single neurons of the caudate/putamen and nucleus accumbens. *Hippocampus*, vol. 6, no. 5, pp. 495–512. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1996\)6:5<495::AID-HIPO3>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1996)6:5<495::AID-HIPO3>3.0.CO;2-I)
- Fischer, J., Schwiecker, K., Bittner, V. et al. (2015) Modulation of attentional processing by deep brain stimulation of the pedunculopontine nucleus region in patients with parkinsonian disorders. *Neuropsychology*, vol. 29, no. 4, pp. 632–637. <https://doi.org/10.1037/neu0000179>
- Goldfarb, E. V., Chun, M. M., Phelps, E. A. (2016) Memory-guided attention: Independent contributions of the hippocampus and striatum. *Neuron*, vol. 89, no. 2, pp. 317–324. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.12.014>
- Günsele, E., Aly, M. (2020) Preparation for upcoming attentional states in the hippocampus and medial prefrontal cortex. *Elife*, vol. 9, article e53191. <https://doi.org/10.7554/eLife.53191>
- Gut, N. K., Winn, P. (2016) The pedunculopontine tegmental nucleus—A functional hypothesis from the comparative literature. *Movement Disorders*, vol. 31, no. 5, pp. 615–624. <https://doi.org/10.1002/mds.26556>
- Halassa, M. M., Kastner, S. (2017) Thalamic functions in distributed cognitive control. *Nature Neuroscience*, vol. 20, no. 12, pp. 1669–1679. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0020-1>
- Hutchinson, B. T. (2019) Toward a theory of consciousness: A review of the neural correlates of inattentional blindness. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 104, pp. 87–99. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.06.003>
- Hirsch, J. A., Chan, J. C., Yin, T. C. (1985) Responses of neurons in the cat's superior colliculus to acoustic stimuli. I. Monaural and binaural response properties. *Journal of Neurophysiology*, vol. 53, no. 3, pp. 726–745. <https://doi.org/10.1152/jn.1985.53.3.726>

- Hoover, W. B., Vertes, R. P. (2007) Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Structure and Function*, vol. 212, no. 2, pp. 149–179. <https://doi.org/10.1007/s00429-007-0150-4>
- Hsu, S. M., George, N., Wyart, V. et al. (2011) Voluntary and involuntary spatial attentions interact differently with awareness. *Neuropsychologia*, vol. 49, no. 9, pp. 2465–2474. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2011.04.024>
- Huettel, S. A., Güzeldere, G., McCarthy, G. (2001) Dissociating the neural mechanisms of visual attention in change detection using functional MRI. *Journal of Cognitive Neuroscience*, vol. 13, no. 7, pp. 1006–1018. <https://doi.org/10.1162/089892901753165908>
- Inglis, W. L., Olmstead, M. C., Robbins, T. W. (2001) Selective deficits in attentional performance on the 5-choice serial reaction time task following pedunclopontine tegmental nucleus lesions. *Behavioral Brain Research*, vol. 123, no. 2, pp. 117–131. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(01\)00181-4](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(01)00181-4)
- Jiang, Y., Tian, Y., Wang, K. (2013) The change of attentional blink and repetition blindness after cerebellar lesions. *Journal of Clinical Neuroscience*, vol. 20, no. 12, pp. 1742–1746. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2013.01.022>
- Kanai, R., Tsuchiya, N., Verstraten, F. A. (2006) The scope and limits of top-down attention in unconscious visual processing. *Current Biology*, vol. 16, no. 23, pp. 2332–2336. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.10.001>
- Kim, Y., Spruston, N. (2012) Target-specific output patterns are predicted by the distribution of regular-spiking and bursting pyramidal neurons in the subiculum. *Hippocampus*, vol. 22, no. 4, pp. 693–706. <https://doi.org/10.1002/hipo.20931>
- Koivisto, M., Grassini, S., Salminen-Vaparanta, N., Revonsuo A. (2017) Different electrophysiological correlates of visual awareness for detection and identification. *Journal of Cognitive Neuroscience*, vol. 29, no. 9, pp. 1621–1631. https://doi.org/10.1162/jocn_a_01149
- Kozak, R., Bowmar, E. M., Latimer, M. P. et al. (2005) Excitotoxic lesions of the pedunclopontine tegmental nucleus in rats impair performance on a test of sustained attention. *Experimental Brain Research*, vol. 162, no. 2, pp. 257–264. <https://doi.org/10.1007/s00221-004-2143-3>
- Kranczoch, C., Debener, S., Schwarzbach, J. et al. (2005) Neural correlates of conscious perception in the attentional blink. *NeuroImage*, vol. 24, no. 3, pp. 704–714. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.09.024>
- Leszczyński, M., Staudigl, T. (2016) Memory-guided attention in the anterior thalamus. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 66, pp. 163–165. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.04.015>
- Linley, S. B., Gallo, M. M., Vertes, R. P. (2016) Lesions of the ventral midline thalamus produce deficits in reversal learning and attention on an odor texture set shifting task. *Brain Research*, vol. 1649, pt. A, pp. 110–122. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.08.022>
- Madl, T., Baars, B. J., Franklin, S. (2011) The timing of the cognitive cycle. *PLoS One*, vol. 6, no. 4, article e14803. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014803>
- Marinelli, L., Quartarone, A., Hallett, M. et al. (2017) The many facets of motor learning and their relevance for Parkinson's disease. *Clinical Neurophysiology*, vol. 128, no. 7, pp. 1127–1141. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.03.042>
- McKenna, J. T., Vertes, R. P. (2004) Afferent projections to nucleus reuniens of the thalamus. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 480, no. 2, pp. 115–142. <https://doi.org/10.1002/cne.20342>
- Mori, F., Okada, K. I., Nomura, T. et al. (2016) The pedunclopontine tegmental nucleus as a motor and cognitive interface between the cerebellum and basal ganglia. *Frontiers in Neuroanatomy*, vol. 10, article 109. <https://doi.org/10.3389/fnana.2016.00109>
- Naghavi, H. R., Nyberg, L. (2005) Common fronto-parietal activity in attention, memory, and consciousness: Shared demands on integration? *Consciousness and Cognition*, vol. 14, no. 2, pp. 390–425. <https://doi.org/10.1016/j.concog.2004.10.003>
- Nakajima, M., Schmitt, L. I., Halassa, M. M. (2019) Prefrontal cortex regulates sensory filtering through a basal ganglia-to-thalamus pathway. *Neuron*, vol. 103, no. 3, pp. 445–458. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.05.026>
- Nishioka, T., Hamaguchi, K., Yawata, S. et al. (2020) Chemogenetic suppression of the subthalamic nucleus induces attentional deficits and impulsive action in a five-choice serial reaction time task in mice. *Frontiers in System Neuroscience*, vol. 14, article 38. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.05.026>
- O'Donnell, P., Grace, A. A. (1995) Synaptic interactions among excitatory afferents to nucleus accumbens neurons: Hippocampal gating of prefrontal cortical input. *Journal of Neuroscience*, vol. 15, no. 5, pp. 3622–3639. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-05-03622.1995>
- Parent, A.; Hazrati, L. N. (1995) Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Research Review*, vol. 20, no. 1, pp. 91–127. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(94\)00007-c](https://doi.org/10.1016/0165-0173(94)00007-c)
- Pazo, J. H., Barceló, A. C., Bellantonio, E. et al. (2013) Electrophysiologic study of globus pallidus projections to the thalamic reticular nucleus. *Brain Research Bulletin*, vol. 94, pp. 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2013.02.009>
- Pourtois, G., Schettino, A., Vuilleumier, P. (2013) Brain mechanisms for emotional influences on perception and attention: What is magic and what is not. *Biological Psychology*, vol. 92, no. 3, pp. 492–512. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2012.02.007>

- Pugnaghi, G., Memmert, D., Kreitz, C. (2020) Loads of unconscious processing: The role of perceptual load in processing unattended stimuli during inattention blindness. *Attention, Perception, & Psychophysics*, vol. 82, no. 5, pp. 2641–2651. <https://doi.org/10.3758/s13414-020-01982-8>
- Raffone, A., Srinivasan, N., van Leeuwen, C. (2014) The interplay of attention and consciousness in visual search, attentional blink and working memory consolidation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Science*, vol. 369, no. 1641, article 20130215. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0215>
- Raidvee, A., Toom, M., Allik, J. (2021) A method for detection of inattention feature blindness. *Attention, Perception, & Psychophysics*, vol. 83, no. 3, pp. 1282–1289. <https://doi.org/10.3758/s13414-020-02234-5>
- Redinbaugh, M. J., Phillips, J. M., Kambi, N. A. et al. (2020) Thalamus modulates consciousness via layer-specific control of cortex. *Neuron*, vol. 106, no. 1, pp. 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.01.005>
- Rutiku, R., Martin, M., Bachmann, T. et al. (2015) Does the p300 reflect conscious perception or its consequences? *Neuroscience*, vol. 298, pp. 180–189. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.04.029>
- Saalman, Y. B. (2014) Intralaminar and medial thalamic influence on cortical synchrony, information transmission and cognition. *Frontiers in System Neuroscience*, vol. 8, article 83. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00083>
- Schliebs, R., Arendt, T. (2011) The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behavioral Brain Research*, vol. 221, no. 2, pp. 555–563. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.11.058>
- Schmalbach, B., Günther, V., Raethjen, J. et al. (2014) The subthalamic nucleus influences visuospatial attention in humans. *Journal of Cognitive Neuroscience*, vol. 26, no. 3, pp. 543–550. https://doi.org/10.1162/jocn_a_00502
- Schweizer, T. A., Alexander, M. P., Cusimano, M. et al. (2007) Fast and efficient visuotemporal attention requires the cerebellum. *Neuropsychologia*, vol. 45, no. 13, pp. 3068–3074. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2007.05.018>
- Shafto, J. P., Pitts, M. A. (2015) Neural signatures of conscious face perception in an inattention blindness paradigm. *Journal of Neuroscience*, vol. 35, no. 31, pp. 10940–10948. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0145-15.2015>
- Sherman, S. M. (2017) Functioning of Circuits Connecting Thalamus and Cortex. *Comprehensive Physiology*, vol. 7, no. 2, pp. 713–739. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160032>
- Silkis, I. (2001) The cortico-basal ganglia-thalamocortical circuit with synaptic plasticity. II. Mechanism of synergistic modulation of thalamic activity via the direct and indirect pathways through the basal ganglia. *Biosystems*, vol. 59, no. 1, pp. 7–14. [https://doi.org/10.1016/s0303-2647\(00\)00135-0](https://doi.org/10.1016/s0303-2647(00)00135-0)
- Silkis, I. (2007) A hypothetical role of cortico-basal ganglia-thalamocortical loops in visual processing. *Biosystems*, vol. 89, no. 1–3, pp. 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2006.04.020>
- Slagter, H. A., Mazaheri, A., Reteig, L. C. et al. (2017) Contributions of the ventral striatum to conscious perception: An intracranial EEG study of the attentional blink. *Journal of Neuroscience*, vol. 37, no. 5, pp. 1081–1089. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2282-16.2016>
- Slagter, H. A., van Wouwe, N. C., Kanoff, K. et al. (2016) Dopamine and temporal attention: An attentional blink study in Parkinson's disease patients on and off medication. *Neuropsychologia*, vol. 91, pp. 407–414. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2016.09.006>
- Summerfield, J. J., Lepsien, J., Gitelman, D. R. et al. (2006) Orienting attention based on long-term memory experience. *Neuron*, vol. 49, no. 6, pp. 905–916. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.01.021>
- Vitale, F., Capozzo, A., Mazzone, P. et al. (2019) Neurophysiology of the pedunculopontine tegmental nucleus. *Neurobiology of Disease*, vol. 128, pp. 19–30. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.03.004>
- Wang, J., Barbas, H. (2018) Specificity of primate amygdalar pathways to hippocampus. *Journal of Neuroscience*, vol. 38, no. 47, pp. 10019–10041. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1267-18.2018>
- Wang, H., Pickel, V. M. (2002) Dopamine D2 receptors are present in prefrontal cortical afferents and their targets in patches of the rat caudate-putamen nucleus. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 442, no. 4, pp. 392–404. <https://doi.org/10.1002/cne.10086>
- Zorzo, C., Arias, J. L., Méndez, M. (2021) Hippocampus and cortex are involved in the retrieval of a spatial memory under full and partial cue availability. *Behavioral Brain Research*, vol. 405, pp. 113204. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113204>

References

- Anokhin, K. V. (2021) Kognitom: v poiskakh fundamental'noj nejronauchnoj teorii soznaniya [Cognitome: In search of fundamental neuroscience theory of consciousness]. *Zhurnal Vysshej Nervnoj Deyatel'nosti Imeni I. P. Pavlova*, vol. 71, no. 1, pp. 39–71. <https://doi.org/10.31857/S004446721010032> (In Russian)
- Asplund, C. L., Fougny, D., Zughni, S. et al. (2014) The attentional blink reveals the probabilistic nature of discrete conscious perception. *Psychological Science*, vol. 25, no. 3, pp. 824–831. <https://doi.org/10.1177/0956797613513810> (In English)
- Baars, B. J. (2005) Global workspace theory of consciousness: toward a cognitive neuroscience of human experience. *Progress in Brain Research*, vol. 150, pp. 45–53. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(05\)50004-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(05)50004-9) (In English)
- Birrell, J. M., Brown, V. J. (2000) Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. *Journal of Neuroscience*, vol. 20, no. 11, pp. 4320–4324. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-11-04320.2000> (In English)

- Bočková, M., Chládek, J., Jurák, P. et al. (2011) Involvement of the subthalamic nucleus and globus pallidus internus in attention. *Journal of Neural Transmission*, vol. 118, no. 8, pp. 1235–1245. <https://doi.org/10.1007/s00702-010-0575-4> (In English)
- Cassel, J. C., Ferraris, M., Quilichini, P. et al. (2021) The reuniens and rhomboid nuclei of the thalamus: A crossroads for cognition-relevant information processing? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 126, pp. 338–360. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.03.023> (In English)
- Chang, D. I., Lissek, S., Ernst, T. M. et al. (2015) Cerebellar contribution to context processing in extinction learning and recall. *Cerebellum*, vol. 14, no. 6, pp. 670–676. <https://doi.org/10.1007/s12311-015-0670-z> (In English)
- Chudasama, Y., Robbins, T. W. (2004) Dopaminergic modulation of visual attention and working memory in the rodent prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*, vol. 29, no. 9, pp. 1628–1636. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300490> (In English)
- Ciaramelli, E., Grady, C. L., Moscovitch, M. (2008) Top-down and bottom-up attention to memory: a hypothesis (AtoM) on the role of the posterior parietal cortex in memory retrieval. *Neuropsychologia*, vol. 46, no. 7, pp. 1828–1851. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2008.03.022> (In English)
- Colzato, L. S., Slagter, H. A., Spapé, M. M. et al. (2008) Blinks of the eye predict blinks of the mind. *Neuropsychologia*, vol. 46, no. 13, pp. 3179–3183. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2008.07.006> (In English)
- Connell, L., Lynott, D. (2016) Do we know what we're simulating? Information loss on transferring unconscious perceptual simulation to conscious imagery. *The Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory and Cognition*, vol. 42, no. 8, pp. 1218–1232. <https://doi.org/10.1037/xlm0000245> (In English)
- Edelman, G. M., Gally, J. A., Baars, B. J. (2011) Biology of consciousness. *Frontiers in Psychology*, vol. 25, no. 2, article 4. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2011.00004> (In English)
- Ekstrom, A. D., Yonelinas, A. P. (2020) Precision, binding, and the hippocampus: Precisely what are we talking about? *Neuropsychologia*, vol. 138, article 107341. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2020.107341> (In English)
- Finch, D. M. (1996) Neurophysiology of converging synaptic inputs from the rat prefrontal cortex, amygdala, midline thalamus, and hippocampal formation onto single neurons of the caudate/putamen and nucleus accumbens. *Hippocampus*, vol. 6, no. 5, pp. 495–512. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1996\)6:5<495::AID-HIPO3>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1996)6:5<495::AID-HIPO3>3.0.CO;2-I) (In English)
- Fischer, J., Schwiecker, K., Bittner, V. et al. (2015) Modulation of attentional processing by deep brain stimulation of the pedunculopontine nucleus region in patients with parkinsonian disorders. *Neuropsychology*, vol. 29, no. 4, pp. 632–637. <https://doi.org/10.1037/neu0000179> (In English)
- Goldfarb, E. V., Chun, M. M., Phelps, E. A. (2016) Memory-guided attention: Independent contributions of the hippocampus and striatum. *Neuron*, vol. 89, no. 2, pp. 317–324. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.12.014> (In English)
- Günseli, E., Aly, M. (2020) Preparation for upcoming attentional states in the hippocampus and medial prefrontal cortex. *Elife*, vol. 9, article e53191. <https://doi.org/10.7554/eLife.53191> (In English)
- Gut, N. K., Winn, P. (2016) The pedunculopontine tegmental nucleus-A functional hypothesis from the comparative literature. *Movement Disorders*, vol. 31, no. 5, pp. 615–624. <https://doi.org/10.1002/mds.26556> (In English)
- Halassa, M. M., Kastner, S. (2017) Thalamic functions in distributed cognitive control. *Nature Neuroscience*, vol. 20, no. 12, pp. 1669–1679. <https://doi.org/10.1038/s41593-017-0020-1> (In English)
- Hutchinson, B. T. (2019) Toward a theory of consciousness: A review of the neural correlates of inattentional blindness. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 104, pp. 87–99. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.06.003> (In English)
- Hirsch, J. A., Chan, J. C., Yin, T. C. (1985) Responses of neurons in the cat's superior colliculus to acoustic stimuli. I. Monaural and binaural response properties. *Journal of Neurophysiology*, vol. 53, no. 3, pp. 726–745. <https://doi.org/10.1152/jn.1985.53.3.726> (In English)
- Hoover, W. B., Vertes, R. P. (2007) Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Structure and Function*, vol. 212, no. 2, pp. 149–179. <https://doi.org/10.1007/s00429-007-0150-4> (In English)
- Hsu, S. M., George, N., Wyart, V. et al. (2011) Voluntary and involuntary spatial attentions interact differently with awareness. *Neuropsychologia*, vol. 49, no. 9, pp. 2465–2474. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2011.04.024> (In English)
- Huettel, S. A., Güzeldere, G., McCarthy, G. (2001) Dissociating the neural mechanisms of visual attention in change detection using functional MRI. *Journal of Cognitive Neuroscience*, vol. 13, no. 7, pp. 1006–1018. <https://doi.org/10.1162/089892901753165908> (In English)
- Inglis, W. L., Olmstead, M. C., Robbins, T. W. (2001) Selective deficits in attentional performance on the 5-choice serial reaction time task following pedunculopontine tegmental nucleus lesions. *Behavioral Brain Research*, vol. 123, no. 2, pp. 117–131. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(01\)00181-4](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(01)00181-4) (In English)
- Jiang, Y., Tian, Y., Wang, K. (2013) The change of attentional blink and repetition blindness after cerebellar lesions. *Journal of Clinical Neuroscience*, vol. 20, no. 12, pp. 1742–1746. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2013.01.022> (In English)

- Kanai, R., Tsuchiya, N., Verstraten, F. A. (2006) The scope and limits of top-down attention in unconscious visual processing. *Current Biology*, vol. 16, no. 23, pp. 2332–2336. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.10.001> (In English)
- Kim, Y., Spruston, N. (2012) Target-specific output patterns are predicted by the distribution of regular-spiking and bursting pyramidal neurons in the subiculum. *Hippocampus*, vol. 22, no. 4. pp. 693–706. <https://doi.org/10.1002/hipo.20931> (In English)
- Koivisto, M., Grassini, S., Salminen-Vaparanta, N., Revonsuo A. (2017) Different electrophysiological correlates of visual awareness for detection and identification. *Journal of Cognitive Neuroscience*, vol. 29, no. 9, pp. 1621–1631. https://doi.org/10.1162/jocn_a_01149 (In English)
- Kozak, R., Bowman, E. M., Latimer, M. P. et al. (2005) Excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus in rats impair performance on a test of sustained attention. *Experimental Brain Research*, vol. 162, no. 2, pp. 257–264. <https://doi.org/10.1007/s00221-004-2143-3> (In English)
- Kranczioch, C., Debener, S., Schwarzbach, J. et al. (2005) Neural correlates of conscious perception in the attentional blink. *NeuroImage*, vol. 24, no. 3, pp. 704–714. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.09.024> (In English)
- Leszczyński, M., Staudigl, T. (2016) Memory-guided attention in the anterior thalamus. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 66, pp. 163–165. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.04.015> (In English)
- Linley, S. B., Gallo, M. M., Vertes, R. P. (2016) Lesions of the ventral midline thalamus produce deficits in reversal learning and attention on an odor texture set shifting task. *Brain Research*, vol. 1649, pt. A, pp. 110–122. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.08.022> (In English)
- Madl, T., Baars, B. J., Franklin, S. (2011) The timing of the cognitive cycle. *PLoS One*, vol. 6, no. 4, article e14803. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014803> (In English)
- Marinelli, L., Quartarone, A., Hallett, M. et al. (2017) The many facets of motor learning and their relevance for Parkinson's disease. *Clinical Neurophysiology*, vol. 128, no. 7, pp. 1127–1141. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.03.042> (In English)
- McKenna, J. T., Vertes, R. P. (2004) Afferent projections to nucleus reuniens of the thalamus. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 480, no. 2, pp. 115–142. <https://doi.org/10.1002/cne.20342> (In English)
- Mori, F., Okada, K. I., Nomura, T. et al. (2016) The pedunculopontine tegmental nucleus as a motor and cognitive interface between the cerebellum and basal ganglia. *Frontiers in Neuroanatomy*, vol. 10, article 109. <https://doi.org/10.3389/fnana.2016.00109> (In English)
- Naghavi, H. R., Nyberg, L. (2005) Common fronto-parietal activity in attention, memory, and consciousness: Shared demands on integration? *Consciousness and Cognition*, vol. 14, no. 2, pp. 390–425. <https://doi.org/10.1016/j.concog.2004.10.003> (In English)
- Nakajima, M., Schmitt, L. I., Halassa, M. M. (2019) Prefrontal cortex regulates sensory filtering through a basal ganglia-to-thalamus pathway. *Neuron*, vol. 103, no. 3, pp. 445–458. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.05.026> (In English)
- Nishioka, T., Hamaguchi, K., Yawata, S. et al. (2020) Chemogenetic suppression of the subthalamic nucleus induces attentional deficits and impulsive action in a five-choice serial reaction time task in mice. *Frontiers in System Neuroscience*, vol. 14, article 38. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.05.026> (In English)
- O'Donnell, P., Grace, A. A. (1995) Synaptic interactions among excitatory afferents to nucleus accumbens neurons: Hippocampal gating of prefrontal cortical input. *Journal of Neuroscience*, vol. 15, no. 5, pp. 3622–3639. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-05-03622.1995> (In English)
- Parent, A.; Hazrati, L. N. (1995) Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Research Review*, vol. 20, no. 1, pp. 91–127. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(94\)00007-c](https://doi.org/10.1016/0165-0173(94)00007-c) (In English)
- Pazo, J. H., Barceló, A. C., Bellantonio, E. et al. (2013) Electrophysiological study of globus pallidus projections to the thalamic reticular nucleus. *Brain Research Bulletin*, vol. 94, pp. 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2013.02.009> (In English)
- Pourtois, G., Schettino, A., Vuilleumier, P. (2013) Brain mechanisms for emotional influences on perception and attention: What is magic and what is not. *Biological Psychology*, vol. 92, no. 3, pp. 492–512. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2012.02.007> (In English)
- Pugnaghi, G., Memmert, D., Kreitz, C. (2020) Loads of unconscious processing: The role of perceptual load in processing unattended stimuli during inattention blindness. *Attention, Perception, & Psychophysics*, vol. 82, no. 5, pp. 2641–2651. <https://doi.org/10.3758/s13414-020-01982-8> (In English)
- Raffone, A., Srinivasan, N., van Leeuwen, C. (2014) The interplay of attention and consciousness in visual search, attentional blink and working memory consolidation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Science*, vol. 369, no. 1641, article 20130215. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0215> (In English)
- Raidvee, A., Toom, M., Allik, J. (2021) A method for detection of inattention blindness. *Attention, Perception, & Psychophysics*, vol. 83, no. 3, pp. 1282–1289. <https://doi.org/10.3758/s13414-020-02234-5> (In English)
- Redinbaugh, M. J., Phillips, J. M., Kambi, N. A. et al. (2020) Thalamus modulates consciousness via layer-specific control of cortex. *Neuron*, vol. 106, no. 1, pp. 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.01.005> (In English)
- Rutiku, R., Martin, M., Bachmann, T. et al. (2015) Does the p300 reflect conscious perception or its consequences? *Neuroscience*, vol. 298, pp. 180–189. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.04.029> (In English)

- Saalmann, Y. B. (2014) Intralaminar and medial thalamic influence on cortical synchrony, information transmission and cognition. *Frontiers in System Neuroscience*, vol. 8, article 83. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00083> (In English)
- Schliebs, R., Arendt, T. (2011) The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behavioral Brain Research*, vol. 221, no. 2, pp. 555–563. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.11.058> (In English)
- Schmalbach, B., Günther, V., Raethjen, J. et al. (2014) The subthalamic nucleus influences visuospatial attention in humans. *Journal of Cognitive Neuroscience*, vol. 26, no. 3, pp. 543–550. https://doi.org/10.1162/jocn_a_00502 (In English)
- Schweizer, T. A., Alexander, M. P., Cusimano, M. et al. (2007) Fast and efficient visuotemporal attention requires the cerebellum. *Neuropsychologia*, vol. 45, no. 13, pp. 3068–3074. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2007.05.018> (In English)
- Sergin, V. Ya. (2020) Avtootozhdestvlenie i sensorno-motornoe povtorenie kak fiziologicheskie mekhanizmy soznaniya [Autoidentification and sensory-motor rehearsal as physiological mechanisms of consciousness]. *Zhurnal Vysshej Nervnoj Deyatel'nosti Imeni I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 70, no. 5, pp. 696–720. <https://doi.org/10.31857/S004446772005010X> (In Russian)
- Shafiq, J. P., Pitts, M. A. (2015) Neural signatures of conscious face perception in an inattention blindness paradigm. *Journal of Neuroscience*, vol. 35, no. 31, pp. 10940–10948. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0145-15.2015> (In English)
- Sherman, S. M. (2017) Functioning of Circuits Connecting Thalamus and Cortex. *Comprehensive Physiology*, vol. 7, no. 2, pp. 713–739. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160032> (In English)
- Sil'kis, I. G. (1995) Dlitel'nye izmeneniya effektivnosti vozбудitelnoj sinapticheskoy peredachi v talamo-kortikal'nykh setyakh, vyzvannye mikrostimulyatsiej neokorteksa [Long-term changes in the efficiency of excitatory synaptic transmission in the thalamocortical networks evoked by microstimulation of the neocortex]. *Zhurnal Vysshej Nervnoj Deyatel'nosti Imeni I. P. Pavlova*, vol. 45, no. 2, pp. 321–334. PMID: 7597829 (In Russian)
- Silkis, I. (2001) The cortico-basal ganglia-thalamocortical circuit with synaptic plasticity. II. Mechanism of synergistic modulation of thalamic activity via the direct and indirect pathways through the basal ganglia. *Biosystems*, vol. 59, no. 1, pp. 7–14. [https://doi.org/10.1016/s0303-2647\(00\)00135-0](https://doi.org/10.1016/s0303-2647(00)00135-0) (In English)
- Sil'kis, I. G. (2002) Unifitsirovannyj postsinapticheskij mekhanizm vliyaniya razlichnykh nejromodulyatorov na modifikatsiyu vozбудitel'nykh i tormoznykh vkhodov k nejronam gippokampa (gipoteza) [A unified postsynaptic mechanism for the effect of various neuromodulators on modification of potentiated and depressed inputs to hippocampal cells (hypothesis)]. *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk*, vol. 33, no. 1, pp. 40–57. PMID: 11881334 (In Russian)
- Silkis, I. G. (2006) Vklad sinapticheskoy plastichnosti v bazal'nykh gangliyakh v obrabotku zritel'noj informatsii (gipoteticheskij mekhanizm) [A contribution of synaptic plasticity in the basal ganglia to processing of visual information]. *Zhurnal Vysshej Nervnoj Deyatel'nosti Imeni I. P. Pavlova*, vol. 56, no. 6, pp. 742–756. (In Russian)
- Silkis, I. (2007) A hypothetical role of cortico-basal ganglia-thalamocortical loops in visual processing. *Biosystems*, vol. 89, no. 1–3, pp. 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2006.04.020> (In English)
- Silkis, I. G. (2007) Rol' dofamin-zavisimykh perestroek aktivnosti v tsepyakh kora — bazal'nye ganglii — thalamus — kora v zritel'nom vnimanii (gipoteticheskij mekhanizm) [A role of dopamine-dependent activity reorganizations in the cortico-basal ganglia-thalamocortical loops in visual attention (hypothetical mechanism)]. *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk*, vol. 38, no. 4, pp. 21–38. PMID: 18064906 (In Russian)
- Sil'kis, I. G. (2011) Preimushchestva ierarhicheskogo obobshcheniya i khraneniya otobrazhenij assotsiatsij “ob'ekt—mesto” v polyakh gippokampa (gipoteza) [Benefits of hierarchical generalization and storage of the representations of “object-place” associations in the hippocampal subfields (a hypothesis)]. *Zhurnal Vysshej Nervnoj Deyatel'nosti Imeni I. P. Pavlova*, vol. 61, no. 1, pp. 5–23. (In Russian)
- Sil'kis, I. G. (2014) Mekhanizmy vzaimozavisimogo vliyaniya prefrontal'noj kory, gippokampa i mindaliny na funkcionirovanie bazal'nykh ganglijev i vybor povedeniya [The mechanisms of interdependent influence of prefrontal cortex, hippocampus and amygdala on the basal ganglia functioning and selection of behaviour]. *Zhurnal Vysshej Nervnoj Deyatel'nosti Imeni I. P. Pavlova*, vol. 64, no. 1, pp. 82–100. <https://doi.org/10.7868/S0044467714010110> (In Russian)
- Silkis, I. G. (2015) O roli bazal'nykh ganglijev v obrabotke slozhnykh zvukovykh stimulov i slukhovom vnimanii [A role of the basal ganglia in processing of complex sounds and auditory attention]. *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk*, vol. 46, no. 3, pp. 76–92. (In Russian)
- Silkis, I. G. (2021a) Vliyanie dofamina na vzaimozavisimoe funkcionirovanie mozzhechka, bazal'nykh ganglijev i novej kory (gipoteticheskij mekhanizm) [Effect of dopamine on the interdependent functioning of the cerebellum, basal ganglia and neocortex (A hypothetical mechanism)]. *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk*, vol. 52, no. 1, pp. 49–63. <https://doi.org/10.31857/S0301179821010094> (In Russian)
- Silkis, I. G. (2021b) Vozmozhnye mekhanizmy vzaimozavisimogo uchastiya bazal'nykh ganglijev i mozzhechka v funkcionirovanii dvigatel'nykh i sensornykh sistem [Possible mechanisms of interdependent participation of the basal ganglia and cerebellum in the functioning of motor and sensory systems]. *Integrativnaja fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 2, no. 2, pp. 135–146. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-2-135-146> (In Russian)

- Silkis, I. G. (2021c) Uchastie yader gipotalamusa v formirovanii assotsiatsij ob'ekt–mesto na nejronakh polya CA2 gippokampa (gipoteticheskij mekhanizm) [Involvement of hypothalamic nuclei in the generation of object-place associations on neurons of the hippocampal CA2 field (A hypothetical mechanism)]. *Zhurnal Vysshej Nervnoj Deyatel'nosti Imeni I. P. Pavlova*, vol. 71, no. 2, pp. 147–163. <https://doi.org/10.31857/S0044467721020106> (In Russian)
- Silkis, I. G. (2022) Mekhanizmy funkcionirovaniya konnektoma, vklyuchayushchego neokorteks, gippokamp, bazal'nye ganglii, mozzhechok i talamus [Mechanisms of functioning of a connectome that includes the neocortex, hippocampus, basal ganglia, cerebellum and thalamus]. *Zhurnal Vysshej Nervnoj Deyatel'nosti Imeni I. P. Pavlova*, vol. 72, no. 1, pp. 36–54. <https://doi.org/10.31857/S0044467722010105> (In Russian)
- Slagter, H. A., Mazaheri, A., Reteig, L. C. et al. (2017) Contributions of the ventral striatum to conscious perception: An intracranial EEG study of the attentional blink. *Journal of Neuroscience*, vol. 37, no. 5, pp. 1081–1089. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2282-16.2016> (In English)
- Slagter, H. A., van Wouwe, N. C., Kanoff, K. et al. (2016) Dopamine and temporal attention: An attentional blink study in Parkinson's disease patients on and off medication. *Neuropsychologia*, vol. 91, pp. 407–414. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2016.09.006> (In English)
- Summerfield, J. J., Lepsien, J., Gitelman, D. R. et al. (2006) Orienting attention based on long-term memory experience. *Neuron*, vol. 49, no. 6, pp. 905–916. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.01.021> (In English)
- Veber, N. V., Rapoport, S. Sh., Sil'kis, I. G. et al. (1988) Dlitelnye posttetanicheskie izmeneniya impulsnykh reaksij nejronov zritel'noj kory koshek [Long-term post-tetanic changes in the impulse reactions of the visual cortex neurons in the cat]. *Zhurnal Vysshej Nervnoj Deyatel'nosti Imeni I. P. Pavlova*, vol. 38, no. 5, pp. 963–965. PMID: [3223081](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3223081/) (In Russian)
- Vitale, F., Capozzo, A., Mazzone, P. et al. (2019) Neurophysiology of the pedunculopontine tegmental nucleus. *Neurobiology of Disease*, vol. 128, pp. 19–30. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.03.004> (In English)
- Wang, J., Barbas, H. (2018) Specificity of primate amygdalar pathways to hippocampus. *Journal of Neuroscience*, vol. 38, no. 47, pp. 10019–10041. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1267-18.2018> (In English)
- Wang, H., Pickel, V. M. (2002) Dopamine D2 receptors are present in prefrontal cortical afferents and their targets in patches of the rat caudate-putamen nucleus. *Journal of Comparative Neurology*, vol. 442, no. 4, pp. 392–404. <https://doi.org/10.1002/cne.10086> (In English)
- Zorzo, C., Arias, J. L., Méndez, M. (2021) Hippocampus and cortex are involved in the retrieval of a spatial memory under full and partial cue availability. *Behavioral Brain Research*, vol. 405, pp. 113204. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113204> (In English)



УДК: 577.17

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-41-57>

Интраназально вводимый инсулин, но не С-пептид проинсулина, нормализует гормональные показатели и экспрессию гипоталамических генов у самцов крыс с диабетом 2-го типа и ожирением

К. В. Деркач^{✉1}, А. А. Бахтюков¹, Н. Е. Басова¹, В. М. Бондарева¹, 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

Андрей Андреевич Бахтюков, SPIN-код: 7073-0586, Scopus AuthorID: 57191163820, ResearcherID: AAN-1834-2020, ORCID: 0000-0002-2060-2020, e-mail: bahtyukov@gmail.com

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

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., Бахтюков, А. А., Басова, Н. Е., Бондарева, В. М., Шпаков, А. О. (2022) Интраназально вводимый инсулин, но не С-пептид проинсулина, нормализует гормональные показатели и экспрессию гипоталамических генов у самцов крыс с диабетом 2-го типа и ожирением. *Интегративная физиология*, т. 3, № 1, с. 41–57. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-41-57>

Получена 27 января 2022; прошла рецензирование 9 марта 2022; принята 10 марта 2022.

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания ИЭФБ РАН № 075-0152-22-00.

Права: © К. В. Деркач, А. А. Бахтюков, Н. Е. Басова, В. М. Бондарева, А. О. Шпаков (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Сахарный диабет 2-го типа (СД2) характеризуется нарушениями в сигнальных системах мозга, в том числе регулируемых инсулином. Для восстановления инсулиновой сигнализации в мозге может быть применен интраназально вводимый инсулин (ИИ). Эффективность ИИ, как показано нами ранее при СД1 и инсулинодефицитном СД2, повышается при совместном применении с интраназально вводимым С-пептидом (ИС). Целью работы было изучить влияние 9-дневного лечения крыс с диет-индуцированным СД2 с ожирением и гиперинсулинемией с помощью ИИ (0,5 МЕ/крысу/сутки) и его комбинации с ИС (36 мкг/крысу/сутки) на метаболические показатели, базальные и стимулированные глюкозой уровни инсулина, адипокинов, глюкагоноподобного пептида-1, грелина, гормональный статус тиреоидной и гонадной систем, уровни инсулина и лептина в гипоталамусе и экспрессию гипоталамических генов, кодирующих рецепторы и пищевые факторы. Монотерапия ИИ нормализовала сниженный при СД2 уровень инсулина в гипоталамусе, улучшала глюкозный гомеостаз, тиреоидный статус, ответы инсулина, лептина и инкретинов на глюкозу, восстанавливала экспрессию гипоталамических генов проопиомеланокортина и М4-меланокортинового рецептора, опосредующих снижение аппетита, и снижала экспрессию гена орексигенного нейропептида Y. Совместное применение ИИ и ИС не усиливало эффекты ИИ. Монотерапия ИС была неэффективной и даже усугубляла метаболические показатели. Таким образом, у крыс с СД2 и гиперинсулинемией ИИ улучшал метаболические и гормональные показатели, что обусловлено нормализацией сниженного в результате ослабления рецептор-опосредуемого транспорта через гематоэнцефалический барьер уровня инсулина в мозге, в то время как ИС, в том числе в комбинации с ИИ, оказался неэффективным.

Ключевые слова: инсулин, С-пептид проинсулина, интраназальное введение, диабет 2 типа, ожирение, гиперинсулинемия, гипоталамус, лептин, глюкозотолерантность, тиреоидный статус

Insulin administered intranasally, but not proinsulin C-peptide, normalises hormonal parameters and hypothalamic gene expression in male rats with type 2 diabetes and obesity

K. V. Derkach^{✉1}, A. A. Bakhtuykov¹, N. E. Basova¹, V. M. Bondareva¹, 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](https://orcid.org/0000-0001-6555-9540), ORCID: [0000-0001-6555-9540](https://orcid.org/0000-0001-6555-9540), e-mail: derkach_k@list.ru

Andrey A. Bakhtuykov, SPIN: 7073-0586, Scopus AuthorID: 57191163820, ResearcherID: [AAN-1834-2020](https://orcid.org/0000-0002-2060-2020), ORCID: [0000-0002-2060-2020](https://orcid.org/0000-0002-2060-2020), e-mail: bahtuykov@gmail.com

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

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

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

For citation: Derkach, K. V., Bakhtuykov, A. A., Basova, N. E., Bondareva, V. M., Shpakov, A. O.

(2022) Insulin administered intranasally, but not proinsulin C-peptide, normalises hormonal parameters and hypothalamic gene expression in male rats with type 2 diabetes and obesity. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 1, pp. 41–57.

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-41-57>

Received 27 January 2022; reviewed 9 March 2022; accepted 10 March 2022.

Funding: The study was supported by the State Assignment No. 075-0152-22-00.

Copyright: © K. V. Derkach, A. A. Bakhtuykov, N. E. Basova, V. M. Bondareva, A. O. Shpakov (2022). 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. Type 2 diabetes mellitus (DM2) is characterised by changes in brain signalling systems, including those regulated by insulin. Intranasally administered insulin (II) can be used to restore brain insulin signalling. The effectiveness of II, as we have shown earlier in DM1 and insulin-deficient DM2, increases when combined with intranasally administered C-peptide (IC). The aim of this work was to study the effect of a 9-day treatment of rats with diet-induced DM2, obesity and hyperinsulinemia with II (0.5 IU/rat/day) and combined II and IC (36 µg/rat/day) on rats' metabolic parameters, basal and glucose-stimulated levels of insulin, adipokines, glucagon-like peptide-1 and ghrelin, hormonal status of the thyroid and gonadal systems, intrahypothalamic insulin and leptin levels, and expression of hypothalamic genes encoding receptors and nutritional factors. II monotherapy normalised hypothalamic insulin levels lowered in DM2, improved glucose homeostasis, thyroid status and insulin, leptin and incretin responses to glucose, restored the expression of hypothalamic proopiomelanocortin and M4-melanocortin receptor genes responsible for reducing appetite, and reduced the gene expression of orexigenic neuropeptide Y. The combined use of II and IC did not improve the effect of II. IC monotherapy was ineffective and even worsened subject metabolic parameters. Thus, in DM2 rats with hyperinsulinemia, II improved metabolic and hormonal parameters. This is due to normalisation of the brain insulin levels that had been reduced as a result of weaker receptor-mediated transport of insulin across the blood-brain barrier. IC, however, was ineffective, including in combination with II.

Keywords: insulin, proinsulin C-peptide, intranasal administration, type 2 diabetes, obesity, hyperinsulinemia, hypothalamus, leptin, glucose tolerance, thyroid status

Введение

В настоящее время отмечается значительный рост заболеваемости сахарным диабетом 2-го типа (СД2), распространение которого приобретает характер эпидемии (Serbis et al. 2021). Однако используемые подходы для лечения СД2 и предотвращения его осложнений со стороны сердечно-сосудистой, нервной, вы-

делительной и эндокринной систем до сих пор имеют низкую эффективность, несмотря на большое число применяемых для коррекции СД2 фармакологических препаратов и стратегий, большинство из которых включают повышение физической активности и нормализацию пищевого поведения (Sciacqua et al. 2021; Shen, Greenberg, 2021). Наряду с нарушенной толерантностью к глюкозе одним из основных признаков СД2 является инсулиновая резистентность, пред-

ставляющая собой ослабление ответа тканевой мишеней на инсулин и развивающаяся вследствие снижения чувствительности к инсулину его рецепторов и функциональных нарушений в пострецепторных звеньях инсулиновой сигнальной системы (Lee et al. 2022). На ранних стадиях развития СД2 инсулиновая резистентность сочетается с гиперинсулинемией, которая начинает ослабляться, как правило, при длительном течении СД2, когда снижается инсулин-продуцирующая функция панкреатических β -клеток (Al-Mrabeh 2021; Wysham, Shubrook 2020).

В условиях гиперинсулинемии уровень инсулина на периферии повышен, но его поступление в мозг, через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), представляющее собой рецептор-опосредуемый процесс, затруднено, и это может приводить к дефициту инсулина в ЦНС. Ранее нами было показано, что у крыс и мышей с диет-индуцированным или генетически обусловленным ожирением, несмотря на повышение уровня инсулина в крови, его содержание в мозге снижено (Derkach et al. 2019; Romanova et al. 2018). В условиях ассоциированной с ожирением гиперлептинемии в мозге грызунов снижено и содержание лептина, который так же, как и инсулин, поступает в мозг рецептор-зависимым способом (Derkach et al. 2019). Инсулиновые и лептиновые пути в ЦНС тесно взаимосвязаны и имеют ряд общих внутриклеточных мишеней, наиболее важными из которых являются ферменты фосфатидилинозитол-3-киназа и Akt-киназа, вовлеченные в контроль выживаемости нейронов и нейродифференцировку (Huang et al. 2018; Scherer et al. 2021). Тем самым дефицит лептина вызывает ослабление инсулиновых путей, а дефицит инсулина, в свою очередь, негативно влияет на лептиновый сигналинг (Shpakov et al. 2015). Исходя из этого, при СД2 и других метаболических расстройствах перспективным является компенсация недостатка инсулина в ЦНС, для чего в наибольшей степени подходит интраназально вводимый инсулин (ИИ), что было ранее продемонстрировано нами при длительном лечении ИИ крыс с метаболическим синдромом и СД2 (Derkach et al. 2017; Sukhov et al. 2016). Наряду с этим была показана эффективность ИИ для улучшения памяти, метаболических и гормональных показателей у крыс с СД1 (Derkach et al. 2015; 2018a; 2018b; Sukhov et al. 2013), а также для предотвращения нейродегенерации при ишемии/реперфузии головного мозга у крыс (Zakharova et al. 2021). Следует отметить, что в клинике ИИ сейчас успешно используется для лечения па-

циентов с нарушениями когнитивных функций, в том числе с болезнью Альцгеймера, наркотической зависимостью, послеоперационными осложнениями, травмами головного мозга (Badenes et al. 2021; Kashyap et al. 2020; Lu, Xu 2019; Shaughnessy et al. 2020). Нейропротекторный эффект инсулина в мозге обусловлен его способностью подавлять апоптотические и воспалительные процессы в нейронах. Воздействуя на инсулинзависимые гипоталамические системы, ИИ нормализует пищевое поведение и функции эндокринной системы (Шпаков и др. 2019; Shpakov et al. 2015). Однако эффекты краткосрочного влияния ИИ на метаболические и гормональные показатели при экспериментальном СД2 не изучены, несмотря на то что сравнительно короткие курсы ИИ представляют наибольший интерес для клинической эндокринологии, будучи легко осуществимыми и не приводящими к развитию центральной инсулиновой резистентности.

