

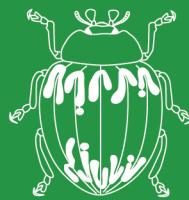
ISSN 0042-1324

Том 144, Номер 6

Ноябрь - Декабрь 2024



УСПЕХИ СОВРЕМЕННОЙ БИОЛОГИИ



НАУКА

— 1727 —

СОДЕРЖАНИЕ

Номер 6, 2024

Системная эндотоксинемия как базисный элемент адаптации, инициации системного воспаления и старения

М. М. Маркелова, С. Г. Морозов, А. С. Созинов, М. Ю. Яковлев 603

Базальные ганглии и апраксия

С. В. Альбертин 615

Опсины и их тестирование в гетерологических экспрессионных системах

Ю. А. Чилигина 635

Комплекс пептидов коллагена и гликозаминогликанов: профилактика и лечение болезней опорно-двигательного аппарата

Т. И. Николаева, К. С. Лауринаевич, М. В. Молчанов, С. М. Кузнецова, В. И. Емельяненко, П. В. Шеховцов 650

Волк (*Canis lupus* L.), волко-собачьи (*C. lupus* x *C. familiaris*), собако-волчьи (*C. familiaris* x *C. lupus*) гибриды и экологическая ниша

В. В. Кочетков 667

Тезаурус по терморегуляции рептилий

А. В. Коросов, В. А. Черлин, Н. Д. Ганюшина 688

Физиолого-экологические особенности выращивания африканского клариевого сома *Clarias gariepinus*

А. А. Климук, С. В. Бекетов, Т. Л. Калита 705

CONTENTS

No. 6, 2024

Systemic Endotoxinemia as a Basic Element of Adaptation, Initiation of Systemic Inflammation and Aging <i>M. M. Markelova, S. G. Morozov, A. S. Sozinov, M. Yu. Iakovlev</i>	603
Basal Ganglia and Apraxia <i>S. V. Albertin</i>	615
Opsins and Their Testing in Heterological Expression Systems <i>Y. A. Chiligina</i>	635
Complex of Collagen Peptides and Glycosaminoglycans: Prevention and Treatment of Diseases of the Musculoskeletal System <i>T. I. Nikolaeva, K. S. Laurinavichus, M. V. Molchanov, S. M. Kuznetsova, V. I. Emelianenko, P. V. Shekhortsov</i>	650
Wolf (<i>Canis lupus</i> L.), Wolf-Dogs (<i>C. lupus</i> × <i>C. familiaris</i>), Dog-Wolf (<i>C. familiaris</i> × <i>C. lupus</i>) Hybrids and Ecological Niche <i>V. V. Kochetkov</i>	667
Thesaurus on Thermoregulation in Reptiles <i>A. V. Korosov, V. A. Cherlin, N. D. Ganyushina</i>	688
Physiological and Ecological Features of Cultivation African Catfish <i>Clarias gariepinus</i> <i>A. A. Klimuk, S. V. Bektev, T. L. Kalita</i>	705

УДК 616-002

100-летию Доната Семеновича Саркисова посвящается

СИСТЕМНАЯ ЭНДОТОКСИНЕМИЯ КАК БАЗИСНЫЙ ЭЛЕМЕНТ АДАПТАЦИИ, ИНИЦИАЦИИ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ И СТАРЕНИЯ

© 2024 г. М. М. Маркелова¹, С. Г. Морозов¹, А. С. Созинов², М. Ю. Яковлев^{1,*}

¹Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

²Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

*e-mail: yakovlev-lps@yandex.ru

Поступила в редакцию 19.04.2024 г.

После доработки 21.06.2024 г.

Принята к публикации 26.06.2024 г.

Системная эндотоксинемия является облигатным фактором гомеостаза и, наряду со стрессом, регулирует функциональное состояние адаптивных систем, в том числе иммунной, гиперактивация которой избытком липополисахаридов в общем кровотоке (эндотоксиновой агрессией) индуцирует системное воспаление, лежащее в основе патогенеза если не всех, то большинства нозологических форм. В основе процессов старения также лежит воспаление, аутоиммунное в том числе, носящее, как правило, низкоинтенсивный характер. Единство облигатных факторов адаптации и старения в лице эндотоксина и стресса, наряду с самой природой иммунитета, направленной не только на защиту организма, но и его самоуничтожение, обеспечивает самообновление популяции и является одним из фундаментальных основ эволюции вида.

Ключевые слова: системная эндотоксинемия, адаптация, эндотоксиновая агрессия, воспаление, эндотоксин, липополисахарид, старение

DOI: 10.31857/S0042132424060014, **EDN:** NSBTPE

ВВЕДЕНИЕ

Последние десятилетия отмечены прогрессом в области высокотехнологичной медицинской помощи (ВМП). Познание тонких механизмов развития многих заболеваний подтверждает факт участия воспаления в их патогенезе, что определяет широкое использование нестероидных противовоспалительных средств в лечебно-профилактическом процессе. Внимание ученых направлено на изучение взаимоотношений между кишечной микробиотой (КМ) и ее хозяином, на поиск и/или верификацию индукторов системного воспаления среди облигатных факторов гомеостаза. В отечественной науке, в частности в казанской медицинской школе, более трети века ведутся исследования в этом направлении (Яковлев, 1988). За эти годы

идентифицировано особое физиологическое явление — системная эндотоксинемия (СЭЕ), выявлена функция эндотоксина (ЭТ) в качестве экзогормона адаптации. Также определена способность избытка кишечных липополисахаридов (ЛПС) в кровотоке индуцировать системное воспаление; это явление было названо эндотоксиновой агрессией (ЭА) (Аниховская и др., 2019; Яковлев, 2021).

Цель настоящей работы — изложить представления о единстве механизмов адаптации, общей патологии и старения, участии СЭЕ в этих процессах, что может стать базисом для создания эффективной системы диспансеризации, профилактической медицины и антивозрастных мероприятий. Наши разработки и предложения по использованию в практическом здравоохране-

нении будут вынесены на обсуждение на симпозиумах предстоящего в Республике Татарстан научного форума (www.lpsexpo.ru).

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ

Многообразие КМ (более 1000 видов) обеспечивает адаптацию организма к изменению параметров внешней среды (в первую очередь пищевого рациона), с возрастом существенно уменьшается, что может быть одной из причин повышения кишечной проницаемости и, как следствие, провоспалительного фона. Процесс формирования структуры КМ зависит от многих факторов, среди которых ведущими являются: материнская КМ и вид вскармливания (при грудном доминируют *Bifidobacteria*, при искусственном — *Bacteroides* (Fallani et al., 2010)). Сходство КМ матери и новорожденного при искусственном родоразрешении существенно снижается и составляет всего 41%, а структура характеризуется меньшим микробным разнообразием (Bäckhed et al., 2015; Doroszkiewicz et al., 2021). Процесс колонизации микробами кишечника индивидуален, клинически напоминает дисбиоз у взрослых людей и сопровождается ранними реакциями адаптации, степень выраженности которых определяется уровнем содержания ЛПС в крови младенца (Уразаев и др., 1992). В первые два года жизни структура КМ динамично изменяется, как бы ищет свои оптимальные качественные и количественные параметры, наиболее адекватные окружающей среде и в первую очередь алиментарным факторам. На третьем году жизни этот поиск завершается — достигается относительная стабилизация структуры КМ. С возрастом структура КМ меняется и частично диверсифицируется в сторону увеличения доли *Bacteroides* и *Clostridium* (García-Peña et al., 2017). Самые многочисленные популяции КМ — *Bacteroides* и *Firmicutes* (их количество на порядок больше всех остальных видов), а биологическая функция диаметрально противоположная: *Bacteroides* являются главным источником ЛПС, а *Firmicutes* — дополнительным барьером (препятствием) поступления ЛПС в кровь в силу высокой адгезивной способности к эпителию кишечника (García-Peña et al., 2017). Соотношение численности *Bacteroides*/*Firmicutes* 1 : 1 считается идеальным, поскольку создает, как нам представляется, определенный баланс между числом молекул ЛПС и их способностью преодолевать кишечный барьер. С возрастом этот баланс изменяется в пользу *Bacteroides*, а относительный дефицит бифидумбактерий может обуславливать повышение кишечной проница-

емости и быть причиной развития хронической эндотоксиновой агрессии (ХЭА) (Anikhovskaya et al., 2004). Принципиально важно отметить, что возрастное увеличение концентрации ЛПС в общей гемоциркуляции происходит на фоне снижения способности организма повышать температуру тела в ответ на рост его содержания в крови (нарастающая эндотоксиновая толерантность), прогрессирующего течения хронических заболеваний и увеличения их числа (рис. 1) (Яковлев, 2021).

Таким образом, представляется возможным констатировать прямую взаимосвязь между структурой КМ, хроническим воспалением и старением, которую гениально предсказал наш великий соотечественник Илья Ильич Мечников (Мечников, 1961).

СИСТЕМНАЯ ЭНДОТОКСИНЕМИЯ КАК ОБЛИГАТНЫЙ ФАКТОР АДАПТАЦИИ

Появлению этого термина и его определения предшествовал длительный процесс создания корректного метода определения уровня ЛПС в крови. Длительность была обусловлена недобросовестной критикой со стороны конкурентов (производителей лабораторных животных), что привело к созданию нового иммунохимического метода верификации ЛПС в крови (на поверхности ее клеток), который и позволил констатировать факт его присутствия в общем кровотоке в физиологических условиях. Это в свою очередь позволило преодолеть гипноз термина “эндотоксин” (ЭТ), *a priori* не допускающего возможности его участия в процессах адаптации. Разработанная отечественными учеными методология изучения роли ЭТ в процессах адаптации в клинических условиях и многочисленные экспериментальные исследования прошлого столетия обнаружили широкий спектр биологической активности этой молекулы, в частности некоторые ее способности: повышать метаболизм и температуру тела; активировать миелоцитарный росток костного мозга, иммунную и эндокринную систему, гемостаз, перекисное окисление липидов и протеинкиназу С (снимающую репрессию с генома). Это позволило квалифицировать ЛПС как экзогормон адаптации.

Адаптивная функция СЭЕ продемонстрирована (Anikhovskaya et al., 2006) при изучении динамики изменения ее интегральных показателей у спортсменов (с помощью пробы PWC170) в результате физической нагрузки, являющейся клинической моделью физического стресса, которая достаточно давно и широко используется в спортивной медицине для определения

степени готовности индивида к участию в соревновательном процессе. В этих исследованиях получены очень важные для понимания биологической роли СЭЕ факты: регулярные интенсивные физические нагрузки увеличивают концентрации ЛПС в крови прямо пропорционально усилиям; прирост уровня содержания ЭТ в результате физического стресса снижается по мере роста спортивных достижений, а затем полностью прекращается или имеет обратную тенденцию — уменьшения содержания ЭТ (рис. 2) (Anikhovskaya et al., 2006), что свидетельствует о способности организма потреблять ЛПС и материально обеспечивать повышенную

нагрузку в виде гипертрофии мышечной ткани в том числе, так как ЭТ активирует протеинкиназу С и снимает репрессию генома.

Таким образом, совокупность знаний, накопленных исследователями за 140 лет изучения биологических свойств ЛПС, позволила сформулировать следующую дефиницию: “СЭЕ — процесс управления активностью адаптивных систем (в том числе иммунной) кишечным эндотоксином при участии гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС)” (Яковлев, 2003, с. 33). Способность стресса увеличивать уровень содержания ЭТ в общей ге-

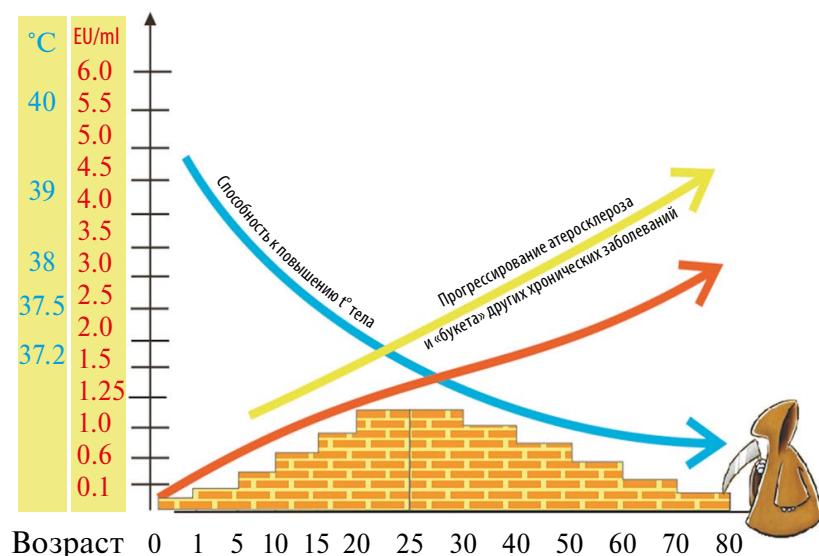


Рис. 1. Возрастное увеличение содержания ЛПС в кровотоке при снижении способности организма повышать температуру тела сопровождается прогрессирующим течением хронических заболеваний и ростом их числа (Яковлев, 2021). По оси абсцисс: возраст, лет. По оси ординат: температура тела (°C) и концентрация эндотоксина (EU/ml).

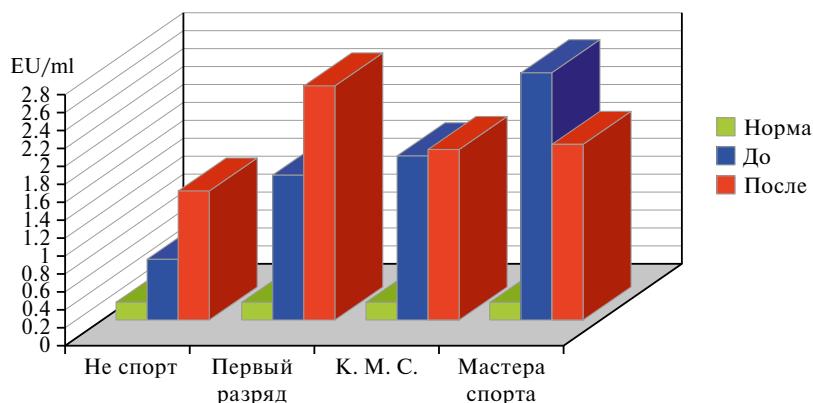


Рис. 2. Динамика изменения показателей концентрации эндотоксина в общем кровотоке (микро-ЛАЛ-тест) до и после физического стресса (PWC170) в зависимости от уровня спортивного мастерства (Anikhovskaya et al., 2006). По оси ординат: концентрация эндотоксина (EU/ml).

моциркуляции обеспечивается дополнительным сбросом порталной крови по шунтам, минуя печень, и липолизом с освобождением гидрофобной формы молекулы из состава жировой ткани (Яковлев, 2021).

ЭНДОТОКСИНОВАЯ АГРЕССИЯ КАК ПАТОГЕННАЯ ФОРМА СИСТЕМНОЙ ЭНДОТОКСИНЕМИИ

Роль КМ-фактора в биологии человека не ограничивается участием ЛПС только лишь в процессах адаптации, поскольку может носить и патогенный характер (рис. 3).

Способность организма потреблять дополнительно поступающую в гемоциркуляцию порцию ЭТ обеспечивает переносимость нагрузки PWC170 мастерами спорта, тогда как развитие реакций дезадаптации (боли в животе, плохое самочувствие вплоть до потери сознания и холодного пота, др.) происходит на фоне увеличения уровня содержания экзогормона адаптации в общем кровотоке, что свидетельствует о наличии ЭА, развивающейся в результате неспособности организма в полной мере потреблять дополнительно поступающий в кровоток ЛПС (Яковлев, 2021; Anikhovskaya et al., 2006). При этом необходимо отметить, что избыточное поступление и накопление ЛПС в общем кровотоке (с патогенными проявлениями его биологической активности) может быть обусловлено и иными причинами, среди которых: психоэмоциональный стресс, недостаточность выделительной функции печени и почек, особенности пищевого рациона и структуры КМ. Особый состав КМ может провоцировать так называемые КМ-ассоциированные заболевания (МАЗ).

Научные факты, полученные советскими и российскими учеными с помощью авторской методологии изучения биологической роли ЭТ в клинических условиях, позволили более 20 лет назад предложить новую дефиницию (Яковлев, 2003), которую в настоящее время можно сформулировать в следующей редакции: ЭА кишечного и/или иного происхождения — патогенный процесс индукции системного воспаления — является предболезнью и/или универсальным фактором патогенеза заболеваний, манифестируется той или иной нозологией в силу генетической и/или приобретенной (в том числе эпигенетической природы) предрасположенности.