В условиях гиперпродукции инсулина в крови повышается уровень С-пептида, продукта протеолитического расщепления проинсулина в β -клетках. Согласно современным представлениям, С-пептид образует комплексы с инсулином, уменьшая стабильность олигомерных инсулиновых комплексов и тем самым повышая доступность инсулина для рецепторов. Кроме того, С-пептид характеризуется собственной биологической активностью (Shpakov 2017). Нами ранее было показано, что интраназально вводимый С-пептид (ИС) при инсулинодефицитных формах СД (стрептозотоциновом СД1, неонатальном стрептозотоциновом СД2) при совместном применении с ИИ повышает эффективность его восстанавливающего действия на метаболические и гормональные показатели и функции эндокринной системы (Derkach et al. 2018a; 2018b; 2019a; 2019b). Имеются данные о перспективах применения фармакологических препаратов С-пептида для лечения пациентов с СД1 (Washburn et al. 2021). Однако сведения об использовании ИС при СД2, который сопровождается ожирением и гиперинсулинемией, отсутствуют. Мы предположили, что, как и в случае СД1 и неонатального СД2, совместное применение ИИ и ИС у крыс с диет-индуцированным СД2 усилит эффекты инсулина, реализуемые через центральные, в первую очередь гипоталамические, механизмы.

Целью работы было изучить влияние девятидневного лечения крыс с диет-индуцированным СД2 с ожирением и гиперинсулинемией с помощью ИИ и его комбинации с ИС на метаболические показатели, базальные и стиму-

лированные глюкозой уровни инсулина, адипокинов, инкретинов, гормональный статус тиреоидной и гонадной систем, а также на уровни инсулина и лептина в гипоталамусе и на экспрессию гипоталамических генов, кодирующих рецепторные белки и пищевые факторы.

Методика

В экспериментах использовали самцов крыс линии Вистар, которых содержали в стандартных условиях вивария, на стандартном рационе, со свободным доступом к пище и воде. Все процедуры по уходу и использованию животных осуществляли в соответствии с требованиями Этического комитета ИЭФБ РАН (протокол № 2/2020), European Communities Council Directive 1986 (86/609/EEC) и Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.

СД2 индуцировали длительной высокожировой диетой, которую самцы крыс получали в течение двух месяцев, с последующей обработкой животных низкой дозой (15 мг/кг) стрептозотоцина (Sigma, США) и продолжением диеты еще в течение четырех недель. Высокожировая диета включала потребление смеси, 1 кг которой содержал 524 г свиного сала, 417 г творога, 50 г печени, 5,3 г L-метионина, 1,85 г дрожжей, 1,85 г NaCl (Derkach et al. 2015). Контрольные крысы вместо высокожировой диеты получали стандартный корм, а вместо стрептозотоцина им вводили его растворитель — 0,1 М Na-цитратный буфер (рН 4,5). Перед началом лечения проводили оральный глюкозотолерантный тест (ОГТТ) и отбирали крыс с СД2, используя в качестве критериев повышение массы тела, уровень глюкозы в крови через 120 мин после глюкозной нагрузки выше 7 мМ и содержание гликированного гемоглобина (HbA1c) в крови выше 5,5%. Концентрацию глюкозы в крови оценивали с помощью тест-полосок One Touch Ultra (США) и глюкометра Life Scan Johnson & Johnson (Дания), а содержание HbA1c — с помощью набора Multi Test HbA1c System (Polymer Technology Systems, Inc., США). Образцы крови забирали из хвостовой вены под местным наркозом (2%-ный раствор лидокаина, 2–4 мг/кг). ОГТТ проводили после 6-часового лишения животных пищи, вводя через зонд 40%-ный раствор глюкозы (2 г/кг). Уровень глюкозы и гормонов в крови оценивали до глюкозной нагрузки и через 15, 30, 60 и 120 мин после нее.

После верификации СД2 диабетических крыс рандомизировали и формировали четыре груп-

пы (в каждой $n = 6$) — диабет без лечения (группа Д), диабет с лечением ИИ (0,5 МЕ/крысу/сутки, 9 дней) (группа Д + ИИ), ИС (36 мкг/крысу/сутки, 9 дней) (группа Д + ИС) и совместно ИИ и ИС в тех же дозах (группа Д + ИИ + ИС). Контрольные животные ($n = 6$, группа К) вместо препаратов интраназально в том же объеме и в те же сроки получали их растворитель — физиологический раствор. Диабетические крысы на протяжении девятидневного эксперимента продолжали получать высокожировую диету, контрольные животные — стандартную кормовую смесь. На 7-й день эксперимента (после лишения пищи в течение 6 ч) повторно осуществляли ОГТТ, по результатам которого оценивали толерантность к глюкозе, а также гормональный ответ на глюкозную нагрузку. В течение первых шести дней оценивали потребление корма (в пересчете на килокалории). Динамику изменения уровня тестостерона в крови оценивали на 8-й день эксперимента, забирая кровь из хвостовой вены под местным наркозом. В последний (9-й) день эксперимента, через 3 ч после введения ИИ и ИС, крыс наркотизировали с помощью хлоральгидрата (в/б, 400 мг/кг), затем декапитировали, забирали образцы крови для определения гормонов и ткани гипоталамуса для определения уровней инсулина и лептина и оценки экспрессии целевых генов.

Измерение уровня гормонов, лептина и инкретинов в крови

Для измерения уровней инсулина, лептина, глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1), грелина, лютеинизирующего (ЛГ) и тиреотропного (ТТГ) гормонов в крови использовали иммуноферментные наборы Rat Insulin ELISA (Mercodia, Швеция); ELISA for Leptin, Rat; ELISA for GLP-1, Rat; ELISA for Ghrelin, Rat и ELISA for LH, Rat (Cloud-Clone Corp., США) и ELISA, Rat TSH (Cusabio Biotech Co., Ltd., КНР). Уровни свободного (fT4) и общего тироксина (tT4), свободного (fT3) и общего трийодтиронина (tT3) оценивали с помощью наборов фирмы «Иммунотех» (Россия), в то время как уровень тестостерона измеряли с использованием набора Testosterone-ELISA kit («Алкор-Био», Россия).

Измерение уровня инсулина и лептина в гипоталамусе

Для оценки содержания инсулина и лептина в гипоталамусе крыс образцы ткани гомогенизировали в соотношении 1:10 в лизирующем буфере, как описано ранее (Derkach et al. 2019). Лизирующий буфер содержал 20 мМ Трис-НСl

(рН 7,5), 150 мМ NaCl, 2 мМ ЭДТА, 2 мМ ЭГТА, 0,25 М сахарозу, 0,5% Triton X-100, 0,5% дезоксихолат натрия, 15 мМ фторид натрия, 10 мМ глицерофосфат натрия, 10 мМ пирофосфат натрия, 1 мМ орто-ванадат натрия, 1 мМ фенилметилсульфонилфторид, 0,02% азид натрия и коктейль ингибиторов протеаз (Sigma-Aldrich, США). Полученный гомогенат центрифугировали (10 000 г, 5 мин), после чего в супернатанте измеряли концентрацию инсулина и лептина с помощью наборов Rat Insulin ELISA (Merckodia, Швеция) и ELISA for Leptin, Rat (Cloud-Clone Corp., США), соответственно.

Измерение экспрессии гипоталамических генов

Для изучения экспрессии генов в гипоталамусе крыс использовали количественную ПЦР с обратной транскрипцией, для чего из ткани гипоталамуса выделяли общую РНК, используя TRIzol Reagent (США), как описано ранее (Derkach et al. 2019). Для получения кодирующей ДНК использовали набор MMLV RT Kit («Евроген», Россия). Амплификацию проводили в смеси, содержащей 10 нг обратно транскрибированного продукта, по 0,4 мкМ прямого и обратного праймеров и среду qPCRmix-HS SYBR+LowROX («Евроген», Россия). Для детекции сигнала использовали амплификатор 7500 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Для оценки экспрессии генов использовали следующие прямые (Forward) и обратные (Reverse) праймеры: (1) инсулиновый рецептор (*InsR*) — CTGGAGAAGCTGCTCGGTCATT (F) и GGCCATAGACACGGAAAAGAAG (R); полно-размерный лептиновый рецептор (*ObRb*) — GCATGCAGAATCAGTGATATTTGG (F) и CAAGCTGTATCGACACTGATTTCTTC (R); протеинфосфотириозинфосфатаза 1В (*PTP1B*) — CAACCGAGGAGGAACAAGG (F) и CAGTCTGTCAAGTGAACAATACCCG (R); М4-меланокортиновый рецептор (МК4Р) (*Mc4R*) — TGGGTGTCATAAGCCTGTTGG (F) и GCGTCCGTGTCCGTAAGT (R); дофаминовый рецептор (ДР) 1 типа (*DR1*) — ACATCTGGGTAGCCTTTGACATC (F) и TACCTGTCCACGCTGATCACG (R); ДР 2 типа (*DR2*) — GCAGCAGTCCGAGCTTTCAGA (F) и CGCCTGTTCACTGGGAAACT (R); проопиомеланокортин (ПОМК) (*POMC*) — AGGACCTCACCCAGGAAAG (F) и GTCAAGGGCTGTTTCATCTCC (R); агути-подобный пептид (*Agrp*) — TGAAGAAGACAGCAGCAGACC (F) и TGAAGAAGCGGCAGTAGCAC (R); нейропептид Y (*Npy*) — ACCAGGCAGAGATATGGCAAGA (F)

и GGACATTTTCTGTGCTTTCTCTCATTA (R). В качестве референсного использовали ген *18S rRNA*. Полученные данные рассчитывали с помощью метода delta-delta C_T , как описано ранее (Derkach et al. 2019), с помощью программного обеспечения 7500 Software v2.0.6 и Expression Suite Software v1.0.3; значения RQ рассчитывали по отношению к контрольной группе.

Статистический анализ экспериментальных данных

Для статистической обработки данных использовали программу Microsoft Office Excel 2007, полученные результаты представляли как $M \pm SEM$. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро — Уилка. Для сравнения двух выборок с нормальным распределением использовали t-критерий Стьюдента, статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Масса тела, масса эпидидимального и абдоминального жира, а также уровни постпрандиальной глюкозы и гликированного гемоглобина (HbA1c) у крыс с СД2 были значимо повышены в сравнении с группой К (табл. 1). У диабетических животных была нарушена толерантность к глюкозе, о чем свидетельствуют повышенные значения AUC_{0-120} для глюкозных кривых в ОГТТ (рис. 1; табл. 1). ИИ и ИС существенно не влияли на массу тела и жировой ткани. В то же время ИИ частично восстанавливал чувствительность к глюкозе и снижал уровни глюкозы и HbA1c, причем для HbA1c различия между группами Д и Д + ИИ были значимыми (табл. 1). Лечение ИС усугубляло оцениваемые показатели, что было связано с усилением потребления пищи в группе Д + ИС, которое было существенно выше, чем в контроле (табл. 1).

У диабетических крыс базовый уровень инсулина был значимо повышен, и отмечалась тенденция к повышению уровня лептина, но различия с группой К в этом случае не были значимыми ($p = 0,056$) (рис. 2). Через 120 мин после глюкозной нагрузки (ОГТТ) уровни инсулина и лептина в группе Д превосходили таковые в группе К, а также базовые уровни гормонов (рис. 2). ИИ снижал базовые и стимулированные глюкозой уровни инсулина и лептина, причем в случае стимулированных уровней различия с группой Д были значимыми (рис. 2). Комбинация ИИ и ИС была менее эффективной,

Табл. 1. Масса тела и жировой ткани, потребление пищи, уровни глюкозы, гликированного гемоглобина и AUC_{0-120} для глюкозных кривых в ОГТТ у самцов крыс с диет-индуцированным СД2 и влияние лечения ИИ и ИС

Показатель	К	Д	Д + ИИ	Д + ИС	Д + ИИ + ИС
Масса тела, г	375,3 ± 8,5	424,8 ± 10,1 ^a	414,8 ± 10,6 ^a	439,5 ± 14,8 ^a	432,3 ± 16,0 ^a
Масса АЖ, г	5,63 ± 0,15	9,67 ± 0,70 ^a	9,43 ± 0,54 ^a	10,55 ± 0,80 ^a	9,87 ± 0,75 ^a
Масса ЭЖ, г	2,59 ± 0,12	4,05 ± 0,20 ^a	3,82 ± 0,19 ^a	4,42 ± 0,32 ^a	4,07 ± 0,33 ^a
Прием пищи, ккал/крыса/день*	56,8 ± 2,9	62,2 ± 2,5	54,8 ± 2,9	68,8 ± 3,6 ^{a,c}	60,7 ± 3,8
Глюкоза, mM**	4,93 ± 0,20	6,23 ± 0,28 ^a	5,42 ± 0,28	6,35 ± 0,31 ^a	5,97 ± 0,42
HbA1c, %	4,23 ± 0,13	6,12 ± 0,32 ^a	5,18 ± 0,22 ^{a,b}	5,97 ± 0,29 ^a	5,88 ± 0,33 ^a
AUC_{0-120} усл. ед.***	1128 ± 45	1645 ± 83 ^a	1398 ± 95 ^a	1571 ± 88 ^a	1482 ± 76 ^a

Примечание: * — объем потребляемой пищи (в килокалориях) рассчитывали в течение первых 6 дней лечения (до ОГТТ); ** — уровень глюкозы измеряли через 2 ч после потребления пищи; *** — значение AUC_{0-120} рассчитывали по результатам ОГТТ, который проводили на 7-й день эксперимента, как описано в методике. Различия с группами К (^a) или Д (^b) и между группой Д + ИИ и группами Д + ИС и Д + ИИ + ИС (^c) статистически значимы при $p < 0,05$. Данные представлены как $M \pm SEM$, $n = 6$. Масса АЖ — масса абдоминального жира; масса ЭЖ — масса эпидидимального жира.

Table 1. Body and adipose tissue weight, food intake, glucose levels, glycated hemoglobin and AUC_{0-120} for glucose curves in OGTT in male rats with diet-induced DM2 and the effect of treatment with II and IC

Indicator	C	D	D + II	D + IC	D + II + IC
Body weight, g	375.3 ± 8.5	424.8 ± 10.1 ^a	414.8 ± 10.6 ^a	439.5 ± 14.8 ^a	432.3 ± 16.0 ^a
AF weight, g	5.63 ± 0.15	9.67 ± 0.70 ^a	9.43 ± 0.54 ^a	10.55 ± 0.80 ^a	9.87 ± 0.75 ^a
EF weight, g	2.59 ± 0.12	4.05 ± 0.20 ^a	3.82 ± 0.19 ^a	4.42 ± 0.32 ^a	4.07 ± 0.33 ^a
Food intake, kcal/rat/day*	56.8 ± 2.9	62.2 ± 2.5	54.8 ± 2.9	68.8 ± 3.6 ^{a,c}	60.7 ± 3.8
Glucose, mM**	4.93 ± 0.20	6.23 ± 0.28 ^a	5.42 ± 0.28	6.35 ± 0.31 ^a	5.97 ± 0.42
HbA1c, %	4.23 ± 0.13	6.12 ± 0.32 ^a	5.18 ± 0.22 ^{a,b}	5.97 ± 0.29 ^a	5.88 ± 0.33 ^a
AUC_{0-120} c.u.***	1128 ± 45	1645 ± 83 ^a	1398 ± 95 ^a	1571 ± 88 ^a	1482 ± 76 ^a

Note: *—amount of food consumed (in kilocalories) was calculated during the first 6 days of treatment (before OGTT); **—glucose level was measured 2 hours after eating; ***— AUC_{0-120} values were calculated from the results of OGTT, which was performed on the 7th day of the experiment, as described in the methods. Differences compared to the C (^a) or D (^b) groups and between the D + II group and the D + IC and D + II + IC (^c) groups are significant at $p < 0.05$. The data are presented as $M \pm SEM$, $n = 6$. AF weight—abdominal fat weight; EF weight—epididymal fat weight.

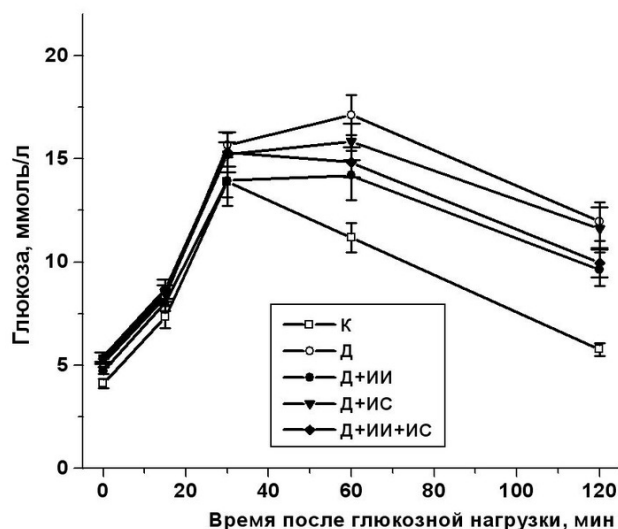


Рис. 1. Концентрационные глюкозные кривые, полученные в ОГТТ, у крыс с СД2 и влияние ИИ и ИС. Значения представлены как $M \pm SEM$, $n = 6$

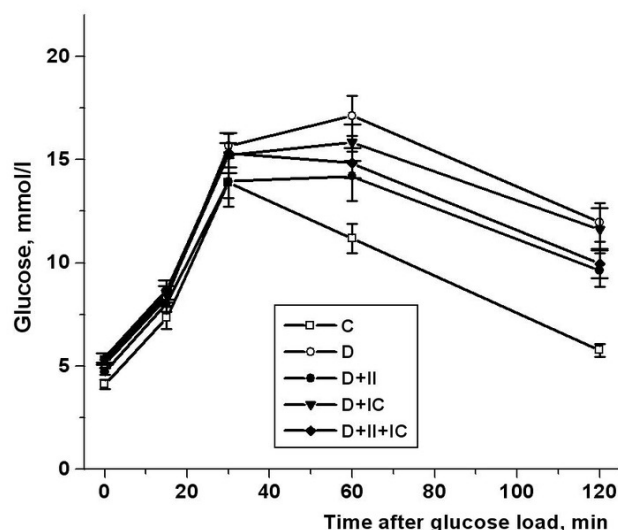


Fig. 1. Glucose concentration curves obtained in OGTT in rats with DM2 and the effect of II and IC. Data are presented as $M \pm SEM$, $n = 6$

а ИС существенно не влиял на уровни инсулина и лептина (рис. 2). Базовые уровни ГПП-1 и грелина в группах К и Д не различались. Через 15 мин после глюкозной нагрузки отмечали повышение уровня ГПП-1 в контроле и ослабление этого ответа при СД2. Монотерапия ИИ частично восстанавливала ответ на глюкозу (рис. 2). Уровень грелина в контроле через 60 мин после нагрузки глюкозой снижался на 60%, при диабете — на 28%, и лечение ИИ и комбинацией ИИ и ИС восстанавливало ответ грелина на глюкозную нагрузку, на что указывает снижение уровня грелина в группах Д + ИИ и Д + ИИ + ИС, составившее 40% и 44% соответственно (рис. 2). ИС был в этом отношении неэффективен.

Уровень инсулина в гипоталамусе СД2-крыс был снижен в сравнении с группой К (табл. 2). В группах, которым вводили ИИ, отмечали повышение уровня инсулина, причем в группе Д + ИИ отличия от диабетической группы были значимыми. Уровень лептина в гипоталамусе крыс во всех диабетических группах был снижен, причем в группах, получавших ИИ, различия с контролем были значимыми (табл. 2).

Оценка концентрации гипофизарных гликопротеиновых гормонов в крови СД2-крыс показала, что уровень ЛГ не меняется, а уровень ТТГ имеет тенденцию к повышению, но различия с группой К не были значимыми ($p = 0,052$) (табл. 3). Лечение ИИ и комбинацией ИИ и ИС поддерживало высокие уровни ЛГ и ТТГ в крови,

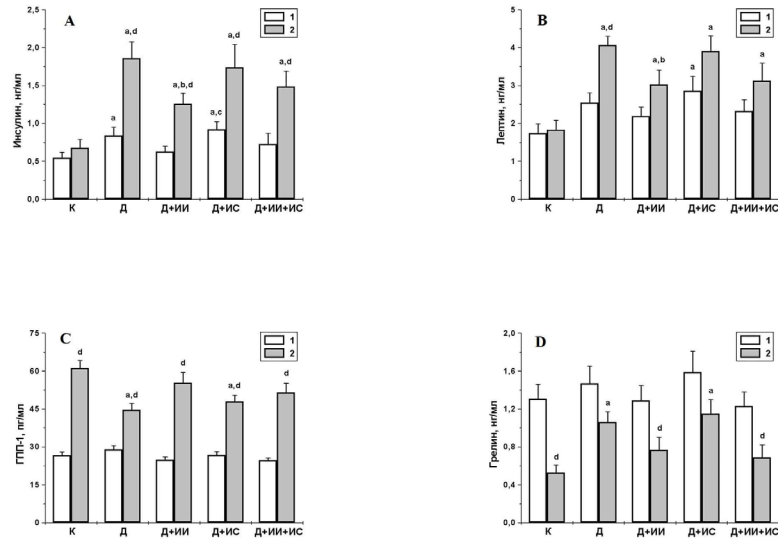


Рис. 2. Базовые и стимулированные глюкозой уровни инсулина (А), лептина (В), ГПП-1 (С) и грелина (D) в крови крыс с СД2 и влияние ИИ и ИС. 1 — базовые уровни гормональных агентов, 2 — стимулированные глюкозой уровни гормональных агентов. Стимулированные глюкозой уровни инсулина и лептина оценивали через 120 мин после глюкозной нагрузки, уровни ГПП-1 и грелина — через 15 и 60 мин соответственно. Различия с группами К (а) или Д (b) и между группой Д + ИИ и группами Д + ИС и Д + ИИ + ИС (с) статистически значимы при $p < 0,05$. Различия между базовым и стимулированным уровнями гормонального агента в одной группе (d) статистически значимы при $p < 0,05$. $M \pm SEM$, $n = 6$

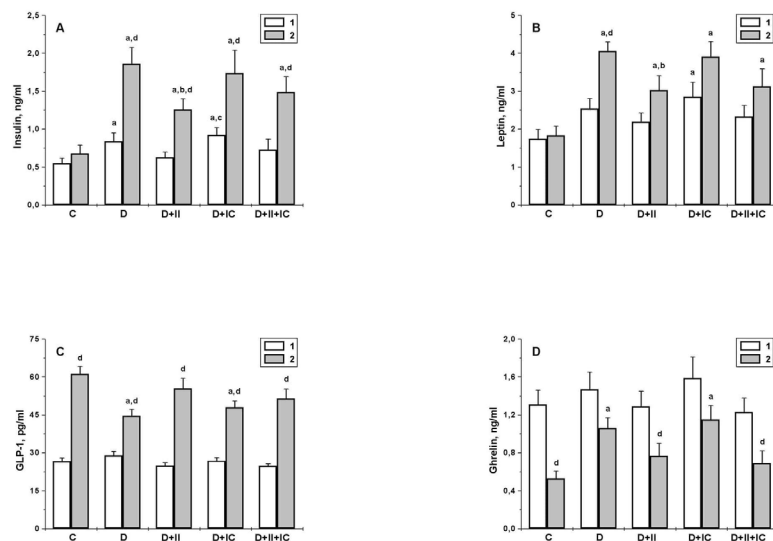


Fig. 2. Baseline and glucose-stimulated levels of insulin (A), leptin (B), GLP-1 (C) and ghrelin (D) in the blood of rats with DM2 and the effect of II and IC. 1—baseline levels of hormonal agents; 2—glucose-stimulated levels of hormonal agents. Glucose-stimulated insulin and leptin levels were assessed 120 min after the glucose load, GLP-1 and ghrelin levels were assessed 15 and 60 min, respectively. Differences compared to the C (a) or D (b) groups and between the D+II group and the D + IC and D + II + IC (c) groups are significant at $p < 0.05$. Differences between baseline and stimulated levels of a hormonal agent in the same group (d) are significant at $p < 0.05$. $M \pm SEM$, $n = 6$

Табл. 2. Уровни инсулина и лептина в гипоталамусе крыс с СД2 и влияние лечения ИИ и ИС

Показатель	К	Д	Д + ИИ	Д + ИС	Д + ИИ + ИС
Инсулин, нг/г	1,45 ± 0,11	1,07 ± 0,10 ^а	1,72 ± 0,21 ^б	0,96 ± 0,14 ^{а,с}	1,46 ± 0,21
Лептин, нг/г	5,77 ± 0,73	3,84 ± 0,58	3,66 ± 0,43 ^а	4,11 ± 0,55	3,62 ± 0,42 ^а

Примечание: Различия с группами К (^а) и Д (^б) и между группой Д + ИИ и группами Д + ИС и Д + ИИ + ИС (^с) статистически значимы при $p < 0,05$. $M \pm SEM$, $n = 6$.

Table 2. Levels of insulin and leptin in the hypothalamus of rats with DM2 and the effect of treatment with II and IC

Indicator	C	D	D + II	D + IC	D + II + IC
Insulin, ng/g	1.45 ± 0.11	1.07 ± 0.10 ^a	1.72 ± 0.21 ^b	0.96 ± 0.14 ^{a,c}	1.46 ± 0.21
Leptin, ng/g	5.77 ± 0.73	3.84 ± 0.58	3.66 ± 0.43 ^a	4.11 ± 0.55	3.62 ± 0.42 ^a

Note: Differences compared to the C (^a) or D (^b) groups and between the D + II group and the D + IC and D + II + IC (^c) groups are significant at $p < 0.05$. $M \pm SEM$, $n = 6$.

Табл. 3. Уровни ЛГ и ТТГ в крови крыс с СД2 и влияние лечения ИИ и ИС

Показатель	К	Д	Д + ИИ	Д + ИС	Д + ИИ + ИС
ЛГ, нг/мл	1,50 ± 0,18	1,61 ± 0,26	2,07 ± 0,21	1,54 ± 0,13	2,43 ± 0,37 ^а
ТТГ, мкМЕ/мл	0,79 ± 0,10	1,35 ± 0,23	1,75 ± 0,22 ^а	0,90 ± 0,16 ^б	1,42 ± 0,15 ^а

Примечание: Различия с группой К (^а) и между группой Д + ИИ и группами Д + ИС и Д + ИИ + ИС (^б) статистически значимы при $p < 0,05$. $M \pm SEM$, $n = 6$.

Table 3. Levels of LH and TSH in the blood of rats with DM2 and the effect of treatment with II and IC

Indicator	C	D	D + II	D + IC	D + II + IC
LH, ng/ml	1.50 ± 0.18	1.61 ± 0.26	2.07 ± 0.21	1.54 ± 0.13	2.43 ± 0.37 ^a
TSH, μ IU/ml	0.79 ± 0.10	1.35 ± 0.23	1.75 ± 0.22 ^a	0.90 ± 0.16 ^b	1.42 ± 0.15 ^a

Note: Differences compared to the C (^a) and between the D + II group and the D + IC and D + II + IC (^b) groups are significant at $p < 0.05$. $M \pm SEM$, $n = 6$.

которые, за исключением уровня ЛГ в группе Д + ИИ, значимо превосходили таковые в контроле (табл. 3). В случае ИС отмечали тенденцию к снижению продукции ТТГ, но различия с группой Д не были значимыми (табл. 3).

Уровни тиреоидных гормонов, включая эффекторный гормон тиреоидной оси — трийодтиронин (Т3), при СД2 были снижены и восстанавливались при лечении ИИ и комбинацией ИИ и ИС (табл. 4). Уровень тестостерона при СД2 имел тенденцию к снижению, но различия с контролем не были достоверными, как это иллюстрируют значения $AUC_{10:00-14:00}$, различия между которыми в группах К и Д не были статистически значимыми ($p = 0,065$)

(табл. 4). ИИ и комбинация ИИ и ИС существенно не влияли на уровни тестостерона. При этом в группе с лечением ИС отмечали усугубление дефицита fТЗ, а также более выраженный андрогенный дефицит, о чем свидетельствовало снижение значения $AUC_{10:00-14:00}$ для тестостерона в группе Д + ИС в сравнении с контролем (табл. 4).

С помощью ПЦР в реальном времени в гипоталамусе крыс оценивали экспрессию генов, кодирующих рецепторные белки и факторы, регулирующие пищевое поведение. Экспрессия генов рецепторов инсулина (*InsR*) и лептина (*ObRb*), а также фосфатазы РТР1В (*Ptp1B*), негативного регулятора инсулинового и лептино-

Табл. 4. Уровни тиреоидных гормонов и суточная динамика уровня тестостерона у самцов крыс с СД2 и влияние на эти показатели лечения ИИ и ИС

Показатель	К	Д	Д + ИИ	Д + ИС	Д + ИИ + ИС
fT4, пМ	27,8 ± 1,3	23,2 ± 1,0 ^a	26,3 ± 0,7 ^b	22,2 ± 0,9 ^{a, c}	25,8 ± 0,9
tT4, нМ	92,2 ± 5,0	74,2 ± 5,0 ^a	98,2 ± 5,9 ^b	79,2 ± 4,7 ^c	91,3 ± 5,8 ^b
fT3, пМ	3,88 ± 0,12	3,40 ± 0,16 ^a	3,80 ± 0,14	3,01 ± 0,17 ^{a, c}	3,61 ± 0,16
tT3, нМ	2,64 ± 0,12	1,99 ± 0,14 ^a	2,69 ± 0,16 ^b	1,86 ± 0,13 ^{a, c}	2,36 ± 0,14
T, нМ (10,00)	13,42 ± 2,10	10,10 ± 1,70	10,68 ± 0,49	9,98 ± 1,57	11,32 ± 1,23
T, нМ (12,00)	17,97 ± 2,15	12,65 ± 1,65	16,33 ± 1,83	10,88 ± 1,05 ^{a, c}	13,88 ± 1,34
T, нМ (14,00)	15,33 ± 1,09	11,03 ± 1,60	12,72 ± 1,36	11,15 ± 1,43 ^a	14,22 ± 1,70
Тестостерон, AUC _{10:00–14:00} [*]	64,7 ± 6,8	46,4 ± 5,6	56,1 ± 5,0	42,9 ± 3,7 ^a	53,3 ± 4,4

Примечание: * — интегрированная площадь под кривой «концентрация тестостерона, нМ — время (10:00–14:00)». Различия с группами К (^a) или Д (^b) и между группой Д + ИИ и группами Д + ИС и Д + ИИ + ИС (^c) статистически значимы при $p < 0,05$. M ± SEM, n = 6.

Table 4. Levels of thyroid hormones and daily dynamics of testosterone levels in male rats with DM2 and the effect of II and IC treatment on these parameters

Indicator	C	D	D + II	D + IC	D + II + IC
fT4, pM	27.8 ± 1.3	23.2 ± 1.0 ^a	26.3 ± 0.7 ^b	22.2 ± 0.9 ^{a, c}	25.8 ± 0.9
tT4, nM	92.2 ± 5.0	74.2 ± 5.0 ^a	98.2 ± 5.9 ^b	79.2 ± 4.7 ^c	91.3 ± 5.8 ^b
fT3, pM	3.88 ± 0.12	3.40 ± 0.16 ^a	3.80 ± 0.14	3.01 ± 0.17 ^{a, c}	3.61 ± 0.16
tT3, nM	2.64 ± 0.12	1.99 ± 0.14 ^a	2.69 ± 0.16 ^b	1.86 ± 0.13 ^{a, c}	2.36 ± 0.14
T, nM (10.00)	13.42 ± 2.10	10.10 ± 1.70	10.68 ± 0.49	9.98 ± 1.57	11.32 ± 1.23
T, nM (12.00)	17.97 ± 2.15	12.65 ± 1.65	16.33 ± 1.83	10.88 ± 1.05 ^{a, c}	13.88 ± 1.34
T, nM (14.00)	15.33 ± 1.09	11.03 ± 1.60	12.72 ± 1.36	11.15 ± 1.43 ^a	14.22 ± 1.70
Testosterone, AUC _{10:00–14:00} [*]	64.7 ± 6.8	46.4 ± 5.6	56.1 ± 5.0	42.9 ± 3.7 ^a	53.3 ± 4.4

Note: *—integrated area under the curve “testosterone concentration, nM — time (10:00–14:00)”. Differences compared to the C (^a) or D (^b) groups and between the D + II group and the D + IC and D + II + IC (^c) groups are significant at $p < 0.05$. M ± SEM, n = 6.

вого сигналинга, при СД2 не менялась (табл. 5). Лечение ИИ и комбинаций ИИ и ИС снижало экспрессию гена *InsR* и повышало экспрессию гена *Ptp1B*, слабо влияя на экспрессию гена *ObRb* (табл. 5). ИС, напротив, повышал экспрессию генов *InsR* и *ObRb*, причем для инсулинового рецептора различия были значимыми по отношению к группе К, для лептинового рецептора — по отношению к группе Д (табл. 5). Экспрессия гена *Mc4R* снижалась в группе Д и восстанавливалась при обоих вариантах лечения с ИИ (табл. 5). Экспрессия гена *DIR*, кодирующего ДР 1-го типа, во всех группах не менялась, в то время как экспрессия гена *D2R*,

кодирующего ДР 2-го типа, снижалась в группе Д и восстанавливалась в группе Д + ИИ (табл. 5). При этом восстанавливалось и соотношение экспрессии генов *DIR* и *D2R*, которое в группе Д составило 1,65, а в группе Д + ИИ — 1,09. При СД2 отмечали повышение экспрессии генов, кодирующих факторы пищевого поведения — ПОМК (*POMC*), прекурсор анорексигенных меланокортиновых пептидов, и орексигенные факторы — нейропептид Y и агути-подобный пептид (*Npy*, *Agrp*), причем в наибольшей степени повышалась экспрессия гена *Npy* (табл. 5). Лечение ИИ и смесью ИИ и ИС повышало экспрессию гена *POMC* и подавляло экспрессию

Табл. 5. Экспрессия мРНК для компонентов сигнальных систем в гипоталамусе крыс с СД2 и влияние ИИ и ИС

Показатель	К	Д	Д + ИИ	Д + ИС	Д + ИИ + ИС
<i>InsR</i>	1,01 ± 0,06	1,25 ± 0,12	0,47 ± 0,06 ^{a, b}	1,64 ± 0,22 ^{a, c}	0,51 ± 0,08 ^{a, b}
<i>ObRb</i>	1,00 ± 0,11	0,89 ± 0,08	0,81 ± 0,08	1,38 ± 0,14 ^{b, c}	0,82 ± 0,10
<i>Ptp1B</i>	1,00 ± 0,05	0,91 ± 0,04	1,46 ± 0,15 ^{a, b}	0,97 ± 0,17	1,80 ± 0,18 ^{a, b}
<i>Mc4R</i>	1,02 ± 0,07	0,62 ± 0,09 ^a	0,87 ± 0,06 ^b	0,65 ± 0,10 ^a	0,92 ± 0,12
<i>D1R</i>	1,01 ± 0,14	1,14 ± 0,15	1,00 ± 0,11	1,09 ± 0,20	0,88 ± 0,12
<i>D2R</i>	1,02 ± 0,10	0,69 ± 0,09 ^a	0,92 ± 0,06	0,77 ± 0,12	0,78 ± 0,10
<i>POMC</i>	1,00 ± 0,04	1,37 ± 0,13 ^a	3,16 ± 0,42 ^{a, b}	1,10 ± 0,12 ^c	2,87 ± 0,44 ^{a, b}
<i>Agrp</i>	1,00 ± 0,05	1,36 ± 0,14 ^a	1,07 ± 0,11	1,40 ± 0,22	1,10 ± 0,12
<i>Npy</i>	1,01 ± 0,04	2,49 ± 0,33 ^a	1,29 ± 0,18 ^b	2,38 ± 0,34 ^{a, c}	1,54 ± 0,15 ^{a, b}

Примечание: значения экспрессии представлены в относительных единицах (RQ) по отношению к контролю. Различия с группами К (^a) или Д (^b) и между группой Д + ИИ и группами Д + ИС и Д + ИИ + ИС (^c) статистически значимы при $p < 0,05$. Данные представлены как $M \pm SEM$, $n = 6$.

Table 5. Expression of mRNA for components of signaling systems in the hypothalamus of rats with DM2 and the influence of II and IC

Indicator	C	D	D + II	D + IC	D + II + IC
<i>InsR</i>	1.01 ± 0.06	1.25 ± 0.12	0.47 ± 0.06 ^{a, b}	1.64 ± 0.22 ^{a, c}	0.51 ± 0.08 ^{a, b}
<i>ObRb</i>	1.00 ± 0.11	0.89 ± 0.08	0.81 ± 0.08	1.38 ± 0.14 ^{b, c}	0.82 ± 0.10
<i>Ptp1B</i>	1.00 ± 0.05	0.91 ± 0.04	1.46 ± 0.15 ^{a, b}	0.97 ± 0.17	1.80 ± 0.18 ^{a, b}
<i>Mc4R</i>	1.02 ± 0.07	0.62 ± 0.09 ^a	0.87 ± 0.06 ^b	0.65 ± 0.10 ^a	0.92 ± 0.12
<i>D1R</i>	1.01 ± 0.14	1.14 ± 0.15	1.00 ± 0.11	1.09 ± 0.20	0.88 ± 0.12
<i>D2R</i>	1.02 ± 0.10	0.69 ± 0.09 ^a	0.92 ± 0.06	0.77 ± 0.12	0.78 ± 0.10
<i>POMC</i>	1.00 ± 0.04	1.37 ± 0.13 ^a	3.16 ± 0.42 ^{a, b}	1.10 ± 0.12 ^c	2.87 ± 0.44 ^{a, b}
<i>Agrp</i>	1.00 ± 0.05	1.36 ± 0.14 ^a	1.07 ± 0.11	1.40 ± 0.22	1.10 ± 0.12
<i>Npy</i>	1.01 ± 0.04	2.49 ± 0.33 ^a	1.29 ± 0.18 ^b	2.38 ± 0.34 ^{a, c}	1.54 ± 0.15 ^{a, b}

Note: Expression values are presented in relative units (RQ) relative to control. Differences compared to the C (^a) or D (^b) groups and between the D + II group and the D + IC and D + II + IC (^c) groups are significant at $p < 0.05$. $M \pm SEM$, $n = 6$.

гена *Npy*, в то время как монотерапия ИС не влияла на экспрессию этих генов и их соотношение (табл. 5).

Обсуждение

Дефицит инсулина и лептина в мозге при различных формах диабета приводит не только к запуску нейродегенеративных процессов в ЦНС, но и к нарушению центральной (гипо-

таламической) регуляции метаболизма и эндокринной системы (Huang et al. 2018; Shpakov et al. 2015; Varela, Horvath 2012). Такой дефицит может наблюдаться не только при СД1 и при декомпенсированных формах СД2 с нарушенной инсулин-продуцирующей функцией панкреатических β -клеток, когда уровень инсулина в кровотоке снижен, но и на начальных стадиях СД2 и метаболического синдрома, когда в условиях повышенного уровня инсулина в крови

вследствие инсулиновой резистентности рецептор-опосредуемый транспорт инсулина в мозг нарушен. Тем самым, несмотря на системную гиперинсулинемию, уровень инсулина в мозге снижен, что продемонстрировано нами ранее у агути-мышей с генетически обусловленным меланокортиновым типом ожирения (Derkach et al. 2019; Romanova et al. 2018), а также у мышей и крыс с метаболическим синдромом, вызванным высококалорийной диетой (Romanova et al. 2018). Имеются данные о том, что у СД2-пациентов с гиперинсулинемией значительно снижен уровень инсулина в цереброспинальной жидкости, что также свидетельствует о нарушении транспорта инсулина через ГЭБ (Hu et al. 2013). Сходная ситуация наблюдается и для лептина, когда в условиях гиперлептинемии его содержание в мозге снижается (Derkach et al. 2019; Romanova et al. 2018).

В настоящем исследовании нами впервые было показано, что у крыс с моделью СД2, вызванной длительной высокожировой диетой и низкой дозой стрептозотоцина, несмотря на отчетливо выраженную гиперинсулинемию и гиперлептинемию, уровни инсулина и лептина в гипоталамусе снижены. Это ассоциировано с нарушенной толерантностью к глюкозе и повышением индекса инсулиновой резистентности (произведение базовых концентраций глюкозы и инсулина в крови), который в группе Д был на 93% выше, чем в контроле. Поскольку транспорт инсулина и лептина через ГЭБ осуществляется в основном через посредство их рецепторов, то развитие инсулиновой и лептиновой резистентности может рассматриваться как одна из ключевых причин снижения эффективности такого транспорта и развития дефицита инсулина и лептина в ЦНС. Необходимо отметить, что уровень генной экспрессии рецепторов инсулина и лептина в ЦНС, как мы полагаем, отрицательно коррелирует с эффективностью их транспорта. Так, показано, что при повышенном уровне экспрессии гена лептинового рецептора у агути-мышей с сильно выраженной гиперлептинемией транспорт лептина в глиальные клетки и микрососуды головного мозга существенно снижен (Pan et al. 2008). Следует отметить, что хотя для лептина в последние годы предлагаются альтернативные механизмы транспорта через ГЭБ, независимые от полноразмерных лептиновых рецепторов ObRb, подтверждений эти рецептор-независимые механизмы пока не получили (Sandin et al. 2021).

Использование ИИ как при монотерапии, так и совместно с ИС приводило к повышению уровня инсулина в ЦНС, компенсаторному снижению экспрессии гена инсулиновых рецепторов и повышению экспрессии негативного регулятора инсулинового сигналинга — фосфатазы РТР1В. Исследуя мышей, другие авторы также продемонстрировали повышение уровня инсулина в структурах мозга после его интраназального введения, но не выявили значимого снижения экспрессии рецепторов инсулина, что может быть обусловлено краткосрочным воздействием ИИ (Rhea et al. 2017; 2019). Повышение экспрессии и активности РТР1В в гипоталамусе приводит к дефосфорилированию и инактивации рецептора инсулина, стимулированного ИИ, что подавляет передачу инсулинового сигнала. РТР1В и родственная ей Т-клеточная фосфатаза являются основными негативными регуляторами инсулинового и лептинового сигналинга в гипоталамусе (Zhang et al. 2015). Важно отметить, что в наших экспериментах ИИ слабо влиял на уровни лептина и экспрессию лептиновых рецепторов в гипоталамусе.

Монотерапия ИИ лишь в небольшой степени влияла на глюкозный гомеостаз и базовые уровни инсулина, лептина, ГПП-1 и грелина, но при этом восстанавливала их ответы на глюкозную нагрузку в ОГТТ и улучшала тиреоидный статус, значимо повышая сниженные при СД2 уровни fT4, tT4 и tT3. Эти эффекты могут быть обусловлены нормализацией гипоталамической сигнализации, что выражается в восстановлении соотношения экспрессии DR 2 и 1 типов и экспрессии МК4R, сниженных при СД2, а также в изменении соотношения орексигенного нейропептида Y и ПОМК, прекурсора анорексигенных меланокортиновых пептидов, агонистов МК4R в пользу последних. Известно, что повышение активности МК4R-опосредуемых путей в гипоталамусе и снижение продукции нейропептида Y повышают активность тиролиберин-экспрессирующих нейронов и, как следствие, активируют тиреоидную ось, повышая синтез тиреоидных гормонов тироцитами щитовидной железы (Fekete et al. 2006; McCarty 1995). Нельзя исключить, что определенный вклад в стимуляцию секреции тиролиберина вносит инсулин-индуцированная активация лептиновой системы в гипоталамусе и стимуляция общих для инсулина и лептина компонентов 3-фосфоинозитидного пути, участвующих в позитивной регуляции тиреоидной оси (Ghamari-Langroudi et al. 2010). Развитие лептиновой и инсулиновой

резистентности и обусловленное этим нарушение транспорта лептина и инсулина из кровотока к гипоталамическим нейронам, наряду с гипергликемией и дислипидемией, являются одними из основных факторов дисфункций щитовидной железы при СД2 (Biondi et al. 2019). Нами показано, что даже непродолжительное лечение ИИ диабетических крыс, которое улучшает инсулиновую и лептиновую сигнализацию в гипоталамусе, приводит к восстановлению тиреоидной оси, повышая как уровень ТТГ, так и уровни тиреоидных гормонов. Ранее на моделях СД1 нами было продемонстрировано отчетливо выраженное стимулирующее влияние ИИ на продукцию ТТГ и тиреоидных гормонов, и обнаружена гиперпродукция ТТГ при длительном введении ИИ здоровым крысам (Derkach et al. 2015). Нами показано, что ИИ сравнительно слабо влиял на уровень ЛГ и андрогенный статус у СД2-крыс, хотя известно, что снижение экспрессии нейропептида Y и усиление активности меланокортиновой системы (повышение экспрессии генов МК4Р и ПОМК) должно было бы приводить к отчетливо выраженной стимуляции гонадной оси (Hill et al. 2008; Navarro, Kaiser 2013; Shprakov 2021). Возможно, это обусловлено необратимыми изменениями в семенниках при длительном СД2, которые не позволяют эффективно восстановить тестикулярный стероидогенез через центральные механизмы.