КМ-АССОЦИИРОВАННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ КАК ПАТОЛОГИЯ, ИНДУЦИРОВАННАЯ ЭНДОТОКСИНОВОЙ АГРЕССИЕЙ

Все большее число исследователей преимущественно в модельных опытах на животных пытаются установить взаимосвязь между структурой КМ и различными нозологиями в надежде создать новые лекарственные препараты или пищевые добавки на основе про- и пребиотиков. И в этом направлении достигнуты определенные успехи, которые в перспективе могут быть использованы не только в фарминдустрии и диетологии, но и в коррекции образа жизни. В настоящее время установлены определенные взаимосвязи между структурой КМ и экспериментальными моделями некоторых нозологий, в частности нейродегенеративными и психическими заболеваниями (Foster et al., 2015; Sun et al., 2021; Toledo et al., 2022), для которых характерны рост кишечной проницаемости, регистрируемой повышением уровня содержания ЛПС в крови (наличием ЭА), и системное воспаление. Уча-

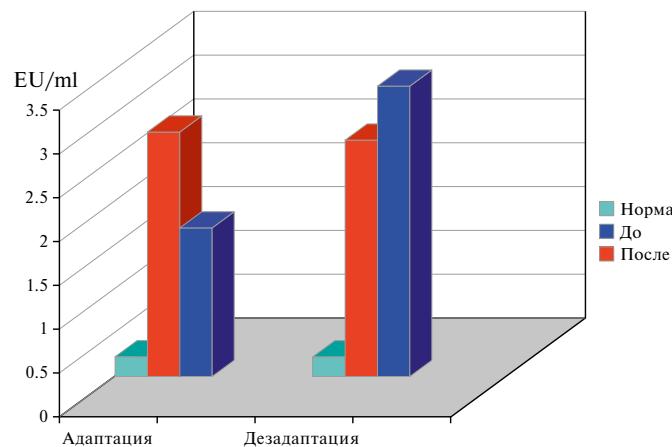


Рис. 3. Динамика изменения концентрации эндотоксина у мастеров спорта в зависимости от способности переносить физическую нагрузку PWC170 (Anikhovskaya et al., 2006). По оси ординат: концентрация эндотоксина (EU/ml).

ствие КМ в патогенезе нейродегенеративных заболеваний прямо или косвенно подтверждается множеством научных фактов: ЭТ вызывает когнитивные нарушения у мышей (Zhao et al., 2019) и влияет на развитие мозга плода (Izvolskaia et al., 2018); комбинация *Lactobacillus helveticus* R0052 и *Bifidobacterium longum* R0175 снижает ЛПС-индуцированное увеличение концентрации провоспалительных цитокинов в кровотоке и гиппокампе, уменьшает апоптоз клеток гиппокампа и когнитивные нарушения (Mohammadi et al., 2019); пробиотики изменяют состав КМ и уменьшают патологические изменения в гиппокампе, улучшают когнитивные способности, снижают окислительный стресс и замедляют клинические проявления болезни Альцгеймера у мышей (Athari Nik Azm et al., 2018); дисбактериоз кишечника может предшествовать когнитивным нарушениям у пациентов с болезнями Паркинсона и Альцгеймера (Tan et al., 2021); ЭТ является важным фактором патогенеза эндогенных психозов у больных шизофренией (Зозуля и др., 2020а, 2020б, 2023). К числу МАЗ можно причислить и многие другие нозологии: аллергические и аутоиммунные заболевания (Яковлев, 2013; Gordienko et al., 2019, 2022), атеросклероз и острый инфаркт миокарда (Конев и др., 2002; Anikhovskaya et al., 2014, 2015б; Pokusaeva et al., 2019), вирусные заболевания, в том числе ириодицлиты (Анохин и др., 1992; Вышегуров и др., 2007; Хасанова и др., 2020; Яцков и др., 2022; Sozinov et al., 2001; Sozinov, 2002; Anikhovskaya et al., 2015а), женское бесплодие, хроническую гинекологическую и урологическую патологию (Мешков и др., 2006, 2007; Энукидзе и др., 2007), сахарный диабет и метаболический синдром (Гордиенко и др., 2016; Белоглазов и др., 2021; Okorokov et al., 2011), а также ДВС-синдром и острую полиорганическую недостаточность (синонимы: эндотоксиновый или септический шок, синдром острого воспалительного ответа) (Яковлев, 2020), в механизмах развития и/или индукции которых принимает участие ЭА.

МАЗ включают в себя заболевания, имеющие следующие признаки: повышенная кишечная проницаемость как причина развития ЭА и обусловленное ей системное воспаление.

Однако необходимо отметить, что источником ЭА, являющейся ключевым элементом патогенеза МАЗ, может быть не только кишечник, но и жировая ткань, которая в условиях стресс-индуцированного липолиза может освобождать депонированную в ней гидрофобную форму ЛПС в общий кровоток (Яковлев, 2021).

Немаловажным фактором патогенеза МАЗ могут быть и вирусы, участие которых в повыше-

нии кишечной проницаемости прямо или косвенно доказано отечественными исследователями у детей с бронхобструктивным синдромом при ОРВИ (Анохин и др., 1992), у больных хроническими гепатитами В и С (Sozinov et al., 2001; Sozinov, 2002), при ВИЧ- и ковид-инфекциях (Хасанова и др., 2020; Ярцев и др., 2021; Яцков и др., 2022; Anikhovskaya et al., 2015а). Наиболее наглядно участие вирусов в формировании МАЗ иллюстрируют результаты исследований больных СПИД, которые свидетельствуют о том, что ВИЧ-индуцированное повреждение кишечного барьера во времени синхронизировано с нарастанием виремии и развитием ЭА, которые носят циклический характер и обусловливают развитие синдрома системного воспалительного ответа, являющегося основой патогенеза СПИД (рис. 4) (Anikhovskaya et al., 2015а).

Таким образом, ВИЧ- и ковид-инфекции можно отнести к числу МАЗ, а поскольку численность вирусов в структуре КМ ничуть не меньше бактерий, то представляется возможным предположить, что определенная их часть способна паразитировать в эпителии, вызывать их альтерацию и время от времени повреждать кишечный барьер — повышать кишечную проницаемость (без существенных клинических проявлений), что может играть и определенную позитивную роль, — подпитывать свежими полными (с полисахаридной частью) молекулами пул ЛПС, который способен снижать свою суммарную биологическую активность в силу возможной и вполне вероятной деградации — частичной утраты ацильных и фосфатных групп в структуре липида А в результате рециркуляции по маршруту кишечник–кровь–печень–кишечник.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СИНДРОМ КАК ПРОЯВЛЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭНДОТОКСИНОВОЙ АГРЕССИИ

Очень важную роль в понимании роли ЛПС и питания в индукции метаболического синдрома сыграли экспериментальные исследования (Cani et al., 2018), создавшие алиментарную модель ХЭА, названной ими метаболической эндотоксемией (на наш взгляд, не самый удачный термин, лишенный этиологической привязки), при использовании которой установили прямую связь между особенностями диеты, уровнем ЛПС в крови, ожирением и инсулинорезистентностью. И в клинических исследованиях установлена прямая взаимосвязь между липидным компонентом пищи, ожирением и концентрацией ЛПС в общем кровотоке (Okorokov et al., 2012).

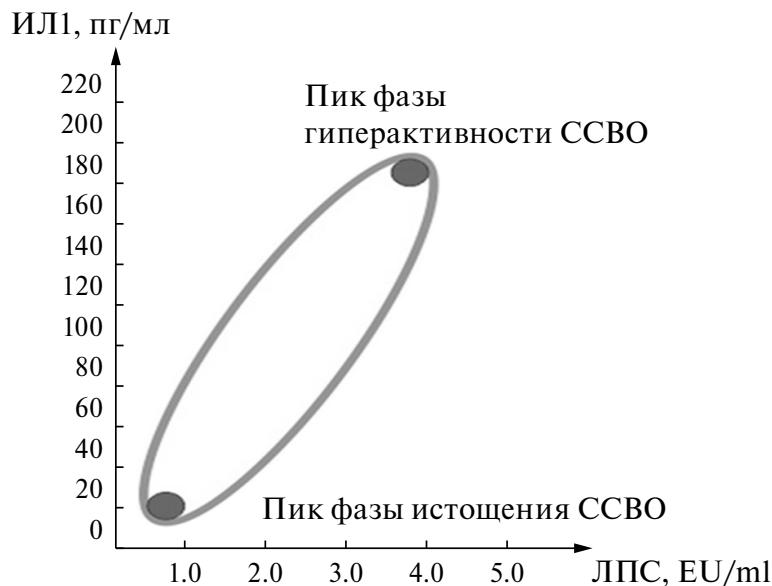


Рис. 4. Периодичность ССВО при ВИЧ-инфекции, когда фаза ЛПС-индуцированной гиперактивации иммунной системы сменяется ее истощением, связана с циклами репликации вируса и обусловленным ими повреждением кишечного барьера (Anikhovskaya et al., 2015a). ССВО — синдром системного воспалительного ответа.

С позиций эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека (Яковлев, 2021), ожирение и инсулинерезистентность также являются прямым следствием ХЭА в силу сразу нескольких обстоятельств. К ним относятся, в частности, следующие: прохождение гидрофобной формы ЭТ (рециркулирующий пул молекулы по маршруту кишечник—кровь—печень—кишечник—кровь) через кишечную стенку происходит в составе хиломикрон — жирная пища увеличивает кишечную проницаемость и массу тела (вероятно ЛПС активирует липогенез); для пациентов с ожирением свойственна склонность к вялотекущим воспалительным заболеваниям, повышенный провоспалительный фон и высокий уровень содержания ЭТ в крови; жировая ткань является депо ЛПС — лечебное голодание и использование ингибитора желудочно-кишечных липаз в пищевом рационе уменьшает не только массу тела, но и возвращает интегральные показатели СЭЕ к нормативным (Okorokov et al., 2012). Первая успешная попытка снизить кишечную проницаемость с помощью пробиотика (живой культуры *bifidum*-бактерий) — уменьшать концентрацию ЛПС в крови больного и снижать частоту обострения хронического заболевания — осуществлена нами более 20 лет назад (Anikhovskaya et al., 2004). Далее было обнаружено, что очень высокой способностью укреплять кишечный барьер обладает *A. muciniphila* (Cani et al., 2018), что, на наш взгляд, является одним из наиболее значимых достижений клинической микробиологии, поскольку предупреждение и/или устранение ЭА

может и должно стать обязательным компонентом лечебно-профилактического процесса, в том числе замедления скорости старения.

ВОСПАЛЕНИЕ КАК БАЗИСНЫЙ ЭЛЕМЕНТ БОЛЕЗНИ И СТАРЕНИЯ

На протяжении многих десятилетий велась очень оживленная дискуссия в отношении роли воспаления в биологии человека, которая стала бессмысленной после того, как была определена главенствующая роль врожденного иммунитета в регуляции активности адаптивного звена, верифицированы его рецепторы и постулирована СЭЕ как облигатный фактор гомеостаза, что позволило сформулировать межотраслевые определения воспаления и сепсиса: “Воспаление — аварийный механизм иммунной защиты, направленный на выявление, уничтожение и элиминацию чужеродных и собственных антигенов, который носит адаптивный и/или патогенный характер” (Яковлев, 2021, с. 145); “Сепсис — синдром системного воспалительного ответа на эндотоксиновую агрессию кишечного и/или иного происхождения, который в отсутствие эффективной терапии сопровождается бактериемией и полиорганной недостаточностью” (Яковлев, 2021, с. 145). Эти дефиниции очень кратко излагают современные представления о проблеме и предназначены для приобщения ученых самых различных специальностей к формированию новых направлений совместного научного поиска.

Одним из наиболее значимых философских достижений в области медицины настоящего столетия является постулат Клаудио Франчески: воспаление как основа старения (Franceschi et al., 2018; Franceschi, 2019), что нельзя сказать о введенном им термине *inflammaging*, поскольку принципиальных возрастных различий хронического (низкоинтенсивного) воспаления нет.

Автоиммунное воспаление сопровождает нас с момента рождения и предопределено самой природой организации работы иммунитета, который защищает и уничтожает хозяина одновременно, обеспечивает самообновление популяции и эволюцию вида (Яковлев, 2020), усиливаясь с возрастом, не приобретая новых качеств. Главным трендом в сохранении здоровья и продлении жизни должно стать разумное снижение (его границы придется определить) активности адаптивного иммунитета (управляемого врожденным иммунитетом и его лигандами), поскольку сама жизнь является процессом сгорания в огне хронического (в том числе, а быть может, и в первую очередь, аутоиммунного) воспаления (Яковлев 2020, 2021).

Принципиально важным представляется и тот факт, что с возрастом в крови прогрессивно нарастает уровень ЛПС, увеличиваются число и выраженность хронических заболеваний (рис. 1), в том числе атеросклеротической природы, которые сопровождаются снижением и активности антиэндотоксического иммунитета, и способности организма реагировать на избыточное содержание ЛПС в общем кровотоке повышением температуры тела. Иными словами, имеет место нарастающая с возрастом эндотоксическая толерантность, которая индивидуально необходима в краткосрочной перспективе для блокировки излишней активности (агрессивности) адаптивного звена иммунной системы (*a priori* работающего против хозяина) в экстремальных ситуациях (сепсис, шок), а в долгосрочной — для обеспечения процессов старения и самообновления популяции как основы эволюции вида. В этом процессе ключевую роль играет КМ как источник лигандов врожденного иммунитета и в первую очередь ЛПС. Нарастающая с возрастом эндотоксическая толерантность является спутником старения, и потому мы сочли необходимым привести определение этому термину: “Эндотоксическая толерантность — неспособность организма повышать температуру тела и обуславливать острый воспалительный ответ на повышенный уровень содержания эндотоксина в кровотоке при сохранной способности индуцировать низкоинтенсивное воспаление”

(Яковлев, 2021, с. 145). Интимные механизмы развития этого феномена не изучены, известно лишь то, что преодолеть толерантность можно, существенно повысив или понизив уровень ЛПС в общем кровотоке, например пирогеналом или лечебным голоданием (Okorokov et al., 2012). “Старение — генетически обусловленный процесс самоуничтожения, реализуемый иммунной системой при участии кишечного эндотоксина и стресса, который характеризуется низкоинтенсивным воспалением и хроническими заболеваниями прогрессирующего течения” (Яковлев, 2021, с. 145). Самоуничтожение организма предопределено самой природой адаптивного звена иммунной системы, принцип работы которого основан на стохастическом процессе соматических мутаций лимфоцитов, производящих 10^{14} – 10^{18} иммуноглобулиновых и Т-клеточных рецепторов, которые способны взаимодействовать не только с чужеродными (в том числе синтетическими), но и собственными антигенами, что лежит в основе противоопухолевого иммунитета (Меджитов, Джаневей, 2004). Другими словами, адаптивный иммунитет работает без разбора как против патогенов и онкогенов, так и против хозяина, что объясняет сам факт присутствия аутоантител в крови, т.е. наличия аутоиммунных процессов, которые носят вялотекущий характер (возможно, играют позитивную роль по удалению отработанного биоматериала) и длительное время никак себя клинически не проявляют. Отсюда следует, что любое повышение иммунитета может сопровождаться активацией аутоиммунитета и быть одной из причин развития аутоиммунных заболеваний. Косвенно это находит свое подтверждение в ряде клинических исследований шизофрении, акантолитической пузырчатки и болезни Бехтерева (Зозуля и др., 2020а, 2020б, 2023; Gordienko et al., 2019, 2022).

Также очень важно, что активностью адаптивного звена иммунной системы управляет врожденный иммунитет, а значит, и лиганды его рецепторов, среди которых центральное место принадлежит ЛПС. Однако следует еще раз отметить, что не только концентрация ЛПС определяет активность врожденного иммунитета, но и способность организма отвечать на его избыток в кровотоке. А это в свою очередь зависит от многих факторов, среди которых полиморфизм TLR4, качественные изменения в структуре ЛПС (которые могут быть возраст-зависимыми), дефицит тех или иных адаптерных белков и кофакторов, необходимых для взаимодействия ЛПС с TLR4, активность антиэндотоксического иммунитета (АЭИ) и др. Результаты многолетних клинических исследо-

ваний отечественных ученых свидетельствуют об универсальной роли ЛПС в патогенезе многих заболеваний и синдромов и в ряде случаев в их инициации. Важной представляется и роль АЭИ в реализации патогенных свойств ЛПС, активность которого имеет неуклонную возрастную тенденцию к снижению. Неизбежность старения как одного из базисных элементов эволюции предопределена обязательным участием СЭЕ и стресса в механизмах адаптации, в формировании ЭА — индукции системного воспаления и патогенезе заболеваний (рис. 5).