Монотерапия ИС практически не влияла на исследуемые метаболические и гормональные показатели, и даже в небольшой степени усиливала гиперфагию. Не было выявлено потенцирования восстанавливающего эффекта ИИ при совместном применении с ИС. Это отличает СД2 с ожирением и гиперинсулинемией от инсулинодефицитных моделей диабетической патологии — СД1 и неонатальной стрептозотоциновой модели СД2, изученных нами ранее (Derkach et al. 2018a; 2018b; 2019a; 2019b). Более того, по ряду показателей восстанавливающие эффекты ИИ в комбинации с ИС даже ослаблялись. Причина этого может быть связана с избытком С-пептида в мозге при изучаемой форме СД2. Поскольку в панкреатических β -клетках С-пептид и инсулин образуются в эквимолярных соотношениях и, в дополнение к этому, время полужизни С-пептида в кровотоке существенно выше, чем у инсулина, то при СД2 с гиперинсулинемией развивается также гипер-С-пептидемия (Alves et al. 2019). Имеются все основания полагать, что повышение уровня С-пептида в крови ассоциировано

с повышением содержания С-пептида в мозге, тем более что рецепторный механизм в транспорте С-пептида через ГЭБ, который мог бы меняться в условиях гипер-С-пептидемии, не показан. Имеются данные о том, что повышенные уровни С-пептида при СД2 и ожирении могут негативно влиять на функционирование микрососудов головного мозга и быть причиной ряда функциональных расстройств нервной и сердечно-сосудистой систем (Alves et al. 2019; Chen et al. 2021; Wang et al. 2021). В основе этого лежит доказанное тромболитическое действие С-пептида при его высоких концентрациях, а также стимулирующее влияние С-пептида на рост гладкомышечных клеток сосудов, приводящее к атеросклеротическим изменениям (Alves et al. 2019). Тем самым выдвинутая нами гипотеза о возможности усиления инсулинового сигналинга в мозге при СД2 с ожирением и периферической гиперинсулинемией при комбинированном использовании ИИ и ИС не получила подтверждения. Напротив, наши данные свидетельствуют о нецелесообразности использования С-пептида как отдельно, так и совместно с инсулином в условиях системной гиперинсулинемии, характерной для раннего СД2, метаболического синдрома и ожирения.

Таким образом, у крыс с диет-индуцированным СД2 монотерапия ИИ нормализовала сниженный при диабете уровень инсулина в гипоталамусе, улучшала глюкозный гомеостаз, тиреоидный статус, ответы инсулина, лептина и инкретинов на глюкозную нагрузку. В гипоталамусе ИИ восстанавливал экспрессию генов ПОМК и МК4Р, опосредующих снижение аппетита, и снижал экспрессию гена орексигенного нейропептида Y. В отличие от инсулинодефицитных форм СД1 и СД2, изученных нами ранее (Derkach et al., 2018a; 2018b; 2019a; 2019b), при СД2 с гиперинсулинемией и ожирением совместное применение ИИ и ИС не усиливало восстанавливающий эффект ИИ, в то время как монотерапия с ИС была неэффективной и даже усугубляла негативное влияние СД2 на пищевое поведение. Эти результаты показывают, что при СД2 применение ИС нецелесообразно, в том числе в комбинации с ИИ. Мы полагаем, что это обусловлено системным повышением уровня С-пептида при СД2 с гиперинсулинемией и его беспрепятственным поступлением к гипоталамическим структурам. Тем самым при СД2 с гиперинсулинемией необходимость доставки дополнительных количеств С-пептида в мозг отпадает. При этом применение ИИ оправдано,

поскольку уровень инсулина в ЦНС, в том числе в гипоталамусе, значимо снижен вследствие ослабления его рецептор-опосредуемого транспорта через ГЭБ, вызванного инсулиновой резистентностью.

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. Андрей Андреевич Бахтыков — проведение экспериментов, анализ экспериментальных данных, статистическая обработка результатов, подготовка графических материалов;

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

г. Вера Михайловна Бондарева — проведение экспериментов;

д. Александр Олегович Шпаков — подготовка и корректировка рукописи.

Author Contributions

а. Kira V. Derkach—conducted experiments, analysed experimental data, carried out statistical

data processing, prepared supporting materials, prepared and proofread the manuscript;

б. Andrey A. Bakhtyukov—conducted experiments, analysed experimental data, carried out statistical data processing, prepared supporting materials;

в. Nataliia E. Basova—analysed experimental data, carried out statistical data processing, prepared supporting materials, prepared the manuscript;

г. Vera M. Bondareva—conducted experiments;

д. Alexander O. Shpakov—prepared and proofread the manuscript.

Список сокращений

СД2 — сахарный диабет 2 типа; ИИ — интраназальный вводимый инсулин; СД1 — сахарный диабет 1 типа; ИС — интраназально вводимый С-пептид; ГЭБ — гематоэнцефалический барьер; ОГТТ — оральная глюкозотолерантная проба; HbA1c — гликированный гемоглобин; ГПП-1 — глюкагоноподобный пептид-1; ЛГ — лютеинизирующий гормон; ТТГ — тиреотропный гормон; fT4 — свободный тироксин; tT4 — общий тироксин; fT3 — свободный трийодтиронин; tT3 — общий трийодтиронин; Д — группа диабет без лечения; Д + ИИ — группа диабет с лечением интраназальным вводимым инсулином; Д + ИС — группа диабет с лечением интраназальным вводимым С-пептидом; Д + ИИ + ИС — диабет с лечением комбинацией интраназально вводимых инсулина и С-пептида; К — группа контроль.

List of abbreviations

DM2—type 2 diabetes mellitus; II—intranasal injected insulin; DM1—type 1 diabetes mellitus; IC—intranasally administered C-peptide; BBB—blood-brain barrier; OGTT—oral glucose tolerance test; HbA1c—glycated hemoglobin; GLP-1—glucagon-like peptide-1; LH—luteinizing hormone; TSH—thyroid-stimulating hormone; fT4—free thyroxine; tT4—total thyroxine; fT3—free triiodothyronine; tT3—total triiodothyronine; D—diabetes without treatment; D + II—diabetes treated with intranasal insulin; D + IC—diabetes treated with intranasal C-peptide; D+II+IC—diabetes with combined treatment of intranasally administered insulin and C-peptide; C—control group.

References

Al-Mrabeh, A. (2021) β -Cell dysfunction, hepatic lipid metabolism, and cardiovascular health in type 2 diabetes: New directions of research and novel therapeutic strategies. *Biomedicines*, vol. 9, no. 2, article 226. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9020226> (In English)

- Alves, M. T., Ortiz, M. M. O., Dos Reis, G. V. O. P. et al. (2019) The dual effect of C-peptide on cellular activation and atherosclerosis: Protective or not? *Diabetes Metabolism Research and Reviews*, vol. 35, no. 1, article e3071. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3071> (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)
- Biondi, B., Kahaly, G. J., Robertson, R. P. (2019) Thyroid dysfunction and diabetes mellitus: Two closely associated disorders. *Endocrine Reviews*, vol. 40, no. 3, pp. 789–824. <https://doi.org/10.1210/er.2018-00163> (In English)
- Chen, Z., He, J., Ma, Q., Xiao, M. (2021) Association between c-peptide level and subclinical myocardial injury. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*. vol. 12, article 680501. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.680501> (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. V., Bondareva, V. M., Shpakov, A. O. (2019a) Regulatory effects of intranasal C-peptide and insulin on thyroid and androgenic status of male rats with moderate type 1 diabetes mellitus. *Journal of Evolutional Biochemistry and Physiology*, vol. 55, no. 6, pp. 493–496. <https://doi.org/10.1134/S0022093019060073> (In English)
- Derkach, K. V., Bondareva, V. M., Perminova, A. A., Shpakov, A. O. (2019b) C-peptide and insulin during combined intranasal administration improve the metabolic parameters and activity of the adenylate cyclase system in the hypothalamus, myocardium, and epididymal fat of rats with type 2 diabetes. *Cell Tissue Biology*, vol. 13, no. 3, pp. 228–236. <https://doi.org/10.1134/S1990519X19030039> (In English)
- Derkach, K. V., Ivantsov, A. O., Chistyakova, O. V. et al. (2017) Intranasal insulin restores metabolic parameters and insulin sensitivity in rats with metabolic syndrome. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 163, no. 2, pp. 184–189. <https://doi.org/10.1007/s10517-017-3762-6> (In English)
- Derkach, K. V., Shpakova, E. A., Bondareva, V. M. et al. (2018b) The effect of intranasal administration of proinsulin C-peptide and its C-terminal fragment on metabolic parameters in rats with streptozotocin diabetes. *Journal of Evolutional Biochemistry and Physiology*, vol. 54, no. 3, pp. 242–245. <https://doi.org/10.1134/S0022093018030092> (In English)
- Derkach, K. V., Shpakova, E. A., Titov, A. M. et al. (2015) Intranasal and intramuscular administration of lysine-palmitoylated peptide 612–627 of thyroid-stimulating hormone receptor increases the level of thyroid hormones in rats. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, vol. 21, no. 3, pp. 249–260. <https://doi.org/10.1007/s10989-014-9452-6> (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)
- Fekete, C., Singru, P. S., Sanchez, E. et al. (2006) Differential effects of central leptin, insulin, or glucose administration during fasting on the hypothalamic-pituitary-thyroid axis and feeding-related neurons in the arcuate nucleus. *Endocrinology*, vol. 147, no. 1, pp. 520–529. <https://doi.org/10.1210/en.2005-0956> (In English)
- Ghamari-Langroudi, M., Vella, K. R., Srisai, D. et al. (2010) Regulation of thyrotropin-releasing hormone-expressing neurons in paraventricular nucleus of the hypothalamus by signals of adiposity. *Molecular Endocrinology*, vol. 4, no. 12, pp. 2366–2381. <https://doi.org/10.1210/me.2010-0203> (In English)
- Hill, J. W., Elmquist, J. K., Elias, C. F. (2008) Hypothalamic pathways linking energy balance and reproduction. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, vol. 294, no. 5, pp. E827–E832. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00670.2007> (In English)
- Hu, S.-H., Jiang, T., Yang, S.-S., Yang, Y. (2013) Pioglitazone ameliorates intracerebral insulin resistance and tau-protein hyperphosphorylation in rats with type 2 diabetes. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, vol. 121, no. 4, pp. 220–224. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1333277> (In English)
- Huang, Y., He, Z., Gao, Y. et al. (2018) Phosphoinositide 3-Kinase is integral for the acute activity of leptin and insulin in male arcuate NPY/AgRP Neurons. *Journal of the Endocrine Society*, vol. 2, no. 6, pp. 518–532. <https://doi.org/10.1210/js.2018-00061> (In English)
- Kashyap, B., Hanson, L. R., Frey II, W. H. (2020) Intranasal insulin: A treatment strategy for addiction. *Neurotherapeutics*, vol. 17, no. 1, pp. 105–115. <https://doi.org/10.1007/s13311-019-00822-4> (In English)
- Lee, S.-H., Park, S.-Y., Choi, C.-S. (2022) Insulin resistance: From mechanisms to therapeutic strategies. *Diabetes and Metabolism Journal*, vol. 46, no. 1, pp. 15–37. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0280> (In English)
- Lu, J., Xu, Z. (2019) Efficacy of intranasal insulin in improving cognition in mild cognitive impairment and alzheimer disease: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Therapy*, vol. 26, no. 6, pp. e756–e762. <https://doi.org/10.1097/MJT.0000000000000926> (In English)
- McCarty, M. F. (1995) Central insulin may up-regulate thyroid activity by suppressing neuropeptide Y release in the paraventricular nucleus. *Medicine Hypotheses*, vol. 45, no. 2, pp. 193–199. [https://doi.org/10.1016/0306-9877\(95\)90068-3](https://doi.org/10.1016/0306-9877(95)90068-3) (In English)

- Navarro, V. M., Kaiser, U. B. (2013) Metabolic influences on neuroendocrine regulation of reproduction. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, vol. 20, no. 4, pp. 335–341. <https://doi.org/10.1097/MED.0b013e32836318ce> (In English)
- Pan, W., Hsueh, H., He, Y. et al. (2008) Astrocyte leptin receptor (ObR) and leptin transport in adult-onset obese mice. *Endocrinology*, vol. 149, no. 6, pp. 2798–2806. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1673> (In English)
- Rhea, E. M., Humann, S. R., Nirkhe, S. et al. (2017) Intranasal insulin transport is preserved in aged samp8 mice and is altered by albumin and insulin receptor inhibition. *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 7, no. 1, pp. 241–252. <https://doi.org/10.3233/JAD-161095> (In English)
- Rhea, E. M., Nirkhe, S., Nguyen, S. et al. (2019) Molecular mechanisms of intranasal insulin in SAMP8 mice. *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 71, no. 4, pp. 1361–1373. <https://doi.org/10.3233/JAD-190707> (In English)
- Romanova, I. V., Derkach, K. V., Mikhrina, A. L. et al. (2018) Leptin, dopamine and serotonin receptors in hypothalamic POMC-neurons of normal and obese rodents. *Neurochemical Research*, vol. 43, no. 4, pp. 821–837. <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2485-z> (In English)
- Sandin, E. S., Folberth, J., Müller-Fielitz, H. et al. (2021) Is LRP2 involved in leptin transport over the blood-brain barrier and development of obesity? *International Journal of Molecular Science*, vol. 22, no. 9, article 4998. <https://doi.org/10.3390/ijms22094998> (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)
- Siacqua, A., Succurro, E., Armentaro, G. et al. (2021) Pharmacological treatment of type 2 diabetes in elderly patients with heart failure: Randomized trials and beyond. *Heart Failure Reviews*. [Online]. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10741-021-10182-x> (accessed 17.01.2022). (In English)
- Serbis, A., Giapros, V., Kotanidou, E. P. et al. (2021) Diagnosis, treatment and prevention of type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *World Journal of Diabetes*, vol. 12, no. 4, pp. 344–365. <https://doi.org/10.4239/wjd.v12.i4.344> (In English)
- Shaughness, M., Acs, D., Brabazon, F. (2020) Role of insulin in neurotrauma and neurodegeneration: A review. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 14, article 547175. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.547175> (In English)
- Shen, J., Greenberg, B. H. (2021) Diabetes management in patients with heart failure. *Diabetes Metabolism Journal*, vol. 45, no. 2, pp. 158–172. <https://doi.org/10.4093/dmj.2020.0296> (In English)
- Shpakov, A. O. (2017) Mechanisms of action and therapeutic potential of proinsulin C-peptide. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 53, no. 3, pp. 180–190. <https://doi.org/10.1134/S0022093017030024> (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., 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)
- Shpakov, A. O., Derkach, K. V., Surkova, E. V. et al. (2019) Perspektivy primeneniya intranazal'no vvodimogo insulina dlya korrektsii metabolicheskikh i gormonal'nykh narushenij pri sakharnom diabete i metabolicheskom sindrome [Prospects for the use of intranasally administered insulin for the correction of metabolic and hormonal disorders in diabetes mellitus and metabolic syndrome]. *Problemy endokrinologii — Problems of Endocrinology*, vol. 65, no. 5, pp. 389–395. <https://doi.org/10.14341/probl9960> (In Russian)
- Sukhov, I. B., Derkach, K. V., Chistyakova, O. V. et al. (2016) Functional state of hypothalamic signaling systems in rats with type 2 diabetes mellitus treated with intranasal insulin. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 52, no. 3, pp. 204–216. <https://doi.org/10.1134/S0022093016030030> (In English)
- Sukhov, I. B., Shipilov, V. N., Chistyakova, O. V. et al. (2013) Long-term intranasal insulin administration improves spatial memory in male rats with prolonged type 1 diabetes mellitus and in healthy rats. *Doklady Biological Science*, vol. 453, no. 5, pp. 349–352. <https://doi.org/10.1134/S001249661306015X> (In English)
- Varela, L., Horvath, T. L. (2012) Leptin and insulin pathways in POMC and AgRP neurons that modulate energy balance and glucose homeostasis. *EMBO Reports*, vol. 13, no. 12, pp. 1079–1086. <https://doi.org/10.1038/embor.2012.174> (In English)
- Wang, Y., Sun, W., Miao, J. et al. (2021) Higher fasting C-peptide is associated with post-stroke depression: A multicenter prospective cohort study. *BMC Neurology*, vol. 21, no. 1, article 383. <https://doi.org/10.1186/s12883-021-02413-3> (In English)
- Washburn, R. L., Mueller, K., Kaur, G. et al. (2021) C-Peptide as a therapy for type 1 diabetes mellitus. *Biomedicines*, vol. 9, no. 3, article 270. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9030270> (In English)
- Wysham, C., Shubrook, J. (2020) Beta-cell failure in type 2 diabetes: Mechanisms, markers, and clinical implications. *Postgraduate Medicine*, vol. 132, no. 8, pp. 676–686. <https://doi.org/10.1080/00325481.2020.1771047> (In English)
- Zakharova, I. O., Bayunova, L. V., Zorina, I. I. et al. (2021) Insulin and α -tocopherol enhance the protective effect of each other on brain cortical neurons under oxidative stress conditions and in rat two-vessel forebrain ischemia/

reperfusion injury. *International Journal of Molecular Science*, vol. 22, no. 21, article 11768. <https://doi.org/10.3390/ijms222111768> (In English)

Zhang, Z.-Y., Dodd, G. T., Tiganis, T. (2015) Protein tyrosine phosphatases in hypothalamic insulin and leptin signaling. *Trends in Pharmacological Science*, vol. 36, no. 10, pp. 661–674. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.07.003> (In English)



УДК 57.085.23 + 577.353.2 + 577.29

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-58-68>

Применение методов атомно-силовой микроскопии и органотипической культуры ткани для исследования действия на мембрану сенсорного нейрона аргининсодержащего короткого пептида, претендующего на роль анальгетической лекарственной субстанции

М. М. Халисов^{✉1}, В. А. Пеннийнен¹, А. В. Анкудинов², С. А. Подзорова¹, Б. В. Крылов¹

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

Максим Миндигалеевич Халисов, SPIN-код: [5815-3655](#), Scopus AuthorID: [56771519000](#), Researcher ID: [G-2826-2015](#), e-mail: hamax@list.ru

Валентина Альбертовна Пеннийнен, SPIN-код: [6610-3718](#), Scopus AuthorID: [6603501257](#), Researcher ID: [Q-3979-2016](#), e-mail: pvalentina2@yandex.ru

Александр Витальевич Анкудинов, SPIN-код: [5410-9240](#), Scopus AuthorID: [7005323821](#), Researcher ID: [C-1478-2014](#), e-mail: alexander.ankudinov@mail.ioffe.ru

Светлана Александровна Подзорова, SPIN-код: [3974-3430](#), Scopus AuthorID: [6602224180](#), Researcher ID: [ABB-8808-2020](#), e-mail: sveap@yandex.ru

Борис Владимирович Крылов, SPIN-код: [3946-6408](#), Scopus AuthorID: [7004655760](#), Researcher ID: [ABD-5044-2020](#), e-mail: krylov@infran.ru

Для цитирования: Халисов, М. М., Пеннийнен, В. А., Анкудинов, А. В., Подзорова, С. А., Крылов, Б. В. (2022) Применение методов атомно-силовой микроскопии и органотипической культуры ткани для исследования действия на мембрану сенсорного нейрона аргининсодержащего короткого пептида, претендующего на роль анальгетической лекарственной субстанции. *Интегративная физиология*, т. 3, № 1, с. 58–68. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-58-68>

Получена 6 февраля 2022; прошла рецензирование 24 февраля 2022; принята 1 марта 2022.

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

Права: © М. М. Халисов, В. А. Пеннийнен, А. В. Анкудинов, С. А. Подзорова, Б. В. Крылов (2022).

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

Аннотация. Известно, что применение опиатов для лечения хронической боли связано с возникновением негативных побочных эффектов. В связи с этим разработка новых безопасных и эффективных неопиоидных анальгетиков — актуальная задача современной науки. Ранее мы обнаружили, что на роль анальгетической лекарственной субстанции может претендовать тетрапептид Ac-RERR-NH₂, поскольку он способен снижать возбудимость ноцицептивных нейронов, ответственных за кодирование ноцицептивных сигналов. В настоящей работе приведены данные о действии субнанолярной концентрации тетрапептида Ac-RERR-NH₂ на эмбриональные сенсорные нейроны, полученные методами атомно-силовой микроскопии (АСМ) и органотипической культуры ткани. Применяли квазистатический режим АСМ PeakForce QNM, позволяющий проводить картирование локальных механических свойств клеток. Под действием исследуемого агента сенсорные нейроны демонстрировали тенденцию к уменьшению своей жесткости. Этот результат основывается на анализе данных о величинах кажущегося модуля Юнга сенсорных нейронов и их деформации, определенной с учетом проскальзывания острия зонда по изучаемой поверхности. Использование критерия индекса площади (ИП) показало, что исследуемый тетрапептид обладает выраженными нейрит-стимулирующими свойствами. Полученные данные позволяют предположить, что Ac-RERR-NH₂, действующий в очень низких концентрациях, способен запускать пока не идентифицированный внутриклеточный каскад, регулирующий рост нейритов сенсорных нейронов.

Ключевые слова: сенсорные нейроны, короткие пептиды, Ac-RERR-NH₂, атомно-силовая микроскопия, метод органотипической культуры ткани

The use of atomic force microscopy and organotypic tissue culture to study the effect of a short arginine-containing peptide with analgesic potential on the sensory neuron membrane

M. M. Khalisov[✉]¹, V. A. Penniyaynen¹, A. V. Ankudinov², S. A. Podzorova¹, B. V. Krylov¹

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

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

Authors

Maksim M. Khalisov, SPIN: [5815-3655](#), Scopus AuthorID: [56771519000](#), Researcher ID: [G-2826-2015](#), e-mail: hamax@list.ru

Valentina A. Penniyaynen, SPIN: [6610-3718](#), Scopus AuthorID: [6603501257](#), Researcher ID: [Q-3979-2016](#), e-mail: pvalentina2@yandex.ru

Alexander V. Ankudinov, SPIN: [5410-9240](#), Scopus AuthorID: [7005323821](#), Researcher ID: [C-1478-2014](#), e-mail: alexander.ankudinov@mail.ioffe.ru

Svetlana A. Podzorova, SPIN: [3974-3430](#), Scopus AuthorID: [6602224180](#), Researcher ID: [ABB-8808-2020](#), e-mail: sveap@yandex.ru

Boris V. Krylov, SPIN: [3946-6408](#), Scopus AuthorID: [7004655760](#), Researcher ID: [ABD-5044-2020](#), e-mail: krylov@infran.ru

For citation: Khalisov, M. M., Penniyaynen, V. A., Ankudinov, A. V., Podzorova, S. A., Krylov, B. V. (2022) The use of atomic force microscopy and organotypic tissue culture to study the effect of a short arginine-containing peptide with analgesic potential on the sensory neuron membrane. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 1, pp. 58–68. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-58-68>

Received 6 February 2022; reviewed 24 February 2022; accepted 1 March 2022.

Funding: This study was supported by the State Program GP-47 “Scientific and Technological Development of the Russian Federation” (2019–2030), theme 0134-2019-0001.

Copyright: © M. M. Khalisov, V. A. Penniyaynen, A. V. Ankudinov, S. A. Podzorova, B. V. Krylov (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](#).

Abstract. Opiate use to treat chronic pain is known to be associated with negative side effects. Therefore, the development of new safe and effective non-opioid analgesics is both important and urgent goal of modern science. Previously, we showed that tetrapeptide Ac-RERR-NH₂ has potential as an analgesic drug substance, since it can reduce the excitability of nociceptive neurons responsible for encoding nociceptive signals. The effect of sub-nanomolar concentration of Ac-RERR-NH₂ tetrapeptide on embryonic sensory neurons was investigated with the use of atomic force microscopy (AFM) and organotypic tissue culture method. The quasi-static PeakForce QNM AFM mode was used, which allows mapping of local mechanical cell properties. Following administration of the substance, sensory neurons tended to decrease their stiffness. This result is based on the analysis of the values of the apparent Young’s modulus of sensory neurons and their deformation, controlled for the slipping of the tip of the probe over the surface under study. The area index (AI) criterion showed that the studied tetrapeptide has pronounced neurite-stimulating properties. The data obtained suggest that Ac-RERR-NH₂, acting at very low concentrations, is able to trigger an as yet unidentified intracellular cascade regulating the growth of neurites of sensory neurons.

Keywords: sensory neurons, short peptides, Ac-RERR-NH₂, atomic force microscopy, organotypic nerve culture method

Введение

Ранее с помощью метода локальной фиксации потенциала было обнаружено, что субстанция эндогенной природы убаин в наномолярных концентрациях (ЭУ) является сильным анальгетиком (Plakhova et al. 2020). Помимо проявления анальгетических свойств, ЭУ вызывает увеличение жесткости сенсорных нейронов и ингибирование роста нейритов эмбриональных нервных клеток (Халисов и др. 2017; Plakhova

et al. 2020). Согласно нашей гипотезе, действие ЭУ объясняется активацией трансдукторной функции комплекса Na⁺/K⁺-АТФ-аза/Src, ведущей к запуску MAP-киназного пути p38 и к снижению экспрессии каналов Na_v1.8. В результате уменьшается плотность этих каналов в цитоплазматической мембране нейрона, что делает ее более гомогенной. По-видимому, именно этими эффектами объясняется увеличение жесткости ноцицептивного нейрона при воздействии очень низких (субнаномолярных) концентраций

исследуемого агента (Пенниайнен и др. 2020; Халисов и др. 2021; Plakhova et al. 2020). Действие ЭУ принципиально отличается от действия коеновой кислоты, также претендующей на роль анальгетической лекарственной субстанции. Коеновая кислота обладает нейростимулирующими свойствами, но не влияет на механические характеристики ноцицептивных нейронов. Активация MAPK-каскада ERK1/2 не вызывает изменения экспрессии генов *SCN10A*, продуцирующих каналы $\text{Na}_v1.8$, в отличие от ЭУ (Халисов и др. 2017; Rogachevskii et al. 2022).

Тетрапептид Ac-RERR-NH₂, фрагмент молекулы эндогенного антибиотика дефенсина NP-1, также может претендовать на роль анальгетической лекарственной субстанции — благодаря своей способности модулировать потенциалочувствительность медленных натриевых каналов ($\text{Na}_v1.8$), участвующих в первичном сенсорном кодировании ноцицептивных сигналов. Действуя с наружной стороны мембраны в концентрации 100 нМ, данный агент снижал величину эффективного заряда активационного воротного устройства этих каналов (Рогачевский и др. 2021). Настоящая работа посвящена исследованию эффектов действия указанного агента, примененного в сниженной в тысячу раз концентрации. Для этого мы использовали высокочувствительные методы атомно-силовой микроскопии и органотипической культуры ткани, позволяющие проводить прижизненные исследования нервных клеток.

Методы исследования

Атомно-силовая микроскопия

В основе метода атомно-силовой микроскопии (АСМ) (Binnig et al. 1986), позволяющего изучать поверхности широкого спектра материалов, лежит силовое взаимодействие между исследуемой поверхностью и зондовым датчиком (кантилевером). Последний представляет собой упругую консоль, на конце которой располагается острая игла (зонд). АСМ позволяет с высоким пространственным разрешением визуализировать топографию рельефа поверхности образца, а также количественно характеризовать различные поверхностные свойства, например механические. Благодаря прецизионному контролю силы взаимодействия между зондом и объектом с помощью АСМ можно изучать даже мягкие нативные клетки (Haase, Pelling 2015; Kuznetsova et al. 2007).

На рисунке 1А приведена схема, иллюстрирующая принцип работы атомно-силового микроскопа на примере сенсорного нейрона. Зонд атомно-силового микроскопа построено ска-

нирует участок дна чашки Петри с иммобилизованной клеткой, тем самым отслеживая ее рельеф. В результате формируется изображение топографии, представляющее собой карту распределения локальных высот поверхности сенсорного нейрона. Для получения количественной информации о механических свойствах клетки поверхность сенсорного нейрона подвергается индентированию (продавливанию) зондом атомно-силового микроскопа. Сила контактного взаимодействия «зонд — клетка» контролируется по величине изгиба кантилевера с помощью оптической системы детектирования, включающей в себя лазер и четырехсекционный фотодетектор. На удалении от исследуемой поверхности система детектирования юстируется таким образом, что отраженный от кантилевера свет попадает в центр фотодетектора и разностный сигнал между двумя нижними и двумя верхними сегментами равен нулю. При соприкосновении зонда с поверхностью разностный сигнал на фотодетекторе отклоняется от нуля, изменяясь пропорционально углу изгиба кантилевера и, как следствие, силе, действующей между зондом и исследуемой поверхностью. В процессе индентирования поверхности регистрируются силовые кривые, анализ которых и позволяет количественно характеризовать механические свойства клетки (Hu et al. 2020; Pittenger et al. 2014).

АСМ-эксперименты проводили с использованием сенсорных нейронов 10–12-дневных куриных эмбрионов по ранее описанному протоколу (Plakhova et al. 2020). Тетрапептид Ac-RERR-NH₂ в концентрации 10⁻¹⁰ М добавляли к эксплантатам в чашки Петри за 72 часа до исследования. Тетрапептид Ac-RERR-NH₂ был получен методом классического пептидного синтеза (НПФ Верта, Россия). Контрольные эксплантаты культивировали в питательной среде без исследуемого агента.

Экспериментальная АСМ-установка включала в себя атомно-силовой микроскоп BioScope Catalyst (Bruker, США) и инвертированный оптический микроскоп Axio Observer Z1 (Carl Zeiss, Германия). Световой микроскоп применяли для поиска сенсорных нейронов, подходящих для АСМ-индентирования, и позиционирования кантилевера относительно клетки до подведения зонда к поверхности дна чашки Петри (рис. 1В). АСМ-сканирование клеток осуществляли в физиологически адекватных условиях: в чашках Петри с питательной средой, при температуре ≈37 °С. Для усиления адгезии сенсорных нейронов к подложке дно чашек Петри предварительно обрабатывали

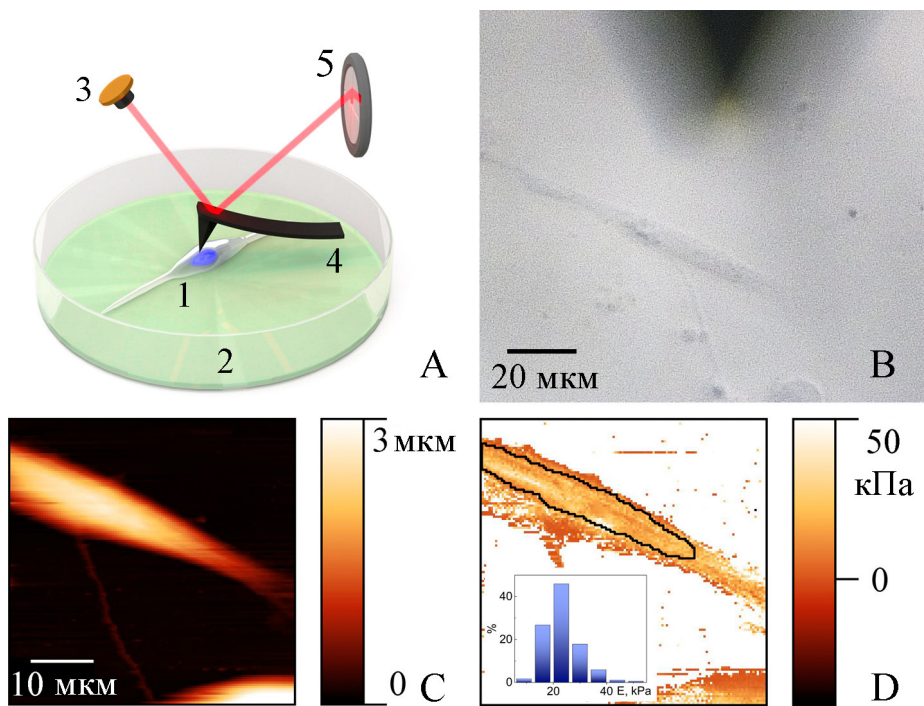


Рис. 1. (А) схематичное представление индентирования сенсорного нейрона зондом атомно-силового микроскопа (1 — сенсорный нейрон, 2 — чашка Петри, 3 — лазер, 4 — кантилевер, 5 — фотодетектор); (В) микрофотография (в верхней части — АСМ-кантилевер), (С) АСМ-изображение топографии поверхности и (D) карта кажущегося модуля Юнга сенсорного нейрона, подвергнутого действию тетрапептида Ас-RERR-NH₂ (10⁻¹⁰ М). На (D) рамкой показана область анализа, во вставке приведена гистограмма значений кажущегося модуля Юнга в рамках выделенной области

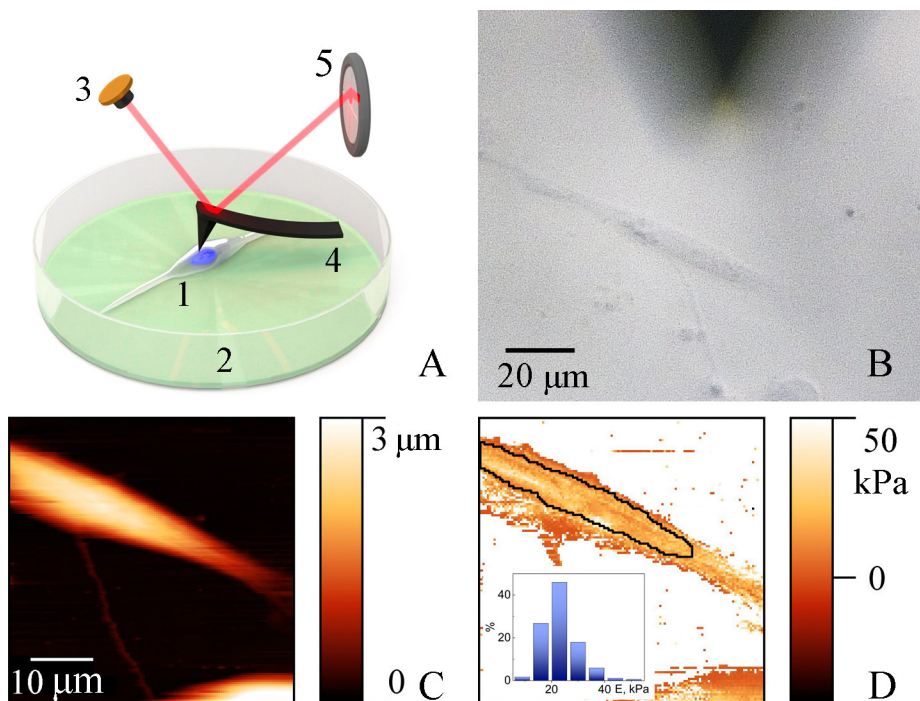


Fig. 1. (A) Schematic diagram of indentation of a sensory neuron with an atomic force microscope tip (1—sensory neuron, 2—Petri dish, 3—laser, 4—cantilever, 5—photodetector); (B) photomicrograph (AFM cantilever is visible in the upper part), (C) AFM surface topography image, and (D) apparent Young's modulus map of a sensory neuron exposed to Ac-RERR-NH₂ tetrapeptide (10⁻¹⁰ M). In panel (D), the frame shows the area of analysis, the inset shows a histogram of the apparent Young's modulus values within the selected area

поли-L-лизином (Sigma, США). Термостатирование чашки Петри во время АСМ-эксперимента обеспечивалось температурным контроллером 335-й модели (Lake Shore Cryotronics, США). Для индентирования мембраны сенсорных нейронов в процессе сканирования применяли АСМ-кантилеверы SNL-C (Bruker). Коэффициент жесткости каждого кантилевера определяли методом тепловых шумов перед исследованием клеток (Hutter, Bechhoefer 1993). Сенсорные нейроны подвергали сканированию в квазистатическом режиме работы АСМ PeakForce QNM (Hu et al. 2020; Pittenger, Slade 2013; Pittenger et al. 2014), в котором можно одновременно получать информацию о рельефе поверхности (рис. 1С) и картировать такие механические характеристики, как кажущийся модуль Юнга (E) (рис. 1D), амплитуда деформации (D_E). Посредством атомно-силового микроскопа визуализировали квадратные области подложки со стороной 30–50 мкм, содержащие сому сенсорных нейронов. Разрешение АСМ-изображений составляло 128×128 точек, частота сканирования — 0,15 Гц. Индентирование клеток осуществляли с заданным значением пиковой силы 1 нН, амплитудой и частотой вертикальных колебаний зонда соответственно 1000 нм и 0,25 кГц. Во время сканирования сенсорного нейрона его состояние контролировали по получаемым АСМ-сигналам, а также с помощью оптической микроскопии. В случае повреждения клетки АСМ-сканирование прекращалось, механические параметры такого сенсорного нейрона не учитывали в дальнейшем при статистической обработке данных.

Для изучения влияния тетрапептида Ac-RERR-NH₂ (10^{-10} М) на механические характеристики сенсорных нейронов анализировали АСМ-карты кажущегося модуля Юнга клеток, определенного в соответствии с моделью Снеддона (рис. 1D) (Sneddon 1965), а также АСМ-карты амплитуды деформации. Анализ АСМ-изображений осуществляли в программе Gwyddion 2.58 (Nečas, Klapeček 2012). Каждый сенсорный нейрон характеризовали средним значением кажущегося модуля Юнга (деформации), определенного по всей поверхности сомы, попавшей в АСМ-кадр. Эффект действия тетрапептида Ac-RERR-NH₂ (10^{-10} М) на сенсорные нейроны оценивали путем сравнения усредненных значений кажущегося модуля Юнга (деформации) клеток, культивированных в присутствии исследуемого вещества, и контрольных нейронов.

Эффект действия Ac-RERR-NH₂ был проанализирован также в рамках отдельных экспери-

ментов, т. е. между собой сравнивали значения E обработанных тетрапептидом Ac-RERR-NH₂ (E_{peptide}) и контрольных клеток (E_{control}), исследованных в один и тот же день. Данный подход позволяет, во-первых, свести к минимуму вклад в результаты от погрешностей калибровки применяемого кантилевера, т. к. в рамках эксперимента использовали один и тот же кантилевер, и определенные для него параметры оставались неизменными, а во-вторых, нивелировать возможные особенности сенсорных нейронов от разных эмбрионов, поскольку клетки, культивированные с исследуемым веществом и без него, выделяли из одних и тех же эмбрионов. Витог эффект действия тетрапептида Ac-RERR-NH₂ на механические свойства первичных сенсорных нейронов определялся по значению соотношения $E_{\text{peptide}}/E_{\text{control}}$, которое вычисляли для каждого отдельного эксперимента.

Далее нами был произведен анализ действия тетрапептида Ac-RERR-NH₂ на величины деформации сенсорных нейронов с учетом эффекта проскальзывания острия зонда по исследуемой поверхности при ее АСМ-индентировании. Ранее было показано, что проскальзывание острия зонда по поверхности образцов с развитым рельефом может привести к ошибочным измерениям величины локальной деформации (Тимошук и др. 2019). В работе (Анкудинов, Халисов 2020) был предложен способ решения данной проблемы, повышающий точность измерений амплитуды деформации образца для скользящего контакта «зонд — поверхность».

В данной работе учет вклада от проскальзывания АСМ-зонда в сигнал деформации осуществляли с помощью упрощенного варианта фильтра, предложенного ранее (Анкудинов, Халисов 2020), который сводится к умножению сигнала деформации на квадрат косинуса угла θ между направлением нормали к поверхности в точке измерения и вертикалью. В итоге для коррекции экспериментальных АСМ-данных деформации было использовано выражение (1), позволяющее учесть недооценку амплитуды деформации по силовой кривой (изначально деформация определяется по 85% контактной части силовой кривой) и величину ошибки пиковой силы.

$$D_C = \frac{D_E}{0,85} \cdot \frac{F_{SP}}{F_{SP} + F_E} \cos^2 \theta \quad (1)$$

где D_C и D_E — скорректированное и экспериментальное локальные значения деформации соответственно, F_{SP} — заданное значение пико-

вой силы, F_E — локальная ошибка силы, θ — полярный угол отклонения нормали к поверхности от вертикальной линии.

Органотипическая культура нервной ткани

Метод, используемый в данном исследовании, подробно описан в наших предыдущих работах (Пенниайнен и др. 2020; Plakhova et al. 2019; 2020; Rogachevskii et al. 2022). Объектами исследования были эксплантаты спинальных ганглиев 10–12-дневных куриных эмбрионов. Экспериментальные эксплантаты культивировали в присутствии Ac-RERR-NH₂ в концентрации 10⁻¹⁰ М в течение трех суток. Контрольными служили эксплантаты, культивированные в стандартной питательной среде без добавления тестируемого вещества. Для определения роста эксплантатов использовали количественный метод оценки — морфометрический метод. Рассчитывали ИП как отношение площади зоны роста эксплантата к исходной площади (Plakhova et al. 2019; 2020). В контрольной группе значение ИП принимали за 100%. Для прижизненной визуализации эксплантатов был использован микроскоп Axio Observer Z1 (Carl Zeiss). Анализ полученных изображений осуществляли с помощью программ ImageJ и ZEN_2012. Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Конфокальная микроскопия» Института физиологии им. И. П. Павлова РАН.

Статистическая обработка

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью пакета STATISTICA 10.0 (StatSoft, США) с использованием *t*-критерия Стьюдента при анализе роста эксплантатов по ИП. Для оценки значимости различий в значениях кажущегося модуля Юнга применяли статистический *U*-критерий Манна — Уитни. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего. Различия между опытом и контролем считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

С помощью АСМ было исследовано 47 сенсорных нейронов, подвергнутых действию тетрапептида Ac-RERR-NH₂, и 40 контрольных клеток. Результат статистической обработки данных по значениям кажущегося модуля Юнга приведен на рисунке 2А. Тетрапептид Ac-RERR-NH₂ по сравнению с контролем вызвал уменьшение кажущегося модуля Юнга культи-

вированных с исследуемым веществом клеток. Несмотря на снижение среднего модуля Юнга почти на 30% относительно контрольного вследствие существенного разброса значений, различие между величинами модуля Юнга подвергшихся действию тетрапептида Ac-RERR-NH₂ и контрольных сенсорных нейронов не является статистически значимым ($p = 0,08$). Для прояснения эффекта действия тетрапептида Ac-RERR-NH₂ на механические характеристики первичных сенсорных нейронов был применен альтернативный способ анализа экспериментальных данных, заключающийся в сравнении значений кажущегося модуля Юнга клеток с тетрапептидом Ac-RERR-NH₂ и контрольных в рамках отдельных экспериментов.

Для выявления эффекта действия молекулы тетрапептида Ac-RERR-NH₂ на сенсорные нейроны определяли соотношения средних кажущихся модулей Юнга клеток после воздействия изучаемой субстанции и контрольных нейронов. Полученные значения $E_{\text{peptide}}/E_{\text{control}}$ для семи экспериментов представлены в таблице 1.