Таким образом, КМ и ГГНС участвуют в процессе адаптации индивида к изменяющимся условиям внешней и внутренней среды, а на видовом уровне — обеспечивают самообновление популяции, опосредованное старением. Осознание единства облигатных факторов жизнеобеспечения и самоликвидации организма определяет целесообразность и возможность создания антиэндотоксикнового алгоритма сохранения здоровья, повышения эффективности лечебно-профилактического процесса и продления жизни, который достичим путем использования средств нормализации показателей СЭЕ. Верификация новых средств (диета, лекарства, биодобавки, процедуры), обладающих способностью позитивно влиять на интегральные показатели СЭЕ, возможна и в клинических условиях на основе методологии, разработанной отечественными учеными.

СРЕДСТВА НОРМАЛИЗАЦИИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМНОЙ ЭНДОТОКСИНЕМИИ

Профилактика и устранение ЭА может осуществляться сразу в нескольких направлениях (Яковлев, 2013; Аниховская и др., 2014; Расческов и др., 2022; Chernikhova et al., 2007; García-Peña et al., 2017; Cani et al., 2018; Gordienko et al., 2020; Miere et al., 2022):

- снижение кишечной проницаемости для ЛПС (диета, устранение дисбактериоза с помощью фагов и фекальной трансплантации, про- и пребиотиков, иные средства подавления или стимулирования роста той или иной бактерии), увеличение связывания и выведения его из кишечника (энтеросорбция: пищевые и искусственные энтеросорбенты); в перспективе и селективная энтеросорбция источников развития ЭА;
- селективная гемосорбция с помощью ЛПС-фильтров, гемодиализ и, возможно, плазмаферез; иммунопрепараты с высоким содержанием антиэндотоксикновых антител, свежезамороженная плазма;
- повышение активности ЛПС-потребляющих и выводящих органов и тканей (печень, почки, кожа и др.): гепатопротекторы, диуретики, физические упражнения и, возможно, сауна (усиление потовыделения);

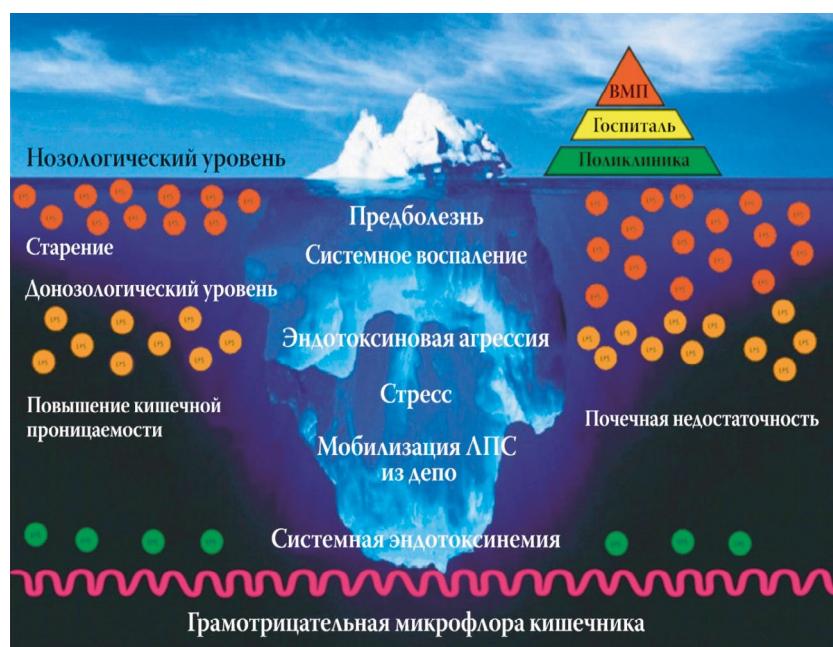


Рис. 5. Универсальная роль системной эндотоксикнемии в адаптации, индукции системного воспаления, патогенезе заболеваний и старения (Яковлев, 2021) в авторской модификации. ВМП — высокотехнологическая медицинская помощь.

- повышение активности АЭИ с помощью физического воздействия на организм: внутреннее лазерное (возможно, и ультрафиолетовое) облучение крови, иные хаотропные воздействия на кровь; умеренное рентгеновское и иное облучение тела;
- умеренные физические нагрузки, плавание, медитация и иные гармонизирующие психическое состояние процедуры.

Принципиально важным для определения эффективности и достаточности того или иного анти-ЛПС-курса в структуре лечебно-профилактических мероприятий является мониторинг интегральных показателей СЭЕ до достижения нормативного диапазона.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кишечная микробиота — орган-сателлит, состоящий из астрономического числа клеток, общей массой у взрослого человека более 1.5 кг. Видовое многообразие кишечной микробиоты (уменьшающееся с возрастом) обеспечивает высокую вариабельность адаптивных к разнообразию пищевых продуктов трансформаций — изменение своей структуры. Некоторые из освобождающихся в результате жизнедеятельности бактерий метаболитов, равно как и продукты их деградации (в первую очередь — ЛПС), играют важную роль в гомеостазе, поскольку являются сигнальными молекулами, определяющими уровень активности адаптивных систем (ЦНС, иммунитет, гемостаз, эндокринные и нейроэндокринные органы). Равновелика роль этих молекул в общей патологии и в старении. Среди них особое место занимает ЛПС — лиганд центрального рецептора врожденного иммунитета TLR4, определяющего как уровень активности иммунной системы, так и интенсивность аутоиммунных процессов, а значит, и скорость старения. Старение можно охарактеризовать как фатальное проявление общего адаптационного синдрома. Это позволяет рассматривать процессы адаптации, общей патологии и старения в диалектическом единстве и во взаимодействии с кишечной микробиотой. Результатами клинических исследований отечественных авторов констатирован факт участия системной эндотоксинемии и эндотоксиновой агрессии (ее патогенная форма) как в срочной адаптации к экстремальной физической нагрузке, так и в ее срыве, что позволяет постулировать участие кишечной микробиоты в патогенезе общего адаптационного синдрома и ведущую роль ЛПС-индуцированного системного воспаления в механизме развития его проявлений. Способность средств нормализации показа-

телей системной эндотоксинемии в схемах лечения самых различных заболеваний повышать эффективность лечебного процесса свидетельствует об участии эндотоксиновой агрессии в их патогенезе и открывает новые перспективы как в профилактической медицине, так и в достижении долголетия.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность коллективу Института общей и клинической патологии РАЕН за помощь в проведении исследования и лабораторного анализа.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета ФГБНУ “НИИ общей патологии и патологической физиологии”. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Статья носит обзорный характер и не содержит исследований людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аниховская И.А., Кубатиев А.А., Майский И.А. и др. Направления поиска средств снижения концентрации эндотоксина в общей гемоциркуляции // Патогенез. 2014. Т. 12 (4). С. 25–30.
- Аниховская И.А., Белоглазов В.А., Гордиенко А.И. и др. Краткая история изучения роли кишечного фактора в старении и/или индукции системного воспаления: достижения, проблемы, перспективы // Патогенез. 2019. Т. 17 (1). С. 4–17.
- Анохин В.А., Булатова Г.Р., Крупник А.Н., Яковлев М.Ю. Системная эндотоксинемия и бронхобструктивный синдром при острой респираторной вирусной инфекции у детей // Казан. мед. журн. 1992. Т. 73 (2). С. 8–12.
- Белоглазов В.А., Яцков И.А., Кумельский Е.Д., Половинкина В.В. Метаболическая эндотоксинемия: возможные причины и последствия // Ожир. метабол. 2021. Т. 18 (3). С. 320–326.
- Вышегуров Я.Х., Аниховская И.А., Батманов Ю.Е., Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин в патогенезе воспалительной патологии глаза и антиэндотоксиновая составляющая лечения // Пат. физиол. экспер. терапия. 2007. Т. 1. С. 12–14.

- Гордиенко А.И., Белоглазов В.Н., Кубышкин А.В.* Дисбаланс показателей гуморального антиэндотоксивного иммунитета и низкоинтенсивное воспаление при сахарном диабете 1 и 2 типа // Пат. физиол. экспер. терапия. 2016. Т. 60 (3). С. 61–67.
- Зозуля С.А., Отман И.Н., Олейчик И.В. и др.* Сопряженность процессов системного воспаления и системной эндотоксинемии при эндогенных психозах // Сиб. вестн. психиатр. наркол. 2020а. Т. 108 (3). С. 17–27.
[https://doi.org/10.26617/1810-3111-2020-3\(108\)-17-27](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2020-3(108)-17-27)
- Зозуля С.А., Отман И.Н., Юнилайнен И.А. и др.* Показатели маркеров системного воспаления и системной эндотоксинемии у пациентов с эндогенными психозами // Патогенез. 2020б. Т. 18 (1). С. 34–41.
<https://doi.org/10.25557/2310-0435.2020.01.34-41>
- Зозуля С.А., Яковлев М.Ю., Клюшник Т.П.* Микробиота кишечника и нейровоспаление или участие эндотоксина в патогенезе эндогенных психозов // Психиатрия. 2023. Т. 21 (5). С. 86–96.
- Конев Ю.В., Лазебник Л.Б., Аниховская И.А.* Атеросклероз и эндотоксин // Клин. геронтол. 2002. Т. 10 (7). С. 36–42.
- Меджитов Р., Джсаневей Ч.* Врожденный иммунитет // Казан. мед. журн. 2004. Т. 85 (3). С. 161–167.
- Мечников И.И.* Этюды о природе человека. М.: Наука, 1961. 290 с.
- Мешков М.В., Аниховская И.А., Гатауллин Ю.К., Яковлев М.Ю.* Эндотоксиновая агрессия как универсальный фактор патогенеза расстройств гемостаза у детей с урологическими заболеваниями // Урология. 2006. Т. 1. С. 15–19.
- Мешков М.В., Гатауллин Ю.К., Иванов В.Б., Яковлев М.Ю.* Эндотоксиновая агрессия как причина послеоперационных осложнений в детской хирургии. Новые перспективы профилактики. Кн. 2. М.: КДО-тест, 2007. 144 с.
- Расческов А.А., Маркелова М.М., Аниховская И.А. и др.* Определение этиологии эндотоксиновой агрессии как перспектива повышения эффективности лечебно-профилактического процесса // Казан. мед. журн. 2022. Т. 103 (3). С. 467–475.
<https://doi.org/10.17816/KMJ2022-467>
- Уразаев Р.А., Крупник А.Н., Яковлев М.Ю.* Эндотоксинемия в раннем периоде адаптации новорожденных и их матерей // Казан. мед. журн. 1992. Т. 73 (2). С. 114–118.
- Хасанова Г.Р., Биккинина О.И., Анохин В.А. и др.* Кишечный фактор прогрессирования ВИЧ-инфекции // Успехи соврем. биол. 2020. Т. 140 (3). С. 278–288.
<https://doi.org/10.31857/S004213242030059>
- Энукидзе Г.Г., Аниховская И.А., Марачев А.А., Яковлев М.Ю.* Антиэндотоксиновое направление в лечении хронического воспаления и женского бесплодия. Новые лечебно-диагностические технологии. Кн. 3. М.: КДО-тест, 2007. 129 с.
- Яковлев М.Ю.* Роль кишечной микрофлоры и недостаточность барьерной функции печени в развитии и эндотоксинемии воспаления // Казан. мед. журн. 1988. Т. 69 (5). С. 353–358.
- Яковлев М.Ю.* “Эндотоксиновая агрессия” как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных // Успехи соврем. биол. 2003. Т. 123 (1). С. 31–40.
- Яковлев М.Ю.* Кишечный эндотоксин и воспаление. Дерматовенерология. Национальное руководство. Краткое издание. Гл. 8. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. С. 70–76.
- Яковлев М.Ю.* Кишечный эндотоксин: иммунитет — воспаление — старение как звенья одной цепи // Патогенез. 2020. Т. 18 (1). С. 82–94.
- Яковлев М.Ю.* Системная эндотоксинемия: гомеостаз и общая патология. М.: Наука, 2021. 184 с.
- Ярцев И.А., Белоглазов В.А., Климчук А.В. и др.* Влияние избыточной массы тела и ожирения на показатели эндотоксинемии и системного воспаления при остром SARS-CoV-2-поражении легких // Мед. альянс. 2021. Т. 9 (4). С. 54–61.
- Яцков И.А., Белоглазов В.А., Кубышкин А.В. и др.* Влияние антибиотикотерапии на показатели эндотоксинемии и системного воспаления при остром SARS-CoV-2-поражении легких // Инфек. болез. 2022. Т. 7 (1). С. 12–17.
- Anikhovskaya I.A., Vyshegurov Ya.Kh., Rascheskov A.Yu. et al.* *Bifidobacteria* as a means of prevention or treatment of endotoxin aggression in patients with chronic diseases during remission or exacerbation // Hum. Physiol. 2004. V. 30 (6). P. 732–733.
<https://doi.org/10.1023/B:HUMP.0000049597.09577.22>
- Anikhovskaya I.A., Oparina O.N., Yakovleva M.M., Yakovlev M.Yu.* Intestinal endotoxin as a universal factor of adaptation and pathogenesis of general adaptation syndrome // Hum. Physiol. 2006. V. 32 (2). P. 200–203.
<https://doi.org/10.1134/s0362119706020149>
- Anikhovskaya I.A., Golyshev I.S., Tebloeov K.I. et al.* The role of endotoxin aggression in pathogenesis of acute myocardial infarction // Hum. Physiol. 2014. V. 40 (3). P. 348–351.
<https://doi.org/10.1134/S0362119714030037>
- Anikhovskaya I.A., Kubatiev A.A., Khasanova G.R., Yakovlev M.Yu.* Endotoxin is a component in the pathogenesis of chronic viral diseases // Hum. Physiol. 2015a. V. 41 (3). P. 328–335.
<https://doi.org/10.1134/S0362119715030020>
- Anikhovskaya I.A., Kubatiev A.A., Yakovlev M.Yu.* Endotoxin theory of atherosclerosis // Hum. Physiol. 2015b. V. 41 (1). P. 89–97.
<https://doi.org/10.1134/S0362119715010028>
- Athari Nik Azm S., Dzajayeri A., Safa M. et al.* *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* ameliorate memory and learning deficits and oxidative stress in β -amyloid (1-42) injected rats // Appl. Physiol. Nutr. Metab. 2018. V. 43 (7). P. 718–726.
<https://doi.org/10.1139/apnm-2017-0648>

- Bäckhed F., Roswal J., Peng Y. et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life // *Cell Host Microbe*. 2015. V. 17. P. 690–703.
- Cani P.D. Human gut microbiome: hopes, threats and promises // *Gut*. 2018. V. 67 (9). P. 1716–1725. <https://doi.org/10.1093/gut/jnw316>
- Chernikhova E.A., Anikhovskaya I.A., Gataullin Yu.K. et al. Enterosorption as an approach to the elimination of chronic endotoxin aggression // *Hum. Physiol.* 2007. V. 33 (3). P. 373–374.
- Doroszkiewicz J., Groblewska M., Mroczko B. The role of gut microbiota and gut–brain interplay in selected diseases of the central nervous system // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22 (18). P. 10028. <https://doi.org/10.3390/ijms221810028>
- Fallani M., Young D., Scott J. et al. Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding and antibiotics // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2010. V. 51. P. 77–84.
- Foster J., Lyte M., Meyer E., Cryan J. Gut microbiota and brain function: an evolving field in neuroscience // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2015. V. 19 (5). P. 114. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pv114>
- Franceschi C., Garagnani P., Parini P. et al. Inflammaging: a new immune-metabolic viewpoint for age-related diseases // *Nat. Rev. Endocrinol.* 2018. V. 14 (10). P. 576–590. <https://doi.org/10.1038/s41574-018-0059-4>
- Franceschi C. Inflammaging and its role in aging and age-related diseases. 2019. Presentation at the Moscow Physical and Technical University.
- García-Peña C., Álvarez-Cisneros T., Quiroz-Baez R., Friedland R.P. Microbiota and aging. A review and commentary // *Arch. Med. Res.* 2017. V. 48 (8). P. 681–689. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2017.11.005>
- Gordienko A.I., Beloglazov V.A., Kubyshkin A.V. et al. Humoral anti-endotoxin immunity imbalance as a probable factor in the pathogenesis of autoimmune diseases // *Hum. Physiol.* 2019. V. 45 (3). P. 337–341. <https://doi.org/10.1134/S036211971903006X>
- Gordienko A.I., Khimich N.V., Beloglazov V.A. et al. Polyreactive transformation of class G immunoglobulins as a vector for search of potential means for improving the activity of anti-endotoxin immunity // *Hum. Physiol.* 2020. V. 46 (5). P. 554–559. <https://doi.org/10.1134/S03621197200-40052>
- Gordienko A.I., Beloglazov V.A., Anikhovskaya I.A. et al. Activity of humoral antiendotoxin immunity is associated with low-intensity inflammation and oxidative stress in ankylosing spondylitis: endotoxin component of disease pathogenesis // *Hum. Physiol.* 2022. V. 48 (5). P. 577–581. <https://doi.org/10.1134/S0362119722600230>
- Izvolskaia M., Sharova V., Zakharova L. Prenatal programming of neuroendocrine system development by lipopolysaccharide: long-term effects // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19 (11). P. 3695.
- Miere F., Ganea M., Nagy C., Vicas L.G. The interdependence between diet, microbiome and human body health — a systemic review // *Pharmacophore*. 2022. V. 13 (2). P. 1–6.
- Mohammadi G., Dargahi L., Naserpour T. et al. Probiotic mixture of *Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175 attenuates hippocampal apoptosis induced by lipopolysaccharide in rats // *Int. Microbiol.* 2019. V. 22 (9). P. 317. <https://doi.org/10.1007/s10123-018-00051-3>
- Okorokov P.L., Anikhovskaya I.A., Volkov I.E., Yakovlev M.Yu. Intestinal endotoxin as a trigger of type 1 diabetes mellitus // *Hum. Physiol.* 2011. V. 37 (2). P. 247–249.
- Okorokov P.L., Anikhovskaya I.A., Yakovleva M.M., Yakovlev M.Yu. Nutritional factors of inflammation induction or lipid mechanism of endotoxin transport // *Hum. Physiol.* 2012. V. 38 (6). P. 649–655. <https://doi.org/10.1134/S0362119712060102>
- Pokusaeva D.P., Anikhovskaya I.A., Korobkova L.A. et al. Prognostic importance of systemic endotoxinemia indicators in atherogenesis // *Hum. Physiol.* 2019. V. 45 (5). P. 543–551.
- Sun P., Su L., Zhu H. et al. Gut microbiota regulation and their implication in the development of neurodegenerative disease // *Microorganisms*. 2021. V. 9 (11). P. 2281. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112281>
- Sozinov A.S. Systemic endotoxinemia during chronic viral hepatitis // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2002. V. 133 (2). P. 153–155.
- Sozinov A.S., Anikhovskaya I.A., Enaleeva D.S. et al. Functional activity of endotoxin binding factors in chronic viral hepatitis B and C // *J. Microbiol. Epidemiol. Immunol.* 2001. V. 6. P. 56–59.
- Tan L.Y., Yeo X.Y., Bae H.G. et al. Association of gut microbiome dysbiosis with neurodegeneration: can gut microbe-modifying diet prevent or alleviate the symptoms of neurodegenerative diseases? // *Life (Basel)*. 2021. V. 11 (7). P. 698. <https://doi.org/10.3390/life11070698>
- Toledo L., Monroy G., Salazar F. et al. Gut–brain axis as a pathological and therapeutic target for neurodegenerative disorders // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23 (3). P. 1184. <https://doi.org/10.3390/ijms23031184>
- www.lpsexpo.ru. Первый международный конгресс “Микробиота: гомеостаз, воспаление, старение”, Республика Татарстан РФ, Казань–Набережные Челны, 2026.
- Zhao J., Bi W., Xiao S. et al. Neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment in mice // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P. 5790. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42286-8>

Systemic Endotoxinemia as a Basic Element of Adaptation, Initiation of Systemic Inflammation and Aging

М. М. Markelova^a, С. Г. Morozov^a, А. С. Sozinov^b, М. Ю. Iakovlev^{a, *}

^aInstitute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

^bKazan State Medical University, Kazan, Russia

**e-mail: yakovlev-lps@yandex.ru*

Systemic endotoxinemia is an obligate factor of homeostasis and, along with stress, regulates the functional state of adaptive systems, including the immune system, whose hyperactivation by an excess of lipopolysaccharides in the general bloodstream (“endotoxin aggression”) induces systemic inflammation, which underlies the pathogenesis of if not all, then most nosological forms of diseases. The aging process is also based on inflammation and autoimmune, including, as a rule, low-intensity. The unity of obligate factors of adaptation and aging in the face of endotoxin and stress, along with the very nature of immunity, aimed not only at protecting the body, but also its self-destruction, ensures self-renewal of the population and is one of the fundamental foundations of the evolution of the species.

Keywords: systemic endotoxinemia, adaptation, endotoxin aggression, inflammation, endotoxin, lipopolysaccharide, aging

УДК 612.821.6

БАЗАЛЬНЫЕ ГАНГЛИИ И АПРАКСИЯ

© 2024 г. С. В. Альбертин

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

e-mail: albertinsv@infran.ru

Поступила в редакцию 23.07.2024 г.

После доработки 02.09.2024 г.

Принята к публикации 02.09.2024 г.

В экспериментах на животных представлены результаты участия ядер стриатума в патогенезе различных форм апраксии. Анализируется участие имплицитного обучения в формировании и осуществлении целенаправленного двигательного поведения животных. Обсуждается возможность использования разработанных моделей апраксии при скрининге эффективных фармакологических препаратов, а также для диагностики и коррекции различных форм апраксии.

Ключевые слова: базальные ганглии, апраксия, моделирование, диагностика и коррекция, животные

DOI: 10.31857/S0042132424060021, **EDN:** NSAIHP

Статья посвящена И.П. Павлову, заложившему основы системного подхода к изучению целенаправленного, последовательно выполняемого двигательного поведения животных и человека в норме и при патологии центральной нервной системы

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что адаптивное поведение человека и животных связано с формированием и точным выполнением различных видов праксиса — координированных двигательных навыков разной степени сложности, основанных на способности к торможению не адекватной в данной ситуации альтернативной мышечной активности (Mink, 1996, 2003). Потеря этой способности у больных с травматическими и инфекционными повреждениями различных структур мозга приводит к апраксии — нарушению выполнения двигательных навыков разной сложности (Лурия, 1973; Goldenberg, 2009; Matt et al., 2017; Buxbaum, Randerath, 2018; Rosenzopf et al., 2022).

В соответствии с существующей классификацией (Лурия, 1969, 1973; Liepmann, 1920) выделяют следующие основные виды апраксии:

1. Кинетическая — расстройство динамики движения, нарушение перехода отдельных про-

стых движений, формирующих единое слитное движение.

2. Постуральная — нарушение перестройки и поддержания позы (равновесия), необходимых для выполнения предстоящего движения.

3. Кинестетическая — мануальная апраксия, связанная с нарушением тонких координированных движений из-за потери способности подбора необходимых для достижения результата движений.

4. Пространственная — нарушение выполнения пространственно-ориентированных действий, связанных с изменением направления и скорости движения.

Клиницисты и нейропсихологи причину нарушений праксиса связывают в основном с дисфункцией моторной, теменной и височной областей коры головного мозга, но ставят под сомнение участие ядер стриатума в патогенезе апраксии на основании того, что отмечаемые при МРТ-исследованиях больных отдельные

повреждения ядер стриатума осложнены сопутствующими нарушениями указанных зон коры, внутренней капсулы и белого вещества, содержащего многочисленные проводящие волокна головного мозга (Pramstaller, Marsden, 1996; Sperber, 2020; Rosenzopf et al., 2022).

Вместе с тем известно, что стриатум (рис. 1) состоит из ряда параллельных функционально сегрегированных петель, которые связывают различные области коры, базальные ганглии, ядра таламуса и мезолимбические

структуры среднего мозга и возвратно фокусируются на различных участках сенсомоторной и префронтальной коры (Alexander et al., 1986, 1990; Gray, 1994; Joel, Weiner, 2000; DeLong, Wichman, 2007).

Имея сенсорный вход, опосредованный импульсацией, поступающей из таламуса, прямые и опосредованные эфферентные выходы на отделы, участвующие в регуляции двигательных, лимбических и локомоторных функций организма, данная система может играть ведущую

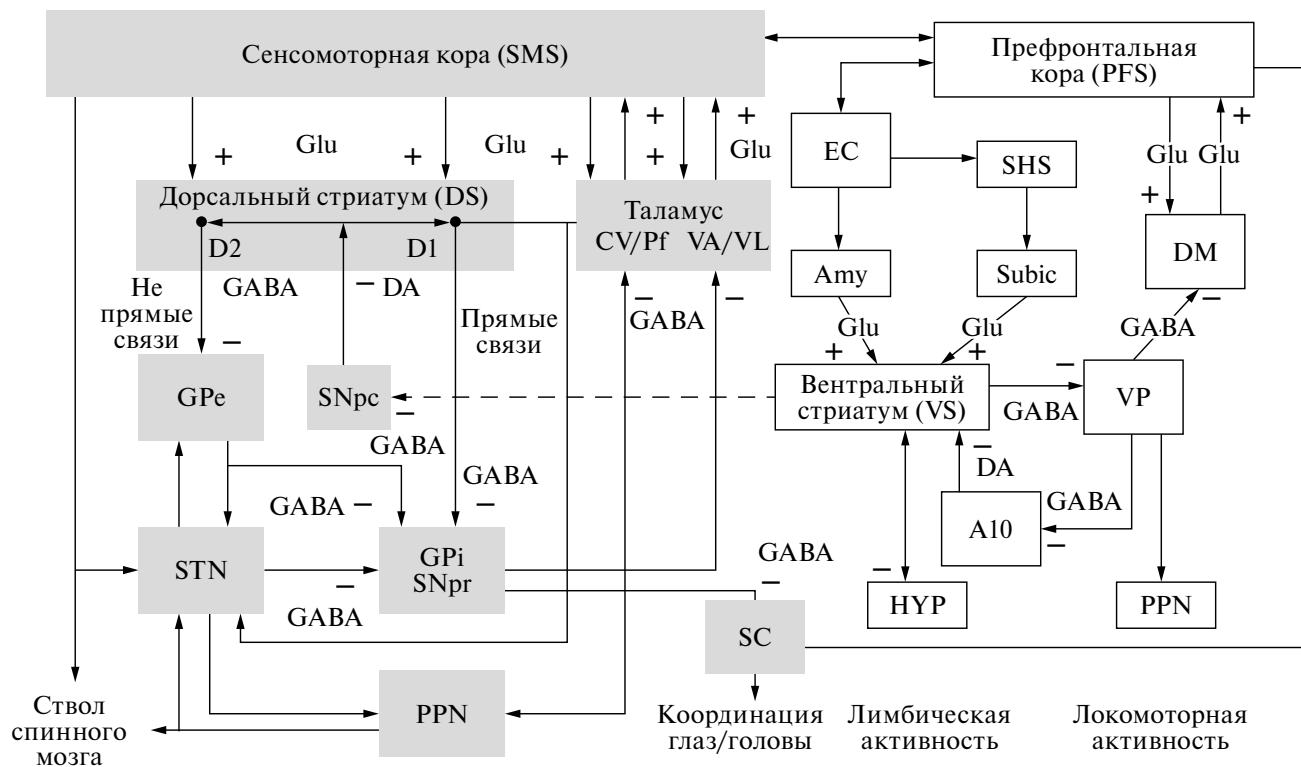


Рис. 1. Связи дорсального и вентрального стриатума с двигательными, сенсомоторными и лимбическими структурами мозга (по: Gray, 1994, с модификациями).

Нейрональные структуры дорсального (“моторного”) отдела стриатума для отличия от структур вентрально-го (“лимбического”) стриатума на схеме выделены тоном. Пунктирной линией отмечены кратчайшие нейрональные проекции между вентральным и дорсальным отделами стриатума. SMC (sensorimotor cortex) — сенсомоторная кора; DS (dorsal striatum) — дорсальный стриатум (каудатопутамен); GPe (outer segment of the globus pallidus) — внешний сегмент бледного шара; GPi (inner segment of the globus pallidus) — внутренний сегмент бледного шара; VA/VL (ventral anterior and ventral lateral nuclei of the thalamus) — вентральное переднее и вентральное латеральное ядра таламуса; CM/Pf (centromedian-parafascicular) — комплекс из интрапалиминарных ядер таламуса; STN (subthalamicus) — субталамус; SNpc (compact part of substantia nigra) — компактная область черной субстанции; SNpr (reticular part of substantia nigra) — ретикулярная область черной субстанции; PPN (pedunculopontine nucleus) — ножково-мостовое ядро; PFC (prefrontal cortex) — префронтальная кора; VS (ventral striatum) — вентральный стриатум (прилежащее ядро); EC (entorhinal cortex) — энторинальная кора; SHS (septohippocampal system) — септо-гиппокампальная система; Subic (subiculum region of the hippocampus) — субикулярная область гиппокампа; Amy (amygdala) — амигдала; DM (dorsomedial nucleus of the thalamus) — дорсомедиальное ядро таламуса; VP (ventral pallidum) — вентральный паллидум; A10 (A10 of the ventral tegmental area) — отдел A10 вентральной тегментальной области (VTA); SC (superior colliculi of the corpora quadrigemina) — верхние бугорки четверохолмия; HYP (hypothalamus) — гипоталамус; DA (dopamine) — дофамин; GABA (γ -aminobutyric acid) — гамма-аминомасляная кислота; Glu (glutamate) — глутамат.

роль в интеграции различных структур мозга и всего организма при выполнении мотивированного двигательного поведения (Альбертин, 2021; Groenewegen, 2003). Четкое определение роли отдельных образований мозга в патогенезе различных видов апраксии не представляется возможным (Sperber, 2020, 2022) при использовании неоднозначных результатов МРТ-исследований и нейропсихологического тестирования пациентов, имеющих комбинированные нарушения мозга, а также сопутствующие коморбидные заболевания и возрастные изменения, влияние которых трудно отдифференцировать в клинических исследованиях.

МЕТОДЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ

В этой статье мы представляем краткий обзор исследований с описанием результатов наших экспериментов по изучению влияния селективного повреждения ядер стриатума на формирование и реализацию различных видов праксиса (координированных двигательных навыков разной степени сложности), которые проведены в лабораторных опытах на животных, не имеющих сопутствующих заболеваний и выраженных индивидуальных различий, которые могли бы повлиять на результаты проведенных исследований.

Результаты данного исследования в тезисной форме опубликованы ранее (Альбертин, Головачева, 2024).

Моделирование кинетической апраксии

Исследования, проведенные ранее на каудатэктомированных животных, показывают отсутствие дискинезий при выполнении произвольных движений передней конечностью (Villalba et al., 1976; Denny-Brown, Yanagisawa, 1976; Suvorov et al., 1988), при осуществлении пищедобывательных движений (Суворов, 1980; Divac et al., 1978), при выжиме педали передней конечностью (Bénita et al., 1979), при извлечении пищевых шариков из узких трубок-тубусов (Буреш и др., 1991), а также при прослеживании передней лапой движущейся педали или светового пятна (Fabre, Buser, 1980). Вместе с тем ряд исследований показал, что падение уровня стриатного дофамина сопровождается контрактурой мышц-антагонистов, ведущей к ригидности передних конечностей у животных и человека (Andrew, 1973; Schultz, 1982; Hayashi et al., 1988; Miklyaeva et al., 1994). Это дало основание предположить, что неостриатум, занимая стратегическую позицию в составе стрио-таламо-кортикальной системы, может играть важную роль в регуляции нормального баланса между

антагонистическими группами мышц при осуществлении произвольных движений различной сложности (Hassler, 1978; DeLong, Wichmann, 2007). Однако попытки получить у животных с повреждением неостриатума дискинезию двигательного ответа в виде интенционного тремора долгое время не удавались.