В результате среднее значение соотношения $E_{\text{peptide}}/E_{\text{control}}$ указывает на уменьшение жесткости индентлируемого поверхностного слоя сенсорных нейронов под действием исследуемого вещества. Анализ данных таблицы 1 показывает, что кажущийся модуль Юнга сенсорных нейронов преимущественно меняется однонаправленно. Лишь два эксперимента выпадают из общей тенденции. В эксперименте № 2 зарегистрирован небольшой рост кажущегося модуля Юнга по отношению к контрольному значению. Возможно, на такой результат оказало влияние сравнительно низкое число клеток в группе культивированных с Ac-RERR-NH₂ сенсорных нейронов. Наблюдаемый в эксперименте № 3 ярко выраженный противоположно направленный эффект действия тетрапептида Ac-RERR-NH₂ можно связать с тем, что средний кажущийся модуль Юнга контрольных сенсорных нейронов оказался экстремально низким, минимальным среди всех экспериментов. Противоположное действие исследуемой субстанции, отмеченное в двух отдельных экспериментах, не изменяет общей тенденции к уменьшению жесткости сенсорных нейронов, культивированных с тетрапептидом Ac-RERR-NH₂, по сравнению с контролем. Эта тенденция совпадает с приведенным выше результатом, полученным при обобщенном анализе данных.

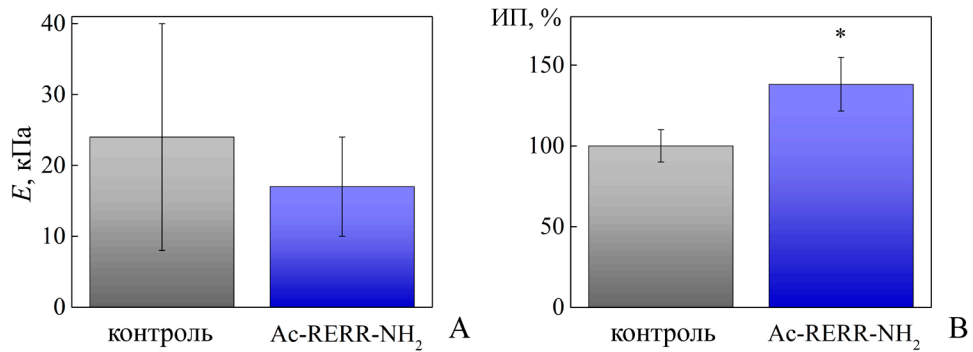


Рис. 2. (А) тенденция к уменьшению кажущегося модуля Юнга сенсорных нейронов под действием тетрапептида Ac-RERR-NH₂ и (Б) нейрит-стимулирующее действие тетрапептида Ac-RERR-NH₂ (10⁻¹⁰ М) на рост нейритов сенсорных ганглиев (по оси ординат — индекс площади (ИП, %) эксплантатов); * — p < 0,05

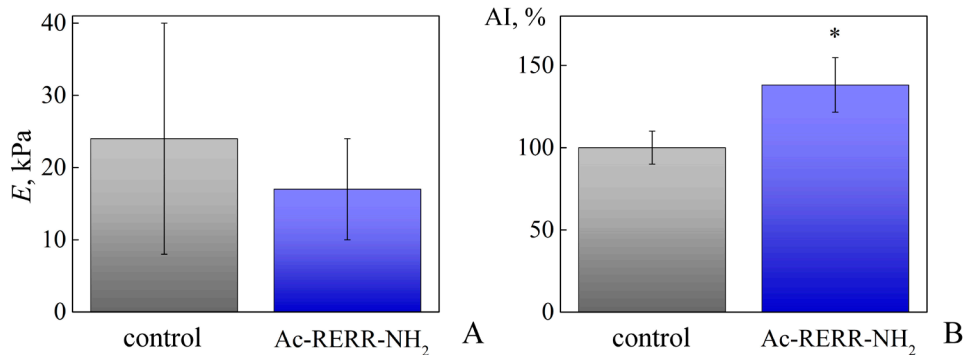


Fig. 2. (A) the tendency to decrease the apparent Young's modulus of the of sensory neuron surface under the action of Ac-RERR-NH₂ tetrapeptide and (B) the neurite-stimulating effect of Ac-RERR-NH₂ tetrapeptide (10⁻¹⁰ M) on the growth of neurites of sensory ganglia (the ordinate shows the area index (AI, %) of explants); * — p < 0.05

Табл. 1. Результаты сравнения значений кажущегося модуля Юнга сенсорных нейронов по отдельным экспериментам

№ эксперимента	$E_{control}$, кПа	$E_{peptide}$, кПа	$E_{peptide}/E_{control}$
1	21 (6)	13 (8)	0,62
2	16 (6)	17 (4)	1,06
3	12 (6)	18 (7)	1,50
4	46 (6)	18 (7)	0,39
5	16 (7)	13 (8)	0,81
6	30 (4)	22 (7)	0,73
7	31 (5)	19 (6)	0,61
Среднее значение		0,82	

Примечание: в скобках указано число изученных сенсорных нейронов.

Table 1. Results of comparing the values of the apparent Young's modulus of sensory neurons in individual experiments

Experiment number	$E_{control}$, kPa	$E_{peptide}$, kPa	$E_{peptide}/E_{control}$
1	21 (6)	13 (8)	0.62
2	16 (6)	17 (4)	1.06
3	12 (6)	18 (7)	1.50
4	46 (6)	18 (7)	0.39
5	16 (7)	13 (8)	0.81
6	30 (4)	22 (7)	0.73
7	31 (5)	19 (6)	0.61
Mean value		0.82	

Note: the number of sensory neurons studied is indicated in parentheses.

Также были проанализированы сигналы деформации сенсорных нейронов с учетом проскальзывания в контакте «зонд — клетка». В результате применения процедуры коррекции (Анкудинов, Халисов 2020) к сигналу экспериментальной деформации были получены следующие значения параметра у экспериментальных и контрольных клеток: 333 ± 108 нм ($n = 47$) и 269 ± 104 нм ($n = 40$) соответственно. Видно, что средняя скорректированная деформация сенсорных нейронов у культивированных в присутствии тетрапептида Ac-RERR-NH₂ чуть более чем на 20% выше, чем у контрольных клеток. Интересно, что без коррекции значения экспериментальной деформации составляли 407 ± 98 нм в случае нейронов, культивированных в присутствии Ac-RERR-NH₂, и 342 ± 124 нм в контроле. Таким образом, проведенная коррекция изменила значения средней деформации нейронов, однако при этом соотношение средних деформаций экспериментальных и контрольных нейронов изменилось незначительно.

Полученный с помощью АСМ результат указывает на то, что действие тетрапептида Ac-RERR-NH₂ должно приводить к снижению жесткости тех нейронов, которые обладают специфическими молекулярными мишенями для восприятия этого воздействия. То, что подобные мишени существуют, подтверждают наши данные, полученные методом органотипической культуры ткани.

Методом органотипической культуры нервной ткани было исследовано влияние тетрапептида Ac-RERR-NH₂ на рост нейритов сенсорных ганглиев в концентрации 10^{-10} М. При введении в питательную среду тетрапептида наблюдалась достоверная стимуляция роста нейритов сенсорных ганглиев, в среднем на 38% ($n = 32$; $p < 0,05$) по отношению к контрольным значениям ($n = 25$) (рис. 2В). Полученные экспериментальные данные дают основание полагать, что связывание исследуемого тетрапептида со специфическими молекулярными мишенями запускает пока неизвестный сигнальный каскад, который регулирует рост нейритов.

Таким образом, с помощью методов АСМ и органотипической культуры ткани было исследовано действие тетрапептида Ac-RERR-NH₂ в субнанолярной концентрации на первичные сенсорные нейроны куриных эмбрионов. Было установлено, что под действием изучаемого агента при АСМ-индентировании поверхности

клеток нейроны демонстрируют тенденцию к уменьшению своей жесткости по сравнению с контролем, а метод органотипической культуры выявил выраженные нейрит-стимулирующие свойства молекулы Ac-RERR-NH₂. Обнаруженный эффект действия тетрапептида Ac-RERR-NH₂ на механические свойства первичных сенсорных нейронов отличается от эффектов действия других веществ, способных снижать возбудимость ноцицептивных нейронов — ЭУ и коеновой кислоты (Халисов и др. 2017; Plakhova et al. 2020; Rogachevskii et al. 2022). ЭУ вызывает увеличение жесткости клеток, а коеновая кислота на нее не влияет. Вместе с тем первая субстанция активирует внутриклеточные процессы, которые приводят к снижению плотности каналов Na_v1.8 в плазматической мембране сенсорного нейрона, делая мембрану более однородной, в то время как вторая субстанция не оказывает подобного воздействия на клетку. Вероятно, именно этим можно объяснить наблюдаемое изменение механических свойств сенсорных нейронов под действием ЭУ (Plakhova et al. 2020). Для идентификации запускаемого тетрапептидом Ac-RERR-NH₂ сигнального каскада, который вызывает уменьшение жесткости сенсорных нейронов и стимуляцию роста нейритов, необходимы дополнительные исследования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Соответствие принципам этики

Все процедуры, выполненные в исследовании, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами Российской Федерации, и рекомендациям биоэтического комитета Института физиологии им. И. П. Павлова РАН.

Ethics Approval

All procedures performed in the study complied with the ethical standards approved by the legal acts of the Russian Federation and the recommen-

dations of the Bioethical Committee of the Pavlov Institute of Physiology RAS.

Вклад авторов

- а. Халисов Максим Миндигалеевич — планирование и проведение экспериментов, обработка результатов, подготовка рукописи;
- б. Пеннийянен Валентина Альбертовна — идея работы, планирование и проведение экспериментов, подготовка рукописи;
- с. Анкудинов Александр Витальевич — обработка результатов, подготовка рукописи;
- д. Подзорова Светлана Александровна — проведение экспериментов, обработка результатов, подготовка рукописи;

е. Крылов Борис Владимирович — постановка задачи, редактирование рукописи.

Author Contributions

- a. Maksim M. Khalisov—planning and conducting the experiment, processing experimental data, manuscript preparation;
- b. Valentina A. Penniyaynen—study idea, planning and conducting the experiment, manuscript preparation;
- c. Alexander V. Ankudinov—processing experimental data, manuscript preparation;
- d. Svetlana A. Podzorova—processing experimental data, manuscript preparation;
- e. Boris V. Krylov—formulation of the problem, manuscript editing.

Литература

- Анкудинов, А. В., Халисов, М. М. (2020) Измерения контактной жесткости в атомно-силовом микроскопе. *Журнал технической физики*, т. 90, № 11, с. 1951–1957. <https://doi.org/10.21883/JTF.2020.11.49989.117-20>
- Пеннийянен, В. А., Халисов, М. М., Подзорова, С. А. и др. (2020) Возможные антииоцицептивные механизмы, запускаемые наномолярными концентрациями уабаина в первичных сенсорных нейронах. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*, т. 106, № 10, с. 1289–1301. <https://doi.org/10.31857/S0869813920100088>
- Рогачевский, И. В., Калинина, А. Д., Пеннийянен, В. А. и др. (2021) Возможный механизм модуляции короткими пептидами медленных натриевых каналов мембраны сенсорного нейрона. *Биофизика*, т. 66, № 4, С. 684–695. <https://doi.org/10.31857/S0006302921040074>
- Тимощук, К. И., Халисов, М. М., Пеннийянен, В. А. и др. (2019) Исследование механических характеристик нативных фибробластов с помощью атомно-силового микроскопа. *Письма в журнал технической физики*, т. 45, № 18, с. 44–47. <https://doi.org/10.21883/PJTF.2019.18.48238.17878>
- Халисов, М. М., Пеннийянен, В. А., Есикова, Н. А. и др. (2017) Особенности рецептор- и трансдуктор-опосредованной активации внутриклеточных сигнальных каскадов в сенсорном нейроне, выявленные методом атомно-силовой микроскопии. *Письма в журнал технической физики*, т. 43, № 1, с. 89–94. <https://doi.org/10.21883/PJTF.2017.01.44094.16394>
- Халисов, М. М., Пеннийянен, В. А., Подзорова, С. А. и др. (2021) О молекулярной природе различий в реакции сенсорных нейронов и фибробластов на уабаин. *Журнал технической физики*, т. 91, № 5, с. 882–888. <https://doi.org/10.21883/JTF.2021.05.50704.272-20>
- Binnig, G., Quate, C. F., Gerber, Ch. (1986) Atomic force microscope. *Physical Review Letters*, vol. 56, no. 9, pp. 930–933. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.56.930>
- Haase, K, Pelling, A.E. (2015) Investigating cell mechanics with atomic force microscopy. *Journal of The Royal Society Interface*, vol. 12, no. 104, article 20140970. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2014.0970>
- Hu, J., Chen, S., Huang, D. et al. (2020) Global mapping of live cell mechanical features using PeakForce QNM AFM. *Biophysics Reports*, vol. 6, no. 1, pp. 9–18. <https://doi.org/10.1007/s41048-019-00103-9>
- Hutter, J. L., Bechhoefer, J. (1993) Calibration of atomic-force microscope tips. *Review of Scientific Instruments*, vol. 64, no. 7, pp. 1868–1873. <https://doi.org/10.1063/1.1143970>
- Kuznetsova, T. G., Starodubtseva, M. N., Yegorenkov, N. I., et al. (2007) Atomic force microscopy probing of cell elasticity. *Micron*, vol. 38, no. 8, pp. 824–833. <https://doi.org/doi:10.1016/j.micron.2007.06.011>
- Nečas, D., Klapetek, P. (2012) Gwyddion: An open-source software for SPM data analysis. *Central European Journal of Physics*, vol. 10, no. 1, pp. 181–188. <https://doi.org/10.2478/s11534-011-0096-2>
- Pittenger, B., Slade, A. (2013) Performing quantitative nanomechanical AFM measurements on live cells. *Microscopy Today*, vol. 21, no. 6, pp. 12–17. <https://doi.org/10.1017/S1551929513001077>
- Pittenger, B., Erina, N., Su, C. (2014) Mechanical property mapping at the nanoscale using PeakForce QNM scanning probe technique. In: A. Tiwari (ed.). *Nanomechanical analysis of high performance materials*. Dordrecht: Springer Publ., pp. 31–51. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6919-9_2

- 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>
- Plakhova, V. B., Penniyaynen, V. A., Rogachevskii, I. V. et al. (2020) Dual mechanism of modulation of Na_v1.8 sodium channels by ouabain. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 98, no. 11, pp. 785–802. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2020-0197>
- Rogachevskii, I. V., Plakhova, V. B., Penniyaynen, V. A. et al. (2022) New approaches to the design of analgesic medicinal substances. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 100, no. 1, pp. 43–52. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2021-0286>
- Sneddon, I. N. (1965) The relation between load and penetration in the axi-symmetric boussinesq problem for a punch of arbitrary profile. *International Journal of Engineering Science*, vol. 3, no. 1, pp. 47–57. [https://doi.org/10.1016/0020-7225\(65\)90019-4](https://doi.org/10.1016/0020-7225(65)90019-4)

References

- Ankudinov, A. V., Khalisov, M. M. (2020) Izmereniya kontaktnoy zhestkosti v atomno-silovom mikroskope [Measurements of contact stiffness in an atomic force microscope]. *Zhurnal tekhnicheskoy fiziki*, vol. 90, no. 11, pp. 1951–1957. <https://doi.org/10.21883/JTF.2020.11.49989.117-20> (In Russian)
- Binnig, G., Quate, C. F., Gerber, Ch. (1986) Atomic force microscope. *Physical Review Letters*, vol. 56, no. 9, pp. 930–933. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.56.930> (In English)
- Haase, K, Pelling, A.E. (2015) Investigating cell mechanics with atomic force microscopy. *Journal of The Royal Society Interface*, vol. 12, no. 104, article 20140970. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2014.0970> (In English)
- Hu, J., Chen, S., Huang, D. et al. (2020) Global mapping of live cell mechanical features using PeakForce QNM AFM. *Biophysics Reports*, vol. 6, no. 1, pp. 9–18. <https://doi.org/10.1007/s41048-019-00103-9> (In English)
- Hutter, J. L., Bechhoefer, J. (1993) Calibration of atomic-force microscope tips. *Review of Scientific Instruments*, vol. 64, no. 7, pp. 1868–1873. <https://doi.org/10.1063/1.1143970> (In English)
- Khalisov, M. M., Penniyaynen, V. A., Esikova, N. A. et al. (2017) Osobennosti retseptor- i transduktor-oposredovannoy aktivatsii vnutrikletochnykh signal'nykh kaskadov v sensornom nejrone, vyyavlyennyye metodom atomno-silovoj mikroskopii [Features of receptor and transducer-mediated activation of intracellular signaling cascades in the sensory neuron detected by atomic force microscopy]. *Pis'ma v zhurnal tekhnicheskoy fiziki*, vol. 43, no. 1, pp. 89–94. <https://doi.org/10.21883/PJTF.2017.01.44094.16394> (In Russian)
- Khalisov, M. M., Penniyaynen, V. A., Podzorova, S. A. et al. (2021) O molekulyarnoy prirode razlichij v reaktsii sensornykh nejronov i fibroblastov na uabain [On the molecular nature of differences in the response of sensory neurons and fibroblasts to uabain]. *Zhurnal tekhnicheskoy fiziki*, vol. 91, no. 5, pp. 882–888. <https://doi.org/10.21883/JTF.2021.05.50704.272-20> (In Russian)
- Kuznetsova, T. G., Starodubtseva, M. N., Yegorenkov, N. I., et al. (2007) Atomic force microscopy probing of cell elasticity. *Micron*, vol. 38, no. 8, pp. 824–833. <https://doi.org/doi:10.1016/j.micron.2007.06.011> (In English)
- Nečas, D., Klapeček, P. (2012) Gwyddion: An open-source software for SPM data analysis. *Central European Journal of Physics*, vol. 10, no. 1, pp. 181–188. <https://doi.org/10.2478/s11534-011-0096-2> (In English)
- Penniyaynen, V. A., Khalisov, M. M., Podzorova, S. A. et al. (2020) Vozmozhnye antinotsitseptivnyye mekhanizmy, zapuskaemye nanomolyarnymi konsentratsiyami uabaina v pervichnykh sensornykh nejronakh [Possible antinociceptive mechanisms triggered by nanomolar concentrations of uabain in primary sensory neurons]. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova*, vol. 106, no. 10, pp. 1289–1301. <https://doi.org/10.31857/S0869813920100088> (In Russian)
- Pittenger, B., Slade, A. (2013) Performing quantitative nanomechanical AFM measurements on live cells. *Microscopy Today*, vol. 21, no. 6, pp. 12–17. <https://doi.org/10.1017/S1551929513001077> (In English)
- Pittenger, B., Erina, N., Su, C. (2014) Mechanical property mapping at the nanoscale using PeakForce QNM scanning probe technique. In: A. Tiwari (ed.). *Nanomechanical analysis of high performance materials*. Dordrecht: Springer Publ., pp. 31–51. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6919-9_2 (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., Penniyaynen, V. A., Rogachevskii, I. V. et al. (2020) Dual mechanism of modulation of Na_v1.8 sodium channels by ouabain. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 98, no. 11, pp. 785–802. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2020-0197> (In English)
- Rogachevsky, I. V., Kalinina, A. D., Penniyaynen, V. A. et al. (2021) Vozmozhnyj mekhanizm modulyatsii korotkimi peptidami medlennykh natrievykh kanalov membrany sensornogo nejrona [A possible mechanism of modulation of slow sodium channels in the sensory neuron membrane by short peptides]. *Biofizika — Biophysics*, vol. 66, no. 4, pp. 684–695. <https://doi.org/10.31857/S0006302921040074> (In Russian)

- Rogachevskii, I. V., Plakhova, V. B., Penniyaynen, V. A. et al. (2022) New approaches to the design of analgesic medicinal substances. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 100, no. 1, pp. 43–52. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2021-0286> (In English)
- Timoshchuk, K. I., Khalisov, M. M., Penniyaynen, V. A. et al. (2019) Issledovanie mekhanicheskikh kharakteristik nativnykh fibroblastov s pomoshch'yu atomno-silovogo mikroskopa [Investigation of mechanical characteristics of native fibroblasts using an atomic force microscope]. *Pis'ma v zhurnal tekhnicheskoy fiziki*, vol. 45, no. 18, pp. 44–47. <https://doi.org/10.21883/PJTF.2019.18.48238.17878> (In Russian)
- Sneddon, I. N. (1965) The relation between load and penetration in the axi-symmetric boussinesq problem for a punch of arbitrary profile. *International Journal of Engineering Science*, vol. 3, no. 1, pp. 47–57. [https://doi.org/10.1016/0020-7225\(65\)90019-4](https://doi.org/10.1016/0020-7225(65)90019-4) (In English)



УДК 612.884+612.65+615.214

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-69-79>

Неонатальная воспалительная боль, когнитивная и стресс-реактивная функции у взрослых самцов и самок крыс

В. А. Михайленко^{✉1}, И. П. Буткевич¹, Е. А. Вершинина¹

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

Сведения об авторах

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

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

Елена Андреевна Вершинина, SPIN-код: [1082-8759](https://orcid.org/1082-8759), Scopus AuthorID: [6701609543](https://orcid.org/6701609543), ORCID: [0000-0002-8873-4409](https://orcid.org/0000-0002-8873-4409), e-mail: ver_elen@mail.ru

Для цитирования: Михайленко, В. А., Буткевич, И. П., Вершинина, Е. А. (2022) Неонатальная воспалительная боль, когнитивная и стресс-реактивная функции у взрослых самцов и самок крыс. *Интегративная физиология*, т. 3, № 1, с. 69–79. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-69-79>

Получена 24 января 2022; прошла рецензирование 1 марта 2022; принята 2 марта 2022.

Финансирование: Работа частично поддержана грантом РФФИ № 17-04-00214а.

Права: © В. А. Михайленко, И. П. Буткевич, Е. А. Вершинина (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Повторные болевые воздействия в неонатальном возрасте являются риском развития нарушений в центральной нервной системе. Клинические данные о влиянии неонатального болевого стресса на обучение, память и стресс-реактивность гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы (ГТАКС) ограничены подростковым периодом и получены преимущественно на особях мужского пола; механизм такого влияния остается неисследованным. Большое значение для прогнозирования, профилактики и лечения поведенческих адаптивных расстройств, вызванных неонатальным болевым стрессом, имеют онтогенетические исследования, проведенные на разнополых особях. Данная проблема становится особенно актуальной в настоящее время, когда коронавирус охватил и новорожденных, которым необходима интенсивная терапия. Последствия влияния воспалительной боли в новорожденном периоде на когнитивную и стресс-гормональную функции были исследованы у взрослых самцов и самок крыс. У крысят в первый и повторно второй дни жизни вызывали продолжительную болевую реакцию инъекцией воспалительного агента формалина в заднюю конечность. У взрослых крыс исследовали пространственное обучение, память в водном лабиринте Морриса, а также реактивность ГТАКС в ответ на формалиновый тест. Значимых различий в когнитивной функции между подопытными, подвергнутыми неонатальной воспалительной боли, и контрольными крысами не было обнаружено. В то же время пространственная долговременная память у животных с неонатальной болью характеризовалась более высокой производительностью у самцов, чем у самок. После тестирования долговременной памяти реактивность ГТАКС, оцененная по содержанию кортикостерона в плазме крови в ответ на формалиновый тест, была выше у самцов. Только у самок с неонатальной болью обнаружены различия между показателями кратковременной и долговременной памяти, с меньшей эффективностью долговременной памяти. Обсуждаются возможные причины половых различий в когнитивной функции и стресс-гормональном ответе у взрослых крыс, подвергнутых повторному воспалительному болевому воздействию в новорожденном возрасте.

Ключевые слова: болевой стресс, новорожденный период, взрослая крыса, пространственное обучение, память, кортикостерон

The impact of neonatal inflammatory pain on cognitive and stress-reactive functions in adult male and female rats

V. A. Mikhailenko^{✉1}, I. P. Butkevich¹, E. A. Vershinina¹

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

Authors

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

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

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

For citation: Mikhailenko, V. A., Butkevich, I. P., Vershinina, E. A.

(2022) The impact of neonatal inflammatory pain on cognitive and stress-reactive functions in adult male and female rats. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 1, pp. 69–79. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-69-79>

Received 24 January 2022; reviewed 1 March 2022; accepted 2 March 2022.

Funding: The study is partially supported by a grant from RFFI No. 17-04-00214a.

Copyright: © V. A. Mikhailenko, I. P. Butkevich, E. A. Vershinina (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](#).

Abstract. Repetitive neonatal pain may cause central nervous system disorders. Existing clinical data on the effect of neonatal pain on learning, memory and stress-reactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (the HPA axis) are limited to adolescence and have mostly been obtained for male individuals. The mechanism of neonatal pain effect has not yet been researched. Ontogenetic studies carried out on different-sex specimen are crucial for prediction, prevention and treatment of adaptive behavioural disorders caused by neonatal pain stress. Lately, this has become even more relevant due to COVID-19 affecting new-borns in need of intensive therapy. In this study, the impact of neonatal inflammatory pain on adult cognition and hormonal stress response was investigated in male and female rats. Continuous neonatal pain was induced by hindpaw formalin injections on days one and two from birth. In adult rats, we assessed spatial learning and memory using the Morris water maze and evaluated HPA reactivity in response to the formalin test. No significant cognitive function differences were found between the experimental group of rats subjected to neonatal pain and the control group. Within the experimental group subjected to neonatal pain, males showed better long-term spatial memory than females. After testing the long-term memory, we evaluated HPA reactivity by corticosterone levels in response to a formalin test. This parameter was higher in males. Only females with neonatal pain showed differences between short-term and long-term memory, with poorer long-term memory. Possible causes of sex differences in the cognitive function and hormonal stress response in adult rats exposed to neonatal inflammatory pain are discussed.

Keywords: pain stress, neonatal period, adult rat, spatial learning, memory, corticosterone

Введение

Повторные болевые воздействия в неонатальном возрасте вызывают структурные и функциональные изменения в областях мозга, связанных с адаптивным поведением (Chen et al. 2016; Xia et al. 2020). Клинические данные по исследованию влияния неонатального болевого стресса на адаптивную гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальную систему (ГТАКС) ограничены подростковым возрастом и получены на детях, которые родились раньше срока и нуждались в интенсивных терапевтических процедурах (Brummelte et al. 2015; Grunau et al. 2005; Mooney-Leber, Brummelte 2017). Обращает

на себя внимание противоречивость полученных результатов. Как увеличение, так и отсутствие изменения уровня кортизола было обнаружено после болевых процедур (Herrington et al. 2004); более низкий уровень кортизола в слюне был обнаружен у недоношенных детей с более высоким числом болевых процедур в раннем возрасте, чем у детей с меньшим их числом (Brummelte et al. 2015; Grunau et al. 2013).

Существует тесное нейроанатомическое и физиологическое взаимодействие между болью и ГТАКС, которое регулируется гипоталамусом, миндалиной, гиппокампом, префронтальной корой (Timmers et al. 2019; Ulrich-Lai, Herman 2009; Victoria et al. 2013). Особенности этого

взаимодействия в ответ на повреждающие раздражители в раннем возрасте недостаточно изучены. Данные о влиянии боли на ГТАКС, полученные как в клинике, так и в лабораторных исследованиях на животных, являются неполными (Mooney-Leber, Brummelte 2017). Необходимы дальнейшие исследования для выяснения взаимосвязи между неонатальной болью и ГТАКС с учетом многогранной взаимосвязи между типом боли, ее интенсивностью, полом, возрастом во время воздействия боли и реакцией ГТАКС.

Модификацию стрессорной реактивности ГТАКС связывают с нарушением негативной обратной связи, осуществляемой глюкокортикоидами через паравентрикулярное ядро гипоталамуса и гипофиз. Периферический стероидный гормон ГТАКС, кортизол у людей, кортикостерон у грызунов, играет важную роль в обучении и памяти (Akirav et al. 2004). Ключевыми внешними регуляторами активности ГТАКС являются гиппокамп, миндалина, префронтальная кора, структуры, вовлеченные в когнитивную сферу, поэтому изменения, вызванные неонатальным болевым стрессом в этих структурах мозга, могут модифицировать процессы обучения и памяти. Исследования на младенцах (Grunau et al. 2009) и детях школьного возраста (Ranger, Grunau 2014) подтверждают неблагоприятное влияние неонатальной боли на когнитивную сферу, однако остается до сих пор открытым вопрос о возможном долговременном влиянии перенесенной неонатальной боли на когнитивные процессы и реактивность ГТАКС.

Многочисленные работы на животных посвящены изучению влияния неболевого стресса (отнятие от матери, лимитированные жизненные условия и др.) на реактивность ГТАКС и когнитивные способности (Bonapersona et al. 2019; Fitzgerald et al. 2021; van Bodegom et al. 2017), тогда как число исследований по влиянию болевого стресса крайне ограничено (Khawla et al. 2017). Существует множество моделей неонатальной боли, каждая из которых имеет свои преимущества и недостатки. Все они предназначены для моделирования опыта младенцев, которые каждый день подвергаются многочисленным инвазивным процедурам в отделении интенсивной терапии (Grunau et al. 2006). Нам известно лишь о нескольких исследованиях на грызунах, в которых было изучено влияние неонатальной воспалительной боли на пространственное обучение, память или ГТАКС. Например, боль, вызванная формалином у новорожденных крысят, нарушила у этих животных

в половозрелом возрасте пространственное обучение и память, тестированные в радиальном лабиринте, в котором используется пищевое подкрепление (Anand et al. 2007). В других работах инъекция воспалительных агентов каррагена или адьюванта Фрейнда в заднюю конечность новорожденным крысятам приводила к дефициту пространственной памяти у взрослых крыс (Henderson et al. 2015), нарушению регуляции ГТАКС, но не влияла на краткосрочную или долгосрочную память у крыс обоего пола (Victoria et al. 2013), однако вызывала дефицит пространственного обучения у самцов крыс (Amaral et al. 2015). Формалин, который мы использовали в качестве воспалительного агента, вызывает повреждающие последствия, которые сравнимы с повреждениями в неонатальной клинике (Tjølsen et al. 1992), тогда как вышеупомянутые воспалительные агенты карраген и адьювант Фрейнда значительно превосходят по интенсивности и продолжительности повреждения, вызванные инвазивными процедурами. Следует подчеркнуть, что данные литературы по исследуемой проблеме получены в основном на особях мужского пола, при включении в исследование разнополых особей результаты противоречивы (Chen et al. 2016; Mogil 2020; Xia et al., 2020). Для выяснения механизмов влияния болевых воздействий в раннем возрасте на когнитивную функцию и адаптивную стрессорную ГТАКС необходимо включение разнополых особей (Mooney-Leber, Brummelte 2017; van Bodegom et al. 2017).

Актуальность рассматриваемой проблемы очевидна, если принимать во внимание распространенность в неонатальной клинике инвазивных процедур, установленную связь между неонатальной болью и нарушениями в центральной нервной системе (Brewer, Vascei 2020; Schwaller, Fitzgerald 2014) и особенно современную ситуацию с коронавирусной инфекцией, охватившей и новорожденных младенцев, которым требуется интенсивное терапевтическое лечение.

В настоящей работе изучали долгосрочное влияние воспалительной боли у новорожденных крысят на пространственное обучение и память, реактивность ГТАКС в ответ на формалиновый тест у взрослых животных обоего пола.

Материалы и методы

Работа проведена на потомстве крыс линии Вистар, полученных из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных

систем» (Санкт-Петербург). Все процедуры с животными проводили в соответствии с принципами Базельской декларации; протоколы опытов утверждены биоэтическим комитетом Института физиологии им. И. П. Павлова РАН. Всех животных содержали в виварии лаборатории в стандартных условиях (свободный доступ к стандартизированной пище и воде, 12:00–12:00 включение и выключение света в 8 ч, 22–23 °С). Для определения беременности у самок на следующий день после подсадки брали мазки из влагалища. Через сутки после рождения потомства в каждом помете оставляли не более восьми крысят, самцов и самок поровну по возможности. Одно- и двухдневным крысятам инъецировали подкожно раствор формалина (2,5%, 0,5 мкл) в подошву задней конечности (контроль — инъекция физиологического раствора) для создания очага воспалительной боли, после чего крысят сразу возвращали к своим матерям.

В возрасте 30 дней разнополых крыс рассаживали без матери в разные клетки. Начиная с 90–100-дневного возраста у животных исследовали процесс пространственного обучения в течение пяти дней в водном лабиринте Морриса (Morris 1981; Vorhees, Williams 2014). В исследование были включены следующие группы крыс: с неонатальной болью (подопытные) 34 самца и 30 самок, контрольные 29 самцов и 28 самок. Крысу помещали в бассейн, в котором она должна была в течение 60 с найти металлическую платформу (диаметр 10 см), расположенную на дне бассейна (диаметр 120 см, высота 72 см, температура воды 22–24 °С) ниже уровня воды на 2 см. Бассейн визуально был разделен на четыре части, в одной из них находилась платформа, местоположение которой не изменяли. Регистрировали время нахождения платформы (латентный период, с). Если попытка была неудачной, экспериментатор сам помещал крысу на платформу, в этом случае латентный период принимали за 60 с. Первые четыре попытки с перерывом между каждой в 15 с и пребыванием на платформе в 20 с составляли первую тренировочную пробу. Следующая вторая аналогичная тренировочная проба предоставлялась крысе после четырех минут отдыха в сухой клетке. Кратковременную память тестировали на пятый день после первой пробы, а через четверо суток после этого — долговременную память; в обоих случаях крысу на 60 с помещали в бассейн без платформы и регистрировали латентный период достижения целевого квадранта, места, где ранее находилась платформа, а также время пребывания в целевом

квадранте за период времени, равный 60 с. Использовали специальную компьютерную программу для регистрации траектории движения крысы с помощью веб-камеры. После завершения исследования долговременной памяти у крыс оценивали реактивность ГТАКС в ответ на боль, вызванную инъекцией формалина (2,5%, 0,5 мкл) в заднюю конечность. Через 30 мин после инъекции формалина (пик болевого ответа (Butkevich et al. 2009)) и декапитации собирали образцы крови. Плазму крови хранили при температуре –20 °С. Кортикостерон определяли методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов («Xema-Medica Co» Cat №: K210R; Россия) с помощью спектрофотометра (Spectrostar NANO, BMG Labtech, Германия).

Полученные данные проверяли на нормальность выборок с использованием критерия Колмогорова — Смирнова. Проверка на нормальность дала несколько отклонений от нормальности для способности к обучению. Эти отклонения получились за счет одиночных выбросов (экстремальных значений). Логарифмы данных дали нормальные распределения. Анализ данных проводили с использованием разных моделей дисперсионного анализа ANOVA/MANOVA, а также с использованием смешанного дисперсионного анализа mixed ANOVA с последующими множественными сравнениями по Бонферрони. Факторами при исследовании способности к обучению выступали пол (самцы/самки), воздействие (формалин/физиологический раствор) и номер дня (1–5 для первой пробы и 1–4 для второй пробы), при исследовании пространственной памяти — пол (самцы/самки), воздействие (формалин/физиологический раствор). При исследовании способности к обучению, помимо одномерного анализа для пробы 1 (1–5 дни) и пробы 2 (1–4 день), применяли смешанный анализ mixed ANOVA для 1–4 дня и проб 1 и 2, пола и воздействия. Помимо этого, проводили анализ отдельно по попыткам первой пробы и по попыткам второй пробы. При исследовании пространственной памяти использовали многомерный дисперсионный анализ MANOVA для изучаемых параметров. Данные представлены в виде среднего ± стандартная ошибка. Статистические решения принимали на 5%-ном уровне значимости.

Результаты исследования

В показателях пространственного обучения не было обнаружено влияния неонатальной боли

на латентный период достижения платформы в течение пяти тренировочных дней. В то же время у крыс с неонатальной болью обнаружены половые различия только в первый тренировочный день во второй пробе ($p = 0,026$), более продолжительный латентный период достижения платформы выявлен у самцов (рис. 1). В остальные тренировочные дни значимых половых различий не было выявлено. Первый день принято рассматривать как самый показательный во влиянии стрессорных воздействий на процесс обучения в тесте Морриса (Morris 1981; Vorhees, Williams 2014).

В показателях пространственной памяти также не было обнаружено значимого влияния неонатальной боли у крыс обоего пола. У крыс с неона-

тальной болью обнаружены различия между самцами и самками в показателях долговременной памяти, с более высокой продолжительностью нахождения в целевом квадранте у самцов ($p = 0,017$). У подопытных самок при тестировании кратковременной и долговременной памяти обнаружены значимые различия во времени нахождения в целевом квадранте. При тестировании кратковременной памяти данный показатель был более продолжительным, что указывает на более высокую эффективность кратковременной памяти, чем долговременной ($p < 0,01$; рис. 2).

При исследовании реактивности ГТАКС в ответ на формалиновый тест после тестирования у животных долговременной памяти

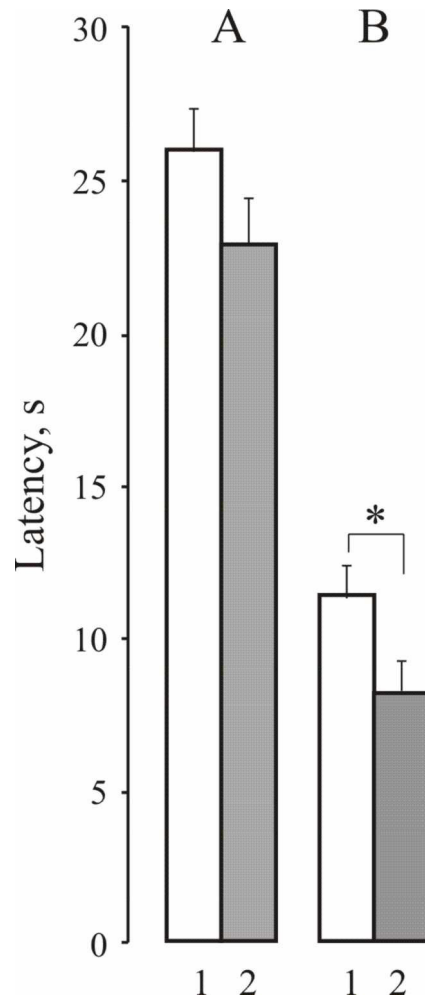


Рис. 1. Латентный период достижения платформы в водном лабиринте Морриса в первый тренировочный день в первую (А) и вторую (В) пробы пространственного обучения у самцов (1) и самок (2) взрослых крыс, подвергнутых неонатальной воспалительной боли. * $p = 0,026$, различия между подопытными самцами и самками в первый день во второй пробе

Fig. 1. Latency to find the platform in the Morris water maze on the first training day in the first trial (A) and the second trial (B) of spatial learning in male (1) and female (2) adult rats exposed to neonatal inflammatory pain. * $p = 0.026$, differences between experimental males and females on the first day of the second trial

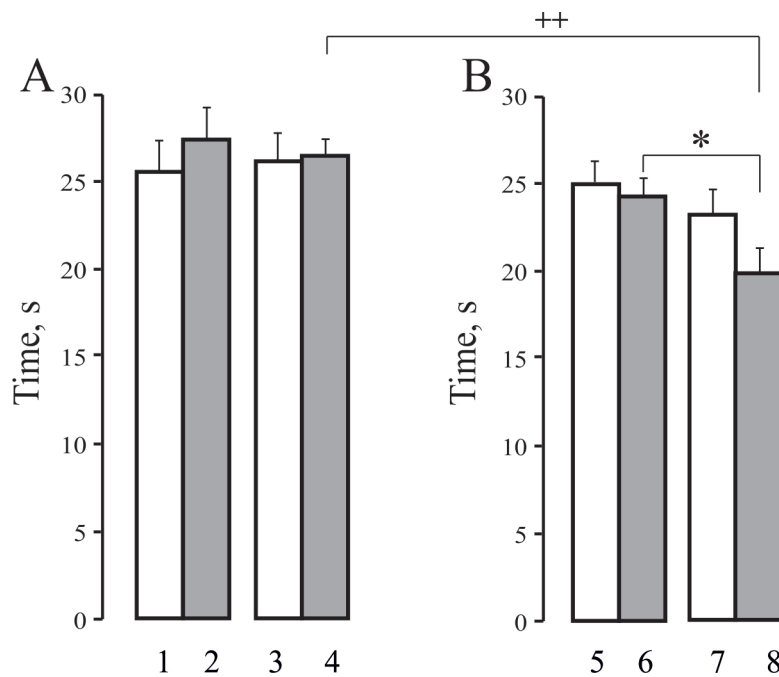


Рис. 2. Время пребывания в целевом квадранте (с) при тестировании кратковременной (А) и долговременной (В) памяти в водном лабиринте Морриса у самцов (2, 6) и самок (4, 8) взрослых крыс, подвергнутых в новорожденном состоянии воспалительной боли или инъекции физиологического раствора: самцы (1, 5) и самки (3, 7). * $p < 0,05$, различия между подопытными самцами и самками в показателях долговременной памяти; ++ $p < 0,01$, различия в показателях кратковременной и долговременной памяти у подопытных самок

Fig. 2. The time spent in the target quadrant (s) during registration of short- (A) and long-term (B) memory in the Morris water maze in adult male (2 and 6) and female (4 and 8) rats subjected to neonatal pain in a newborn state: males (1 and 5) and females (3 and 7). * $p < 0.05$, differences between experimental males and females in long-term memory; ++ $p < 0.01$, between indices of short-term and long-term memory in experimental females

обнаружено, что неонатальная боль увеличила у подопытных крыс содержание кортикостерона в ответ на 30-минутный формалиновый тест по сравнению с базальным уровнем гормона ($p < 0,001$ у крыс обоего пола) и с уровнем гормона у контрольных самцов ($p = 0,012$), но не у самок. У подопытных животных выявлены половые различия с более высокой реактивностью ГТАКС у самцов, чем у самок ($p = 0,048$), тогда как для контрольных самцов и самок реактивность ГТАКС в подобных условиях была идентичной. Через сутки после формалинового теста уровень кортикостерона был нормализован (рис. 3).

Обсуждение

Главные результаты настоящей работы указывают на то, что неонатальная боль, вызванная процессом воспаления в ответ на подкожную инъекцию раствора формалина на периферии в первые два дня жизни крысят, не изменила

во взрослом состоянии исследованные характеристики пространственного обучения, кратковременной и долговременной памяти в водном лабиринте Морриса у крыс обоего пола. В то же время неонатальная воспалительная боль способствовала обнаружению у взрослых крыс половых различий в показателях пространственной долговременной памяти, которые характеризовались более высоким уровнем у самцов. После регистрации долговременной памяти у самцов реактивность ГТАКС в ответ на формалиновый тест была выше, чем у контрольных самцов, тогда как у самок различий в содержании кортикостерона между подопытными и контрольными крысами не было обнаружено. Вследствие этого у крыс с неонатальной болью обнаружены половые различия в реактивности ГТАКС с более высоким ее уровнем у самцов, тогда как у контрольных крыс половые различия в содержании кортикостерона в плазме крови в ответ на формалиновый тест отсутствовали. Кроме того, только у подопытных самок,

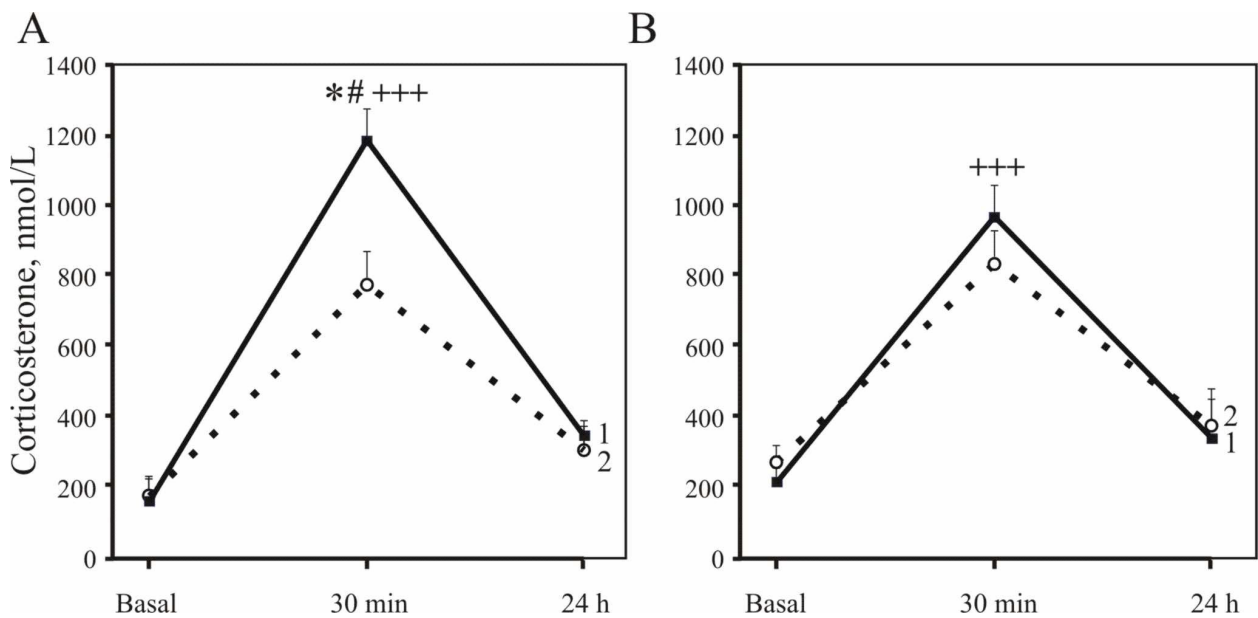


Рис. 3. Динамика содержания кортикостерона в плазме крови в ответ на формалиновый тест (базальный, через 30 мин и 24 часа после инъекции формалина) у взрослых самцов (А) и самок (В) крыс после тестирования долговременной памяти. 1 — подвергнутые в новорожденном состоянии воспалительной боли, 2 — инъекции физиологического раствора. * $p < 0,05$, различия между подопытными самцами и самцами с инъекцией физиологического раствора; # $p < 0,05$, различия между подопытными самцами и самками; +++ $p < 0,001$, различия между базальным уровнем кортикостерона и уровнем гормона через 30 мин после формалинового теста у крыс обоего пола

Fig. 3. The dynamics of hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis stress reactivity (plasmatic corticosterone level, basal, after 30 minutes and 24 hours in response to the formalin test) after testing long-term memory in adult males (A) and females (B) rats. 1—rats subjected to inflammatory pain in newborn state, 2—rats subjected to injection of saline. * $p < 0.05$ differences between experimental males and males with saline; # $p < 0.05$ differences between experimental males and females; +++ $p < 0.001$ differences between corticosterone basic level and corticosterone level 30 min after the formalin test in rats of both sexes

но не у подопытных самцов и не у контрольных крыс обоего пола показатель памяти, время пребывания в целевом квадранте, был выше при тестировании кратковременной памяти, тогда как при тестировании долговременной памяти время плавания подопытных самок в целевом квадранте было значительно короче.