В целях выявления возможной скрытой патологии двигательных нарушений, лежащих в основе дискинезий, в наших экспериментах, проведенных на котах, мы использовали метод создания проблемной ситуации путем интерференции альтернативных (имплицитной и эксплицитной) форм обучения, наблюдавшихся у испытуемых при переходе от серийного выполнения хорошо упроченных двигательных ответов к их осуществлению на предъявление тестируемых сигналов в случайном порядке (Суворов и др., 1983; Альбертин, 2011, 2015, 2023; Suvorov et al., 1988; Albertin, 1990).

Подопытным животным (коты-самцы весом 3,0–3,5 кг) предлагалось в каждой пробе принимать решение о выполнении инструментального двигательного ответа или об отказе от выполнения этого ответа в зависимости от порядка предъявления положительного или тормозного условных раздражителей. В отличие от правильного (стереотипного) чередования тестируемых раздражителей при предъявлении положительного или тормозного условных раздражителей в случайном порядке для предотвращения ошибочных реакций резко возрастает роль избирательного внимания, его постоянного сосредоточения, необходимого для срочной идентификации предъявляемого раздражителя, что требует мобилизации резервных возможностей ЦНС и сопровождается повышенным эмоциональным напряжением животного. Введение процедуры альтернативного реагирования на дискриминируемые раздражители при сохранении простой локомоторной реакции выжима педали, выполнение которой основано на последовательной смене активности двух мышц-антагонистов передней конечности (флексора *m. biceps brachii* и экстензора *m. triceps brachii*), в условиях зрительного контроля за осуществлением ответа, по нашему предположению, могло быть достаточным условием для выявления двигательных расстройств (в частности, интенционного тремора) у животных с повреждением стриатума. Инструментальная реакция заключалась в нажатии по сигналу передней лапой на педаль и в последующем удержании ее в течение 2–3 с до прекращения действия зрительного раздражителя и подачи пищевого подкрепления. Условным положительным сигналом служило

появление на экране осциллографа зрительного раздражителя — одного сфокусированного пятна. Дифференцировочным (тормозным) раздражителем служило появление на экране двух сфокусированных пятен (рис. 2).

Сверху вниз: механограмма инструментального движения, ЭМГ *m. biceps brachii*, *m. triceps brachii*, отметка условного сигнала. Калибровка — 1 с. Столбики на диаграмме — число правильных ответов (заштриховано — число ответов с tremorом рабочей конечности), %.

До и после одностороннего повреждения головки хвостатого ядра (ГХЯ) исследовали уровень правильных ответов на экспозицию положительных (+) и дифференцировочных (−) сигналов при их предъявлении в эксперименте с правильным чередованием (+ − + − ...) —

динамическая стереотипия, или рандомизировано, в случайном порядке (− + − + + − − + − + ...) по таблице Геллермана (Gellerman, 1933). При проведении экспериментов регистрировали механограмму инструментальной реакции (ИР), ЭМГ (электромиограмму) *m. biceps brachii* и *m. triceps brachii* рабочей лапы, латентный период ИР, число правильных ответов, число межсигнальных реакций. Дорзальный сегмент хвостатого ядра *nucleus caudatus*, контроллерального по отношению к рабочей конечности животного, повреждали электролитически по координатам атласа Джаспера и Аймон-Марсана (Jasper, Ajmon-Marsan, 1954).

Результаты опытов показали, что у интактных животных в зависимости от порядка чередования условно-рефлекторных сигналов

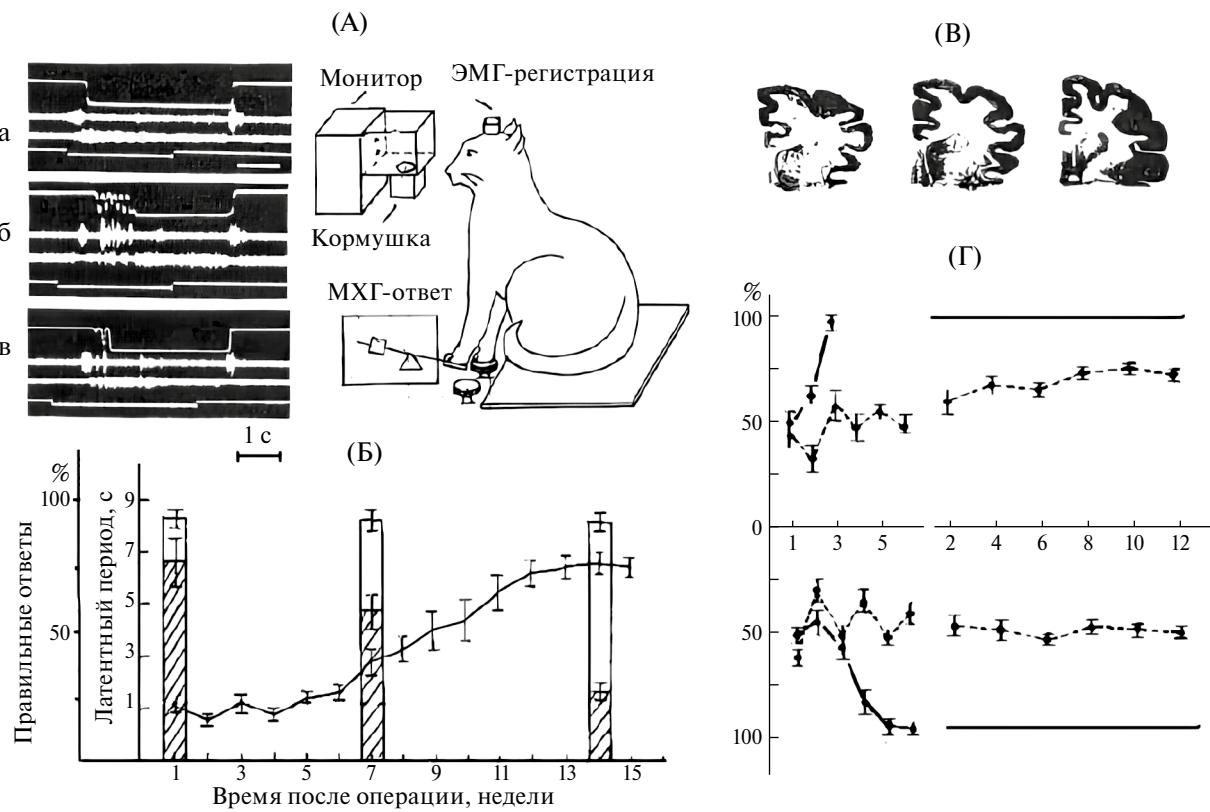


Рис. 2. (А) Влияние каудатэктомии на реализацию инструментальных пищевых рефлексов: а — правильное чередование положительных и тормозных раздражителей; б — предъявление раздражителей в случайном порядке; в — же через 2–3 месяца после каудатэктомии. (Б) Изменение латентного периода инструментальных реакций при предъявлении положительных и тормозных раздражителей в случайном порядке в различные послеоперационные сроки. По оси абсцисс — срок после операции, недели. По оси ординат — величина латентного периода, с. (В) Локализация повреждения дорсального отдела стриатума. (Г) Выработка двигательного рефлекса у каудатэктомированных животных при стереотипном (вверху) и рандомизированном (внизу) чередовании сигналов (по: Альбертин, 2011, 2015). По оси абсцисс — время выработки (дни, недели). По оси ординат — % правильных ответов. Сплошные горизонтальные линии — средний уровень правильных ответов у контрольных животных. Пунктирные — после предварительной каудатэктомии.

существенно менялась реакция на предъявление зрительного раздражителя, величина латентного периода ответа и характер выполняемого движения. При предъявлении дискриминируемых сигналов в случайном (непредсказуемом) порядке экспозиция зрительного раздражителя вызывала у подопытных животных появление двигательной реакции в виде вертикального нистагма головы, необходимого для безошибочного различения подаваемых дифференцировочных сигналов, латентный период двигательного ответа увеличивался до 950 ± 150 мс. Экстренная отмена положительного раздражителя в начальной фазе выполнения ответа, как правило, прекращала его осуществление (лапа снималась с педали и возвращалась на место).

При правильном (динамический стереотип) чередовании положительных и тормозных раздражителей предъявление зрительного сигнала не вызывало у котов вертикального нистагма головы, латентный период двигательного ответа снижался до 150 ± 25 мс, а выполняемая реакция имела характер быстрого, баллистического движения. Экстренная отмена положительного раздражителя в начальной фазе выполнения ответа не прерывала его осуществления (выжим и удержание педали выполнялись в полном объеме).

Повреждение дорзального отдела ГХЯ не нарушало реализации ИР при предъявлении положительного раздражителя, а также при правильном чередовании положительного и тормозного сигналов (процент правильных решений составлял 95–98%). Также не изменялись, по сравнению с интактными животными, все регистрируемые параметры инструментального ответа (рис. 2А, а).

При чередовании положительных и тормозных раздражителей в случайном порядке процент правильных решений инструментальной задачи после каудатэктомии в целом не менялся, однако были отмечены нарушения, касающиеся реализации программы выученного движения. Они заключались в появлении периодических (4–7/с) тремороподобных физических движений передней рабочей лапы в начальном периоде осуществления двигательного ответа и увеличении (в 4–5 раз) времени реализации ИР (рис. 2А, б). В поздние (2–3 месяца) послеоперационные сроки степень выраженности двигательного расстройства, а также частота его появления снижалась (до 25–30% от числа проб в опыте) на фоне постепенного увеличения латентного периода ИР (рис. 2Б). Попытки выполнения задачи с меньшим латентным периодом вновь вызывали появление некоординированных движений рабочей лапы (рис. 2А, б, в). Важно

подчеркнуть, что у этих животных при переходе к правильному чередованию сигналов такие двигательные нарушения не наблюдались.

После упрочнения динамического стереотипа как у оперированных, так и у интактных животных наблюдалось укорочение латентного периода ИР (до 150 ± 25 мс), а сама двигательная реакция имела характер быстрого устойчивого движения. После стабилизации условно-рефлекторного ответа в условиях случайного предъявления положительных и тормозных сигналов у интактных и каудатэктомированных животных наблюдалось достоверное увеличение латентных периодов двигательных реакций (до 0.8–1.1 с). Для стабилизации условно-рефлекторной деятельности при переходе от динамического стереотипа к случайному порядку предъявления раздражителей и обратно каудатэктомированным животным потребовалось значительно большее число проб (в 3–5 раз), чем интактным животным.

Во второй серии опытов изучалось влияние предварительного повреждения ГХЯ на формирование пищедобывательного поведения в условиях стереотипного и случайного порядка чередования положительных и дифференцировочных (тормозных) сигналов, связанных с альтернативным решением задачи. Учитывая трудности выработки дифференцировочного торможения у животных с предварительно поврежденным отделом дорсального стриатума, операцию проводили уже после выработки и упрочнения дифференцировки. Как было нами ранее показано, после разрушения контролateralной ГХЯ у животных наблюдалось быстрое восстановление дифференцировки (через 5–8 дней опыта). Однако в дальнейшем все попытки выработать у этих животных безошибочное реагирование на стереотипное предъявление положительного и тормозного сигналов к успеху не привели. Только после 2–3 месяцев обучения удалось выработать динамический стереотип с 65–70% правильных ответов (рис. 2Г). При случайном предъявлении положительных и тормозных сигналов каудатэктомированные животные отвечали на все предъявления по типу положительного инструментального ответа, либо совсем отказывались от работы. При этом, как правило, прежде всего страдала предварительно выработанная дифференцировка.

Моделирование кинестетической (мануальной) апраксии

При моделировании патологии кортикоспинальных проводящих путей предметом изучения является механизм компенсации неповрежден-

ными отделами ЦНС, в частности базальными ганглиями, выявленных двигательных и поведенческих расстройств, а выявление оптимальных условий для восстановления утраченных функций имеет большое практическое значение для реабилитации пациентов с травматическими повреждениями спинного мозга и его проводящих путей.

В этой связи большой интерес представляют исследования, направленные на изучение влияния предварительного дооперационного обучения интактных и децеребрированных животных на выполнение координированного поведения, требующего перестройки позы и инициации двигательного ответа.

Ранее в опытах на крысах (Васильева и др., 1995; Miklyaeva et al., 1993), кошках (Alstermark et al., 1987; Martin, Ghez, 1988) и обезьянах (Werner, 1993) показано, что повреждение сенсомоторной коры, или выходных кортикоспинальных проекций вызывает значительные, но сравнительно быстро проходящие нарушения выработанной инструментальной пищедобывательной реакции, оцениваемой по способности животных к доставанию передней лапой кусочков пищи из узкой трубки (тубуса). По мнению ряда исследователей (Костюк, 1973; Козловская, 1976; Иоффе, 1991; Фанарджян и др., 2001; Martin, Ghez, 1988), успешная компенсация двигательных нарушений после повреждения кортикоспинальных проекций возможна за счет активации параллельного им руброспинального пути, оканчивающегося на тех же интернейронах спинного мозга.

Опыты (Alstermark et al., 1981), проведенные на кошках, показали, что при комбинированном повреждении кортико- и руброспинальных эффеरентных проекций подопытные животные теряли способность к осуществлению нормального пищедобывательного движения на весь срок послеоперационного наблюдения животных (7–10 мес.). Такие тяжелые нарушения после повреждения кортико- и руброспинального путей могли быть обусловлены: либо органической неспособностью оперированных животных к восстановлению выработанного манипуляторного навыка оставшимися интактными стриатумом и текто-, ретикуло(нигро)-спинальными эффеरентными путями; либо отсутствием в эксперименте благоприятных условий для более активного включения этих выходных путей, контролируемых в основном базальными ганглиями, в процесс дооперационного обучения, который, на наш взгляд, может оказывать определяющее влияние на последующую постоперативную компен-

сацию двигательных нарушений. В частности, таким неблагоприятным условием может быть короткий период предварительного дооперационного обучения животных, который в исследованиях (Alstermark et al., 1981) не превышал пяти дней опытов, что, по нашему мнению, является недостаточным для включения базальных ганглиев и их выходных путей в процесс формирования выполняемого сложно координированного двигательного навыка.

В целях решения этого вопроса мы исследовали динамику восстановления инструментальной пищедобывательной реакции у кошек с повреждением кортико- и руброспинальных эффеरентных путей при увеличении продолжительности дооперационного обучения животных до упрочнения координированного пищедобывательного навыка, выполняемого рабочей конечностью животного (Альбертин, 2002, 2014, 2023; Albertin, 2014).

Опыты проводили на кошках, у которых отсутствовало выраженное предпочтение в использовании какой-либо из передних лап при осуществлении манипуляторных движений. Успешность выработки инструментальной пищедобывательной реакции (рис. 3) оценивалась по способности животного к доставанию передней рабочей (левой) лапой кусочков пищи из узкого ($D = 30$ мм) тубуса, выполненного из прозрачного оргстекла и размещенного горизонтально на передней стенке экспериментальной камеры (тест с горизонтальным тубусом — ГТ-тест) или вертикально на полу камеры (тест с вертикальным тубусом — ВТ-тест).

Исходная позиция животного для осуществления данной инструментальной реакции — стоя, с фиксированной опорой на задние и передние конечности, при этом передние лапы находились на высоких стойках-платформах ограниченной площади ($D = 40$ мм), а задние — на платформах-площадках, расположенных на передвижной полке, которая закреплялась экспериментатором в требуемом положении в зависимости от размера животного и используемого теста. Платформы оснащались миниатюрными тензодатчиками, предназначенными для измерения изменений опорной нагрузки под конечностями животного при перестройке позы, связанной с инициацией физического инструментального движения (разгрузка и подъем передней рабочей лапы). Необходимость поддержания животным указанной позы определяла специфичный рисунок координированного двигательного ответа и более высокую стабильность вырабатываемой инструментальной пищедобывательной реакции, по сравнению с ранее проводимыми иссле-

дованиями, которые не требовали у животных выработки и поддержания определенной позы при реализации манипуляторных пищедобываательных реакций (Буреш и др., 1991; Alstermark et al., 1981). Пусковым условным сигналом для осуществления двигательного ответа служило появление пищевого подкрепления в тубусе.

Для предотвращения использования нерабочей (правой) лапы при выполнении двигательного ответа на эту лапу надевали эластичный носок, ограничивающий движения пальцев кисти животного. Нижний отсек экспериментальной камеры животного был перекрыт металлической решеткой, что исключало подбор животным

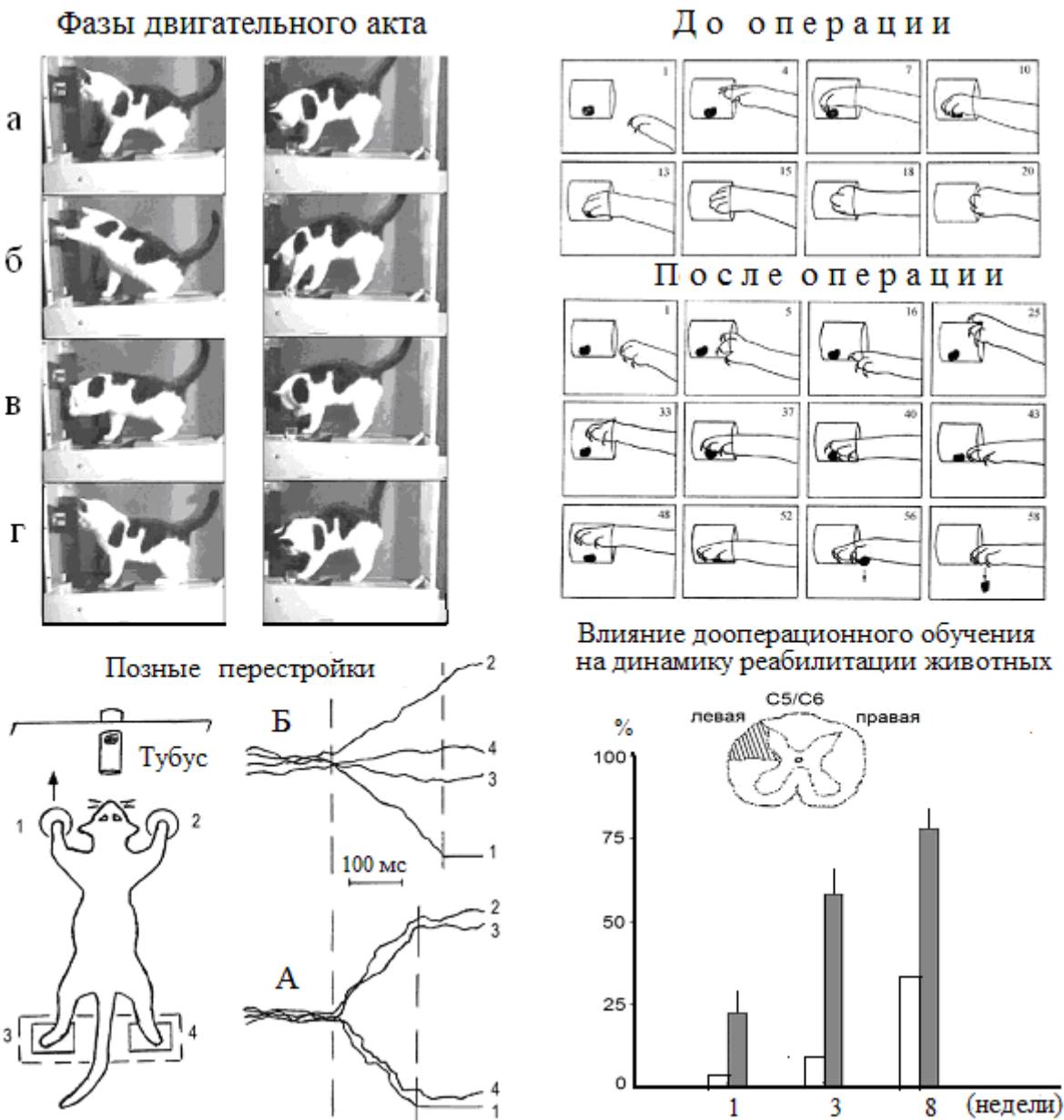


Рис. 3. Влияние увеличения времени дооперационного обучения на выполнение сложнокоординированной двигательной реакции извлечения пищи из тубуса у ламинэктомированных (C5/C6) животных (Альбертин, 2014, 2023; Albertin, 2014).

На диаграмме: белые столбики — 1 неделя дооперационного обучения, темные столбики — 8 недель дооперационного обучения. Слева внизу на рисунке показаны тензограммы опорной нагрузки (1, 2, 3, 4) при диагональной (А) и немедиацональной (Б) формах перестройки позы животного. Остальные обозначения приведены на рисунке.

упавшей пищи при неудачных попытках ее извлечения из тубуса.

Поведение животных в ходе опыта регистрировалось на видеоленту с помощью видеомагнитофона (формат S-VHS), записи опытов также сохранялись в виде avi-файлов для последующего покадрового анализа выполняемого инструментального ответа. Дооперационное обучение в основной группе животных (5 кошек) проводили в течение 8 недель. В контрольной группе животных (3 кошки) дооперационное обучение осуществляли в течение одной недели. В каждом опыте давали последовательно 60 проб (30 проб — ГТ-тест, 30 проб — ВТ-тест). Унилатеральное повреждение кортико- и руброспинальных эфферентных путей проводили под наркозом, по методу Альстермарка (Alstermark et al., 1981), с помощью микроножа, которым разрушали латеральную систему моторных эфферентных путей на уровне шейного (C5C6) отдела спинного мозга. В опыт животных брали через неделю после операции.

Послеоперационное тестирование всех подопытных животных проводили ежедневно в течение 8 недель. Анализировали число правильных ответов, время осуществления пищедобывательной реакции, а также фиксировали характер и выраженность двигательных нарушений после повреждения кортико- и руброспинального эфферентных путей.

Результаты опытов показали, что у интактных подопытных животных условно-рефлекторная поза и инструментальная пищедобывательная реакция на предъявление натурального пищевого раздражителя формировались на 7–10 день дооперационного обучения.

Координационный рисунок инструментального ответа состоял из серии последовательно сменяемых физических движений передней рабочей лапой, осуществляемых животным преимущественно под зрительным контролем: подъем рабочей лапы, ввод ее в тубус и накрывание пищи кистью, захват пищи с помощью флексии пальцев, извлечение пищи из тубуса и поднесение ее ко рту посредством синергичной супинации и флексии передней рабочей конечности, поедание пищи и принятие исходной позы (постановка лап на платформы), которая являлась необходимым условием для предъявления животному пищевого раздражителя, инициирующего выполнение следующей инструментальной пищедобывательной реакции (рис. 3а, г).

Выполнение пищедобывательной реакции в ВТ-тесте несколько отличалось от ответа, осуществляемого животными в ГТ-тесте, так как после захвата пищи пальцами требовала

дополнительной флексии кисти в плантарном направлении для более надежного удержания пищи при ее извлечении из вертикально расположенного тубуса. Количество нормально завершенных пищедобывательных реакций, совершенных рабочей лапой без потери (падение добываемой пищи), на 7–10 день обучения составляло у подопытных животных 70–85%, время осуществления инструментальной пищедобывательной реакции варьировало от 960 до 1680 мс (рис. 3).

При выполнении как ГТ-, так и ВТ-тестов инициация инструментального физического ответа на предъявление пищевого раздражителя сопровождалась характерной перестройкой позы — переносом тяжести тела, которая в исходной позиции равномерно распределялась на все конечности, на нерабочую переднюю лапу и противоположную ей заднюю конечность (рис. 3).

У второй основной группы животных (5 кошек) ежедневная дооперационная тренировка была продолжена на срок до 8 недель. При дальнейшем обучении координационный рисунок двигательного ответа становился более четким, при этом число завершенных пищедобывательных реакций у животных возрастало до уровня 90–100%, движение становилось более стабильным, а время выполнения упроченной пищедобывательной реакции после 5–7 недель обучения сокращалось до 880 ± 120 мс (ВТ-тест) и 920 ± 80 мс (ГТ-тест).

Перестройка позы при инициации ответа у животных этой группы претерпевала значительные изменения и характеризовалась перераспределением опорной нагрузки преимущественно между передними лапами (разгрузка передней рабочей конечности с переносом тяжести тела на нерабочую переднюю лапу), т.е. выполнялась без существенного изменения опорных нагрузок на задние конечности (рис. 3). Переход к указанному паттерну позной перестройки у подопытных животных наблюдался при прохождении как ГТ-, так и ВТ-тестов. Отдельные попытки использования нерабочей (правой) конечности для совершения вырабатываемой реакции у подопытных животных исчезали после 2–3 недель дооперационного обучения.

Тестирование выработанного в результате дооперационного обучения инструментального ответа у оперированных животных проводилось через 7–10 дней после операции, после нормализации локомоции и восстановления способности подопытных кошек к выполнению координированных движений передними лапами. Показано, что у животных основной группы

с хорошо упроченным двигательным навыком (8 недель дооперационного обучения) повреждение кортико- и руброспинальных эфферентных путей не нарушало смысловую программу выученного инструментального ответа, однако сопровождалось двигательными нарушениями, отмечаемыми после операции почти на всех фазах реализации упроченной пищедобывательной реакции. В наибольшей мере нарушался процесс захвата (grasping) пищи пальцами кисти в тубусе, адекватные реакции супинации и флексии рабочей конечности заменялись ригидными движениями выгребания (raking) пищи из тубуса. В результате этого возрастало количество проб с незавершенными ответами, вызванных падением и, как следствие, потерей извлекаемой из тубуса пищи (рис. 3).

Характерным для оперированных животных являлось стереотипное повторение основных фрагментов двигательной реакции, связанных с захватом и извлечением пищи из тубуса, что приводило к значительному (2–10-кратному) увеличению времени выполнения инструментальной пищедобывательной реакции. Указанные нарушения отмечались в большинстве тестируемых инструментальных ответов в первую неделю послеоперационного тестирования, в конце третьей недели тестирования они наблюдались в 30–50% ответов и через 6–8 недель составляли лишь 20–30% от числа проб в опыте.

Важно отметить, что полноценные (свободные от вышеописанных нарушений) пищедобывательные реакции у оперированных животных основной группы (8 недель обучения) наблюдались в отдельных (3–7 ответов) пробах уже в первые дни послеоперационного тестирования. При этом необходимым условием правильной реализации пищедобывательной реакции в этих пробах являлся успешный захват пальцами кисти пищи в тубусе. Как правило, в данных пробах не наблюдалось ригидных движений выгребания пищи из тубуса, неадекватных попыток подхватывания пищи ртом или падения пищи. Время осуществления пищедобывательной реакции в этих пробах также не отличалось от нормы.

Следует указать, что в первую неделю послеоперационного тестирования у подопытных животных с 8-недельным сроком дооперационного обучения могли наблюдаться нарушения и ранних фаз выработанной инструментальной пищедобывательной реакции, заключавшиеся в незначительном расстройстве (увеличении длительности) позной перестройки при инициации фазического инструментального ответа, в непопадании с первой попытки рабочей

лапой в тубус с пищей, а также в появлении отдельных попыток использования нерабочей (здоровой) лапы при инициации инструментальной пищедобывательной реакции. К концу первой недели послеоперационного обучения эти нарушения у подопытных животных, как правило, пропадали. У подопытных кошек с 8-недельным дооперационным сроком обучения после первой недели послеоперационного обучения практически не наблюдалось попыток использования нерабочей конечности даже после снятия иммобилизирующего носка с лапы животного.

По сравнению с нарушениями, выявленными у оперированных кошек с длительным (8 недель) сроком дооперационного обучения, в контрольной группе животных со слабо упроченной инструментальной двигательной реакцией (1 неделя обучения) после операции ламинэктомии тяжесть вышеописанных нарушений инструментальной пищедобывательной реакции и время, необходимое для их компенсации, резко возрастали.

Указанные нарушения были более выражены при использовании ВТ-теста. В отличие от животных с 8-недельным периодом дооперационного обучения у контрольных кошек полной компенсации двигательных нарушений при осуществлении животными ранних фаз выработанного (но не упроченного) инструментального пищедобывательного ответа достичь не удалось. Пробы с расстройствами позной перестройки, неточные попадания рабочей лапой в тубус с пищей, а также попытки использования нерабочей (здоровой) лапы при инициации инструментальной пищедобывательной реакции отмечались у этих животных на всем протяжении (8 недель) послеоперационного тестирования.

Необходимо подчеркнуть, что у контрольных животных первые завершенные (не связанные с потерей пищи) пищедобывательные реакции появлялись лишь на 4–5 неделю послеоперационного тестирования и после 8 недель послеоперационного обучения достигали уровня 20–30% от числа проб в опыте (рис. 3). При этом нормальные пищедобывательные реакции у контрольных кошек, как правило, заменялись ригидными движениями выгребания пищи из тубуса и последующим захватом пищи ртом (языком, зубами) у края тубуса. В отличие от кошек с 8-недельным дооперационным обучением у контрольных животных полноценные флексорные реакции захвата пищи пальцами отсутствовали на протяжении всего периода послеоперационного тестирования.

Моделирование постуральной апраксии

В экспериментах, проведенных на кошках, исследовали влияние дисфункции ДА-ergicической системы стриатума на процесс перестройки позы, связанной с выполнением сенсомоторного навыка слежения за движением тестируемых зрительных сигналов при осуществлении отсроченного двигательного ответа (Альбертин, 2017б, 2021, 2023).

Подопытных животных предварительно обучали выполнению двигательного рефлекса нажатия и удержания передней лапой рычага при предъявлении на экране монитора (осциллоскопа) двух пространственно разделенных зрительных изображений и осуществлению пищедобывательной реакции при появлении через определенное время нового изображения — целевого сигнала (рис. 4А, Б, В).

Пульт управления экспериментатора был снабжен средствами включения и регулятором движения сенсорных раздражителей на экране осциллоскопа (монитора), который позволял экспериментатору осуществлять подачу зрительных раздражителей, а также выбирать направление и скорость сведения зрительных раздражителей в целевой сигнал, при этом подключение компьютера позволяло автоматически изменять размер и исходное местоположение предъявляемых на экране зрительных сигналов.

После подачи на экран монитора простых однородных (например, два сфокусированных пятна диаметром 3–5 мм) исходных раздражителей экспериментатор обеспечивает их сближение путем управления скоростью движения одного из двух исходных зрительных раздражителей в вертикальном направлении. При этом движение производят с выбранной постоянной скоростью до совмещения двух исходных раздражителей с образованием одного нового изображения — целевого пускового стимула, за которым следует подкрепление. Устройство для тестирования животного позволяет исследовать сенсомоторные реакции при малых скоростях движения исходных сигналов, так как условно-рефлекторные зрительные изображения предъявляются на экране монитора на близком (20–30 см) расстоянии от глаз, позволяя животному уверенно различать их движение со скоростью 1.0 мм/с и выше. При этом животное во время выполнения зрительного слежения сохраняет постоянную позу (сидя, с опорой передними лапами на одну из платформ и выжатый манипуляционный рычаг), что исключает беспорядочную двигательную активность и отказы животного от работы в эксперименте.

При оценке успешности выполнения поведенческих задач учитывали сложность теста, общее количество применяемых проб, число проб с правильными ответами, время выполнения задачи сведения раздражителей в целевой сигнал. При этом анализировали электромиограммы мышц-антагонистов рабочей лапы, осуществляющей целенаправленный двигательный ответ, шейных мышц, фиксирующих фазические движения головы, электроокулограмму, механограмму и тензограмму тонического и фазического компонентов двигательных реакций, которые показывают динамику и характер условно-рефлекторного поведения, а также силу нервной системы и подвижность нервных процессов животного при выполнении тестируемой задачи.

На рис. 4 представлены электрограммы сенсомоторных реакций при зрительном слежении, зарегистрированные у подопытных животных при внутристриатной инъекции физиологического раствора (контроль) и тестируемого нейромедиатора дофамина (Альбертин, 2017б).

Показано, что внутристриатная инъекция дофамина приводила к снижению способности животных к удержанию рабочей лапой выжатого рычага во время экспозиции тестируемых зрительных сигналов (рис. 4Б, В). После инъекции дофамина максимальное время удержания рычага у подопытных животных составляло 3–4 с, по сравнению с 8–12 с у контрольных животных. В 35–50% условно-рефлекторных ответов способность к удержанию рычага у этих животных в целом сохранялась, но во время изолированного действия зрительных сигналов отмечалось резкое нарушение перестройки тонической активности экстензора рабочей конечности — *m. triceps brachii*, связанной с подготовкой к осуществлению предстоящей пищедобывательной реакции (рис. 4В). При этом у всех животных после внутристриатной инъекции дофамина наблюдалось преждевременное появление или отсутствие (рис. 4Б, В) фазической двигательной реакции в виде вертикального нистагма головы и глаз, наблюдаемой у контрольных животных при критическом совмещении тестируемых зрительных изображений.