Ранее нами было впервые показано, что новорожденные крысята в ответ на инъекцию раствора формалина в подошву задней конечности реагировали сгибанием и встряхиванием задней конечности, инъецированной формалином, что сопровождалось продолжительным (более суток) увеличением содержания кортикостерона в плазме крови; это дало нам возможность предполагать долговременное влияние данного воспалительного болевого воздействия на ГГАС и, возможно, на когнитивную функцию (Butkevich et al. 2021). Действительно, в препубертатный период развития самцы с аналогичным неонатальным воздействием, но не самки, обнаружили ухудшение в пространственном обучении

и памяти, однако реактивность ГГАС в ответ на принудительное плавание не была изменена у крыс обоего пола по сравнению с контролем (физиологический раствор) (Mikhailenko et al. 2021). Данные настоящего исследования указывают на изменение влияний неонатальной воспалительной боли на показатели долговременной памяти у крыс в процессе развития: исследованный показатель долговременной памяти у подопытных взрослых самцов увеличился и превысил данный показатель у самок.

Отсутствие влияний повторной неонатальной воспалительной боли на характеристики пространственного обучения и памяти у взрослых крыс в настоящей работе можно было бы связать с низкой концентрацией формалина, используемой нами для новорожденных крысят в первые два дня жизни. Например, при применении в качестве воспалительного агента формалина с более высокой концентрацией и объемом (4%, 5 мкл) по сравнению с данными показателями в нашей работе с более продолжительной

инъекцией (с первого по четвертый день жизни) в каждую лапу крысятам было обнаружено нарушение пространственного обучения и памяти в тесте радиального лабиринта у крыс в половозрелом возрасте (Anand et al. 2007).

Выявленные в настоящей работе половые различия во влиянии неонатальной воспалительной боли на когнитивные процессы и реактивность ГТАКС у взрослых крыс могут быть связаны со следующими факторами. Высокий и относительно длительный уровень кортикостерона, вызванный формалиновой болью у новорожденных крысят (Butkevich et al. 2021), ухудшает развитие паравентрикулярного ядра гипоталамуса (ПВЯ). Кортикотропин-релизинг-гормон (КРГ) данного ядра регулирует нейрогенез в гиппокампе, участвующем в пространственном обучении и памяти (Koutmani et al. 2019). Нейросекреторные системы ПВЯ кроме нейропептидов выделяют глутамат в гипофизарные портальные сосуды (Hrabovszky et al. 2005). Глутаматергические нейроны являются одними из основных звеньев в процессах обучения и запоминания (Mooney-Leber, Brummelte 2017). Роль глутамата во время развития в основном связана с его инотропным рецептором (НМДА-рецептором), который присутствует уже у P0 крыс (Behuet et al. 2019). При созревании возбуждающих синапсов в гиппокампе новорожденной крысы в НМДА-рецепторе преобладает NR2B-рецепторная субъединица, при активации которой быстрее, чем при активации NR2A-субъединицы, развивается долгосрочная потенция, что способствует укреплению памяти. В ходе постнатального развития происходит смена NR2B-рецепторной субъединицы на NR2A-рецепторную. Чрезмерные уровни глюкокортикоидов стимулируют высвобождение глутамата (Verhaeghe et al. 2021), вызывая нейротоксичность, усиливающую апоптоз, что показано в гиппокампе и других областях мозга в течение первой послеродовой недели у крысы (Dührsen et al. 2013; Lu et al. 2003). Показано, что избирательная потеря белка NR2B и последующая синаптическая дисфункция ослабляют активность префронтальной коры во время развития и провоцируют возникновение ранних когнитивных нарушений (Gulchina et al. 2017). Вышеописанные возрастные модификации рецепторных субъединиц НМДА-рецептора могут быть вовлечены в выявленные нами изменения в пространственном обучении, памяти и ГТАКС у взрослых подопытных крыс.

Влияние неонатальной боли на когнитивную функцию осуществляется и другими физиологическими системами. Эстрогены и андрогены

участвуют в модуляции пренатального и постнатального развития в ноцицептивной, иммунной системах, в ГТАКС и когнитивной системе (Green, McCormick 2016). Особое внимание в настоящее время уделяется половым различиям в развитии микроглии, чувствительной к стрессу и боли (Nelson, Lenz 2017). Специфическое для пола выделение эстрогенов в неонатальном периоде с доминированием женского полового гормона у самцов приводит к дифференцированному вовлечению иммунной системы у разнополых особей в ответ на болевой стресс. Неонатальная боль может неодинаково изменить у разнополых особей сбалансированное развитие тесно взаимосвязанных между собой иммунной системы, ГТАКС и гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы, которые влияют на синаптическую пластичность в структурах головного мозга (Wang et al. 2020). Существует предположение, что стресс в раннем возрасте может иметь не только повреждающие последствия, но и адаптационный потенциал, который, взаимодействуя с чувствительностью индивидуума к программированию (пластичность в раннем возрасте), определяет в дальнейшем активность физиологических систем организма. На основании наших предыдущих исследований (Butkevich et al. 2020) и данных литературы (Nederhof, Schmidt 2012) мы допускаем, что обнаруженное у подопытных самцов более длительное пребывание в целевом квадрате, чем у самок при тестировании долговременной памяти, сочетающееся с более высокой реактивностью ГТАКС, свидетельствует в поддержку теории соответствия-несоответствия (Daskalakis et al. 2013). Данная теория предполагает адаптивную способность умеренного стресса в ранний критический период развития в подготовке организма к соответствующим условиям стресса (в нашем случае формалиновый тест) у взрослых крыс. Дизайн настоящего исследования включал стресс воспалительной боли в новорожденном возрасте, а во взрослом состоянии — стресс в водном лабиринте Морриса и болевой стресс в формалиновом тесте. Взаимодействие различных типов стресса, как неоднократно отмечалось в литературе, приводит к неожиданным результатам (Sokołowski et al. 2020). Можно предположить, что половые различия в показателях долговременной памяти у подопытных крыс указывают на половой диморфизм в синаптической пластичности, лежащей в основе обучения и памяти, в структурах, вовлеченных в когнитивные процессы.

Полученные данные позволяют заключить, что умеренный стресс воспалительной боли

у новорожденных крыс способствует формированию у взрослых самцов адаптивной восприимчивости к факторам окружающей среды, что в результате проявилось у них в более длительном пребывании в целевом квадранте при тестировании долговременной памяти и более высокой реактивности ГТАКС в ответ на формалиновый стресс.

Благодарности

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

Acknowledgements

We are grateful to E. N. Lavrova and N. A. Ulanova, senior laboratory assistants at the Laboratory of Nervous System Ontogeny, for their help in conducting the experiments and to E. I. Tyulkova, Doctor of Sciences (Biology) at the Laboratory of Brain Neurons Regulation headed by professor E. A. Rybnikova, for conducting the quantitative analysis of corticosterone.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Соответствие принципам этики

Все процедуры работы с животными проводили в соответствии с принципами Базельской декларации; протоколы опытов утверждены биоэтическим комитетом Института физиологии им. И. П. Павлова РАН.

Ethics Approval

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

Вклад авторов

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

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

с. Вершинина Елена Андреевна — идея и планирование экспериментов, обработка данных, написание и редактирование рукописи.

Author Contributions

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

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

с. Elena A. Vershinina—experiment design and planning, data processing, writing and editing of manuscript.

Список условных сокращений

ГТАКС — гипоталамо-гипофизарно-адренортикулярная система

ПВЯ — паравентрикулярное ядро гипоталамуса

КРТ — кортикотропин-релизинг-гормон

НМДА-рецептор — ионотропный рецептор глутамата

НР2А — рецепторная субъединица ионотропного рецептора глутамата подтипа 2А

НР2Б — рецепторная субъединица ионотропного рецептора глутамата подтипа 2В

References

- Akirav, I., Kozenicky, M., Tal, D. et al. (2004) A facilitative role for corticosterone in the acquisition of a spatial task under moderate stress. *Learning and Memory*, vol. 11, no. 2, pp. 188–195. <http://www.learnmem.org/cgi/doi/10.1101/lm.61704> (In English)
- Amaral, C., Antonio, B., Oliveira, M. G. M. et al. (2015) Early postnatal nociceptive stimulation results in deficits of spatial memory in male rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 125, pp. 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.08.012> (In English)

- Anand, K. J., Garg, S., Rovnaghi, C. R. et al. (2007) Ketamine reduces the cell death following inflammatory pain in newborn rat brain. *Pediatric Research*, vol. 62, no. 3, pp. 283–290. <https://doi.org/10.1203/pdr.0b013e3180986d2f> (In English)
- Behuet, S., Cremer, J. N., Cremer, M. et al. (2019) Developmental changes of glutamate and GABA receptor densities in wistar rats. *Frontiers in Neuroanatomy*, vol. 13, article 100. <https://doi.org/10.3389/fnana.2019.00100> (In English)
- Bonapersona, V., Kentrop, J., Van Lissa, C. J. et al. (2019) The behavioral phenotype of early life adversity: A 3-level meta-analysis of rodent studies. *Neuroscience and Biobehavior Review*, vol. 102, pp. 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.04.021> (In English)
- Brewer, C. L., Bacceti, M. L. (2020) The development of pain circuits and unique effects of neonatal injury. *Neural Transmission*, vol. 127, no. 4, pp. 467–479. <https://doi.org/10.1007/s00702-019-02059-z> (In English)
- Brummelte, S., Chau, C. M. Y., Cepeda, I. L. et al. (2015) Cortisol levels in former preterm children at school age are predicted by neonatal procedural pain-related stress. *Psychoneuroendocrinology*, vol. 51, pp. 151–163. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.09.018> (In English)
- Butkevich, I., Mikhailenko, V., Semionov, P. et al. (2009) Effects of maternal corticosterone and stress on behavioral and hormonal indices of formalin pain in male and female offspring of different ages. *Hormones and Behavior*, vol. 55, no. 1, pp. 149–157. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2008.09.008> (In English)
- Butkevich, I. P., Mikhailenko, V. A., Vershinina, E. A. (2020) Combination of stressors in the critical periods of development increases resistance to inflammatory pain stress in adult rats. *Neuroscience and Behavior Physiology*, vol. 50, no. 8, pp. 1090–1097. <https://doi.org/10.1007/s11055-020-01010-0> (In English)
- Butkevich, I. P., Mikhailenko, V. A., Vershinina, E. A., Barr, G. A. (2021) The long-term effects of neonatal inflammatory pain on cognitive function and stress hormones depend on the heterogeneity of the adolescent period of development in male and female rats. *Frontiers in Behavior Neuroscience*, vol. 15, article 691578. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00125> (In English)
- Chen, M., Xia, D., Min, C. et al. (2016) Neonatal repetitive pain in rats leads to impaired spatial learning and dysregulated hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in later life. *Scientific Reports*, vol. 14, article 39159. <https://doi.org/10.1038/srep39159> (In English)
- Daskalakis, N. P., Bagot, R. C., Parker, K. J. (2013) The three-hit concept of vulnerability and resilience: Toward understanding adaptation to early-life adversity outcome. *Psychoneuroendocrinology*, vol. 38, no. 9, pp. 1858–1873. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.06.008> (In English)
- Dührsen, L., Simons, S. H., Dzierko, M. et al. (2013) Effects of repetitive exposure to pain and morphine treatment 742 on the neonatal rat brain. *Neonatology*, vol. 103, no. 1, pp. 35–43. <https://doi.org/10.1159/000341769> (In English)
- Fitzgerald, E., Sinton, M. C., Wernig-Zorc, S. et al. (2021) Altered hypothalamic DNA methylation and stress-induced hyperactivity following early life stress. *Epigenetics Chromatin*, vol. 14, no. 1, article 31. <https://doi.org/10.1186/s13072-021-00405-8> (In English)
- Green, M. R., McCormick, C. M. (2016) Sex and stress steroids in adolescence: Gonadal regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. *General and Comparative Endocrinology*, vol. 234, pp. 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.02.004> (In English)
- Grunau, R. E., Holsti, L., Haley, D. W. et al. (2005) Neonatal procedural pain exposure predicts lower cortisol and behavioral reactivity in preterm infants in the NICU. *Pain*, vol. 113, no. 3, pp. 293–300. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2004.10.020> (In English)
- Grunau, R. E., Holsti, L., Peters, J. W. (2006) Long-term consequences of pain in human neonates. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, vol. 11, no. 4, pp. 268–275. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2006.02.007> (In English)
- Grunau, R. E., Whitfield, M. F., Petrie-Thomas, J. et al. (2009) Neonatal pain, parenting stress and interaction, in relation to cognitive and motor development at 8 and 18 months in preterm infants. *Pain*, vol. 143, no. 1–2, pp. 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2009.02.014> (In English)
- Grunau, R. E., Cepeda, I. L., Chau, C. M. et al. (2013) Neonatal pain-related stress and NFKBIA genotype are associated with altered cortisol levels in preterm boys at school age. *PLoS One*, vol. 8, no. 9, article e73926. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073926> (In English)
- Gulchina, Y., Xu, S.-J., Snyder, M. A. et al. (2017) Epigenetic mechanisms underlying NMDA receptor hypofunction in the prefrontal cortex of juvenile animals in the MAM model for schizophrenia. *Journal of Neurochemistry*, vol. 143, no. 3, pp. 320–333. <https://doi.org/10.1111/jnc.14101> (In English)
- Henderson, Y. O., Victoria, N. C., Inoue, K. et al. (2015) Early life inflammatory pain induces long-lasting deficits in hippocampal-dependent spatial memory in male and female rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 118, pp. 30–41. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.10.010> (In English)
- Herrington, C. J., Olomu, I. N., Geller, S. M. (2004) Salivary cortisol as indicators of pain in preterm infants: A pilot study. *Clinical Nursing Research*, vol. 13, no. 1, pp. 53–68. <https://doi.org/10.1177/1054773803259665> (In English)
- Hrabovszky, E., Wittmann, G., Turi, G. F. et al. (2005) Hypophysiotropic thyrotropin-releasing hormone and corticotropin-releasing hormone neurons of the rat contain vesicular glutamate transporter-2. *Endocrinology*, vol. 146, no. 1, pp. 341–347. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0856> (In English)
- Khawla, Q., Alzoubi, N. K. H., Alhusban, A. et al. (2017) Sucrose and naltrexone prevent increased pain sensitivity and impaired long-term memory induced by repetitive neonatal noxious stimulation: Role of BDNF and

- β -endorphin. *Physiology and Behavior*, vol. 179, pp. 213–219. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.06.015> (In English)
- Koutmani, Y., Gampierakis, I. A., Polissidis, A. et al. (2019) CRH promotes the neurogenic activity of neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Reports*, vol. 29, no. 4, pp. 932–945. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.09.037> (In English)
- Lu, J., Goula, D., Sousa, N., Almeida, O. F. X. (2003) *Ionotropic and metabotropic glutamate receptor* mediation of glucocorticoid-induced apoptosis in hippocampal cells and the neuroprotective role of synaptic N-methyl-D-aspartate receptors. *Neuroscience*, vol. 121, no. 1, pp. 123–131. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(03\)00421-4](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(03)00421-4) (In English)
- Mikhailenko, V. A., Butkeвич, I. P., Vershinina, E. A. (2021) Studying the effect of neonatal inflammatory pain on cognitive processes and the reactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal system in rats of prepubertal age. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 57, no. 5, pp. 1031–1039. <https://doi.org/10.1134/S0022093021050057> (In English)
- Mogil, J. S. (2020) Qualitative sex differences in pain processing: Emerging evidence of a biased literature. *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 21, no. 7, pp. 353–365. <https://doi.org/10.1038/s41583-020-0310-6> (In English)
- Mooney-Leber, S. M., Brummelte, S. (2017) Neonatal pain and reduced maternal care: Early-life stressors interacting to impact brain and behavioral development. *Neuroscience*, vol. 342, pp. 21–36. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.05.001> (In English)
- Morris, R. G. M. (1981) Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*, vol. 12, no. 2, pp. 239–260. [https://doi.org/10.1016/0023-9690\(81\)90020-5](https://doi.org/10.1016/0023-9690(81)90020-5) (In English)
- Nederhof, E., Schmidt, M. V. (2012) Mismatch or cumulative stress: Toward an integrated hypothesis of programming effects. *Physiology and Behavior*, vol. 106, no. 5, pp. 691–700. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.12.008> (In English)
- Nelson, L. H., Lenz, K. H. (2017) The immune system as a novel regulator of sex differences in brain and behavioral development. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 95, no. 1–2, pp. 447–461. <https://doi.org/10.1002/jnr.23821> (In English)
- Ranger, M., Grunau, R. E. (2014) Early repetitive pain in preterm infants in relation to the developing brain. *Pain Management*, vol. 4, no. 1, pp. 57–67. <https://doi.org/10.2217/pmt.13.61> (In English)
- Schwaller, F., Fitzgerald, M. (2014) The consequences of pain in early life: Injury-induced plasticity in developing pain pathways. *European Journal of Neuroscience*, vol. 39, no. 3, pp. 344–352. <https://doi.org/10.1111/ejn.12414> (In English)
- Sokołowski, A., Folkierska-Żukowska, M., Jednoróg, K. et al. (2020) The relationship between early and recent life stress and emotional expression processing: A functional connectivity study. *Cognitive, Affective and Behavioral Neuroscience*, vol. 20, no. 3, pp. 588–603. <https://doi.org/10.3758/s13415-020-00789-2> (In English)
- Timmers, I., Quaedflieg, C. W. E., Hsu, M. C. et al. (2019) The interaction between stress and chronic pain through the lens of threat learning. *Neuroscience and Biobehavioral Review*, vol. 107, pp. 641–655. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.10.007> (In English)
- Tjølsen, A., Berge, O.-G., Hunskaar, S. et al. (1992) The formalin test: An evaluation of the method. *Pain*, vol. 51, no. 1, pp. 5–17. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(92\)90003-t](https://doi.org/10.1016/0304-3959(92)90003-t) (In English)
- Ulrich-Lai, Y. M., Herman, J. P. (2009) Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 10, no. 6, pp. 397–409. <https://doi.org/10.1038/nrn2647> (In English)
- Van Bodegom, M., Homberg, J. R., Henckens, M. J. A. G. (2017) Modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by early life stress exposure. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, vol. 11, article 87. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00087> (In English)
- Verhaeghe, R., Gao, V., Morley-Fletcher, S. et al. (2021) Maternal stress programs a demasculinization of glutamatergic transmission in stress-related brain regions of aged rats. *GeroScience*, vol. 13, pp. 1–23. <https://doi.org/10.1007/s11357-021-00375-5> (In English)
- Victoria, N. C., Inoue, K., Young, L. J., Murphy, A. Z. (2013) Long-term dysregulation of brain corticotrophin and glucocorticoid receptors and stress reactivity by single early-life pain experience in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology*, vol. 38, no. 12, pp. 3015–3028. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.08.013> (In English)
- Vorhees, C. V., Williams, M. T. (2014) Assessing spatial learning and memory in rodents. *ILAR Journal*, vol. 55, no. 2, pp. 310–332. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilu013> (In English)
- Wang, K., Xu, F., Campbell, S. P. et al. (2020) Rapid actions of anti-Müllerian hormone in regulating synaptic transmission and long-term synaptic plasticity in the hippocampus. *The FASEB Journal*, vol. 34, no. 1, pp. 706–719. <https://doi.org/10.1096/fj.201902217R> (In English)
- Xia, D., Min, C., Chen, Y. et al. (2020) Repetitive pain in neonatal male rats impairs hippocampus-dependent fear memory later in life. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 14, article 722. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00722> (In English)



УДК 575.224

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-80-88>

Влияние гипоксии на состояние хромосомного аппарата дрозофилы в условиях накопления 3-гидроксикинуруенина

А. В. Медведева^{✉1}, Д. Д. Сафарова², Б. Ф. Щеголев¹,
Е. А. Никитина^{1,2}, Е. В. Савватеева-Попова¹

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

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

Сведения об авторах

Анна Владимировна Медведева, SPIN-код: 4291-9615, Scopus AuthorID: 16689705800, ResearcherID: J-6844-2018, ORCID: 0000-0001-7989-8746, e-mail: avmed56@mail.ru

Дарья Дилшодовна Сафарова, SPIN-код: 9265-1581, e-mail: safarovadasha200107@gmail.com

Борис Федорович Щеголев, SPIN-код: 1239-3324, Scopus AuthorID: 6701534523, ORCID: 0000-0001-5500-2837, e-mail: shcheg@mail.ru

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

Елена Владимировна Савватеева-Попова, SPIN-код: 2559-4778, Scopus AuthorID: 6603078303, e-mail: esavvateeva@mail.ru

Для цитирования: Медведева, А. В., Сафарова, Д. Д., Щеголев, Б. Ф., Никитина, Е. А., Савватеева-Попова, Е. В. (2022) Влияние гипоксии на состояние хромосомного аппарата дрозофилы в условиях накопления 3-гидроксикинуруенина. *Интегративная физиология*, т. 3, № 1, с. 80–88. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-80-88>

Получена 25 января 2022; прошла рецензирование 22 февраля 2022; принята 24 февраля 2022.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Государственной программы РФ 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030) (тема 63.1) и гранта РФФИ (№ 20-015-00300 А).

Права: © А. В. Медведева, Д. Д. Сафарова, Б. Ф. Щеголев, Е. А. Никитина, Е. В. Савватеева-Попова (2022).

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

Аннотация. Исследования М. Е. Лобашева и В. Б. Савватеева положили начало изучению взаимосвязи между нейропластичностью и развитием реакций на экстремальное воздействие. В настоящее время доказано наличие общих механизмов, лежащих в основе формирования адаптивных реакций и обучения. Гипоксия — один из наиболее распространенных повреждающих факторов при различных неблагоприятных внешних и внутренних воздействиях. Тяжелые формы гипоксии подавляют процессы нейропластичности, вызывают нарушения обучения и памяти. При ремоделировании хроматина и экспрессии генов, вовлеченных в процессы формирования памяти и обучения, возможно, необходимы двухцепочечные разрывы ДНК, поскольку они сопутствуют интенсивным матричным процессам при нейрогенезе и являются показателем физиологической активности нейронов. Стимуляция регуляторных каскадов, участвующих в обучении, влияет на формирование адаптивного ответа. Так, метаболиты кинуруенинового пути обмена триптофана влияют на процессы синаптической пластичности, регулирующие формирование памяти и обучение. В настоящей работе изучено влияние гипоксии на состояние хромосомного аппарата у мутанта *cd* (накопление 3-гидроксикинуруенина) дрозофилы. Выявлены межлинейные различия частоты двухцепочечных разрывов ДНК после воздействия гипоксии у мутанта *cd* и линии дикого типа *CS*. Данные обсуждаются в свете взаимосвязи процессов нейропластичности, регуляции циркадного ритма и механизмов адаптации к экстремальным воздействиям.

Ключевые слова: дрозофила, гипоксия, двухцепочечные разрывы, 3-гидроксикинуруенин, оксидативный стресс

The impact of hypoxia on *Drosophila* chromosomal apparatus in 3-hydroxykynurenine accumulation

А. В. Медведева^{✉1}, Д. Д. Сафарова², Б. Ф. Щеголев¹,
Е. А. Никитина^{1,2}, Е. В. Савватеева-Попова¹

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

² Herzen State Pedagogical University of Russia, 48 Moika Emb., Saint Petersburg 191186, Russia

Authors

Anna V. Medvedeva, SPIN: 4291-9615, Scopus AuthorID: 16689705800, ResearcherID: J-6844-2018, ORCID: 0000-0001-7989-8746, e-mail: avmed56@mail.ru

Daria D. Safarova, SPIN: 9265-1581, e-mail: safarovadasha200107@gmail.com

Boris F. Shchegolev, SPIN: 1239-3324, Scopus AuthorID: 6701534523, ORCID: 0000-0001-5500-2837, e-mail: shcheg@mail.ru

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

Elena V. Savvateeva-Popova, SPIN-код: 2559-4778, Scopus AuthorID: 6603078303, e-mail: esavvateeva@mail.ru

For citation: Medvedeva, A. V., Safarova, D. D., Shchegolev, B. F., Nikitina, E. A., Savvateeva-Popova, E. V. (2022) The impact of hypoxia on *Drosophila* chromosomal apparatus in 3-hydroxykynurenine accumulation. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 1, pp. 80–88. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-80-81>

Received 25 January 2022; reviewed 22 February 2022; accepted 24 February 2022.

Funding: This study was supported by the State Program of the Russian Federation 47 GP “Scientific and Technological Development of the Russian Federation” (2019–2030) (63.1) and RFBR 20-015-00300A.

Copyright: © A. V. Medvedeva, D. D. Safarova, B. F. Shchegolev, E. A. Nikitina, E. V. Savvateeva-Popova (2022). 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. M. E. Lobashev and V. B. Savvateev’s research laid the foundation for studying the relationship between neuroplasticity and reaction to extreme conditions. Common mechanisms underlying adaptive reactions and learning have been proven to exist. Hypoxia is one of the most common damaging factors in various adverse external and internal effects. Severe forms of hypoxia suppress neuroplasticity and cause learning and memory disorders. Chromatin remodelling and expression of genes involved in memory formation and learning may require double-stranded DNA breaks because they accompany intense matrix processes in neurogenesis and serve as indicators of physiological neuronal activity. Stimulation of regulatory cascades involved in learning has an impact on adaptive response formation. For instance, metabolites of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism affect the synaptic plasticity processes that regulate memory formation and learning. This article studies the effect of hypoxia on the state of chromosomal apparatus in *Drosophila cd* mutant (accumulation of 3-hydroxykynurenine). We discover interlinear differences in the frequency of double-stranded DNA breaks following exposure to hypoxia in mutant *cd* and wild-type *CS* strain. Obtained data are discussed in terms of the relationship between neuroplasticity processes, circadian rhythm regulation, and mechanisms for adapting to extreme conditions.

Keywords: *Drosophila*, hypoxia, double-stranded breaks, 3-hydroxykynurenine, oxidative stress

Введение

Все живые организмы находятся в непрерывном взаимодействии с внешней средой, постоянно испытывают воздействие неблагоприятных факторов, вызывающих различные нарушения. Помимо специфической реакции на каждое конкретное воздействие, в клетках возникают и неспецифические изменения (Мамон и др. 1999). Изменение тех или иных факторов среды может повлечь за собой модификацию метаболизма и ремоделирование активности генома.

Организм может оказаться в состоянии гипоксии в результате действия как внешних факторов, так и внутренних, например при закупорке (ишемии) кровеносных сосудов, при анемиях. Для всех форм гипоксии имеется одно сходство — дефицит доставки кислорода, приводящий к развитию необратимых изменений в жизненно важных органах. Наиболее распространенными заболеваниями, связанными с гипоксическим состоянием, являются ишемическая болезнь сердца и инсульт головного мозга, являющийся третьей по распространенности причиной смерти после инфаркта мио-

карда и онкологических заболеваний (Ветровой и др. 2017).

Кислород является терминальным фактором окислительного фосфорилирования, в результате которого синтезируется макроэргические молекулы АТФ. Значительный недостаток кислорода выступает в роли повреждающего фактора, особенно для таких энергозатратных органов, как мозг и сердце. Однако умеренный недостаток кислорода, напротив, может оказывать благотворный кардио- и нейропротективный эффект. Различают физиологическую и патологическую гипоксию. Недостаток кислорода сопровождается усиленную работу органов и тканей, например мышечное и умственное напряжение (Зарубина 2011). Мобилизация защитных метаболических путей организма в ответ на экстремальную ситуацию приводит к расширению адаптивных реакций. О связи нейропластичности и развития реакций на экстремальное воздействие свидетельствуют исследования М. Е. Лобашева и В. Б. Савватеева (Лобашев, Савватеев 1959), выявлению соответствующих общих механизмов посвящены современные исследования ряда авторов (Zatsepina et al. 2021). Известно, что в том числе умеренная гипоксия оказывает протекторный эффект на функционирование мозга, и это позволяет использовать данное воздействие для метаболической адаптации мозга к недостатку кислорода (Ветровой и др. 2017). В отличие от физиологической гипоксии, патологические нарушения доступа кислорода, обусловленные внешними или внутренними причинами, носят необратимый характер. В первую очередь это выражается в нарушении аэробного окисления в митохондриях, что приводит к дефициту макроэргических соединений. Отсутствие терминального окислителя останавливает электронно-транспортную цепь и приводит к накоплению в митохондриях NADH, что, в свою очередь, ведет к приостановке цитратного цикла и переключению альфа-кетоглутарата на синтез глутамата. Дефицит АТФ отражается на функционировании Na^+/K^+ -АТФ-азы, что ведет к нарушению градиента Na^+ и K^+ и, соответственно, к деполяризации мембран и входу Ca^{2+} в клетку. Избыток Ca^{2+} способствует выбросу глутамата в синаптическую щель и развитию глутаматной эксайтотоксичности. Вместе с тем возбуждение глутаматных рецепторов вкупе с деполяризацией мембран приводит к высвобождению Ca^{2+} из внутриклеточных депо (Ветровой и др. 2017). При этом запускаются процессы активации Са-зависимых ферментов (протеиназ, фосфолипаз, NO-синтаз), а также

происходит увеличение уровня активных форм кислорода (Voccoli et al. 2014). Свободно-радикальное повреждение клетки носит необратимый характер и особенно острые деструктивные изменения происходят в головном мозге. Таким образом, гипоксическое повреждение вызывает гибель нервных клеток, подавление пластичности нервной системы, что сказывается на способности к обучению и памяти.

В лаборатории нейрогенетики Института физиологии им. И. П. Павлова РАН в целях выявления внутриклеточных мишеней действия гипобарической гипоксии были проведены исследования на хорошо изученном модельном объекте генетики — нейробиологических мутантах дрозофилы. Использование дрозофилы в опытах по влиянию недостатка кислорода на формирование мутаций для обоснования физиологической природы мутационного процесса было впервые осуществлено М. Е. Лобашевым (Лобашев 1967). Согласно нашим предыдущим исследованиям, для дрозофилы 3% уровень кислорода в барокамере по физиологическим показателям соответствует умеренной гипоксии у млекопитающих. В условиях гипоксии наблюдается усиление способности к обучению, но не памяти, в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания (Медведева и др. 2020). Поскольку основной мишенью активных форм кислорода являются двухцепочечные разрывы ДНК (ДЦР) (Srinivas et al. 2019), была предпринята попытка изучения характера перестроек хромосом в нервных ганглиях личинок, вызванных экстремальным воздействием — гипоксией. Оказалось, что у дрозофилы увеличивается уровень мостов и анафаз с множественными перестройками, содержащими отстающие хромосомы. Мосты являются следствием негомологичной репарации ДЦР и изохроматидных разрывов при асимметричных хроматидных транслокациях. Отставание хромосом происходит не только при нарушении аппарата клеточного деления, но и при симметричном межхроматидном обмене (Лобашев 1967). Таким образом, у дрозофилы мишенью действия гипоксии является ДНК, что выражается в увеличении частоты ДЦР.

ДЦР неразрывно связаны с когнитивными функциями (Suberbielle et al. 2013). Известно, что для нервных клеток характерен высокий уровень повреждения ДНК из-за интенсивных свободнорадикальных процессов в мозге. Однако недавние исследования выявили высокие уровни «запрограммированных» разрывов ДНК в нейронах, которые, вероятно, возникают

во время физиологических метаболических процессов, присущих развитию, дифференцировке, поддержанию нейронов и, что важно, эпигенетической регуляции (Caldecott et al. 2022). Введение амифостина (редукция ДЦР) и этопозида (увеличение частоты ДЦР) до и после тренировки формирования условного рефлекса выявило роль ДЦР в экспрессии ранних генов (*cFos* и *FosB*), обучении и долгосрочной памяти (Boutros et al. 2022). Кроме того, нарушения митоза в результате ДЦР создают основу соматического мозаицизма нейронов, по-видимому имеющего важное функциональное значение (Verheijen et al. 2018).

В связи с этим большой интерес представляет изучение уровня ДЦР у нейробиологического мутанта кинуренинового пути обмена триптофана (КПОТ) *cardinal (cd)*, характеризующегося накоплением 3-гидроксикинуренина (ЗНОК), в норме и при экстремальном воздействии гипоксии, учитывая про- и антиоксидантные свойства 3-гидроксикинуренина. ЗНОК ингибирует перекисное окисление липидов, но в высокой концентрации вследствие окислительной аутодимеризации вызывает гиперпродукцию пероксида водорода, что приводит к гибели нервных клеток. ЗНОК является генератором оксидативного стресса, наблюдаемого при болезнях старения и острых стрессорных ситуациях (Kincses et al. 2010; Lewitt et al. 2013; Okuda et al. 1996). Накопление ЗНОК у мутанта *cd* влечет за собой нарушение брачной песни самца, возраст-зависимое развитие синаптической патологии и нарушение памяти. Это позволяет рассматривать *cd* как модель сенильной деменции у человека (Журавлев и др. 2020).

Материал и методы

Объектами исследования служили линия дикого типа дрозофилы *CS* и линия, несущая мутацию *cd* (3–75,7; ярко-красный цвет глаз), нарушающую синтез фермента феноксазидинсинтетазы, что приводит к накоплению ЗНОК (ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем»).

Гипобарическую гипоксию осуществляли в барокамере проточного типа. Воздействию подвергали личинок 3-го возраста дрозофилы, активно ползающих по стенкам пробирки. У каждой линии было проанализировано 15–20 личинок до и после гипоксического воздействия. Экспериментальные условия соответствовали прежде разработанным (Медведева и др. 2020), учитывая физиологическое

состояние особи — остановку движения. Личинок дрозофилы подвергали 30-минутному воздействию по следующей схеме:

5 мин — 360 мм рт. ст. (10% O₂);

5 мин — 180 мм рт. ст. (5% O₂);

10 мин — 140 мм рт. ст. (4% O₂);

10 мин — 120 мм рт. ст. (3% O₂).

Иммунохимический анализ ДЦР в клетках нервных ганглиев личинок дрозофилы. Иммунохимическое окрашивание производили согласно протоколу, разработанному для нервных ганглиев личинок дрозофилы (Wu, Luo 2006). Использовали маркерные для ДЦР антитела к модифицированному гистону Ser137-фосфо-H2Av (Rabbit anti-Other Histone H2AvD Polyclonal Antibody-P08985 (MBS4157014)).

Фокальные срезы анализировали в ЦКП «Конфокальная микроскопия» Института физиологии им. И. П. Павлова РАН на лазерном сканирующем микроскопе LSM 710 Carl Zeiss.

Результаты и обсуждение

Данные иммунохимического исследования ДЦР в нервных ганглиях личинок дрозофилы с помощью антител к маркерному модифицированному гистону Ser137-фосфо-H2Av представлены на рисунке 1. У линии дикого типа *CS* в ответ на гипоксическое воздействие наблюдали увеличение свечения, что соответствует высокому уровню ДЦР. Таким образом, гипоксическое воздействие приводит к увеличению частоты разрывов ДНК, что может быть связано с высоким уровнем активных форм кислорода (АФК), характерным для данного воздействия (Hernansanz-Agustín, Enríquez 2021).

Для мутантной линии *cd* характерен изначально высокий по сравнению с *CS* уровень свечения, который не изменился при действии гипоксии. Как известно, повреждения ДНК происходят регулярно в процессе клеточного метаболизма, во время которого накапливаются АФК, реактивные формы азота, продукты перекисного окисления липидов и т. д. (de Bont, van Larebeke 2004). В условиях гипоксии включается лейкоцитарный механизм активации перекисного окисления липидов (Бизенкова и др. 2006). ЗНОК обладает свойствами антиоксиданта, подавляя перекисное окисление липидов в липосомах (Zhuravlev et al. 2016). Вероятно, с этим связано отсутствие эффекта гипоксического воздействия. Вместе с тем окислительная аутодимеризация ЗНОК (1–10 мкМ) сопровождается генерацией пероксида водорода и иных АФК, что может обуславливать

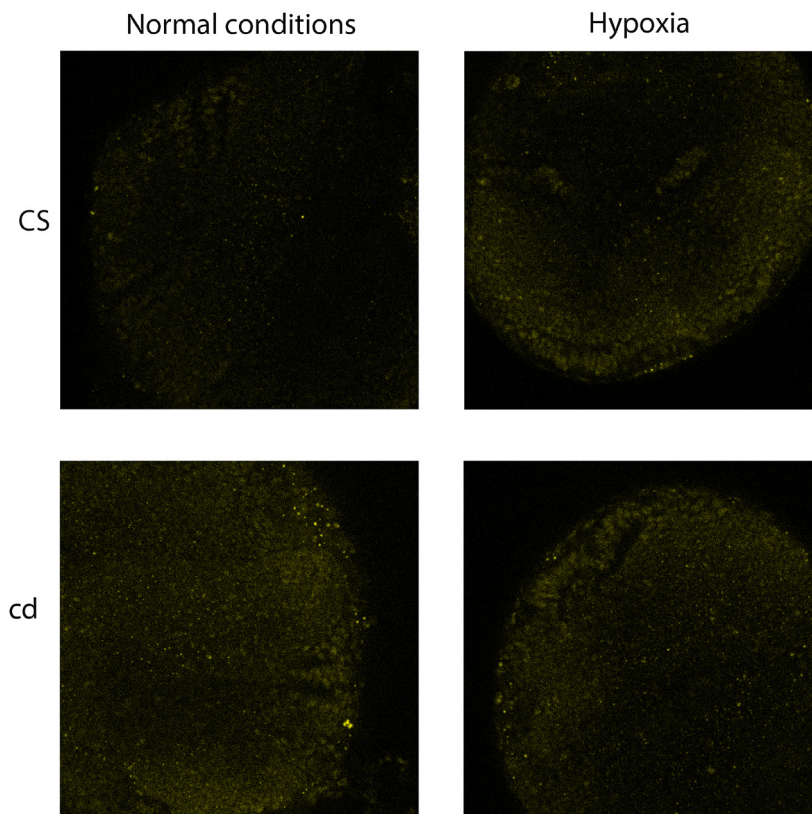


Рис. 1. Иммунохимический анализ двухцепочечных разрывов в нервных ганглиях личинок дрозофилы с помощью антител к маркерному модифицированному гистону Ser137-фосфо-H2Av в нормальных условиях и после гипоксического воздействия

Fig. 1. Immunochemical analysis of double-stranded breaks in *Drosophila* larvae nervous ganglia with antibodies to the marker modified histone Ser137-phospho-H2Av under normal conditions and after hypoxic exposure

изначально высокий уровень повреждений ДНК у *cd*. Полученные нами данные подтверждают двойственный эффект ЗНОК, обладающего как прооксидантной, так и антиоксидантной активностью (Журавлев и др. 2020; Nikitina et al. 2018). В дальнейшем будут проведены эксперименты по изучению влияния ЗНОК на обучение и память при гипоксическом воздействии; результаты интересно сопоставить с высокой частотой ДЦР у мутанта *cd*, учитывая полученные ранее данные об усилении способности к обучению самцов *CS* (Медведева и др. 2020).

Практическую значимость нашим исследованиям придает изучение фото- и магниторецепции, механизмы которых, как оказалось, связаны с механизмами, обеспечивающими ответ на гипоксическое воздействие.

Фоторецепторы голубой части спектра солнечного света — криптохромы (CRY) — являются первичными акцепторами магнитного поля (МП) и регулируют транскрипцию генов, кон-

тролирующих циркадные ритмы через гетеродимер CLOCK/BMAL1 (Запорожан, Пономаренко 2011). Вместе с тем промотор ключевого транскрипционного регулятора адаптации к кислородному голоданию, HIF1, содержит регуляторный мотив для генов контроля суточного ритма (Bozek et al. 2007). При этом HIF1 непосредственно связывается с промоторами ключевых генов суточного ритма (Peek et al. 2017). В связи с двунаправленным взаимовлиянием этих систем генов возможен и общий механизм влияния МП и гипоксии на хромосомный аппарат. Гены циркадного ритма — магнитосенсоры *cryptochrome* (CRY1 и CRY2), эволюционным предшественником которых были светоактивируемые ферменты репарации ДНК-фотолиазы, а также *period* (PER1, PER2, PER3) и *timeless* (TIM) вовлечены в узнавание и репарацию повреждений ДНК (Ishikawa et al. 1999). При этом дисфункция системы *Tim-Tipin* приводит к увеличению уровня фосфорилирования

гистона H2AX и частоты ДЦР (Smith et al. 2009). С аналогичных позиций можно рассмотреть и результаты поведенческих опытов, при которых ослабленное геомагнитное поле и гипоксия оказывают сходное влияние, восстанавливающее когнитивные функции у нейробиологических мутантов (Vasilieva et al. 2020). В работе Карки с соавторами показано, что CRY-зависимые от магнитного поля эффекты проявляются в спайковой активности нейронов, локомоторной активности и поведении в Т-образных лабиринтах (Karki et al. 2021). Этот набор проявлений и определяет совокупный результат феномена условно-рефлекторного подавления ухаживания у дрозофилы.

Заключение

Настоящее исследование является пилотным для дальнейшего изучения мишеней, формирующих адаптивные реакции на экстремальные воздействия, в частности на гипоксию, с целью разработки способов терапевтического воздействия. Оказалось, что в условиях гиперпродукции АФК ЗНОК проявляет свойства антиоксиданта. Планируется изучение влияния ЗНОК на когнитивные характеристики в условиях гипоксии в связи с высоким уровнем ДЦР.

Анализ литературы и собственных данных показывает, что система CRY/CLOCK/BMAL1 контролирует циркадные ритмы и способствует адаптации живых организмов к изменяющимся условиям окружающей среды (Kaushik et al. 2007), связывая воедино магниторецепцию, гипоксию, регуляцию циркадного ритма, когнитивные функции и ДЦР.

В перспективе подобные исследования могут лечь в основу методов терапии когнитивных, сердечно-сосудистых и других заболеваний

с использованием света, гипоксического preconditionирования и ослабленного МП.

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. Медведева Анна Владимировна — постановка эксперимента, написание статьи, подготовка иллюстративного материала;

б. Сафарова Дарья Дилшодовна — постановка эксперимента, подготовка иллюстративного материала;

с. Щеголев Борис Федорович — написание статьи и подбор литературы;

д. Никитина Екатерина Александровна — планирование эксперимента и обсуждение, написание статьи;

е. Савватеева-Попова Елена Владимировна — общее руководство экспериментом.

Author Contributions

а. Anna V. Medvedeva—setting up the experiment, writing the article, preparing figures;

б. Daria D. Safarova—setting up the experiment, preparing figures;

с. Boris F. Shchegolev—writing the article and selecting references;

д. Ekaterina A. Nikitina—experiment planning and discussion, writing the article;

е. Elena V. Savvateeva-Popova—general management of the experiment.