Исследования, проведенные с использованием разработанного нами способа тестирования инструментальных пищевых рефлексов, показали различное влияние стимуляции ДА-реактивной системы хвостатого ядра на инструментальные условные рефлексы при задержке безусловного подкрепления от начала действия условного раздражителя. Если в коротко отставленном инструментальном рефлексе получение

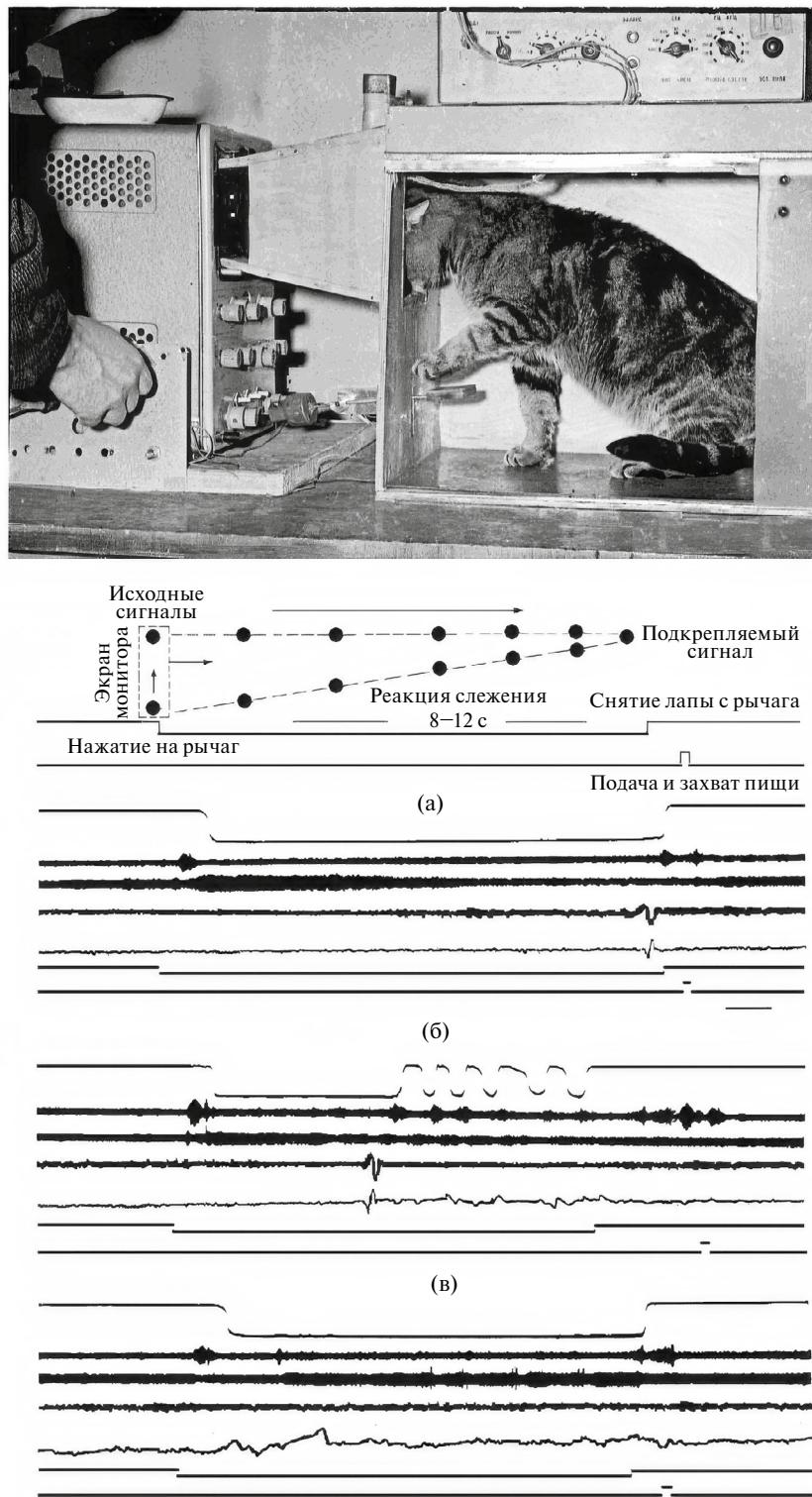


Рис. 4. Динамика сенсомоторной реакции зрительного слежения при реализации тонической двигательной реакции у животных при внутристриатной инъекции физиологического раствора — контроль (а) и нейромедиатора дофамина (б, в) (Альбертин, 2017б, 2021).

На электрограмме сверху вниз: механограмма (МХГ) движения рабочей лапы животного (выжим рычага манипулятора и его удержание в течение 8–12 с, необходимое для подачи пищи и ее захвата рабочей лапой); электромиограммы (ЭМГ) мышцы-сгибателя (*m. biceps brachii*) и мышцы-разгибателя (*m. triceps brachii*) рабочей лапы; ЭМГ шейных мышц; электроокулограмма (ЭОГ); отметка включения сенсорных сигналов. Калибровка времени — 1 с. Скорость движения на экране зрительных сигналов — 6°/с.

пищевого подкрепления осуществляется непосредственно после выжима педали (на первой–второй секунде действия условного раздражителя), то в тоническом инструментальном рефлексе выжим педали означал лишь принятие исходного положения, поддержание которого на период изолированного действия условного раздражителя составляло недеятельную фазу инструментального условного рефлекса. При способительное поведение животных в этом случае строилось на выработке запаздывающего торможения в период изолированного действия условного раздражителя.

Следует подчеркнуть, что смена в течение одного сочетания противоположных по своему поведенческому выражению функциональных состояний: условно-рефлекторного торможения (так называемая недеятельная тормозная фаза, связанная с удержанием педали рабочей лапой) и условно-рефлекторного возбуждения (деятельная фаза, связанная с осуществлением той же конечностью пищедобывающей реакции) — представляет сложную задачу в связи с высокой возбудимостью и подвижностью нервных процессов в двигательном анализаторе (Купалов и др., 1964; Селиванова, Голиков, 1975). Для ее успешного выполнения подопытным животным необходимо было в недеятельную фазу инструментального условного рефлекса не только ограничить излишнюю локомоторную активность, но и осуществить сложный процесс подготовки двигательных исполнительных механизмов к предстоящей пищедобывающей реакции. Показателем этого процесса в наших опытах являлось четкое снижение тонической активности мышц экстензора — *m. triceps brachii* рабочей конечности животного по мере изолированного действия зрительного условного раздражителя, т.е. наблюдалась перестройка позы животного — перераспределение активности мышцы-антагониста, направленной на более адекватное выполнение двигательной пищевой реакции, запуск которой приурочен к моменту подачи подкрепления.

Как показали наши исследования, стимуляция Да-реактивной системы хвостатого ядра не оказывала существенного влияния на реализацию и выработку инструментальных условных рефлексов на совпадающие раздражители. Вместе с тем инъекция дофамина критическим образом отразилась на осуществлении запаздывающих инструментальных условных рефлексов как при ожидании отмены условного сигнала, так и при зрительном слежении за движением фрагментов пускового сигнала. У подопытных животных после инъекции дофамина прак-

тически оказалось невозможным выработать тоническую фазу инструментального ответа при отставлении безусловного подкрепления более чем на 2–3 с. У кошек с предварительно упроченными запаздывающими инструментальными рефлексами при осуществлении условно-рефлекторной деятельности наблюдалась две формы расстройств недеятельной фазы инструментального условного рефлекса: 1) недеятельная фаза рефлекса заменялась быстрыми повторными выжимами педали рабочей конечностью (максимальное время удержания педали при этом составляло 2–3 с); 2) при замене недеятельной фазы инструментального рефлекса на деятельность наблюдалось появление значительной задержки (250–450 мс) в осуществлении последующей пищедобывающей реакции.

В обоих случаях у подопытных животных, по сравнению с контрольными, наблюдалась потеря способности приурочить пищедобывающую реакцию, осуществляющую рабочей конечностью, к моменту подачи целевого условного сигнала и предъявления безусловного подкрепления. Характер ЭМГ-нарушений, выявленных в недеятельную тоническую фазу инструментального рефлекса при стимуляции Да-реактивной системы хвостатого ядра, позволяет предположить, что в основе вышеуказанных расстройств лежат нарушения нормального перераспределения тонической активности мышц-антагонистов рабочей конечности. В этой связи возникает предположение, что указанные ЭМГ-нарушения обусловлены непосредственным вовлечением нигро-стриарной Да-ergicической системы в процессы, связанные с регуляцией мышечного тонуса при организации произвольных двигательных ответов. Однако эта гипотеза плохо согласуется с проведенными исследованиями (DeLong, Georgopoulos, 1979; Steinfels et al., 1983), в которых было показано отсутствие каких-либо изменений активности Да-ergicеских нейронов компактной зоны черной субстанции при осуществлении животными произвольных двигательных ответов. Следует подчеркнуть, что инъекция дофамина вызывает нарушение перестройки тонической активности мышцы-антагониста и сопутствующие двигательные расстройства лишь в недеятельную фазу инструментального рефлекса, причем, чем выше уровень исходной мотивации, тем эти нарушения значительнее.

Моделирование пространственной апраксии

В экспериментах, проведенных на крысах Long Evans, исследовали роль вентрального стриатума в патогенезе пространственной апраксии — выполнении подопытными животными пространственно-ориентированных

действий, связанных с изменением кинематики (направления и скорости) движения.

В отличие от ранее описанных видов пракси более сложные формы целенаправленного поведения, связанные с ориентацией животных в пространстве и с последовательной сменой тактики поведения, требуют координированной работы сенсорной, двигательной и гуморальной систем организма. В этих условиях оценка времени происходит в другом, супрасекундном масштабе времени, а поведенческий акт может быть разбит на несколько этапов поведения, последовательно приближающих животное к появлению целевого сигнала, связанного с предъявлением ожидаемого вознаграждения. При этом резко возрастает роль избирательного внимания и эпизодической памяти при выполнении последовательных этапов поведения.

В проведенных нами опытах (Альбертин, 2002, 2016а, 2016б, 2017а, 2019, 2021; Альбертин, Винер, 2014; Albertin et al., 2000; Tabuchi et al., 2003; Wiener et al., 2003; Albertin, Wiener, 2015) исследовали поисковое поведение крыс в четырехрукавном лабиринте с асимметричным подкреплением: в трех рукавах животные получали по 1 капле, а в одном рукаве — 5 капель подкрепления (Тест 1).

В отдельной серии экспериментов проводили обучение животных ориентации в лабиринте с дифференцированным (1, 3, 5, 7 капель) подкреплением, подаваемым в четырех рукавах радиального лабиринта — Тест 1а (рис. 5).

В начальный период обучения наличие подкрепления в рукаве лабиринта обеспечивалось подачей внутрилабиринтного сигнала (лампочки), включаемого в случайном порядке в одном из подкрепляемых рукавов лабиринта. После 5–6-разового посещения животным каждого рукава лабиринта проводили тестирование способности животных к поиску предпочтаемого подкрепления с использованием хорошо видимых навигационных зрительных ориентиров, размещенных вокруг лабиринта.

Свободный доступ к кормушкам во всех руках лабиринта обеспечивался подачей тестовой пробы (probe trials) — одновременным включением внутрилабиринтных сигналов во всех руках лабиринта. При этом животные последовательно выбирали рукава лабиринта с 7, 5, 3 и 1 каплями, сохраняя приоритет выбора наибольшего подкрепления, что свидетельствовало о возможности формирования у животного карт памяти о локализации всех предъявляемых подкреплений.

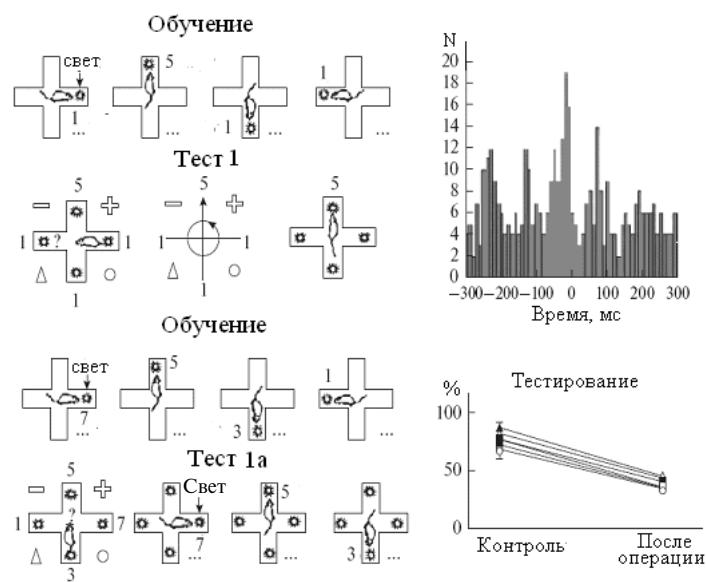


Рис. 5. Выбор подопытными животными предпочтаемого подкрепления в лабиринте с дифференцированным подкреплением при одновременном включении локальных зрительных сигналов во всех руках радиального лабиринта — Тесты 1 и 1а (Альбертин, 2021; Albertin et al., 2000; Tabuchi et al., 2003; Albertin, Wiener, 2015). Цифры на рисунке — количество капель подкрепления в руках лабиринта. Кружки со стрелками — направление обзора животного при определении локализации предпочтаемого подкрепления в лабиринте с помощью экстраполиринтных навигационных сигналов. Справа сверху — кросскоррелограмма синхронной нейронной активности в тета-диапазоне прилежащего ядра и гиппокампа, регистрируемой при выборе предпочтаемого (наибольшего) подкрепления. Справа внизу — уровень правильных ответов при выборе наибольшего подкрепления до и после повреждения вентрального стриатума (*n. accumbens*).

Животным в процессе решения задачи по поиску предпочтаемого (наибольшего) подкрепления необходимо было последовательно реагировать на различные условно-рефлекторные раздражители, сигнализирующие о приближении к моменту получения предпочтаемого подкрепления: на изолированное предъявление локальных внутрилабиринтных сигналов, затем их одновременное включение, которое требовало от животного сменить тактику поведения на поиск наибольшего подкрепления в лабиринте путем ориентации по экстラлабиринтным навигационным сигналам, определяющим местонахождение в лабиринте предпочтаемой пищи (рис. 5). Очевидно, что в этом случае подкрепляющие аттрактивные свойства предпочтаемого подкрепления, переносились на все вышеуказанные условно-рефлекторные сигналы, предшествующие подкреплению, мотивационное значение которых усиливалось по мере поэтапного приближения животного к предпочтаемому наибольшему подкреплению. В наших опытах инвариантный памятный след на целевой условно-рефлекторный сигнал (конфигурация экстラлабиринтных навигационных знаков, указывающих на точное местоположение пищевого подкрепления в лабиринте) у животных сохранялся при частичном изменении его конфигурации. Момент опознания целевого сигнала у крыс сопровождался разрядами активности нейронов гиппокампа и центрального стриатума (*n. accumbens*) в тета-диапазоне частот, что свидетельствовало о пространственной синхронизации этих структур, необходимой для выполнения заключительного этапа поведенческого акта — получения ожидаемого подкрепления. При этом у животных с дифференцированным подкреплением (Тест 1а), как и при выполнении задачи с асимметричным подкреплением (Тест 1), сохранялось наличие синхронной активности гиппокампа и прилежащего ядра при выборе каждого подкрепляемого рукава (рис. 5). После обучения выполнение животными указанной задачи сопровождалось последовательным изменением кинематики (направления и скорости движения к кормушкам) в зависимости от местонахождения и количества подкрепления.

Повреждение прилежащего ядра (*n. accumbens*) в тестируемых сериях опытов (Тесты 1, 1а) сопровождалось нарушением синхронизации указанных структур мозга и потерей способности животных к безошибочному реагированию на предъявление целевых условно-рефлекторных сигналов (поиску наибольшего подкрепления в лабиринте путем ориентации животных по экстラлабиринтным навигационным сигна-

лам, определяющим местонахождение в лабиринте предпочтаемой пищи), при сохранении способности к выполнению рефлекторных реакций по типу стимул—ответ на изолированное последовательное предъявление внутрилабиринтных условных сигналов (рис. 5). При этом у подопытных животных с повреждением прилежащего ядра (Тесты 1, 1а) наряду с нарушением выбора наибольшего подкрепления отмечалась потеря способности к увеличению скорости пробежки в лабиринте к кормушкам с большим подкреплением, по сравнению с другими кормушками. Сходные нарушения поискового поведения у крыс наблюдались в опытах при изменении активности ДА-реактивной системы стриатума (Альбертин, 2016а).