Литература

- Бизенкова, М. Н., Романцов, М. Г., Чеснокова, Н. П. (2006) Метаболические эффекты антиоксидантов в условиях острой гипоксической гипоксии. *Фундаментальные исследования*, № 1, с. 17–21.
- Ветровой, О. В., Рыбникова, Е. А., Самойлов, М. О. (2017) Церебральные механизмы гипоксического/ишемического посткондиционирования. *Биохимия*, т. 82, № 3, с. 542–551.
- Журавлев, А. В., Никитина, Е. А., Савватеева-Попова, Е. В. (2020) Роль кинуренинов в регуляции поведения и процессов памяти у дрозофилы. *Интегративная физиология*, т. 1, № 1, с. 40–50. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2020-1-1-40-50>
- Запорожан, В. Н., Пономаренко, А. И. (2011) Механизмы влияния слабого магнитного поля на экспрессию генома: основы физической эпигенетики. *Наука та інновації*, т. 7, № 6, с. 50–69.
- Зарубина, И. В. (2011) Современные представления о патогенезе гипоксии и ее фармакологической коррекции. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*, т. 9, № 3, с. 31–48.
- Лобашев, М. Е. (1967) *Генетика*. 2-е изд. Л.: Изд-во ЛГУ, 752 с.
- Лобашев, М. Е., Савватеев, В. Б. (1959) *Физиология суточного ритма животных*. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 259 с.

- Мамон, А. А., Бондаренко, А. В., Третьякова, И. В. и др. (1999) Последствия клеточного стресса при нарушенном синтезе белков теплового шока у дрозофилы. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология*, т. 4, № 24, с. 94–107.
- Медведева, А. В., Токмачева, Е. В., Никитина, Е. А. и др. (2020) Роль гипоксии в целостности генетического аппарата и формировании памяти у дрозофилы в парадигме условно-рефлекторного подавления уходаживания. *Медицинский академический журнал*, т. 20, № 4, с. 45–54. <https://doi.org/10.17816/MAJ51445>
- Boutros, S. W., Krenik, D., Holden, S. et al. (2022) Common cancer treatments targeting DNA double strand breaks affect long-term memory and relate to immediate early gene expression in a sex-dependent manner. *Oncotarget*, vol. 13, pp. 198–213. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.28180>
- Bozek, K., Kielbasa, S. M., Kramer, A., Herzel, H. (2007) Promoter analysis of Mammalian clock controlled genes. *Genomics & Informatics*, vol. 18, pp. 65–74. PMID: 18546475
- Caldecott, K. W., Ward, M. E., Nussenzweig, A. (2022) The threat of programmed DNA damage to neuronal genome integrity and plasticity. *Nature Genetics*, vol. 54, no. 2, pp. 115–120. <https://doi.org/10.1038/s41588-021-01001-y>
- De Bont, R., van Larebeke, N. (2004) Endogenous DNA damage in humans: A review of quantitative data. *Mutagenesis*, vol. 19, no. 3, pp. 169–185. <https://doi.org/10.1093/mutage/geh025>
- Hernansanz-Agustín, P., Enríquez, J. A. (2021) Generation of reactive oxygen species by mitochondria. *Antioxidants*, vol. 10, no. 3, article 415. <https://doi.org/10.3390/antiox10030415>
- Ishikawa, T., Matsumoto, A., Kato, T. Jr. et al. (1999) DCRY is a *Drosophila* photoreceptor protein implicated in light entrainment of circadian rhythm. *Genes Cells*, vol. 4, no. 1, pp. 57–65. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2443.1999.00237.x>
- Karki, N., Vergish, S., Zoltovski, B. D. (2021) Cryptochromes: Photochemical and structural insight into magnetoreception. *Protein Science*, vol. 30, no. 8, pp. 1521–1534. <https://doi.org/10.1002/pro.4124>
- Kaushik, R., Nawathean, P., Busza, A. et al. (2007) PER-TIM interactions with the photoreceptor cryptochrome mediate circadian temperature responses in *Drosophila*. *PLoS Biology*, vol. 5, no. 6, pp. 1257–1266. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050146>
- Kincses, Z. T., Toldi, J., Vécsei, L. (2010) Kynurenines, neurodegeneration and Alzheimer's disease. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, vol. 14, no. 8, pp. 2045–2054. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2010.01123.x>
- Lewitt, P. A., Li, J., Lu, M. et al. (2013) 3-hydroxykynurenine and other Parkinson's disease biomarkers discovered by metabolomic analysis. *Movement Disorders*, vol. 28, no. 12, pp. 1653–1660. <https://doi.org/10.1002/mds.25555>
- Nikitina, E. A., Chernikova, D. A., Vasilyeva, O. V. et al. (2018) Effect of antioxidants on medium-term memory formation in mutant *cardinal* of *Drosophila melanogaster*. *Biotechnology in Russia*, no. 3, pp. 67–77. <https://doi.org/10.1016/0234-2758-2018-34-3-67-77>
- Okuda, S., Nishiyama, N., Saito, H., Katsuki, H. (1996) Hydrogen peroxide-mediated neuronal cell death induced by an endogenous neurotoxin, 3-hydroxykynurenine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, vol. 93, no. 22, pp. 12553–12558. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.22.12553>
- Peek, C. B., Levine, D. C., Cedernaes, J. et al. (2017) Circadian clock interaction with hif1 α mediates oxygenic metabolism and anaerobic glycolysis in skeletal muscle. *Cell Metabolism*, vol. 25, no. 1, pp. 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.09.010>
- Smith, K. D., Fu, M. A., Brown, E. J. (2009) Tim-Tipin dysfunction creates an indispensable reliance on the ATR-Chk1 pathway for continued DNA synthesis. *Journal of Cell Biology*, vol. 187, no. 1, pp. 15–23. <https://doi.org/10.1083/jcb.200905006>
- Srinivas, S. U., Tan, B. W. Q., Vellayappan, B. A., Jeyasekharan, A. D. (2019) ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biology*, vol. 25, article 101084. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.101084>
- Suberbielle, E., Sanchez, P. E., Kravitz, A. V. et al. (2013) Physiologic brain activity causes DNA double-strand breaks in neurons, with exacerbation by amyloid- β . *Nature Neuroscience*, vol. 16, no. 5, pp. 613–621. <https://doi.org/10.1038/nn.3356>
- Vasilieva, S. A., Tokmacheva, E. V., Medvedeva, A. V. et al. (2020) The role of parental origin of chromosomes in the instability of the somatic genome in *Drosophila* brain cells and memory trace formation in norm and stress. *Cell and Tissue Biology*, vol. 14, no. 3, pp. 178–189. <https://doi.org/10.1134/S1990519X20030074>
- Verheijen, B. M., Vermulst, M., van Leeuwen, F. W. (2018) Somatic mutations in neurons during aging and neurodegeneration. *Acta Neuropathologica*, vol. 135, no. 6, pp. 811–826. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1850-y>
- Voccoli, V., Tonazzini, I., Signore, G. et al. (2014) Role of extracellular calcium and mitochondrial oxygen species in psychosine-induced oligodendrocyte cell death. *Cell Death and Disease*, vol. 5, no. 11, article e1529. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.483>
- Wu, J. S., Luo, L. (2006) A protocol for dissecting *Drosophila melanogaster* brains for live imaging or immunostaining. *Nature Protocols*, vol. 1, no. 4, pp. 2110–2115. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.336>
- Zatsepina, O. G., Nikitina, E. A., Shilova, V. Y. et al. (2021) Hsp70 affects memory formation and behaviorally relevant gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Cell Stress and Chaperones*, vol. 26, no. 3, pp. 575–594. <https://doi.org/10.1007/s12192-021-01203-7>

Zhuravlev, A. V., Zakharov, G. A., Shchegolev, B. F., Savvateeva-Popova, E. V. (2016) Antioxidant properties of kynurenines: Density functional theory calculations. *PLOS Computational Biology*, vol. 12, no. 11, article e1005213. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005213>

References

- Bizenkova, M. N., Romantsov, M. G., Chesnokova, N. P. (2006) Metabolicheskie efekty antioksidantov v usloviyakh ostroj gipoksicheskoj gipoksii [Metabolic effects of antioxidants in acute anoxic hepoxia]. *Fundamental'nye issledovaniya*, no. 1, pp. 17–21. (In Russian)
- Boutros, S. W., Krenik, D., Holden, S. et al. (2022) Common cancer treatments targeting DNA double strand breaks affect long-term memory and relate to immediate early gene expression in a sex-dependent manner. *Oncotarget*, vol. 13, pp. 198–213. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.28180> (In English)
- Bozek, K., Kielbasa, S. M., Kramer, A., Herzel, H. (2007) Promoter analysis of Mammalian clock controlled genes. *Genomics & Informatics*, vol. 18, pp. 65–74. PMID: 18546475 (In English)
- Caldecott, K. W., Ward, M. E., Nussenzweig, A. (2022) The threat of programmed DNA damage to neuronal genome integrity and plasticity. *Nature Genetics*, vol. 54, no. 2, pp. 115–120. <https://doi.org/10.1038/s41588-021-01001-y> (In English)
- De Bont, R., van Larebeke, N. (2004) Endogenous DNA damage in humans: A review of quantitative data. *Mutagenesis*, vol. 19, no. 3, pp. 169–185. <https://doi.org/10.1093/mutage/geh025> (In English)
- Hernansanz-Agustín, P., Enríquez, J. A. (2021) Generation of reactive oxygen species by mitochondria. *Antioxidants*, vol. 10, no. 3, article 415. <https://doi.org/10.3390/antiox10030415> (In English)
- Ishikawa, T., Matsumoto, A., Kato, T. Jr. et al. (1999) DCRY is a *Drosophila* photoreceptor protein implicated in light entrainment of circadian rhythm. *Genes Cells*, vol. 4, no. 1, pp. 57–65. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2443.1999.00237.x> (In English)
- Karki, N., Vergish, S., Zoltovski, B. D. (2021) Cryptochromes: Photochemical and structural insight into magnetoreception. *Protein Science*, vol. 30, no. 8, pp. 1521–1534. <https://doi.org/10.1002/pro.4124> (In English)
- Kaushik, R., Nawathean, P., Busza, A. et al. (2007) PER-TIM interactions with the photoreceptor cryptochrome mediate circadian temperature responses in *Drosophila*. *PLoS Biology*, vol. 5, no. 6, pp. 1257–1266. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050146> (In English)
- Kincses, Z. T., Toldi, J., Vécsei, L. (2010) Kynurenines, neurodegeneration and Alzheimer's disease. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, vol. 14, no. 8, pp. 2045–2054. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2010.01123.x> (In English)
- Lewitt, P. A., Li, J., Lu, M. et al. (2013) 3-hydroxykynurenine and other Parkinson's disease biomarkers discovered by metabolomic analysis. *Movement Disorders*, vol. 28, no. 12, pp. 1653–1660. <https://doi.org/10.1002/mds.25555> (In English)
- Lobashev, M. E. (1967) *Genetika [Genetics]*. 2nd ed. Leningrad: Pushkin Leningrad State University Publ., 752 p. (In Russian)
- Lobashev, M. E., Savvateev, V. B. (1959) *Fiziologiya sutochnogo ritma zivotnykh [Physiology of daily rhythm of animals]*. Moscow; Leningrad: USSR Academy of Sciences Publ., 259 p. (In Russian)
- Mamon, L. A., Bondarenko, L. V., Tretyakova, I. V. et al. (1999) Posledstviya kletochnoogo stressa pri narushennom sinteze belkov teplovogo shoka u drozofily [Consequences of cell stress in conditions of disturbed synthesis of heat shock proteins in *Drosophila melanogaster*]. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 3. Biologiya — Vestnik of Saint Petersburg University. Series 3. Biology*, vol. 4, no. 24, pp. 94–107. (In Russian)
- Medvedeva, A. V., Tokmacheva, E. V., Nikitina, E. A. et al. (2020) Rol' gipoksii v tselostnosti geneticheskogo apparata i formirovaniy pamyati u drozofily v paradigme uslovno-reflektornogo podavleniya ukhazhivaniya [The role of hypoxia the integrity of the genetic apparatus and the formation of memory in *Drosophila* in the paradigm of conditioned reflex suppression courtship]. *Meditinskij akademicheskij zhurnal — Medical Academic Journal*, vol. 20, no. 4, pp. 45–54. <https://doi.org/10.17816/MAJ51445> (In Russian)
- Nikitina, E. A., Chernikova, D. A., Vasilyeva, O. V. et al. (2018) Effect of antioxidants on medium-term memory formation in mutant *cardinal* of *Drosophila melanogaster*. *Biotechnology in Russia*, no. 3, pp. 67–77. <https://doi.org/10.1016/0234-2758-2018-34-3-67-77> (In English)
- Okuda, S., Nishiyama, N., Saito, H., Katsuki, H. (1996) Hydrogen peroxide-mediated neuronal cell death induced by an endogenous neurotoxin, 3-hydroxykynurenine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, vol. 93, no. 22, pp. 12553–12558. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.22.12553> (In English)
- Peek, C. B., Levine, D. C., Cedernaes, J. et al. (2017) Circadian clock interaction with hif1 α mediates oxygenic metabolism and anaerobic glycolysis in skeletal muscle. *Cell Metabolism*, vol. 25, no. 1, pp. 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.09.010> (In English)
- Smith, K. D., Fu, M. A., Brown, E. J. (2009) Tim-Tipin dysfunction creates an indispensable reliance on the ATR-Chk1 pathway for continued DNA synthesis. *Journal of Cell Biology*, vol. 187, no. 1, pp. 15–23. <https://doi.org/10.1083/jcb.200905006> (In English)

- Srinivas, S. U., Tan, B. W. Q., Vellayappan, B. A., Jeyasekharan, A. D. (2019) ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biology*, vol. 25, article 101084. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.101084> (In English)
- Suberbielle, E., Sanchez, P. E., Kravitz, A. V. et al. (2013) Physiologic brain activity causes DNA double-strand breaks in neurons, with exacerbation by amyloid- β . *Nature Neuroscience*, vol. 16, no. 5, pp. 613–621. <https://doi.org/10.1038/nn.3356> (In English)
- Vasilieva, S. A., Tokmacheva, E. V., Medvedeva, A. V. et al. (2020) The role of parental origin of chromosomes in the instability of the somatic genome in *Drosophila* brain cells and memory trace formation in norm and stress. *Cell and Tissue Biology*, vol. 14, no. 3, pp. 178–189. <https://doi.org/10.1134/S1990519X20030074> (In English)
- Verheijen, B. M., Vermulst, M., van Leeuwen, F. W. (2018) Somatic mutations in neurons during aging and neurodegeneration. *Acta Neuropathologica*, vol. 135, no. 6, pp. 811–826. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1850-y> (In English)
- Vetrovoj, O. V., Rybnikova, E. A., Samojlov, M. O. (2017) Tserebral'nye mekhanizmy gipoksicheskogo/ishemicheskogo postkonditsionirivaniya [Cerebral mechanisms of hypoxic/ischemic postconditioning]. *Biochemistry (Moscow)*, vol. 82, no. 3, pp. 392–400. (In Russian)
- Voccoli, V., Tonazzini, I., Signore, G. et al. (2014) Role of extracellular calcium and mitochondrial oxygen species in psychosine-induced oligodendrocyte cell death. *Cell Death and Disease*, vol. 5, no. 11, article e1529. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.483> (In English)
- Wu, J. S., Luo, L. (2006) A protocol for dissecting *Drosophila melanogaster* brains for live imaging or immunostaining. *Nature Protocols*, vol. 1, no. 4, pp. 2110–2115. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.336> (In English)
- Zaporozhan, V. N., Ponomarenko, A. I. (2011) Mekhanizmy vliyaniya slabogo magnitnogo polya na ekspressiyu genoma: Osnovy fizicheskoy epigenetiki [Mechanisms of weak magnetic field influence on gene expression: Basics of physical epigenetics]. *Nauka ta innovatsii*, vol. 7, no. 6, pp. 50–69. (In Russian)
- Zarubina, I. V. (2011) Sovremennye predstavleniya o patogeneze gipoksii i ee farmakologicheskoy korrektsii [Current ideas about the pathogenesis of hypoxia and its pharmacological correction]. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoj terapii*, vol. 9, no. 3, pp. 31–48. (In Russian)
- Zatsepina, O. G., Nikitina, E. A., Shilova, V. Y. et al. (2021) Hsp70 affects memory formation and behaviorally relevant gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Cell Stress and Chaperones*, vol. 26, no. 3, pp. 575–594. <https://doi.org/10.1007/s12192-021-01203-7> (In English)
- Zhuravlev, A. V., Nikitina, E. A., Savvateeva-Popova, E. V. (2020) Rol' kinureninov v regulyatsii povedeniya i protsessov pamyati u drozofily [Role of kynurenines in regulation of behavior and memory processes in drosophila]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 1, no. 1, pp. 40–50. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2020-1-1-40-50> (In Russian)
- Zhuravlev, A. V., Zakharov, G. A., Shchegolev, B. F., Savvateeva-Popova, E. V. (2016) Antioxidant properties of kynurenines: Density functional theory calculations. *PLOS Computational Biology*, vol. 12, no. 11, article e1005213. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005213> (In English)



УДК: 57.084.1+57.024

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-89-99>

Формирование эмпирических понятий у приматов разных таксономических групп

И. Ю. Голубева^{✉1}, Д. Л. Тихонравов^{2,3}

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

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

³ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, 194223, Россия, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44

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

Для цитирования: Голубева, И. Ю., Тихонравов, Д. Л. (2022) Формирование эмпирических понятий у приматов разных таксономических групп. *Интегративная физиология*, т. 3, № 1, с. 89–99. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-89-99>

Получена 24 января 2022; прошла рецензирование 28 марта 2022; принята 29 марта 2022.

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 (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. В литературе показаны разные принципы организации категорий у приматов, однако нет сравнительных данных относительно скорости формирования понятий и способности к суждению по аналогии у приматов разных таксономических групп. Цель работы — сравнительное исследование скорости формирования эмпирических понятий у полуобезьян (кошачьи лемуры), низших обезьян (макаки-резусы), малых антропоидов (белорукие гиббоны) и детей 4–5 лет и их способности к суждению по аналогии при формировании понятий. Исследование с нечеловеческими приматами проводили в жилых вольерах в условиях свободного доступа к выполнению задачи. Для детей методика адаптирована в виде игровой ситуации. У испытуемых формировали понятия с одним или двумя существенными признаками в условиях поиска подкрепляемого стимула среди одновременно предъявляемых четырех объектов. Установлено, что количество признаков не влияло на скорость обучения лемуров и макак, но было значимым для гиббонов и детей, что может быть связано с использованием разных стратегий обучения. Дети быстрее остальных участников формировали понятия на основе одного признака, т. к. могли действовать по аналогии при выполнении разных условий одной задачи, но теряли это преимущество при формировании понятия на основе двух признаков. Гиббоны испытывали трудности в ситуации переобучения, если требовался тормозный контроль ранее сформированных понятий. В условиях группового содержания и свободного доступа к выполнению задачи у лемуров и макак работали взрослые доминантные особи, а у гиббонов — только молодые животные. Применяемый подход позволил оценить способность на основании отдельных фактов сделать вывод об общих свойствах подкрепляемых объектов (индуктивная форма мышления) и на основании понимания правила в одном условии задачи сделать вывод в остальных условиях по аналогии (дедуктивная форма мышления) у полуобезьян, низших обезьян, малых антропоидов и ребенка в сравнительном аспекте.

Ключевые слова: нечеловеческие приматы, дети дошкольного возраста, формирование эмпирических понятий, суждение по аналогии, индуктивная функция рассудка, дедуктивная функция рассудка

Formation of empirical concepts in primates of various taxonomic groups

I. Yu. Golubeva^{✉1}, D. L. Tikhonravov^{2,3}

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

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

³ Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, 44 Thoreza Ave., Saint Petersburg 194223, 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

For citation: Golubeva, I. Yu., Tikhonravov, D. L. (2022) Formation of empirical concepts in primates of various taxonomic groups. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 1, pp. 89–99. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-89-99>

Received 24 January 2022; reviewed 28 March 2022; accepted 29 March 2022.

Funding: The research was carried out within the framework of state tasks No. 0134-2019-0005 (IF RAS) and No. 075-00776-19-02 (IEFB RAS) and supported by Russian Foundation for Basic Research (RFBR) grant No. 20-015-00269.

Copyright: © I. Yu. Golubeva, D. L. Tikhonravov (2022). 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. Much has been written about categorization in primates. However, there is a dearth in comparative studies on the formation of concepts and faculty of judgement by analogy (the part of analogical reasoning) in primates of various taxonomic groups. Our study is a comparative investigation of the formation of empirical concepts and faculty of judgement by analogy in semi-monkeys (ring-tailed lemurs), Old World monkeys (rhesus macaques), small apes (white-handed gibbons) and children aged 4 to 5. The formation of empirical concepts included the ability to differentiate between different object features. Four images were presented per a trial. The number of features underlying a concept did not affect the formation of concepts in lemurs and macaques while it made a difference for gibbons and children. This might be due to the use of different learning strategies during the formation of concepts. The children were faster than the non-human subjects to form concepts based on one feature due to the faculty of judgement by analogy. However, they lost their advantage when the formation of the concept was based on two features. Gibbons had big difficulties when inhibitory control was necessary for inhibiting the previous concept to form a new one. The study focused on the inductive function of abstract thinking responsible for the formation of concepts based on one or two features and the deductive function of abstract thinking responsible for faculty of judgement by analogy in primates of various taxonomic groups.

Keywords: non-human primates, preschool children, formation of empirical concepts, faculty of judgement by analogy, inductive function of abstract thinking, deductive function of abstract thinking

Введение

Формирование понятий — это форма мышления, которая отображает единичное и особенное, являющееся одновременно и всеобщим (Meshcheryakov, Zinchenko 2003). Формирование понятий можно рассматривать как базовый мыслительный акт, лежащий в основе познавательных способностей. Успешность адаптации у приматов во многом связана с понятийным мышлением, поэтому сравнительное изучение этого процесса у разных видов представляет интерес для понимания особенностей его развития в эволюции.

Формирование эмпирического понятия, как правило, начинается с метода проб и ошибок,

случайного процесса, который становится активным и целенаправленным, когда подключается рассудок. При этом можно выделить две формы движения мыслительного процесса: индуктивная форма — от частных фактов к общему выводу и дедуктивная форма — от общего положения к частным выводам. За счет индуктивной функции рассудка происходит сравнение объектов, активный поиск существенных признаков и их обобщение, что ведет к выработке понятия (генерализация). С помощью дедуктивной функции рассудка возможно отнести конкретный предмет к уже сформированному понятию (категоризация). Очевидно, что человек в большой степени получает готовые

знания, используя быстрый способ познания, тогда как животные в большей степени вынуждены накапливать личный опыт, изучая информацию.

Формирование понятий сопровождается образованием новых функциональных когнитивных структур — взаимодействующих нейронных сетей, в которых отображены разделительные признаки, существенные для категорий (Fuster 2006).

Существует много исследований, посвященных формированию понятий и категоризации у приматов (Fagot, Maugard 2013; Merritt et al. 2011; Smith et al. 2010; Vonk 2003 и др.); при этом показаны разные принципы организации категорий у приматов разных таксономических групп (Couchman et al. 2010; Katz, Wright 2021; Mansouri et al. 2020; Neiworth et al. 2014). Однако нет работ, позволяющих с использованием единого методического подхода количественно оценить способность на основании отдельных фактов сделать вывод об общих свойствах подкрепляемых объектов (индуктивная форма мышления), а также способность на основании понимания правила в одном условии задачи сделать вывод в остальных условиях по аналогии (дедуктивная форма мышления) у разных видов приматов.

Цель настоящей работы заключалась в проведении сравнительного исследования способности к формированию понятий разной степени сложности у трех видов нечеловеческих приматов: полуобезьян — кошачьих лемуруров, низших обезьян — макак-резусов и малых антропоидов — белоруких гиббонов, а также детей в возрасте 4–5 лет и оценке скорости формирования эмпирических понятий и способности к суждению по аналогии при выполнении разных условий понятия.

Методика

Проведено сравнительное исследование способности к формированию эмпирических понятий у приматов с использованием разработанного на макаках-резусах экспериментального психологического подхода (Tikhonravov et al. 2018).

Участники исследования

В исследовании участвовали три вида нечеловеческих приматов: три кошачьих лемура (две самки 5 и 10 лет и один самец 12 лет), восемь макак-резусов (четыре самца 1, 5, 4, 11 и 12 лет и четыре самки 1, 5, 5, 13 и 17 лет) и три белоруких гиббона (два самца 5 и 8 лет и одна самка 3 лет),

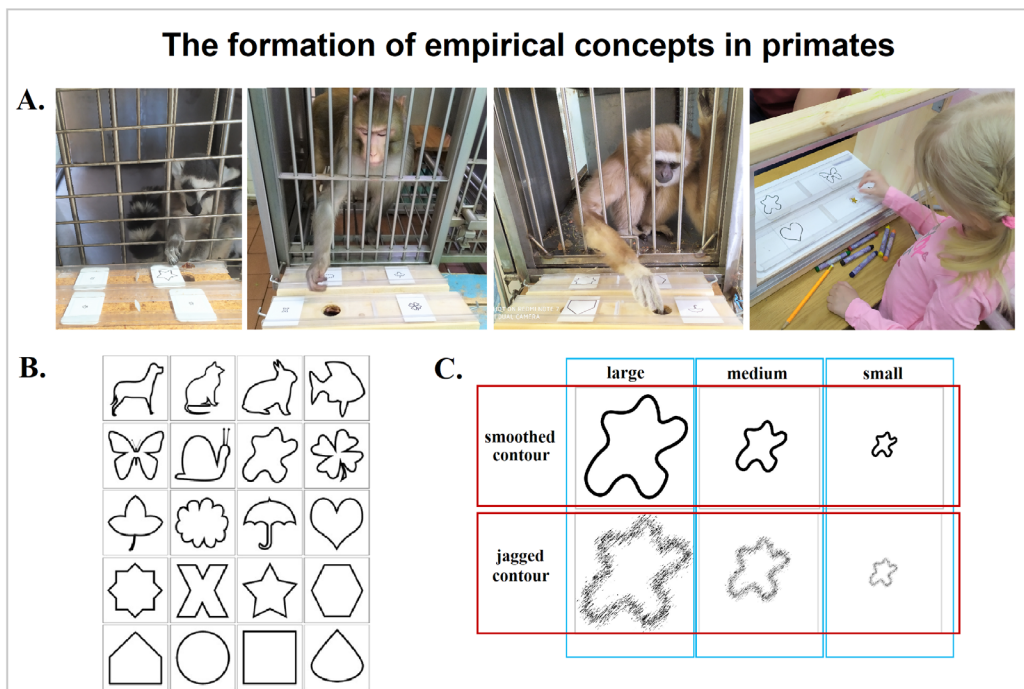


Рис. 1. Метод формирования понятий у приматов. А. Выполнение заданий приматами 4-х видов: кошачьи лемуры, макаки-резусы, белорукие гиббоны и дети 4–5 лет. В. Алфавит стимулов.

С. Шесть групп стимулов на примере стимула № 7

Fig. 1. The formation of concepts in primates. A. Tasks performed by four species of primates (ring-tailed lemurs, rhesus macaques, white-handed gibbons, and human children aged 4–5); B. The stimulus alphabet; C. Six varieties of stimuli based on stimulus 7

а также 15 детей в возрасте 4–5 лет, девять мальчиков и шесть девочек (рис. 1А).

Работу с макаками осуществляли на базе ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем». Эксперименты проводили в жилых клетках, где обезьяны содержались парами или по одному. Работа с лемурами и гиббонами проведена в Ленинградском зоопарке. Эксперименты проводили в небольшом отсеке жилого вольера, куда животные имели свободный доступ. Исследование с детьми проведено на базе д/с № 81 и д/с «Мирт» Санкт-Петербурга. От родителей каждого ребенка было получено письменное согласие.

Стимулы и экспериментальная установка

Стимулами служили пластиковые карточки размером 40 × 60 мм для лемуров и 60 × 80 мм для остальных участников. Карточки содержали контурные изображения различных объектов, которые отличались по форме контура (обычный контур и зубчатый контур) и размеру (большие — 100%, средние — 50% и малые — 25%). Алфавит стимулов содержал 20 разных образцов (рис. 1В), каждый из которых был представлен в шести вариантах: большие с обычным контуром, большие с зубчатым контуром, средние с обычным контуром, средние с зубчатым контуром, малые с обычным контуром и малые с зубчатым контуром (рис. 1С). Всего было 120 стимулов, что препятствовало запоминанию отдельных объектов.

Перед испытуемыми располагали установку, содержащую непрозрачный и прозрачный экраны, открывающие доступ к экспериментальной панели, на которой одновременно предъявляли четыре стимула. Стимулы фиксировали с помощью горизонтальных направляющих с возможностью свободного передвижения по ним (рис. 1А). Под каждым стимулом было углубление для подкрепления, под правильным объектом помещали подкрепление (пищевое для нечеловеческих приматов и цветные звездочки для детей). В каждом предъявлении все стимулы менялись и изменялось местоположение правильного объекта на панели.

Поведенческая парадигма

Испытуемые должны были самостоятельно, без инструкций, выявить определенную закономерность при выборе объектов и сформировать понятия без отнесения к конкретному изображению и (или) месту на экспериментальной панели. Подкрепление служило обратной

связью для выявления значимых признаков и их обобщения.

Последовательно вырабатывали несколько понятий: на основе одного признака — размер или форма контура (например, «большой», «меньший», «обычный контур», «зубчатый контур»), а также на основе сразу двух признаков — размер и форма контура (например, «большой с обычным контуром», «меньший с зубчатым контуром»).

В каждый экспериментальный день испытуемый получал 21 предъявление задания на формирование одного понятия в трех разных условиях (7 + 7 + 7), в которых стимулы были представлены в разных сочетаниях. Например, три условия формирования понятия «большой»: большой среди малых, большой среди средних, средний среди малых. Формирование понятия продолжали до тех пор, пока не будет достигнут 70% уровень правильных ответов по каждому условию, при этом понятие считалось сформированным, когда этот критерий достигнут для всех трех условий одного понятия в один экспериментальный день. После достижения критерия для одного понятия переходили к формированию следующего понятия.

Анализируемые параметры

- 1) Скорость формирования понятий — количество предъявлений (n), необходимое для достижения 70% критерия по всем трем условиям (21 предъявление задания — 7 + 7 + 7) в один экспериментальный день.
- 2) Способность к суждению по аналогии при формировании понятий. Оценивали разность между минимальным и максимальным количеством предъявлений, необходимых для достижения критерия отдельно для разных условий одного понятия (Δn). Например, при формировании понятия «большой», если испытуемый достигал критерия для одного условия (большой среди малых) и затем сразу переносил понимание отношений на другие два условия (большой среди средних и средний среди малых), то он был способен к суждению по аналогии при формировании понятия «большой» и $\Delta n = 0$. Чем больше значение Δn , тем менее выражена была способность к суждению по аналогии при формировании понятий.

Статистическая обработка

Для анализа использовали статистический пакет программ StatSoft Statistica 10.0 с применением двухфакторного ANOVA и непарного t-теста.

Результаты исследования

Решение экспериментальных задач для всех участников проходило в условиях свободного доступа к заданию, что позволило оценить состав групп на предмет их стремления к выполнению когнитивной задачи.

В группе лемуру работали доминантная и субдоминантная самки, низкоранговая самка и подросток не участвовали, а самец мог выполнять задания, только когда перекрывали доступ самок в экспериментальный отсек.

У макак работали все особи, при этом взрослые самцы отличались нестабильной работой и часто теряли мотивацию, а в случае совместного содержания с самками не давали

им возможности выполнять задания. Таким образом, взрослые самки участвовали только в условиях содержания без самцов. Наиболее мотивированными были молодые макаки.

У гиббонов работали только подростки, их родители не участвовали, но приходили в экспериментальный отсек и наблюдали за своими детьми.

Дети 4–5 лет имели высокую мотивацию к выполнению заданий.

Формирование одного понятия занимало от 1 до 23 экспериментальных дней. Учитывая небольшое количество участников в группе экзотических приматов, сравнительный анализ скорости формирования понятий выполнен по отдельным условиям каждого понятия. Двухфакторный ANOVA выявил значимый эффект фактора ВИД (лемуры, макаки, гиббоны, дети): $F(3, 200) = 71,40$, $p < 0,001$ и значимый эффект фактора ПОНЯТИЕ («размер», «форма контура», «размер и форма контура»): $F(2, 200) = 21,47$,

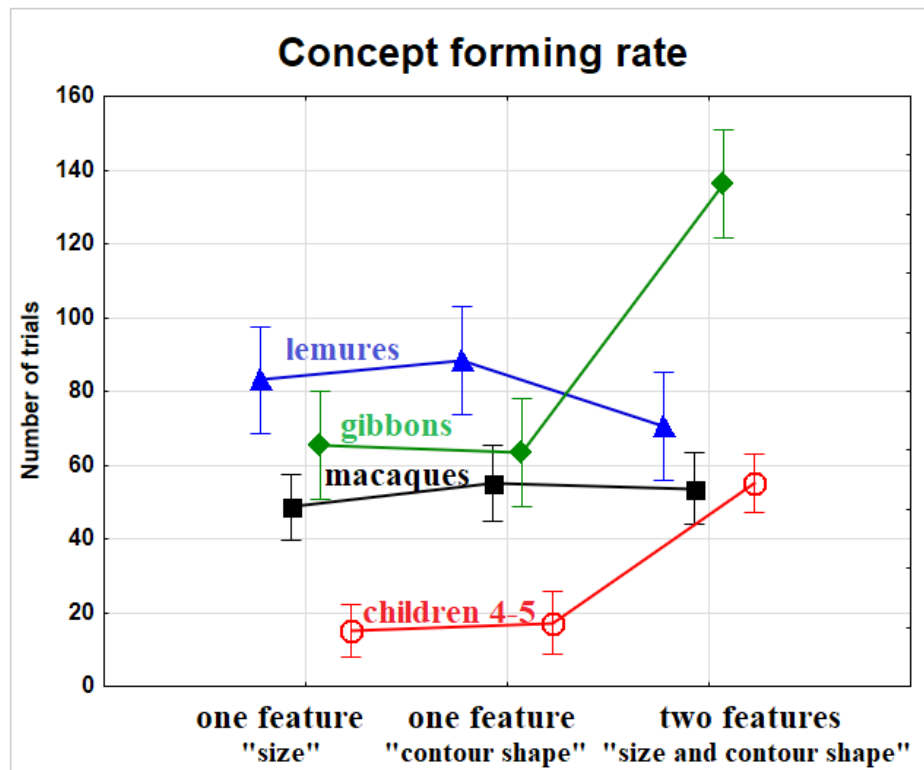


Рис. 2. Сравнительный анализ количества предъявлений (среднее арифметическое \pm 95% доверительный интервал), необходимое для достижения 70% уровня правильных ответов при формировании понятий у приматов четырех видов: кошачьи лемуры, макаки-резусы, белорукие гиббоны и дети 4–5 лет.

По оси абсцисс — три понятия («размер», «форма контура», «размер и форма контура»), по оси ординат — количество предъявлений, необходимое для достижения 70% критерия

Fig. 2. Comparative analysis of trial numbers (mean + 95% CI) necessary to reach 70% correct answers during the formation of concepts in study subjects (four species of primates). X-axis: three concepts ("size", "contour shape" and "size of images and contour shapes"); Y-axis: trial numbers necessary to reach 70% correct answers

$p < 0,001$ на скорость обучения. Также наблюдалось взаимодействие этих двух факторов: $F(6, 200) = 11,61$, $p < 0,001$, двухфакторный критерий ANOVA (рис. 2).

Характерно, что понятие «размер» и понятие «форма контура» (понятия на основе одного признака) не отличались по длительности у детей, гиббонов, макак и лемуров ($p = 1,00$ для всех групп участников, тест Тьюки — Крамера). При этом для формирования понятий на основе одного признака детям требовалось достоверно меньше ($p < 0,001$) предъявлений в сравнении со всеми нечеловеческими приматами. Среди последних достоверные различия проявились между макаками и лемурами ($p < 0,05$ для понятий «размер» и «форма»). Отличия между макаками и гиббонами ($p = 0,76$ и $p = 1,00$) и между гиббонами и лемурами ($p = 0,87$ и $p = 0,42$) для понятий «размер» и «форма» не выявились (Protseurdy mnozhestvennykh proverok gipotez... 2013).

При формировании понятия «размер и форма контура» (понятие на основе двух признаков) гиббонам требовалось достоверно больше ($p < 0,001$) предъявлений в сравнении с остальными участниками. Дети, макаки и лемуры не отличались

по скорости выработки этого понятия (дети vs макаки $p = 1,00$; дети vs лемуры $p = 0,79$; лемуры vs макаки $p = 0,75$, тест Тьюки — Крамера).

Характерно, что формирование понятия на основе одного и двух признаков не различалось по длительности у лемуров ($p = 0,99$) и макак ($p = 1,00$), однако выработка понятия на основе двух признаков требовала достоверно большего количества предъявлений у гиббонов ($p < 0,001$) и детей ($p < 0,001$) в сравнении с понятием на основе одного признака (тест Тьюки — Крамера).

Таким образом, при выполнении разных задач участники разделились следующим образом: понятия с одним признаком дети формировали быстрее, чем нечеловеческие приматы; понятия с двумя признаками гиббоны формировали дольше остальных участников; различия между понятиями с одним и двумя признаками были у детей и гиббонов, но отсутствовали у лемуров и макак.

Анализ способности к суждению по аналогии показал, что у лемуров наблюдались значительные различия в скорости обучения разным условиям как при формировании понятия на основе одного признака, так и двух признаков, при этом различий между понятиями по данному показателю не было

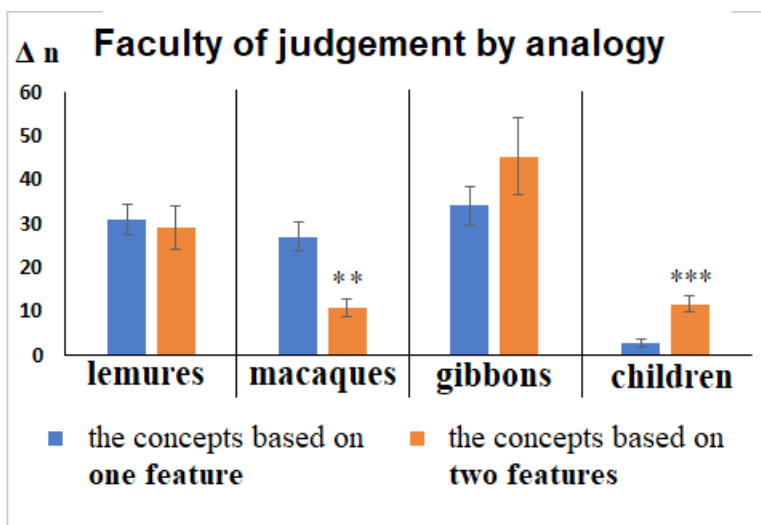


Рис. 3. Сравнительный анализ способности к суждению по аналогии (выполнение разных условий одного понятия) при формировании понятий с 1–2 признаками. По оси абсцисс: четыре вида участников, по оси ординат: Δn — разность между минимальным и максимальным количеством предъявлений, необходимых для достижения критерия по разным условиям одного понятия. Чем меньше Δn , тем более выражена способность к аналогии. Синие столбики — понятие на основе одного признака, красные — на основе двух признаков. Достоверные различия обозначены как ** $p < 0,01$ и *** $p < 0,001$ (непарный t-тест)

Fig. 3. Comparative data on faculty of judgement by analogy (the rate of performing different conditions of the same concept) during the formation of concepts based on one or two features. X-axis: four types of study subjects; Y-axis: delta of n is the difference between the maximum and minimum number of trials necessary to achieve the 70% criterion for different conditions during the formation of a concept. The smaller the delta of n, the higher the level of faculty of judgement by analogy reasoning. Blue columns are concepts based on one. Red columns are concepts based on two features. Significant differences (**— $p < 0.01$ and ***— $p < 0.001$) were determined using the unpaired two-tailed t-test

(непарный t-тест: $t = 0,26$, $df = 10$, $p = 0,8$). Сходные результаты были обнаружены у гиббонов (непарный t-тест: $t = 0,96$, $df = 10$, $p = 0,36$). Таким образом, у этих участников способность к суждению по аналогии при формировании данных понятий не выявлена (рис. 3).

У макак также были различия между разными условиями при формировании понятий, однако выявлены достоверные различия между понятиями на основе одного и двух признаков (непарный t-тест: $t = 3,30$, $df = 18$, $p < 0,01$), при этом показатель Δn уменьшался с увеличением количества существенных признаков понятия.

У детей при формировании понятия на основе одного признака практически не было различий в скорости обучения разным условиям, однако при формировании понятия на основе двух признаков такие различия появились. Понятия с одним и двумя существенными признаками достоверно различались по показателю Δn (непарный t-тест: $t = 4,64$, $df = 36$, $p < 0,001$).

Таким образом, у макак и детей способность к суждению по аналогии при формировании понятий на основе одного или двух признаков различалась, при этом различия имели разнонаправленный характер (рис. 3).

Обсуждение результатов

Проведенное исследование посвящено изучению способности к формированию эмпирических понятий у полуобезьян, низших обезьян, малых антропоидов и детей 4–5 лет в сравнительном аспекте.

Используемый нами методический подход имеет ряд преимуществ:

- Не требуется предварительное обучение и инструкции, в отличие от таких широко используемых в психологических исследованиях тестов, как Висконсин тест, тест Когана, тест Равена и др. (Churrov 2013; Mansouri et al. 2020). Это позволяет сравнивать приматов разных таксономических групп, а также применять данный тест у детей с особенностями развития.
- Используется поисковое поведение, что является экологически адекватным для приматов.
- Ответом служит двигательная реакция — сдвигание стимула, открывающее подкрепление, что обеспечивает высокую мотивацию.
- Прикосновение к стимулу способствует концентрации внимания на его особенностях, что увеличивает скорость обучения (Katz et al. 2002).

- Одновременно предъявляются четыре стимула, что позволяет сравнивать несколько объектов в каждом предъявлении. Сравнение способствует выявлению отношений между стимулами и делает обучение активным и целенаправленным процессом (Gentner, Hoynos 2017). Кроме этого, вероятность случайного угадывания составляет 25%, поэтому каждый ответ несет больше информации для испытуемого.

В условиях относительно свободного содержания у нечеловеческих приматов в ряду полуобезьяны — низшие обезьяны — малые антропоиды отмечалась тенденция смещения стремления к выполнению задачи, связанной с поиском подкрепления, к более молодому возрасту. Так, в условиях группового содержания у лемуров и макак работали доминантные взрослые особи (самки у лемуров и самцы у макак), а у гиббонов — особи подросткового возраста. Характерно, что дети и гиббоны использовали ситуацию эксперимента в социальных целях: гиббоны демонстрировали свои способности находить подкрепление своим родителям во время эксперимента, а дети собирали и использовали для этих целей найденные «сокро-вища» (подкрепление).

Оценивали длительность формирования понятий разной степени сложности и способность к суждению по аналогии.

В сравнительных исследованиях, связанных с категоризацией, часто или не уделяется внимание различиям в длительности обучения между видами (Couchman et al. 2010; de Lillo et al. 2005; Mansouri et al. 2020; Neiworth et al. 2014), или показаны огромные различия между человеком и обезьянами (Katz et al. 2002; Smith et al. 2010). Большое количество проб в упомянутых выше работах, с нашей точки зрения, можно объяснить необходимостью категоризации стимула без предварительного формирования понятий. Однако категоризация стимулов связана с дедуктивным способом мышления, которое должно опираться на сформированное понятие. Если человек может использовать быстрый способ познания, так как в большой степени получает готовые знания, то животным в большей степени приходится изучать информацию и накапливать личный опыт, используя более медленный способ познания. Это важно учитывать в сравнительных исследованиях при сопоставлении длительности обучения человека и нечеловеческих приматов.

В наших экспериментах участники должны были формировать понятия. Выполнение

заданий, как правило, начиналось методом проб и ошибок, т. е. случайного процесса, который становится активным и целенаправленным за счет сравнения одновременно предъявляемых объектов, выявления существенных для понятия признаков и их обобщения.

Дети быстрее остальных участников формировали понятия на основе одного признака, при этом некоторые из них делали это практически сразу. Мы предполагаем, что они уже владели понятиями «размер» и «форма контура», и у них происходила лишь актуализация этих понятий. Сравнив четыре одновременно предъявленных стимула, ребенок мог, минуя этап проб и ошибок, соотнести подкрепляемые стимулы с этими понятиями с помощью дедуктивной функции рассудка. В отличие от детей, все обезьяны обучались на основе метода проб и ошибок и формировали эмпирические понятия за счет индуктивной функции рассудка. Характерно, что практически все дети были способны к суждению по аналогии при выполнении разных условий понятия на основе одного признака, но теряли это преимущество при формировании понятия на основе двух признаков. Нечеловеческие приматы каждое условие понятия выполняли как новую задачу, не проявляя способности к суждению по аналогии.

Установлено, что количество существенных для понятия признаков не влияло на скорость обучения лемуров и макак, но было значимым для гиббонов и детей, что может быть связано с использованием разных стратегий. В литературе описаны различия между людьми и макаками в использовании разных стратегий обучения: аналитической, сознательной стратегии, основанной на правилах, и интуитивной, подсознательной стратегии, связанной с многомерным вниманием и обнаружением общего сходства (Ashby, O'Brien 2005; Couchman et al. 2010; Zakrzewski et al. 2018). Мы предположили, что полуобезьяны и низшие обезьяны при формировании понятий полагались скорее на общее сходство стимулов, при этом количество существенных для данного понятия признаков не имело значения, тогда как малые антропоиды и дети искали значимые признаки объекта, т. е. правило нахождения подкрепляемых стимулов; при этом найти одно правило легче, чем два.

Хотя у нечеловеческих приматов способность к суждению по аналогии не выявлена, у макак, в отличие от лемуров и гиббонов, отмечалось снижение разницы между количеством предъявлений, необходимых для достижения критерия по разным условиям понятия на основе двух

признаков, в сравнении с понятием с одним признаком. Таким образом, для макак, вероятно, легче обнаружить общее сходство между условиями, когда подкрепляемые объекты имеют больше различий.

У детей, напротив, увеличение количества существенных признаков понятия вело не только к увеличению длительности обучения, но и к снижению способности к суждению по аналогии, что согласуется с другими исследованиями (Richland et al. 2006), согласно которым дополнительные уровни сложности отношений затрудняют аналогическую обработку. Так, дети 3–4, 6–7, 9–11 и 13–14 лет совершали больше ошибок в определении отношений между объектами в состоянии «два отношения», чем в состоянии «одно отношение», и особенно ярко это проявлялось для младшего возраста.

Согласно литературным данным, отображение множественных отношений критически зависит от областей префронтальной коры, связанных с обеспечением управляющих функций (Alekseev, Rupchev 2010; Luria 2002). Есть мнение, что формирование понятий осуществляется на более ранних стадиях обработки зрительной информации, а префронтальные отделы необходимы для переключения внимания между измерениями (Mansouri et al. 2020). Нейроны префронтальной коры кодируют текущие цели и правила и облегчают избирательную обработку информации и планирование действий в соответствии с задачей (Paneri, Gregoriou 2017).

В нашем исследовании у гиббонов наблюдались наиболее выраженные различия в скорости обучения между понятиями с одним и двумя существенными признаками. По данным литературы, у гиббонов хорошо развит неокортекс, но анатомия лобной доли разделяет человекообразных обезьян и гиббонов (Cunningham, Mootnick 2009). Когнитивные способности гиббонов часто интерпретируются как плохие, хотя бывают случаи, когда их способности сопоставимы с высшими обезьянами (Cunningham et al. 2006). В нашем эксперименте гиббоны успешно формировали понятия на основе признаков «размер» и «форма контура», однако понятие на основе сразу двух существенных признаков представляло для них большую сложность в сравнении с лемурами, макаками и детьми. Можно предположить, что по стратегии формирования понятий гиббоны ближе к детям, чем остальные участники, однако значительно уступают детям в когнитивной гибкости, что может быть связано с развитием

префронтальной коры. Мы предполагаем, что именно понимание правила, согласно которому ранее они находили подкрепление, не давало возможности изменить свое поведение и перестроиться на новую задачу.

Таким образом, приматы разных таксономических групп разделились по способности к формированию понятий разной степени сложности: простые понятия с одним признаком дети формировали быстрее остальных участников, а сложные понятия с двумя признаками гиббоны формировали дольше всех остальных участников. При этом различия в скорости выработки простых и сложных понятий были у детей и гиббонов, но отсутствовали у макак и лемуров, а различия в способности к суждению по аналогии наблюдались только у детей и макак и имели разнонаправленный характер.

Применяемый подход позволил оценить способность на основании отдельных фактов сделать вывод об общих свойствах подкрепляемых объектов (индуктивная форма мышления) и на основании понимания правила в одном условии задачи сделать вывод в остальных условиях по аналогии (дедуктивная форма мышления) у полуобезьян, низших обезьян, малых антропоидов и человека в сравнительном аспекте. Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что на ранних этапах эволюции на уровне полуобезьян и низших обезьян преобладала индуктивная функция абстрактного мышления (рассудка), связанная с образным восприятием и процедурным обучением. В ходе последующей эволюции на уровне малых антропоидов и человека происходил постепенный сдвиг к преобладанию дедуктивной функции рассудка, связанной с рассуждениями и правилами и возможностью быстрого обучения за счет суждения по аналогии.

Выводы

- 1) Различия в скорости формирования понятий на основе одного и двух существенных признаков наблюдались только у детей и гиббонов: с увеличением количества признаков скорость выработки понятия снижалась, что может быть связано со стратегией, основанной на поиске правил. У макак и лемуров различий не было, что может быть связано со стратегией поиска общего сходства объектов.
- 2) Различия в способности к суждению по аналогии при формировании понятий на основе одного и двух существенных

признаков наблюдались только у детей и макак и имели разнонаправленный характер: у детей с увеличением количества признаков эта способность снижалась, а у макак повышалась.

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 выполнена 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., а также в соответствии с этическими стандартами Директивы Европейского Союза 86/609/ЕЕС о защите животных, используемых в экспериментальных и других научных целях.

Ethics Approval

The work was carried out in accordance with the ethical standards of the WMA Declaration of Helsinki “Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects” as amended in 2013, and in accordance with the ethical standards of the European Union Directive 86/609/EEC on the Protection of Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes.

Вклад авторов

- a. И. Ю. Голубева — проведение исследования; анализ данных; подготовка рукописи;
- b. Д. Л. Тихонравов — разработка концепции и проведение исследования.

Author Contributions

- a. I. Yu. Golubeva performed research and data analysis, prepared the manuscript;
- b. D. L. Tikhonravov developed the study concept and performed research.

Благодарности

Авторы выражают благодарность коллективу детского сада № 81 и д/с «МИРТ» (Санкт-Петербург, Россия) и сотрудникам отдела «Приматы» Ленинградского зоопарка. Наши персональные благодарности директору Ленинградского зоопарка Ирине Сергеевне Скиба и руководителю научного отдела Елене Владимировне Агафоновой за поддержку нашей исследовательской программы.

Acknowledgements

The authors would like to extend gratitude to the staff of kindergartens No 81 and MIRT (Saint Petersburg, Russia). We are also thankful to the staff of the Primates Department of the Leningrad Zoo. In particular, we would like to thank Ms. Elena V. Agafonova (Head of the Research Department) and Ms. Irina S. Skiba (Director) of the Leningrad Zoo for their support of our research programme.

References

- Alekseev, A. A., Rupchev, G. E. (2010) Ponyatie ob ispolnitel'nykh funktsiyakh v psikhologicheskikh issledovaniyakh: Perspektivy i protivorechiya [The notion of executive functions in psychological studies: Perspectives and contradictions]. *Psikhologicheskie issledovaniya: elektronnyj nauchnyj zhurnal*, vol. 3, no. 12. [Online]. Available at: <https://doi.org/10.54359/ps.v3i12.903> (accessed 18.01.2022). (In Russian)
- 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)
- Chuprov, L. F. (2013) Psikhodiagnosticheskiy nabor dlya issledovaniya intellektual'noj nedostatochnosti u detej mladshogo shkol'nogo vozrasta (kratkoe prakticheskoe posobie dlya psikhologov po ispol'zovaniyu diagnosticheskoy batarei) [Diagnostic kit for study of mental deficiency in children of primary school age (a brief practical guide for psychologists on the use of diagnostic battery)]. *PEM: Psychology. Educology. Medicine*, no. 1–2, pp. 108–163. (In Russian)
- Couchman, J. J., Coutinho, M. V. C., Smith, J. D. (2010) Rules and resemblance: Their changing balance in the category learning of humans (*Homo sapiens*) and monkeys (*Macaca mulatta*). *Journal of Experimental Psychology-Animal Behavior Processes*, vol. 36, no. 2, pp. 172–183. <https://doi.org/10.1037/a0016748> (In English)
- Cunningham, C. L., Anderson, J. R., Mootnick, A. R. (2006) Object manipulation to obtain a food reward in hoolock gibbons, *Bunopithecus hoolock*. *Animal Behaviour*, vol. 71, no. 3, pp. 621–629. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2005.05.013>. (In English)
- Cunningham, C., Mootnick, A. (2009) Gibbons. *Current Biology*, vol. 19, no. 14, pp. R543–R544. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.05.013> (In English)
- De Lillo, C., Spinozzi, G., Truppa, V., Naylor, D. M. (2005) A comparative analysis of global and local processing of hierarchical visual stimuli in young children (*Homo sapiens*) and monkeys (*Cebus apella*). *Journal of Comparative Psychology*, vol. 119, no. 2, pp. 155–165. <https://doi.org/10.1037/0735-7036.119.2.155> (In English)
- Fagot, J., Maugard, A. (2013) Analogical reasoning in baboons (*Papio papio*): Flexible reencoding of the source relation depending on the target relation. *Learning and Behavior*, vol. 41, pp. 229–237. <https://doi.org/10.3758/s13420-012-0101-7> (In English)
- Fuster, J. (2006) The cognit: A network model of cortical representation. *International Journal of Psychophysiology*, vol. 60, no. 2, pp. 125–132. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2005.12.015> (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)
- Katz, J. S., Wright, A. A. (2021) Issues in the comparative cognition of same/different abstract-concept learning. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, vol. 37, pp. 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2020.06.009> (In English)
- Katz, J. S., Wright, A. A., Bachevalier, J. (2002) Mechanisms of same/different abstract-concept learning by rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Journal of Experimental Psychology-Animal Behavior Processes*, vol. 28, no. 4, pp. 358–368. <https://doi.org/10.1037/0097-7403.28.4.358> (In English)
- Luria, A. R. (2002) *Osnovy neropsikhologii [Fundamentals of Neuropsychology]*. Moscow: Moscow State University Publ., 374 p. (In Russian)
- Mansouri, F. A., Buckley, M. J., Fehring, D. J., Tanaka, K. (2020) The role of primate prefrontal cortex in bias and shift between visual dimensions. *Cerebral Cortex*, vol. 30, no. 1, pp. 85–99. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhz072> (In English)
- Merritt, D., MacLean, E., Crawford, J., Brannon, E. (2011) Numerical rule-learning in ring-tailed lemurs (*Lemur catta*). *Frontiers in Psychology*, vol. 2, article 23. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2011.00023> (In English)
- Meshcheryakov, B. G., Zinchenko, V. P. (eds.). (2003) *Bol'shoj psikhologicheskij slovar' [Big Dictionary of Psychology]*. Moscow: Prajm-Evroznak Publ., 632 p. (In Russian)

- Neiworth, J. J., Whillock, K. M., Kim, S. H. et al. (2014) Gestalt principle use in college students, children with autism, toddlers (*Homo sapiens*), and cotton top tamarins (*Saguinus oedipus*). *Journal of Comparative Psychology*, vol. 128, no. 2, pp. 188–198. <https://doi.org/10.1037/a0034840> (In English)
- Paneri, S., Gregoriou, G. (2017) Down control of visual attention by the prefrontal cortex. Functional specialization and long-range interactions. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 11, article 545. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00545> (In English)
- Protsedury mnozhestvennykh proverok gipotez: kriterij T'yuki [Multiple Hypothesis Test Procedures: Tukey's Test]. (2013) *Analiz i vizualizatsiya dannykh [Data analysis and visualization]*. [Online]. Available at: https://r-analytics.blogspot.com/2013/10/blog-post_19.html (accessed 15.01.2022). (In Russian)
- 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)
- Smith, J. D., Beran, M. J., Crossley, M. J. et al. (2010) Implicit and explicit category learning by macaques (*Macaca mulatta*) and humans (*Homo sapiens*). *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, vol. 36, no. 1, pp. 54–65. <https://doi.org/10.1037/a0015892> (In English)
- Tikhonravov, D. L., Dubrovskaja, N. M., Zhuravin, I. A. (2018) Sravnitel'nyj analiz protsessa formirovaniya ponyatij razmera i formy u nizshikh obez'yan (*Macaca mulatta*) [The notions of size and shape in old world monkeys: A comparative analysis of the formation process]. *Zhurnal evolyutsionnoj biokhimii i fiziologii — Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 54, no. 3, pp. 205–211. (In Russian)
- Vonk, J. (2003) Gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*) and orangutan (*Pongo abelii*) understanding of first- and second-order relations. *Animal Cognition*, vol. 6, pp. 77–86. <https://doi.org/10.1007/s10071-003-0159-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)



УДК 612.85

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-100-109>

Влияние гипотермии на импульсную активность нейронов первичной слуховой коры доменной мыши (*Mus musculus*)

А. Г. Акимов¹, М. А. Егорова^{✉1}

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

Сведения об авторах

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

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

Для цитирования: Акимов, А. Г., Егорова, М. А. (2022) Влияние гипотермии на импульсную активность нейронов первичной слуховой коры доменной мыши (*Mus musculus*). *Интегративная физиология*, т. 3, № 1, с. 100–109. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-100-109>

Получена 30 января 2022; прошла рецензирование 9 апреля 2022; принята 10 апреля 2022.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке средств федерального бюджета по госзаданию на 2019–2021 гг. (№ регистрации темы АААА-А18-118013090245-6).

Права: © А. Г. Акимов, М. А. Егорова (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. Впервые показаны особенности разрядов нейронов первичной слуховой коры доменной мыши (*Mus musculus*) при общем переохлаждении. Сравнивали амплитуды мультиклеточных импульсных ответов нейронов, латентные периоды ответов одиночных нейронов и проявления постстимульной адаптации нейронов к серии тональных сигналов при нормальной температуре тела, при понижении температуры тела на 1–6 °С и после ее восстановления у наркотизированных животных. Полученные результаты выявили существенное увеличение латентных периодов ответов на звуковые сигналы в условиях гипотермии (в среднем на 49 мс) и, соответственно, изменение пачечного типа разряда на позднелатентный. Амплитуда ответов уменьшалась вплоть до полного угасания. Проявления постстимульной адаптации к серии тональных сигналов при гипотермии искажались по сравнению с зарегистрированными в условиях нормальной температуры тела. Повышение температуры тела до нормальной приводило к восстановлению типичных для нейронов первичной слуховой коры характеристик активности. При этом восстанавливался ответ на звуковые сигналы с латентным периодом менее 35 мс, а также амплитуда мультиклеточных ответов. У всех исследованных нейронов восстанавливался тип разряда, а также эффект постстимульной адаптации в ответах на серии тональных сигналов.

Ключевые слова: слуховая кора, гипотермия, одиночные нейроны, доменная мышь, характеристики импульсной активности, слуховая постстимульная адаптация

Effect of hypothermia on discharge properties of neurons in the house mouse (*Mus musculus*) primary auditory cortex

A. G. Akimov¹, M. A. Egorova^{✉1}

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

Authors

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

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

For citation: Akimov, A. G., Egorova, M. A. (2022) Effect of hypothermia on discharge properties of neurons in the house mouse (*Mus musculus*) primary auditory cortex. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 1, pp. 100–109. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-100-109>

Received 30 January 2022; reviewed 9 April 2022; accepted 10 April 2022.

Funding: This study was performed with the financial support of funds of the State budget for 2019–2021 (the research theme registration No AAAA-A18-118013090245-6).

Copyright: © A. G. Akimov, M. A. Egorova (2022). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The paper reports the results of the study that investigated discharges of neurons in the primary auditory cortex of the house mouse (*Mus musculus*) under general hypothermia. The study focused on multiunit response amplitude, latencies and post-stimulus adaptation to a series of tones at normal body temperature, at body temperature reduced by 1–6 °C and after the normalization of temperature in anesthetized animals. The data were obtained from extracellular recordings. The study showed a significant increase in latencies (on average of 49 ms) and the replacement of patch discharge with a long-latency response. Anesthetized animals do not show such behaviour of auditory cortex neurons at normal body temperature. The amplitude of multiunit responses decreased to the point of a complete fade-away. Parameters of post-stimulus adaptation to a series of tonal signals registered under normal body temperature were distorted during hypothermia. Normalization of body temperature resulted in the recovery of activity typical for primary auditory cortex neurons: the appearance of responses to sound signals with a latency of less than 35 ms, the normalization of post-stimulus adaptation in response to a series of tonal signals in all studied neurons and the normalization of summary response amplitude.

Keywords: auditory cortex, hypothermia, single neurons, house mouse, discharge properties, auditory post-stimulus adaptation

Введение

Гипотермия — состояние пониженной температуры тела у гомойотермных животных. Гипотермия возникает в результате переохлаждения организма в условиях, когда терморегуляторные механизмы неспособны поддерживать температуру тела (Petrone et al. 2014). При жизненной важности понимания механизмов гипотермии и сдерживания ее развития в организме изменения электрической активности мозга у человека и млекопитающих при переохлаждении изучены крайне фрагментарно. Известные работы сосредоточены на изменениях электроэнцефалограммы мозга (Abdurahmanov et al. 2014; Akiyama et al. 2001; Deboer 1998; Massopust et al. 1964; Rabadanova, Mejlanov 2011). Показано, что гипотермия приводит к подавлению электрической активности мозга гомойотермных

животных, а также к индукции тета-ритма, частота которого уменьшается вслед за снижением температуры тела (Rabadanova, Mejlanov 2011). Исследований активности одиночных нейронов коры мозга при переохлаждении, тем более ее сенсорных областей, не проводилось.

На протяжении ряда лет нами выполнялся цикл исследований нейронных механизмов временного анализа звука в слуховых центрах мозга домашней мыши *Mus musculus* (Egorova 2008; Egorova et al. 2019; 2020; Malinina et al. 2016). Известно, что временной анализ — фундаментальный процесс, обеспечивающий распознавание акустических сигналов, в первую очередь коммуникационных криков животных и речи человека, имеющих сложную временную организацию. Нами были подробно исследованы проявления и свойства постстимульной слуховой адаптации нейронов слухового центра сред-

него мозга и слуховой коры мыши и показана ее принципиальная роль во временной обработке последовательностей звуков, а именно — при их разделении и группировании во времени (Egorova et al. 2018; 2019; Malinina et al. 2016). Важность механизма слуховой адаптации для восприятия акустической информации ставит вопрос о его сохранности в слуховой коре при переохлаждении.

Поэтому цель данной работы — изучение особенностей вызванной активности и проявлений слуховой адаптации одиночных нейронов первичной слуховой коры доменной мыши (*Mus musculus*) при общем переохлаждении.

Методы исследования

В работе производили внеклеточную регистрацию импульсной активности нейронов первичных областей слуховой коры больших полушарий мозга наркотизированной доменной мыши *Mus musculus*, самок — гибридов F₁ линии CBA и C57BL/6 в возрасте 12–15 недель.

Методика подготовки животного к эксперименту и регистрации импульсной активности одиночных нейронов слуховой коры подробно описана ранее (Egorova 2005; Egorova, Akimov 2020; Egorova et al. 2001; 2019). Во время операции и на протяжении эксперимента анестезию поддерживали внутривенными инъекциями смеси кетамина (кетавет, 35 мг/кг) и ксилазина (ромпун, 0,1 мг/кг) каждые 20–45 мин.

В ходе эксперимента животное находилось в звукозаглушенной анэхоидной камере. Мыши из контрольной группы располагались на грелке с поддержанием постоянной ректальной температуры тела (38–39 °С). В эксперименте с гипотермией мышь располагалась на металлической пластине без подогрева при окружающей температуре 18 °С в течение восьми часов. Ректальную температуру тела измеряли каждый час. По окончании измерений параметров вызванной активности нейронов в условиях гипотермии включали грелку, и температуру тела животного восстанавливали до нормальной.

Для регистрации импульсной активности нейронов использовали изолированные лаком вольфрамовые микроэлектроды с диаметром кончика 1–3 мкм и сопротивлением 5–6 МОм. Электроды вводили ортогонально поверхности мозга в каудальную часть височной коры левого полушария, соответствующую расположению слуховой коры животного (Stiebler et al. 1997). Регистрацию производили на глубине 300–600 мкм, что соответствовало расположению III–V слоев коры. Эксперимент начинали с аудиовизуаль-

ного определения характеристической частоты (ХЧ) и порога ответа нейрона на тон ХЧ. Нейрональные ответы усиливали в 10 000 раз, фильтровали (диапазон пропускаемых частот 0,3–10 кГц) (WPI, усилитель DAM 80; Science Products, Germany) и выводили параллельно на осциллограф (Tectronix 5A14N), громкоговоритель и оконный дискриминатор (WPI 120; Science Products) с последующей оцифровкой аналого-цифровым преобразователем CED1401 plus (Cambridge Electronic Design, UK) и записью на персональный компьютер (программа Spike2).

Генерация тональных стимулов выполнялась автоматически на базе встроенной в компьютер системной платы TMS320C30 (тактовая частота 200 кГц, разрядность 16 бит) с использованием специализированных программ (TMS97), разработанных Dr. Schulze-Krüger (Германия). После усиления (усилитель Amphyton 25U-002C) сигналы поступали на звукоизлучатель Sonotrack (Metris, Голландия), неравномерность частотной характеристики которого составляла ± 5 дБ в диапазоне частот 3–65 кГц. Излучатель был расположен контралатерально стороне регистрации импульсной активности на расстоянии 60 см под углом 45° справа относительно сагиттальной плоскости. Ось излучателя была соотнесена с наружным слуховым проходом уха животного. Уровни звукового давления сигналов (УЗД, дБ над 20 мкПа) измеряли в точке расположения ушной раковины животного с помощью системы «Брюль и Кьер»: 6,5 мм микрофона 4135, предусилителя 2633 и измерительного усилителя 2606.

В качестве стимулов использовали одиночные тональные импульсы длительностью 50 мс, включая время нарастания и спада по 5 мс, а также серии тональных импульсов, образованные четырьмя 100-миллисекундными тональными посылками, включая время нарастания и спада по 5 мс. Частота сигналов соответствовала ХЧ нейрона, а уровень составлял 40 дБ над порогом ответа, что соответствовало области оптимального ответа большинства нейронов первичной слуховой коры. Интервал между тональными составляющими одной серии был одинаков, а в различных сериях варьировал от 0 до 1000 мс. Ответы нейронов на тональные последовательности регистрировали при межстимульных интервалах, равных 0 мс, 2 мс, 4 мс, 10 мс, 20 мс, 50 мс, 100 мс, 200 мс, 500 мс, 700 мс, 1000 мс. Каждую серию предъявляли 20 раз с интервалом в 2 секунды. Подсчитывали число спайков в ответе нейрона на каждый из тональных сигналов, составляющих серию. Для оценки временной динамики адаптации строили

зависимости числа спайков в ответе от интервала между тональными составляющими серии (кривые восстановления ответа от адаптации).

Сравнивали амплитуды мультикеточного импульсного ответа нейронов, латентные периоды ответов нейронов и кривые восстановления их ответа от постстимульной адаптации к серии звуковых сигналов при нормальной температуре тела, при понижении температуры тела и после ее восстановления у наркотизированных животных. При измерении латентных периодов ответов учитывали акустическую задержку, которая составляла 2 мс. При статистической обработке данных использовали пакет программ Sigma Plot 11.0 (ANOVA, тест Данна). В контрольной серии зарегистрирована активность 26 нейронов первичной слуховой коры мыши, в экспериментальной серии (при переохлаждении) — 14 нейронов.

Результаты и обсуждение

Ректальная температура тела мыши в естественных условиях составляла 39 °С. При такой температуре зарегистрированная нами импульсная активность нейронов первичной слуховой коры соответствовала полученным ранее показателям (Egorova 2005; Egorova et al. 2019). Так, амплитуда мультикеточных импульсных ответов составляла сотни микровольт, латентный период ответа не превышал 38 мс и составлял в среднем 28 ± 3 мс ($x \pm SD$, $n = 306$), нейроны имели фазные характеристики активности, т. е. фазные и пачечные разряды (рис. 1а).

Все исследованные нейроны демонстрировали эффект постстимульной адаптации к сериям тональных импульсов (рис. 1b, 1c). Как было показано нами ранее (Egorova et al. 2019; Egorova, Akimov 2020), адаптация выражалась

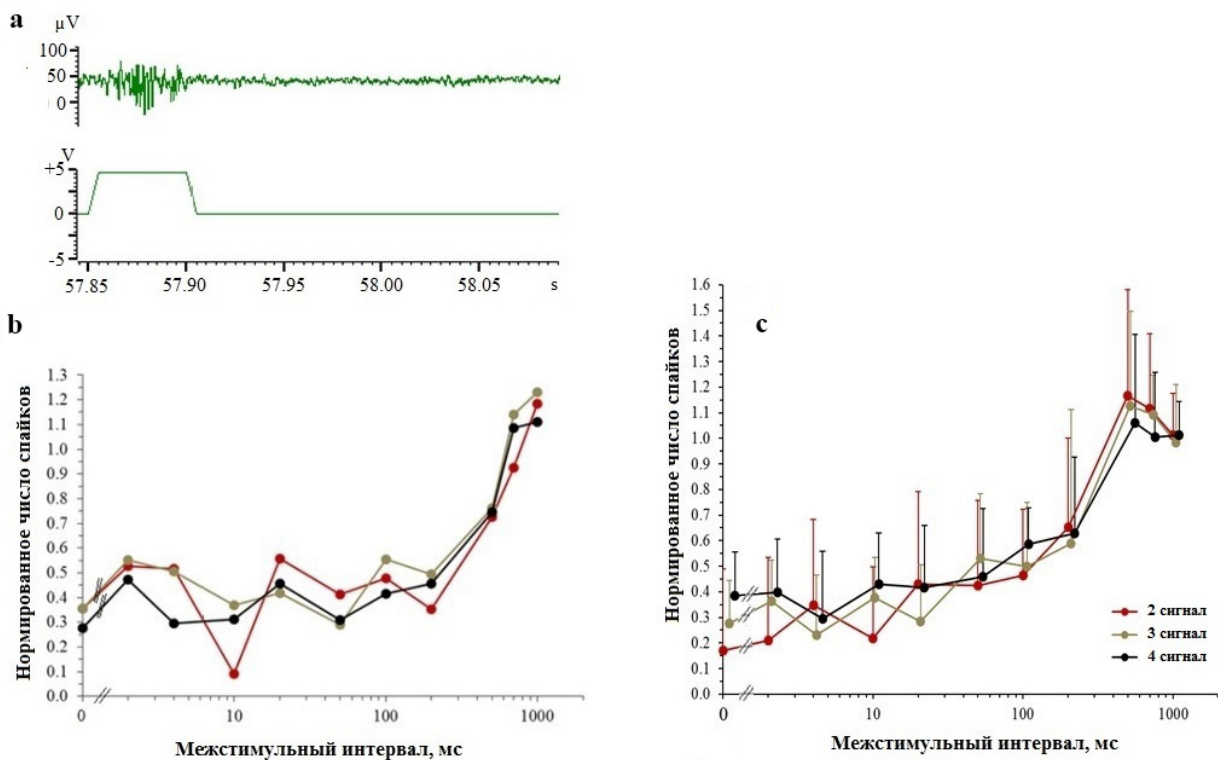


Рис. 1. Характеристики активности нейронов первичной слуховой коры интактных мышей (ректальная температура 39 °С). а — мультикеточный импульсный ответ нейронов на тональный сигнал ХЧ длительностью 50 мс. Ниже — отметка стимула. По оси абсцисс: время; по оси ординат: амплитуда сигнала; б — динамика восстановления от адаптации ответов одиночного нейрона на второй, третий и четвертый тоны по сравнению с ответом на первый тон в сериях с различными межстимульными интервалами (кривые восстановления ответов от адаптации). Величина ответа нейрона (число спайков) на 2–4-й тоны нормирована относительно его ответа на 1-й тон серии, т. е. равна отношению числа спайков в ответе нейрона на соответствующий тон к числу спайков в ответе на 1-й тон; в — кривые восстановления ответов на 2-й, 3-й и 4-й тоны серии от адаптации, усредненные по всем нейронам контрольной группы ($n = 26$). Указаны стандартные отклонения средних величин ответов нейронов на соответствующие компоненты серии

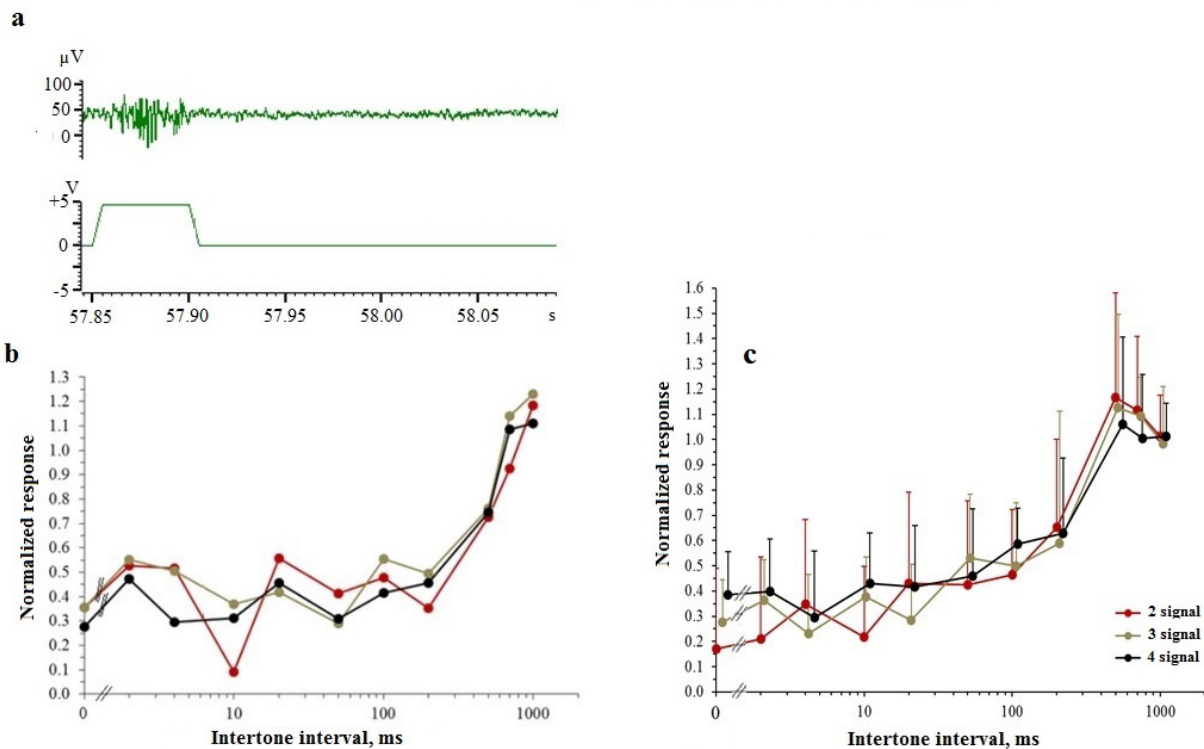


Fig. 1. Evoked response characteristics of primary auditory cortex neurons in intact mice (rectal temperature 39 °C). a—multiunit discharges evoked by 50 ms CF-tone. Below is the stimulus mark. X-axis: time; y-axis: amplitude; b—adaptation recovery curves of the single neuron, i. e., the dependences of responses to the second, third and fourth tones in the series with different intertone intervals. The value of response (spike number) is normalized with respect to the spike number in response to the first tone in the series, i. e., the spike number in responses to the second, third, and fourth tone in the series is divided by the spike number in response to the first tone; c—adaptation recovery curves averaged through control neurons (n = 26). Standard deviation is plotted for each point

в отсутствии или значительном снижении числа спайков в ответе нейрона на следующие за 1-м компоненты в серии тонов при относительно коротких интервалах между ними (0–100 мс). Нормированные функции восстановления ответа на 2-й, 3-й и 4-й тоны в серии монотонно возрастали с увеличением межстимульного интервала вплоть до полного восстановления ответа (рис. 1b, 1c). Восстановление ответа происходило синхронно для 2-го, 3-го и 4-го тонов в серии. Ответ полностью восстанавливался от адаптации почти у 90% нейронов при межстимульном интервале, не превышавшем 700 мс. Статистический анализ временной динамики постстимульной адаптации у всех исследованных нейронов (рис. 1c) показал, что при межстимульных интервалах 0–200 мс ответ на первый сигнал серии достоверно превышал ответы на 2-й, 3-й и 4-й сигналы (ANOVA, тест Данна, $p < 0,05$). Начиная с межстимульного интервала 500 мс ответы нейронов на все сигналы серии достоверно не различались.

Понижение температуры тела животного до 36–33 °C приводило к существенным изменениям амплитудных и в первую очередь временных характеристик ответов нейронов (рис. 2).

Латентные периоды ответов нейронов на тональные сигналы у всех нейронов существенно увеличивались (рис. 2a, 2b). Уже при ректальной температуре тела 36 °C через один час после начала охлаждения животного ответ становился позднелатентным со средним латентным периодом 87 ± 15 мс ($x \pm SD$; n = 282; рис. 2a) и варьировал от 44 до 136 мс. Дальнейшее понижение температуры тела до 33 °C, которое наблюдалось через 7–8 часов после начала охлаждения тела, не приводило к большему увеличению латентных периодов (рис. 2b). Их среднее значение составляло 72 ± 17 мс ($x \pm SD$; n = 625). Латентные периоды ответов корковых нейронов как спустя один час после начала охлаждения, так и через семь часов переохлаждения были достоверно больше, чем при нормальной температуре тела (ANOVA, тест Данна, $p < 0,01$). Как показано нами

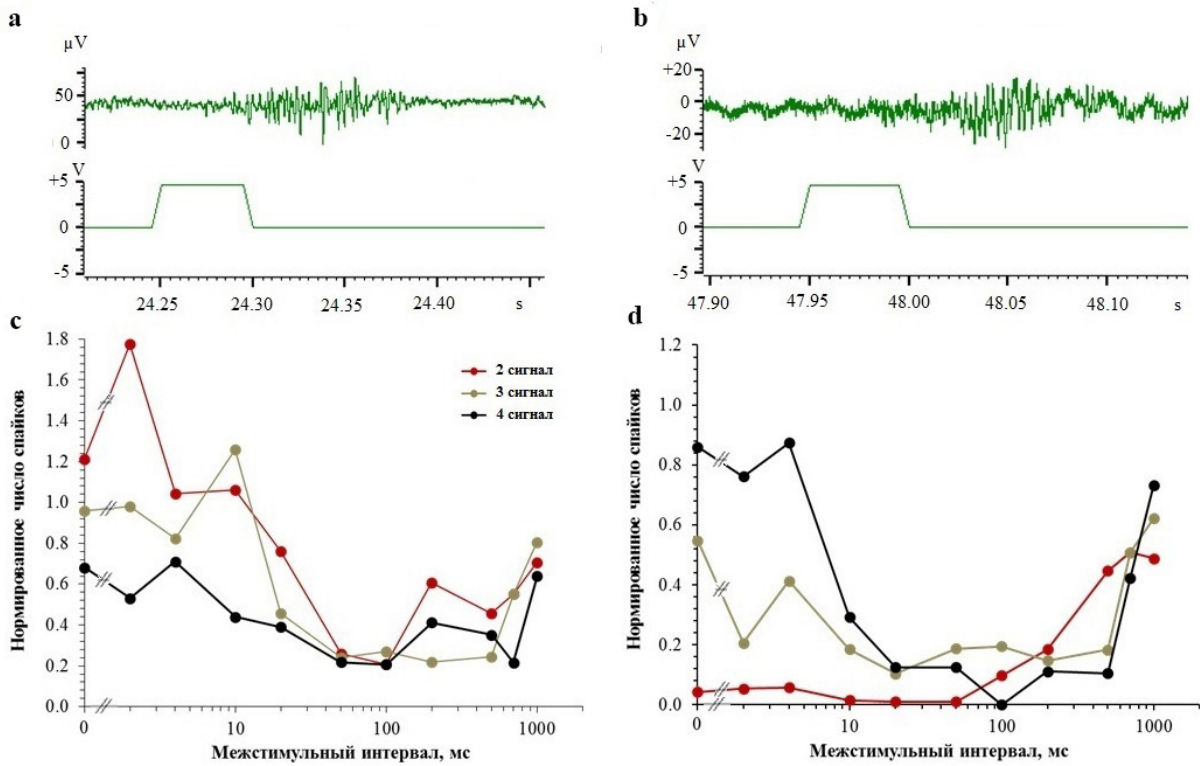


Рис. 2. Характеристики активности нейронов первичной слуховой коры при переохлаждении, длящемся 1 час (а, с: ректальная температура 36 °С), и 7 часов (b, d: ректальная температура 33 °С). а, b — мультиклеточный импульсный ответ нейронов на тональный сигнал ХЧ длительностью 50 мс; с, d — кривые восстановления от адаптации ответов двух нейронов слуховой коры. Остальные обозначения — как на рис. 1

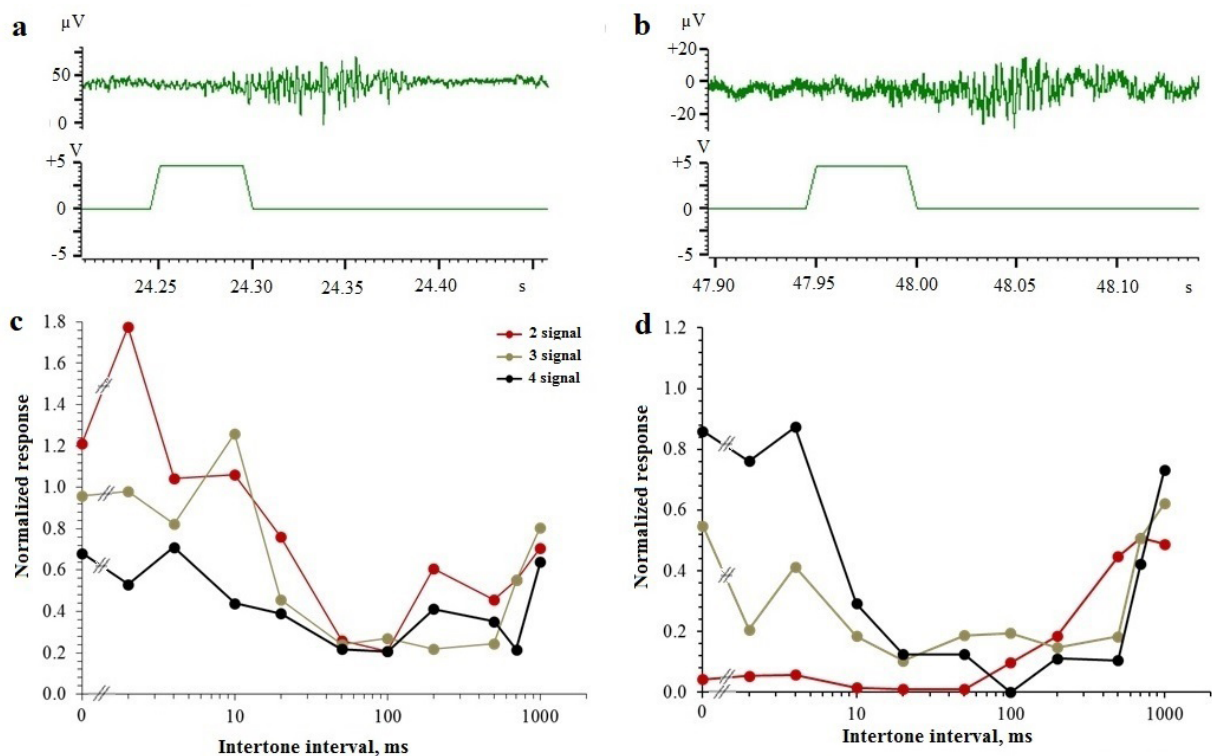


Fig.2. Evoked response characteristics of primary auditory cortex neurons after one hour hypothermia (a, c, rectal temperature 36 °C) and 7 hours hypothermia (b, d, rectal temperature 33 °C). a, b—multiunit dischargers evoked by 50 ms CF-tone; c, d—adaptation recovery curves of two neurons. For other symbols see Fig. 1

ранее (Egorova 2005), позднелатентные ответы не характерны для нейронов слуховой коры наркотизированных мышей при нормальной температуре тела.

Амплитуда мультиклеточных импульсных ответов нейронов уменьшалась вплоть до полного угасания. При температуре тела 36 °C величина ответа составляла порядка 50 мкВ, а при 33 °C не превышала 40 мкВ и с трудом выделялась из фоновой активности мозга и помех аппаратуры (рис. 2а, 2б).

Проявления постстимульной адаптации искажались. На рис. 2 (с, d) приведены кривые восстановления от адаптации, построенные для двух корковых нейронов в условиях переохлаждения. Можно с уверенностью говорить об отсутствии проявлений адаптации к серии идентичных тонов при малых межстимульных интервалах (в большинстве случаев до 10 мс). Тенденция к восстановлению от адаптации ответа на 2–4-й тоны в серии прослеживалась при межстимульных интервалах 200–1000 мс, но полного восстановления не происходило. Восстановление не превышало 80% от величины ответа на первый тон в серии, а в большинстве случаев было не больше 60–70%.

Повышение температуры тела до нормальной спустя 8 часов от начала эксперимента приводило к восстановлению типичных для нейронов первичной слуховой коры характеристик активности (рис. 3).

А именно: восстанавливались ответы на звуковые сигналы с латентным периодом менее 35 мс (рис. 3а, 3б). Среднее значение латентности составляло 27 ± 3 мс ($x \pm SD$; $n = 345$) и достоверно не отличалось от латентных периодов ответов, зарегистрированных у интактных мышей. У всех исследованных нейронов восстанавливались параметры постстимульной адаптации в ответах на серии тональных сигналов, причем с прежними временными характеристиками (рис. 3с, 3d). Восстанавливались амплитуда мультиклеточного ответа и тип разряда нейронов (рис. 3а, 3б).

Полученные нами результаты в первую очередь демонстрируют принципиальную зависимость временных характеристик активности корковых нейронов (латентных периодов их ответов и проявлений постстимульной адаптации) от температуры. Основываясь на данных литературы, можно предположить, что наибольшей чувствительностью к температуре

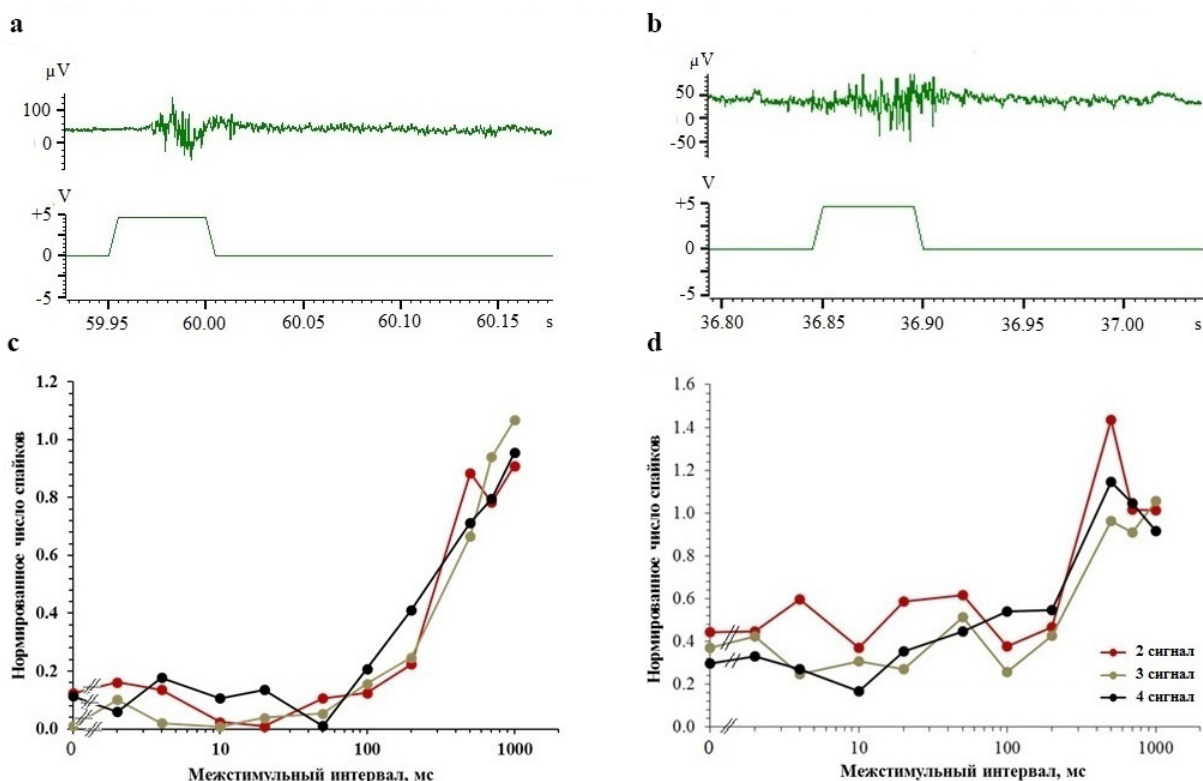


Рис. 3. Характеристики активности нейронов первичной слуховой коры после восстановления нормальной температуры тела (ректальная температура 39 °C). а, б — мультиклеточный импульсный ответ нейронов на тональный сигнал ХЧ длительностью 50 мс. с, d — кривые восстановления от адаптации ответов двух нейронов слуховой коры. Остальные обозначения — как на рис. 1

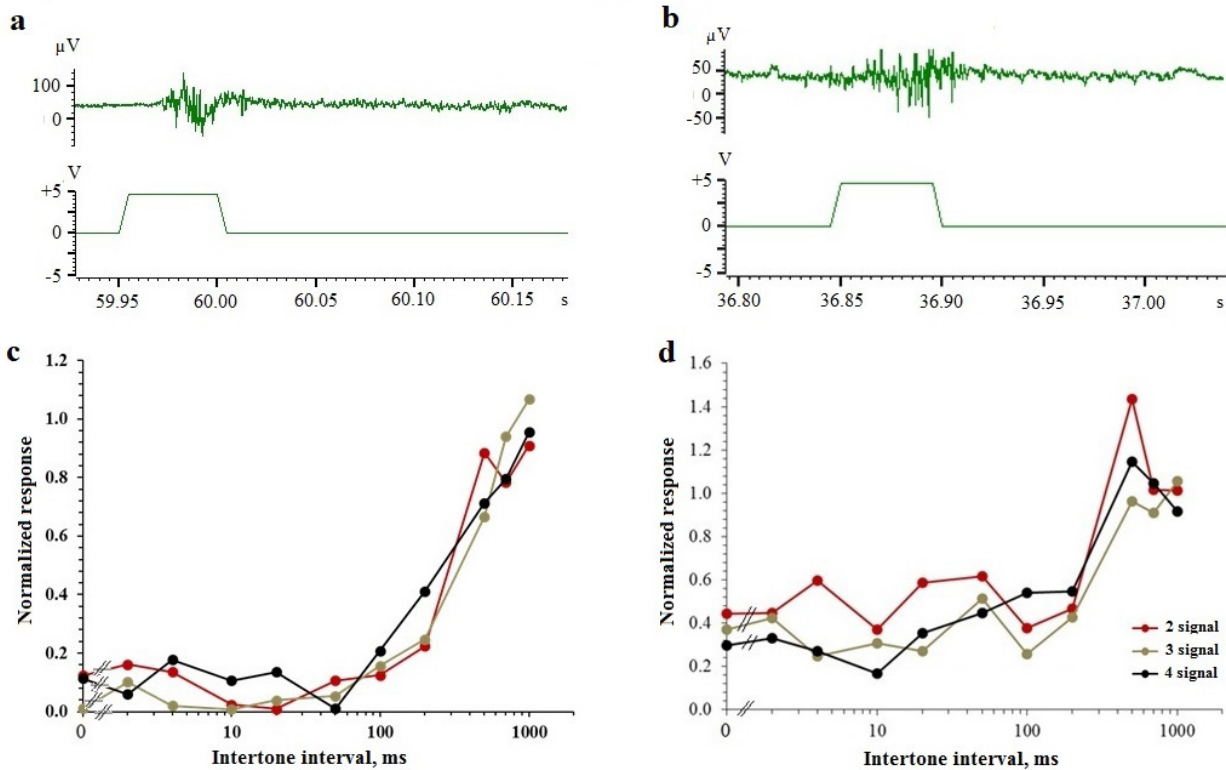


Fig. 3. Evoked response characteristics of primary auditory cortex neurons after the recovery from hypothermia (rectal temperature 39 °C). a, b—multiunit dischargers evoked by 50 ms CF-tone; c, d—adaptation recovery curves of two neurons. For other symbols see Fig. 1

обладают константы скорости открытия и закрытия ионных каналов в пре- и постсинаптических мембранах синапсов, изобилующих у корковых нейронов (Abdurahmanov et al. 2014; Steles et al. 1999). Это, очевидно, определяет существенные изменения латентных периодов ответов нейронов при переохлаждении.

Как было показано ранее (Bregman 1990; Egorova et al. 2019; Malinina et al. 2016), слуховая постстимульная адаптация является одним из механизмов временной обработки слуховой информации. Она определяет границы слуховых событий, объединяя и разделяя их во времени. Временной контекст сигналов (группирование и разделение последовательных звуковых компонентов во времени) способствует их пониманию и запуску специфических поведенческих ответов. Показанные нами в данном исследовании дисфункции в проявлениях постстимульной адаптации при общей гипотермии позволяют предполагать уменьшение разборчивости речи и коммуникационных сигналов животных в условиях переохлаждения.

Выводы

- Впервые показано, что понижение температуры тела мыши до 33 °C приводит к принципиальным изменениям амплитудно-временных характеристик активности нейронов первичных областей слуховой коры: амплитуды мультиклеточного ответа, латентных периодов ответов, проявлений слуховой адаптации одиночных нейронов.
- Изменения обратимы, и при восстановлении температуры тела характеристики активности восстанавливаются.
- Изменения амплитудно-временных характеристик активности нейронов при гипотермии могут быть обусловлены особенностями кинетических характеристик ионных каналов нейронов слуховой системы при пониженной температуре.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

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

Соответствие принципам этики

Все процедуры, выполненные в настоящем исследовании с участием экспериментальных животных (мышей), соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по биоэтике ИЭФБ РАН.

Ethics Approval

All procedures performed in this study involving experimental animals (mice) were conducted in accordance with the ethical standards set by the Russian law, the Basel Declaration, and the recommendations of the IEPHb RAS Commission on Bioethics.

Вклад авторов

а. Александр Григорьевич Акимов — проведение экспериментов, обработка и анализ данных, написание текста статьи, подготовка рисунка.

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

Author Contributions

а. Alexander G. Akimov—conducted experiments, analysed data, wrote the article, prepared a figure.

б. Marina A. Egorova—planned the research, conducted experiments, analyzed and discussed the results, wrote the text of the article and prepared a figure.

References

- Abdurahmanov, R. G., Pinyaskina, E. V., Gitinomagedova, M. M. (2014) Vliyanie nifedipina na elektricheskuyu aktivnost' mozga krysa pri gipotermii [Influence of nifedipine on electrical brain activity during hypothermia rats]. *Fundamental'nye issledovaniya — Fundamental Research*, no. 8, pp. 620–623. (In Russian)
- Akiyama, T., Kobayashi, K., Nakahori, T. et al. (2001) Electroencephalographic changes and their regional differences during pediatric cardiovascular surgery with hypothermia. *Brain and Development*, vol. 23, no. 2, pp. 115–121. [https://doi.org/10.1016/s0387-7604\(01\)00192-9](https://doi.org/10.1016/s0387-7604(01)00192-9) (In English)
- Bregman, A. S. (1990) *Auditory scene analysis. The perceptual organization of sound*. Cambridge: MIT Press, 792 p. (In English)
- Deboer, T. (1998) Brain temperature dependent changes in the electroencephalogram power spectrum of humans and animals. *Journal of Sleep Research*, vol. 7, no. 4, pp. 254–262. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2869.1998.00125.x> (In English)
- Egorova, M. A. (2005) Frequency selectivity of neurons of the primary auditory field (A1) and anterior auditory field (AAF) in the auditory cortex of the house mouse (*Mus musculus*). *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 41, no. 4, pp. 476–480. <https://doi.org/10.1007/s10893-005-0085-4> (In English)
- Egorova, M. A. (2008) Vremennye svoystva impulsnoy aktivnosti odinochnykh slukhovykh neuronov zadnikh kholmov myshi [Temporal characteristics of single neuron evoked activity in the mouse auditory midbrain]. *Sensornye sistemy — Sensory Systems*, vol. 22, no. 3, pp. 203–213. (In Russian)
- Egorova, M. A., Akimov, A. G. (2020) Specialization of neurons with different response patterns in the mouse *Mus musculus* auditory midbrain and primary auditory cortex during communication call processing. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 56, no. 5, pp. 406–414. <https://doi.org/10.1134/S0022093020050038> (In English)
- Egorova, M. A., Akimov, A. G., Khorunzhii, G. D., Ehret, G. (2020) Frequency response areas of neurons in the mouse inferior colliculus. III. Timedomain responses: Constancy, dynamics, and precision in relation to spectral resolution, and perception in the time domain. *PLoS ONE*, vol. 15, no. 10, article e0240853. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240853> (In English)
- Egorova, M., Ehret, G., Vartanian, I. et al. (2001) Frequency response areas of neurons in the mouse inferior colliculus. I. Threshold and tuning characteristics. *Experimental Brain Research*, vol. 140, no. 2, pp. 145–161. <https://doi.org/10.1007/s002210100786> (In English)
- Egorova, M. A., Khorunzhii, G. D., Akimov, A. G. (2019) The timescale of adaptation in tonal sequence processing by mouse primary auditory cortical neurons. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 55, no. 6, pp. 497–501. <https://doi.org/10.1134/S0022093019060085> (In English)
- Egorova, M. A., Malinina, E. S., Akimov, A. G., Khorunzhii, G. D. (2018) Adaptation of different types of neurons in the midbrain auditory center to sound pulse sequences. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 54, no. 6, pp. 482–486. <https://doi.org/10.1134/S002209301806008X> (In English)

- Malinina, E. S., Egorova, M. A., Khorunzhii, G. D., Akimov, A. G (2016) The time scale of adaptation in tonal sequence processing by the mouse auditory midbrain neurons. *Doklady Biological Sciences*, vol. 470, no. 1, pp. 209–213. <https://doi.org/10.1134/S001249661605001X> (In English)
- Massopust, L. C., Alsin, M. S., Barnes, A. W. et al. (1964) Cortical and subcortical responses to hypothermia. *Experimental Neurology*, vol. 9, no. 3, pp. 249–261. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(64\)90022-6](https://doi.org/10.1016/0014-4886(64)90022-6) (In English)
- Petrone, P., Asensio, J. A., Marini, C. P. (2014) Management of accidental hypothermia and cold injury. *Current Problems in Surgery*, vol. 51, no. 10, pp. 417–431. <https://doi.org/10.1067/j.cpsurg.2014.07.004> (In English)
- Rabadanova, Z. G., Mejlanov, I. S. (2011) Statisticheskij analiz elektroentsefalogramm krys pri gipotermicheskikh sostoyaniyakh [Statistical analysis of rat electroencephalograms in hypothermic states]. *Vestnik Dagestanskogo Gosudarstvennogo Universiteta — Herald of Dagestan State University*, vol. 1, pp. 113–120. (In Russian)
- Steles, J. R., Kovyasina, I. R., Salpeter, M. M. (1999) The temperature sensitivity of miniature endplate currents is mostly governed by channel gating: Evidence from optimized Recordings and Monte Carlo simulations. *Biophysical Journal*, vol. 77, no. 2, pp. 1177–1187. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)76969-9](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(99)76969-9) (In English)
- Stiebler, I., Neulist, R., Fichtel, I. et al. (1997) The auditory cortex of the house mouse: Left-right differences, tonotopic organization and quantitative analysis of frequency representation. *Journal of Comparative Physiology A*, vol. 181, no. 6, pp. 559–571. <https://doi.org/10.1007/s003590050140> (In English)



УДК 612.333

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-110-117>

Структурные и функциональные параметры кишечника у крыс с различной возбудимостью нервной системы

Е. В. Савочкина¹, Ю. В. Дмитриева¹, М. Б. Павлова¹,
А. С. Алексеева¹, А. А. Груздков¹, Л. В. Громова^{✉1}

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

Сведения об авторах

Елизавета Васильевна Савочкина, SPIN-код: 8090-1973, Scopus AuthorID: 57226651419, Researcher ID: AAC-8915-2022, ORCID: 0000-0002-1874-2067, e-mail: lisasav108@gmail.com

Юлия Владимировна Дмитриева, SPIN-код: 3994-3884, Scopus AuthorID: 57222242067, Researcher ID: AAC-8955-2022, ORCID: 0000-0003-0707-5227, e-mail: dmitrievayv@infran.ru

Марина Борисовна Павлова, SPIN-код: 6457-5630, Scopus AuthorID: 55159027700, Researcher ID: AAC-8638-2022, ORCID: 0000-0002-3674-906X, e-mail: pavlova@infran.ru

Анна Сергеевна Алексеева, Scopus AuthorID: 57224108408, Researcher ID: AAC-8961-2022, ORCID: 0000-0001-7576-5460, e-mail: alekseevaas@infran.ru

Андрей Андреевич Груздков, SPIN-код: 6153-7919, Scopus AuthorID: 6603719107, Researcher ID: ABG-8336-2021, ORCID: 0000-0003-2028-7873, e-mail: gruzdkovaa@infran.ru

Людмила Викторовна Громова, SPIN-код: 9680-5011, Scopus AuthorID: 7006258323, Researcher ID: AAD-9645-2022, ORCID: 0000-0002-4390-200X, e-mail: gromovalv@infran.ru

Для цитирования: Савочкина, Е. В., Дмитриева, Ю. В., Павлова, М. Б., Алексеева, А. С., Груздков, А. А., Громова, Л. В. (2022) Структурные и функциональные параметры кишечника у крыс с различной возбудимостью нервной системы. *Интегративная физиология*, т. 3, № 1, с. 110–117. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-110-117>

Получена 12 февраля 2022; прошла рецензирование 14 апреля 2022; принята 15 апреля 2022.

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2022 годы (ГП-14, раздел 64).

Права: © Е. В. Савочкина, Ю. В. Дмитриева, М. Б. Павлова, А. С. Алексеева, А. А. Груздков, Л. В. Громова (2022). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. Исследовали структурные показатели кишечника и активность ряда кишечных мембранных ферментов у крыс линий высоким и низким порогами возбудимости нервной системы (ВП, НП, низковозбудимые и высоковозбудимые соответственно) в нормальных условиях. Обнаружено, что у крыс линии ВП по сравнению с животными линии НП повышено количество энтероцитов и интраэпителиальных лимфоцитов на ворсинках подвздошной кишки. Эти изменения у крыс линии ВП сопровождалась повышенной активностью мальтазы в слизистой оболочке подвздошной кишки. Кроме того, у крыс линии ВП была понижена активность щелочной фосфатазы в слизистой оболочке и химусе толстой кишки и повышена масса химуса в этом участке кишечника по сравнению с линией НП. Последнее может указывать на более высокую чувствительность кишечника к воспалению и меньшую моторную активность толстой кишки у крыс ВП. Полученные результаты раскрывают особенности связи между генетически детерминированным уровнем возбудимости нервной системы и структурно-функциональными характеристиками кишечника у взрослых животных и позволяют заключить, что низкая возбудимость нервной системы может иметь отношение к повышенному риску развития воспалительного заболевания кишечника.

Ключевые слова: линии крыс, возбудимость нервной системы, структура тонкой кишки, пищеварительные ферменты, защитные механизмы кишечника

Structural and functional parameters of the intestine in rats with different nervous system excitability

Е. В. Савочкина¹, Ю. В. Дмитриева¹, М. Б. Павлова¹,
А. С. Алексеева¹, А. А. Груздков¹, Л. В. Громова^{✉1}

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

Authors

Elizaveta V. Savochkina, SPIN: 8090-1973, Scopus AuthorID: 57226651419, Researcher ID: AAC-8915-2022, ORCID: 0000-0002-1874-2067, e-mail: lisasav108@gmail.com

Yulia V. Dmitrieva, SPIN: 3994-3884, Scopus AuthorID: 57222242067, Researcher ID: AAC-8955-2022, ORCID: 0000-0003-0707-5227, e-mail: dmitrievayv@infran.ru

Marina B. Pavlova, SPIN: 6457-5630, Scopus AuthorID: 55159027700, Researcher ID: AAC-8638-2022, ORCID: 0000-0002-3674-906X, e-mail: pavlova@infran.ru

Anna S. Alekseeva, Scopus AuthorID: 57224108408, Researcher ID: AAC-8961-2022, ORCID: 0000-0001-7576-5460, e-mail: alekseevaas@infran.ru

Andrey A. Gruzdkov, SPIN: 6153-7919, Scopus AuthorID: 6603719107, Researcher ID: ABG-8336-2021, ORCID: 0000-0003-2028-7873, e-mail: gruzdkovaa@infran.ru

Lyudmila V. Gromova, SPIN: 9680-5011, Scopus AuthorID: 7006258323, Researcher ID: AAD-9645-2022, ORCID: 0000-0002-4390-200X, e-mail: gromovalv@infran.ru

For citation: Savochkina, E. V., Dmitrieva, Yu. V., Pavlova, M. B., Alekseeva, A. S., Gruzdkov, A. A., Gromova, L. V. (2022) Structural and functional parameters of intestine in rats with different nervous system excitability. *Integrative Physiology*, vol. 3, no. 1, pp. 110–117. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-1-110-117>

Received 12 February 2022; reviewed 14 April 2022; accepted 15 April 2022.

Funding: This study was carried out with the financial support of the Basic Scientific Research Program of State Academies for 2013-2022 (GP-14, section 64).

Copyright: © E. V. Savochkina, Yu. V. Dmitrieva, M. B. Pavlova, A. S. Alekseeva, A. A. Gruzdkov, L. V. Gromova (2022). 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 paper reports the results of the study on structural parameters of the intestine and the activity of a number of intestinal membrane enzymes in rat lines with high and low thresholds of nervous system excitability (HP, LP, low excitable and highly excitable, respectively) under normal conditions. It was found that the number of enterocytes and intraepithelial lymphocytes on the villi of the ileum increased in HP rats compared to LP animals. These changes in HP rats were accompanied by an increase in the activity of maltase in the ileum mucosa. In addition, HP rats showed a reduction in the activity of alkaline phosphatase in the mucosa and chyme of the large intestine. Compared to the LP line, HP rats also showed an increase in the mass of chyme in this part of the intestine. The latter may indicate a higher sensitivity of the intestine to inflammation and a lower motor activity of the colon in HP rats. The study revealed patterns in the relationship between the genetically determined level of excitability of the nervous system and the structural and functional characteristics of the intestine in adult animals. It allows us to conclude that low excitability of the nervous system may be related to an increased risk of developing inflammatory bowel disease.

Keywords: rat lines, nervous system excitability, small intestine structure, digestive enzymes, intestinal defense mechanisms

Введение

В последние десятилетия достигнут существенный прогресс в изучении связи между уровнем возбудимости нервной системы и его отражением в процессах, протекающих в центральной нервной системе и периферических органах. Важным результатом этих исследований явилось установление того факта, что наследственно обусловленный уровень возбудимости нервной системы является фактором, определяющим риск развития и особенностей течения

стресс-индуцированных тревожно-депрессивных расстройств (Вайдо и др. 2018; Дюжикова, Даев 2018). Однако вопрос о влиянии уровня возбудимости нервной системы на функционирование висцеральных систем, в частности кишечной пищеварительной системы, играющей важную роль в общем метаболизме пищевых веществ и защите против антигенов, остается недостаточно изученным.

В нашей предшествующей работе при сравнении всасывания глюкозы в тонкой кишке у крыс с генетически-детерминированными

высоким и низким порогами возбудимости (линии ВП и НП соответственно) мы обнаружили более высокую скорость этого процесса у крыс линии ВП по сравнению с НП (Груздков и др. 2018).

В настоящей работе мы продолжили исследование в этом направлении и сравнили у крыс линий ВП и НП структурные показатели кишечника и активность ряда кишечных мембранных ферментов, участвующих в пищеварении и в защите против антигенов.

Методы

Опыты проводили на крысах (самцы, возраст — 5 мес.) двух линий, селективированных (80-е поколение селекции) по величине порога возбудимости большеберцового нерва (*n. tibialis*) — с высоким (низковозбудимые) и низким (высоковозбудимые) порогом возбудимости (ВП и НП соответственно) (Вайдо и др. 2018). Линии селективированы в лаборатории генетики высшей нервной деятельности и входят в ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем» (№ ГЗ 0134-2018-0003, патенты на селекционное достижение № 10769 и № 10768, выданные ФГБУ «Государственная комиссия РФ по испытанию и охране селекционных достижений», зарегистрировано в государственном реестре охраняемых селекционных достижений 15.01.2020). Животных содержали в виварии при стандартном световом режиме (12 часов день, 12 часов ночь), в условиях свободного доступа к воде и пище.

Эксперименты проводились в полном соответствии с Директивой Европейского Совета (The European Council Directive (86/609/EEC)) по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными и были одобрены комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии им. И. П. Павлова РАН.

После декапитации животных у них отбирали пробы слизистой оболочки химуса из различных участков кишечника для дальнейшего структурно-функционального анализа. Активность кишечных ферментов определяли в полученных гомогенатах. Активность мальтазы (НФ 3.2.1.20), щелочной фосфатазы (НФ 3.1.3.1) и аминокептидазы N (НФ 3.4.11.2) определяли с применением стандартных биохимических методов (Егорова и др. 1986; Тимофеева и др. 1986). Ферментативную активность выражали в микромолях гидролизованного субстрата

за 1 мин в расчете на 1 г влажной массы слизистой оболочки или химуса.

Для морфометрического анализа из двух отделов тонкого кишечника (середины тощей и середины подвздошной кишки) отбирали образцы ткани (длина около 0,5 см). Образцы промывали в фосфатном буфере (pH 7,4) и фиксировали в течение 24 ч в 10%-ном растворе формалина, приготовленном на фосфатном буфере (pH 7,4), а затем (после обезвоживания в изопропиловом спирте) заливали в парафин согласно стандартной методике (Пирс 1962). С использованием микротомы Microm HM325 (Thermo Fisher Scientific, США) готовили срезы толщиной 4–5 мкм, которые депарафинизировали, окрашивали гематоксилин-эозином по стандартной методике и заключали в монтирующую среду «Витрогель». Готовые препараты анализировали на световом микроскопе Nikon Ni-U, оснащенный камерой DS-Fi2, с использованием программы NIS-Elements (BR4.30). Измерения проводили на увеличениях микроскопа 40X, 100X и 200X. Определяли высоту ворсинок (не менее 10 срезов с каждого участка), число энтероцитов, приходящихся на продольный срез ворсинки, и количество зрелых бокаловидных клеток и лимфоцитов в составе эпителия ворсинок (10 срезов с каждого участка с промежутком в 120 мкм).

Статистическую оценку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Нормальность распределения выборок проверяли по тесту Шапиро — Уилка. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

При исследовании структурных показателей тощей кишки мы не обнаружили существенных различий между группами крыс линий ВП и НП в отношении исследованных показателей (высота ворсинок, число энтероцитов, бокаловидных клеток и интраэпителиальных лимфоцитов на ворсинках) (рис. 1). Однако в подвздошной кишке у крыс линии ВП по сравнению с НП было отмечено увеличение числа энтероцитов на ворсинках (на 18%, $p < 0,01$). Отсутствие различий по высоте ворсинок в подвздошной кишке между группами крыс линий ВП и НП (при том, что в группе ВП имело место увеличение числа энтероцитов на ворсинках) можно объяснить меньшим размером энтероцитов в этой группе. Проведенный нами расчет параметров энтероцитов на ворсинках подвздошной кишки

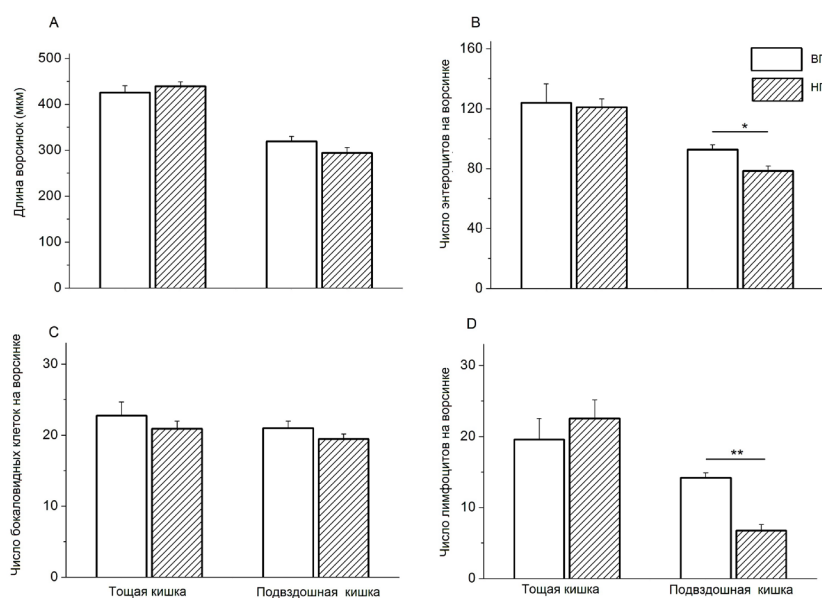


Рис. 1. Структурные параметры тощей и подвздошной кишки у крыс с высоким (ВП) и низким (НП) порогами возбудимости. А — высота ворсинок. В — число энтероцитов. С — число бокаловидных клеток. D — число интраэпителиальных лимфоцитов. А–D: В группах ВП и НП n = 10–11. В: t-критерий Стьюдента, * p < 0,01. D: t-критерий Стьюдента, * p < 0,0027

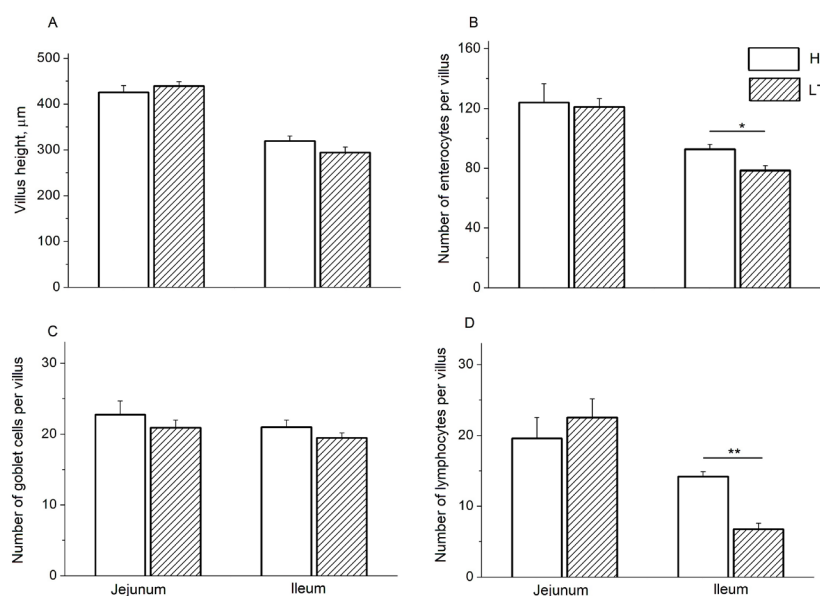


Fig. 1. Structural parameters of the jejunum and ileum in rats with high (HT) and low (LT) excitability thresholds. A—villus height. B—the number of enterocytes per villus. C—the number of goblet cells per villus. D—the number of intraepithelial lymphocytes per villus. In HT and LT groups: n = 10–11. B: Student's t-test, * p < 0.01. D: Student's t-test, * p < 0.0027

в группах ВП и НП подтвердил такое предположение.

Кроме того, в подвздошной кишке у крыс линии ВП по сравнению с НП оказалось существенно повышенным число интраэпителиальных лимфоцитов на ворсинках (в 2,1 раза, p < 0,0027). Поскольку интраэпителиальные лимфоциты являются важной частью

защитного барьера кишечника (Уголев 1991), можно предположить наличие связи между наследственно обусловленным уровнем возбудимости и состоянием иммунного механизма защиты кишечника. При этом у крыс линии ВП по сравнению с линией НП мощность иммунного механизма защиты заметно выше.

При исследовании активности мембранных пищеварительных ферментов лишь в некоторых отделах кишечника мы выявили заметные различия между линиями ВП и НП. Так, активность мальтазы была повышенной у линии ВП по сравнению с НП в слизистой оболочке подвздошной кишки (рис. 2А). Это хорошо согласуется с данными, полученными нами ранее, о повышенном уровне всасывания глюкозы у крыс линии ВП по сравнению с линией НП (Груздков и др. 2018). Действительно, повышение активности мальтазы в подвздошной кишке крыс линии ВП может быть обусловлено тем, что оно позволяет не ограничивать более высокое всасывание глюкозы в этом отделе кишечника, что, по-видимому, играет важную роль в поддержании гомеостаза глюкозы в организме.

Существенные различия между линиями ВП и НП в наших опытах мы наблюдали также в отношении активности щелочной фосфатазы (ЩФ) в слизистой оболочке и химусе нижних отделов кишечника (рис. 2В). Так, у крыс ВП по сравнению с НП активность ЩФ в слизистой оболочке толстой кишки была ниже на 56% ($p < 0,05$). Аналогичная закономерность проявлялась в отношении активности ЩФ в химусе подвздошной и толстой кишки (в химусе подвздошной кишки активность ЩФ у крыс линии НП составляла $1,82 \pm 0,12$, а у крыс линии ВП — $1,44 \pm 0,12$, $p < 0,05$; в химусе толстой кишки активность ЩФ у крыс линии НП — $1,2 \pm 0,1$ мкмоль/мин/г, а у крыс линии ВП — только $0,82 \pm 0,1$ мкмоль/мин/г, $p < 0,02$). Как известно, активность ЩФ в химусе в значительной мере определяет дуоденальная изоформа ЩФ, которая секретируется из энтероцитов двенадцатиперстной кишки в кишечную полость (Lallès 2014; 2015). Этот фермент способен достигать нижних отделов кишечника и участвовать в детоксикации бактериальных токсинов, в частности липополисахарида, в этих отделах кишечника. Кроме того, показано, что дуоденальная изоформа ЩФ вовлечена в регуляцию кишечной проницаемости, что достигается путем стимуляции экспрессии генов ключевых белков в плотных контактах и их корректной локализации (Liu et al. 2016). В связи с этим, по мнению некоторых авторов (Lallès 2014; 2015; Malo 2015), пониженный уровень активности ЩФ в химусе нижних отделов кишечника и фекалиях может рассматриваться в качестве маркера чувствительности кишечника к воспалению. С учетом вышесказанного есть основание полагать, что отмеченное в настоящей работе усиление мощности иммунного механизма защиты в подвздошной кишке (в виде

повышения числа интраэпителиальных лимфоцитов на ворсинках) у крыс линии ВП (по сравнению с линией НП), по-видимому, является компенсаторной реакцией на увеличение кишечной проницаемости в этом отделе (вследствие снижения в химусе активности ЩФ). Таким образом, наши данные показывают наличие связи между уровнем возбудимости нервной системы и активностью ЩФ в слизистой оболочке и химусе толстой кишки. При этом сниженная активность ЩФ в слизистой оболочке и химусе толстой кишки у крыс линии ВП (по сравнению с линией НП) может указывать на повышенный риск развития у них воспалительного процесса в кишечнике.

Обращает на себя внимание также то обстоятельство, что у крыс ВП по сравнению с НП оказалась повышенной на 56% масса химуса в толстой кишке ($3,8 \pm 0,43$ г в группе ВП против $2,44 \pm 0,2$ г в группе НП, $p < 0,02$). Это может быть обусловлено сниженной сократительной активностью в толстой кишке у крыс линии ВП по сравнению с НП. Таким образом, уровень возбудимости нервной системы может быть сопряжен с моторной активностью толстой кишки.

В отношении аминопептидазы N (АП-N) мы наблюдали лишь тенденцию к повышению активности этого фермента в слизистой оболочке дистального участка тощей кишки в группе ВП по сравнению с НП (рис. 2С).

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о наличии связи между генетически детерминированным уровнем возбудимости нервной системы и структурно-функциональными параметрами кишечника. Крысы линии ВП отличаются от линии НП более высокой активностью мальтазы в слизистой оболочке подвздошной кишки, а также более низкой активностью ЩФ в слизистой оболочке и химусе толстой кишки. Эти изменения сопровождаются повышением количества энтероцитов и интраэпителиальных лимфоцитов на ворсинках подвздошной кишки, а также массы химуса в толстой кишке. Полученные данные указывают на то, что низкая возбудимость нервной системы может способствовать повышенному риску развития воспалительного заболевания кишечника.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

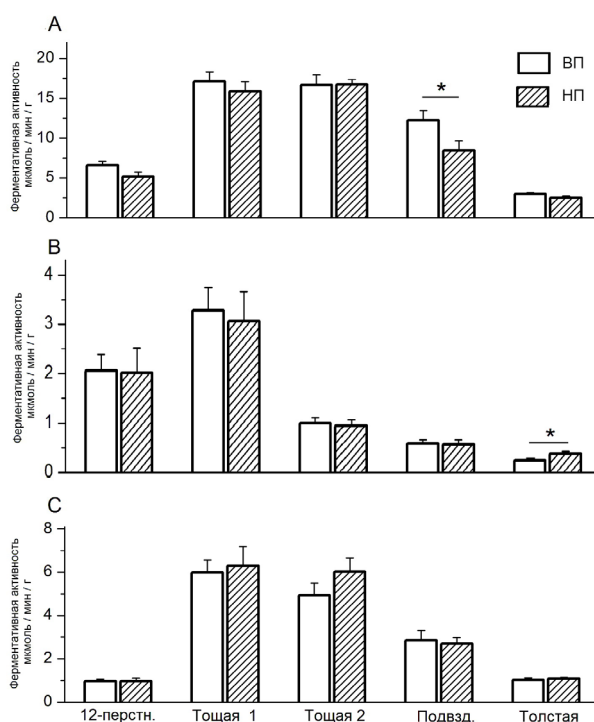


Рис. 2. Активность мембранных пищеварительных ферментов в слизистой оболочке различных отделов кишечника у крыс с высоким (ВП) и низким (НП) порогами возбудимости. А — мальтаза. В — щелочная фосфатаза. С — аминопептидаза N. А–С: 12-перст. — двенадцатиперстная кишка, Тошя 1 — проксимальный участок тощей кишки, Тошя 2 — дистальный участок тощей кишки, Подвзд. — подвздошная кишка, Толстая — толстая кишка. В группах ВП и НП: n = 9–10. А, В: t-критерий Стьюдента, * p < 0,05

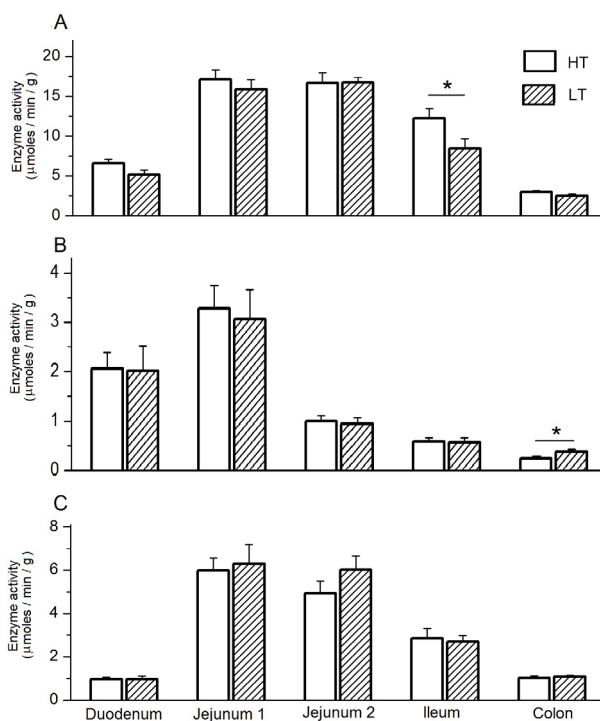


Fig. 2. Activity of membrane digestive enzymes in the mucosa of various parts of the intestine in the HT and LT rats. A—maltase. B—alkaline phosphatase. C—aminopeptidase N. A–C: duodenum, jejunum 1 and jejunum 2 (proximal and distal parts of the jejunum, respectively), ileum, colon. In HT and LT groups n = 9–10. A, B: Student's t-test, * p < 0.05

Conflict of Interest

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

Соответствие принципам этики

Эксперименты проводились в полном соответствии с Директивой Европейского Совета (The European Council Directive (86/609/EEC)) по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными и были одобрены комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии им. И. П. Павлова РАН.

Ethics Approval

The experiments were conducted in full compliance with The European Council Directive (86/609/EEC) on the Protection of Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. The experiments were approved by the Commission for the Control of Management and Use of Laboratory Animals, Pavlov Institute of Physiology, RAS.

Вклад авторов

а. Елизавета Васильевна Савочкина — проведение опытов, статистическая обработка результатов, подготовка части текста статьи;

б. Юлия Владимировна Дмитриева — проведение опытов, статистическая обработка результатов;

с. Марина Борисовна Павлова — проведение опытов, статистическая обработка результатов;

д. Анна Сергеевна Алексеева — проведение опытов, статистическая обработка результатов;

е. Андрей Андреевич Груздков — подготовка иллюстраций, редактирование текста статьи;

ф. Людмила Викторовна Громова — концепция и дизайн опытов, написание статьи.

Author Contributions

a. Elizaveta V. Savochkina conducted experiments and statistical processing of results, wrote some parts of the article;

b. Yulia V. Dmitrieva conducted experiments and statistical processing of results;

c. Marina B. Pavlova conducted experiments and statistical processing of results;

d. Anna S. Alekseeva conducted experiments and statistical processing of results;

e. Andrey A. Gruzdkov prepared figures and edited the article;

f. Lyudmila V. Gromova developed the concept and design of experiments, wrote the article.

Литература

- Вайдо, А. И., Ширяева, Н. В., Павлова, М. Б. и др. (2018) Селектированные линии крыс с высоким и низким порогом возбудимости: модель для изучения дезадаптивных состояний, зависящих от уровня возбудимости нервной системы. *Лабораторные животные для научных исследований*, № 3, с. 12–22. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2018-03-02>
- Груздков, А. А., Дмитриева, Ю. В., Алексеева, А. С. и др. (2018) Оценка уровня всасывания глюкозы в тонкой кишке крыс различных линий в естественных условиях. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, т. 54, № 4, с. 271–277.
- Дюжикова, Н. А., Даев, Е. В. (2018) Геном и стресс-реакция у животных и человека. *Экологическая генетика*, т. 16, № 1, с. 4–26. <https://doi.org/10.17816/ecogen1614-26>
- Егорова, В. В., Никитина, А. А., Хюттер, Г. Ю. (1986) Сравнительная характеристика d- и p-форм некоторых собственно кишечных гидролаз у различных животных. В кн.: А. М. Уголев (ред.). *Мембранный гидролиз и транспорт*. Л.: Наука, с. 85–98.
- Пирс, Э. (1962) *Гистохимия*. М.: Изд-во иностранной литературы, 964 с.
- Тимофеева, Н. М., Груздков, А. А., Зильбер, Ю. Д. и др. (1986) Физиология и биохимия ферментных адаптаций. Тонкая кишка. В кн.: А. М. Уголев (ред.). *Мембранный гидролиз и транспорт*. Л.: Наука, с. 51–63.
- Уголев, А. М. (1991) *Теория адекватного питания и трофология*. СПб.: Наука, 270 с.
- Lallès, J.-P. (2014) Intestinal alkaline phosphatase: Novel functions and protective effects. *Nutrition Reviews*, vol. 72, no. 2, pp. 82–94. <https://doi.org/10.1111/nure.12082>
- Lallès, J.-P. (2015) Intestinal alkaline phosphatase in stool: A novel biomarker for metabolic diseases. *eBioMedicine*, vol. 2, no. 12, p. 1866. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.12.001>
- Liu, W., Hu, D., Huo, H. et al. (2016) Intestinal alkaline phosphatase regulates tight junction protein levels. *Journal of the American College of Surgeons*, vol. 222, no. 6, pp. 1009–1017. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2015.12.006>
- Malo, M. S. (2015) A high level of intestinal alkaline phosphatase is protective against type 2 diabetes mellitus irrespective of obesity. *eBioMedicine*, vol. 2, no. 12, pp. 2016–2023. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.11.027>

References

- Dyuzhikova, N. A., Daev, E. V. (2018) Genom i stress-reaktsiya u zhivotnykh i cheloveka [Genome and stress-reaction in animals and humans]. *Ekologicheskaya genetika — Ecological Genetics*, vol. 16, no. 1, pp. 4–26. <https://doi.org/10.17816/ecogen1614-26> (In Russian)
- Egorova, V. V., Nikitina, A. A., Hütter, H. Yu. (1986) Sravnitel'naya kharakteristika d- i p-form nekotorykh sobstvenno kishhechnykh gidrolaz u razlichnykh zhivotnykh [Comparative characteristics of d- and p-forms of some proper intestinal hydrolases in various animals] In: A. M. Ugolev (ed.). *Membrannyj gidroliz i transport. Novye dannye i gipotezy [Membrane hydrolysis and transport. New data and hypotheses]*. Leningrad: Nauka Publ., pp. 85–98. (In Russian)
- Gruzdkov, A. A., Dmitrieva, Yu. V., Alekseeva, A. S. et al. (2018) Otsenka urovnya vsasyvaniya glyukozy v tonkoj kishke krysa razlichnykh linij v estestvennykh usloviyakh [Evaluation of glucose absorption level in the small intestine of different rat strains under natural conditions]. *Zhurnal evolyutsionnoj biokhimii i fiziologii — Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 54, no. 4, pp. 271–277. (In Russian)
- Lallès, J.-P. (2014) Intestinal alkaline phosphatase: Novel functions and protective effects. *Nutrition Reviews*, vol. 72, no. 2, pp. 82–94. <https://doi.org/10.1111/nure.12082> (In English)
- Lallès, J.-P. (2015) Intestinal alkaline phosphatase in stool: A novel biomarker for metabolic diseases. *eBioMedicine*, vol. 2, no. 12, p. 1866. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.12.001> (In English)
- Liu, W., Hu, D., Huo, H. et al. (2016) Intestinal alkaline phosphatase regulates tight junction protein levels. *Journal of the American College of Surgeons*, vol. 222, no. 6, pp. 1009–1017. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2015.12.006> (In English)
- Malo, M. S. (2015) A high level of intestinal alkaline phosphatase is protective against type 2 diabetes mellitus irrespective of obesity. *eBioMedicine*, vol. 2, no. 12, pp. 2016–2023. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.11.027> (In English)
- Pearse, E. (1962) *Gistochimiya [Histochemistry]*. Moscow: Foreign Literature Publ., 964 p. (In Russian)
- Timofeeva, N. M., Gruzdkov, A. A., Zil'ber, Yu. D. et al. (1986) Fiziologiya i biokhimiya fermentnykh adaptatsiy. Tonkaya kishka [Physiology and biochemistry of enzymatic adaptations. Small intestine]. In: A. M. Ugolev (ed.). *Membrannyj gidroliz i transport. Novye dannye i gipotezy [Membrane hydrolysis and transport. New data and hypotheses]*. Leningrad: Nauka Publ., pp. 51–63. (In Russian)
- Ugolev, A. M. (1991) *Teoriya adekvatnogo pitaniya i trofologiya [Theory of adequate nutrition and Trophology]*. Saint Petersburg: Nauka Publ., 270 p. (In Russian)
- Vaido, A. I., Shiryaeva, N. V., Pavlova, M. B. et al. (2018) Selektirovannye linii krysa s vysokim i nizkim porogom vzbudimosti: model' dlya izucheniya dezadaptivnykh sostoyanij, zavisimykh ot urovnya vzbudimosti nervnoj sistemy [Selected rat strains HT, LT as a model for the study of dysadaptation states dependent on the level of excitability of the nervous system]. *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovanij — Laboratory Animals for Science*, no. 3, pp. 12–22. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2018-03-02> (In Russian)