ОБСУЖДЕНИЕ

В модельных экспериментах, проведенных на лабораторных животных (кошки и крысы), выявлена важная роль стриатума в патогенезе различных видов апраксии при осуществлении координированных последовательно выполняемых двигательных навыков разной степени сложности: кинетической (расстройство динамики движения, нарушение перехода отдельных простых движений мышц-антагонистов передней конечности подопытного животного в единое слитное движение); постуральной (перестройка и поддержание позы (равновесия), необходимые для выполнения предстоящего движения животного при отсроченном подкреплении); кинестетической (нарушение точных координированных пищедобывательных движений передней конечности и пальцев животного); пространственной (выполнение испытуемыми животными пространственно-ориентированных двигательных реакций, связанных с изменением кинематики (времени, направления и скорости) движения в лабиринте).

Полученные результаты показали существенное влияние эффекта интерференции предшествующего и предстоящего двигательных ответов, образуемой взаимодействием имплицитного (стереотипного) и эксплицитного (условно-рефлекторного) обучения животных, на формирование и последующее осуществление изученных видов праксиса. Повреждение стриатума в наших опытах приводило к потере способности животного к вытормаживанию ранее выработанных ответов упроченного двигательного навыка при переходе от стереотипного предъявления дифференцируемых зрительных сигналов к их экспозиции в случайном порядке и, как следствие, к появлению тремора передней конечности, выполняющей движение (Суворов

и др., 1983; Альбертин, 2015). Следует отметить, что сходный метод создания проблемной ситуации путем интерференции альтернативных форм обучения был использован для выявления двигательных нарушений — хореи и гемибаллизма — у пациентов с патологией базальных ганглиев (Mink, 1996, 2003), а также применяется в клинике при тестировании и диагностике больных паркинсонизмом (Pohl et al., 2001; Ghilardi et al., 2009; Gamble et al., 2014; Caljow et al., 2016).

Результаты следующей серии опытов показали, что влияние предварительного (имплицитного) обучения животных выполнению пищедобывательного двигательного навыка, проведенного в дооперационный период, отчетливо проявилось в ускорении процесса реабилитации при выполнении координированной пищедобывательной реакции у кошек с перерезкой кортико- и руброспинального проводящих путей. При этом важно подчеркнуть, что процесс реабилитации пищедобывательного навыка у животных проходил на фоне нормализации перестройки позы, необходимой для инициации и последующего выполнения координированного двигательного навыка, что требовало активного влияния оставшихся интактными стриатума и выходных текто-, ретикуло(нигро)-путей. Наше предположение подтверждается недавно проведенным электрофизиологическим исследованием (Zastron et al., 2019), которое показало влияние восьминедельной сенсомоторной тренировки на усиление активности ядер стриатума и связанных с ними структур мозга (*globus pallidum*, *subthalamus*, *substantia nigra*), участвующих в регуляции постурального контроля при осуществлении двигательных ответов у пациентов, перенесших инсульт.

В другой серии опытов, связанных с выполнением инструментального двигательного ответа при отсрочке подкрепления, процесс перестройки позы у животных происходил параллельно с осуществлением сенсомоторного навыка слежения за движением тестируемых зрительных сигналов. Следует отметить, что тестируемые в наших опытах двигательные навыки: постуральная реакция, зрительная фиксация и слежение за движущимися объектами — формируются в раннем онтогенезе, причем слежение требует согласованной работы девяти глазодвигательных мышц. Необходимо отметить, что оценка времени животным в условиях отсроченного подкрепления происходит в другом, супрасекундном масштабе времени, а поведенческий акт может быть разбит на несколько

этапов поведения, последовательно (постепенно) приближающих животное к появлению целевого сигнала, связанного с предъявлением ожидаемого вознаграждения. При этом резко возрастает роль избирательного внимания к тестируемым зрительным сигналам и процедурной (глазодвигательной) памяти, используемой для сличения их сходства с ожидаемым целевым зрительным сигналом и принятия решения для своевременного выполнения двигательного ответа. Как показали наши опыты, важная роль в осуществлении изучаемых двигательных реакций принадлежит ДА-реактивной системе стриатума, что подтверждает ранее высказанное предположение о возможном участии базальных ганглиев в квантовании (*chunking*) времени, необходимого для выполнения последовательных этапов тестируемого двигательного ответа (Graybiel, 1998; Soares et al., 2016). Механизм влияния инъекции дофамина в генерации выявленных дискинезий (постуральной апраксии и двигательной стереотипии), наблюдаемый в наших опытах у животных при выполнении тестируемой задачи, основан на дисфункции тонических и фазических ДА-клеток стриатума при ожидании и выполнении последовательно сменяемых движений: при тонической перестройке позы и осуществлении глазодвигательных реакций слежения, сменяемых физической двигательной реакцией захвата пищи (Альбертин, 2015; Aosaki et al., 1994; Matsumoto et al., 1999; Bagdaiyan et al., 2007).

Результаты недавно проведенных исследований показали, что задачи, связанные с обучением навыкам зрительного слежения, сопровождаются генерализацией процессов перцептивного и моторного обучения (Censor, 2013; Lang et al., 2013; Modrano et al., 2020). Это позволило исследователям приступить к разработке эффективных методов для диагностики пациентов с двигательными расстройствами различной этиологии (Modrano et al., 2020; Doumas et al., 2021; García-Ramos et al., 2023) и их реабилитации путем обучения и последующей тренировки в выполнении задач слежения за движущимися объектами, осуществляемых одним или обоими эффекторами (движения глаз или движения глаз и руки). При этом авторы (Modrano et al., 2020; García-Ramos et al., 2023) отмечали, что процесс реабилитации у этих пациентов сопровождался повышением нейрональной активности в моторной коре, базальных ганглиях и мозжечке.

При осуществлении более сложных видов праксиса, наблюдавшегося в опытах с отсроченным подкреплением, связанного с по-

следовательным изменением кинематики (направления и скорости) движения при осуществлении поискового поведения крыс в лабиринте, показана важная роль Да-ергической системы прилежащего ядра, имеющего тесные морфофункциональные связи с гиппокампом и префронтальной корой. При этом имплицитная и эксплицитная формы обучения, сменяя друг друга на различных этапах выполнения двигательной задачи, находились в синергических отношениях, которые в наших опытах нарушались при дисфункции центрального стриатума. Наши данные о синхронизации нейрональной активности центрального стриатума и гиппокампа, наблюдаемой в наших опытах при принятии животными решения о смене направления и скорости движения к кормушкам с дифференцированным подкреплением, согласуются с результатами нейрональных исследований, продемонстрировавших взаимодействие коры и подкорки в ритме тета- и гамма-частот (8–12 и 40–80 Гц соответственно) при осуществлении последовательно выполняемого двигательного поведения (Cohen et al., 2007). При этом показано, что продолжительность тета-активности и количество гамма-колебаний коррелируют с продолжительностью различных этапов поведенческого акта и близостью предстоящего подкрепления (Dragoi, Buzsaki, 2006; Gupta et al., 2012). Гиппокампальные нейроны в этом случае кодируют энграмму эпизодической памяти, лежащей в основе формирования так называемого ментального времени на различных этапах целенаправленного поведения. Возрастание пищевой мотивации при приближении животного к предстоящему подкреплению поддерживается с помощью градуального повышения уровня дофамина в центральном стриатуме (Parkinson et al., 2002). При подготовке животного к выполнению действия, направленного на получение наибольшего подкрепления, объемный выброс дофамина существенно влияет на процесс синхронизации активности нейронов, терминальные окончания которых широко распространены в различных структурах головного мозга (Gonon, 1997; Zoli et al., 1998; Watabe-Ushida, 2012). Следует отметить, что после физического Да-ответа высокая концентрация дофамина распадается в синапсах центрального стриатума (прилежащее ядро) продолжительнее, чем в дорсальном стриатуме (Suaud-Chagny et al., 1995; Nirenberg et al., 1997; Wickens et al., 2007). Другими словами, обучающий сигнал, обеспечивающий синаптическую пластичность, сохраняется в прилежащем ядре дольше, чем в дорсальном стриатуме. Этот обучающий сигнал достаточно продолжительный,

чтобы включить оценку ценности вознаграждения результата действия в прилежащем ядре, но не в дорсальном стриатуме. Это объясняет, почему обучение, опосредованное центральным стриатумом, поддерживается ожидаемым вознаграждением результата действия, в то время как двигательное обучение, опосредованное дорсальным стриатумом, формирует рефлекторные (стимул–ответ) двигательные навыки, которые менее чувствительны к вознаграждению.

Выше мы указывали на использование подобных экспериментальных методов в диагностике и реабилитации больных хореей, гемибаллизмом, паркинсонизмом. Для реабилитации двигательных функций у пациентов с более сложными формами апраксии, связанными с нарушениями кинетики двигательной активности при отсроченном подкреплении, ряд исследователей в настоящее время предлагают использовать компьютерные тест-игры (в основном 3D) с полным погружением пациентов в виртуальную реальность (Kourtesis et al., 2019; Kourtesis, MacPherson, 2021; Mekbib et al., 2021; Fregna et al., 2022), что позволяет им активно применять технические средства окуломоторного контроля за движущимися предметами и субъектами игры, изменяющими свое положение в пространстве, выбирающими направление и скорость движения, осуществляющими предстоящие движения, в частности жесты. Насколько эффективным для реабилитации пациентов с двигательными нарушениями будет применение указанного методического подхода в клинике, покажут будущие исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В модельных экспериментах, проведенных на лабораторных животных (кошки и крысы), исследовали роль ядер стриатума в патогенезе различных видов апраксии при осуществлении координированных двигательных навыков разной степени сложности: кинетической, постуральной, кинестетической, пространственной.

Полученные результаты показали значительно влияние эффекта интерференции предшествующего и предстоящего двигательных ответов, образуемой взаимодействием имплицитного (стереотипного) и эксплицитного (условно-рефлекторного) обучения, на формирование и последующее осуществление изученных видов праксиса. Повреждение дорсального стриатума приводило к потере способности животного к вытормаживанию ответов ранее выработанного упроченного двигательного навыка при переходе от стереотипного предъяв-

ления дифференцируемых зрительных сигналов к их экспозиции в случайном порядке и, как следствие, к появлению трепора передней конечности, выполняющей движение.

Дисфункция Да-ергической системы дорсального стриатума вызывала у кошек нарушения перестройки и поддержания позы животного, необходимой для выполнения отсроченного двигательного ответа. Опыты на животных с повреждением кортико- и руброспинальных путей показали, что успешная реабилитации пищедобывательного навыка у животных требовала активного влияния оставшихся интактными ядер стриатума и выходных текто-, ретикуло(нигро)-путей. В опытах с отсроченным подкреплением, связанных с последовательным изменением кинематики (направления и скорости) движения крыс при поиске пищи в лабиринте, выявлена важная роль Да-ергической системы вентрального стриатума, имеющего тесные морфофункциональные связи с гиппокампом и префронтальной корой. В этих условиях имплицитная и эксплицитная формы обучения, сменяя друг друга на различных этапах двигательной задачи, находились в синергических отношениях, которые нарушались при дисфункции вентрального стриатума. Примеры использования разработанных моделей апраксии описаны в опубликованных работах (Альбертин, 2011, 2019, 2022, 2023).

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор признателен проф. Лундбергу (A. Lundberg, Sweden) за ознакомление с методическими приемами проведения хирургической операции на спинном мозге. Автор признателен д-ру Винеру (S.I. Wiener, CNRS, France) за поддержку при проведении исследования.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке программ фундаментальных научных исследований государственных академий на 2020–2024 гг. (ГП-13, раздел 63). Исследования, описанные в настоящей статье, проводились в лаборатории физиологии высшей нервной деятельности Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, отдельная серия экспериментов проведена автором в лаборатории физиологии перцепции и двигательной активности (LPPA/CNRS France).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты, описанные в статье, проводились в соответствии с международными правилами этического обращения с животными (Strasbourg, 1985; Helsinki, 2000) и одобрены Комитетом по этике ФГБУН Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (протокол № 12/1252 от 12.04.2024).

В представленной работе использован ранее описанный в журнале (Успехи соврем. биол. 2023. Т. 143 (2). С. 123–130) метод электрографического картирования координат тестируемых областей стриатума, предназначенный для сокращения числа используемых в опыте животных, что имеет практическое значение при проведении экспериментальных исследований в биологии и медицине.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Альбертин С.В. Способ моделирования интенционного трепора в эксперименте на животных (*Felis catus*) // Патент № RU2493610C2 заяв. 20.09.2011, опубл. 27.04.2013.
- Альбертин С.В. Влияние повреждения кортико- и руброспинальных путей на реализацию оперантных пищедобывательных рефлексов // Нейрофизиология. 2014. Т. 46 (4). С. 391–400.
- Альбертин С.В. Моделирование интенционного трепора в эксперименте на животных // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2015. Т. 101 (8). С. 949–957.
- Альбертин С.В. Влияние стимуляции дофаминергической системы мозга на пищевое предпочтение у крыс // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2016а. Т. 102 (10). С. 1137–1145.
- Альбертин С.В. Влияние режима условно-рефлекторного переобучения крыс на поисковое поведение в радиальном лабиринте // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2016б. Т. 102 (11). С. 1302–1311.
- Альбертин С.В. Влияние фрагментации зрительных навигационных сигналов на ориентацию крыс в радиальном лабиринте // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2017а. Т. 103 (8). С. 854–865.
- Альбертин С.В. Способ тестирования сенсомоторных реакций животных в условиях зрительного слежения // Сенс. сист. 2017б. Т. 31 (4). С. 290–296.
- Альбертин С.В. От нейрональной модели целенаправленного поведения к моделированию систем искусственного интеллекта // Успехи физиол. наук. 2019. Т. 50 (2). С. 15–30.
- Альбертин С.В. Интегративные функции кортико-стриато-таламо-кортикальной системы мозга // Успехи физиол. наук. 2021. Т. 52 (4). С. 47–52.
- Альбертин С.В. Способ реабилитации дезеребрированных животных и устройство для его осуществления. Заявка на изобретение № 2022130679 от 24.11.2022.

- Альбертин С.В. Метод диагностики и реабилитации децеребрированных животных // Ветеринария Кубани. 2023. Т. 5. С. 19–34.
- Альбертин С.В., Винер С.И. Нейрональная активность прилежащего ядра и гиппокампа при формировании поискового поведения в радиальном лабиринте // Бюл. эксп. биол. мед. 2014. Т. 158 (10). С. 400–406.
- Альбертин С.В., Головачева И.П. Моделирование различных видов апраксии в эксперименте на животных // Тез. докл. Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием “Учение академика И.П. Павлова в современной системе нейронаук” (СПб., 18–20 сентября 2024 г.). СПб.: Рос. физиол. общ., 2024. С. 121.
- Буреши Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Ред. А.С. Батуев. М.: Высшая школа, 1991. 397 с.
- Васильева Ю.В., Варлинская Е.И., Петров Е.С. Особенности восстановления манипуляторного навыка у белых крыс в зависимости от стороны повреждения неокортикса и исходного моторного предпочтения // ЖВНД им. И.П. Павлова. 1995. Т. 45 (6). С. 362–369.
- Иоффе М.Е. Механизмы двигательного обучения. М.: Наука, 1991. 201 с.
- Козловская И.Б. Афферентный контроль произвольных движений. М.: Наука, 1976. 294 с.
- Костюк П.Г. Структура и функция нисходящих систем спинного мозга. Л.: Наука, 1973. 279 с.
- Купалов П.С., Воеводина О.Д., Волкова В.Д. и др. Ситуационные рефлексы у собак в норме и патологии. Л.: Медицина, 1964. 276 с.
- Лурия А.Р. Высшие корковые функции человека и их нарушения при локальных поражениях мозга. М.: МГУ, 1963. 432 с.
- Лурия А.Р. Основы нейрофизиологии. М.: МГУ, 1973. 374 с.
- Селиванова А.Т., Голиков С.Н. Холинергические механизмы высшей нервной деятельности. Л.: Медицина, 1975. 183 с.
- Суровов Н.Ф. Стриарная система и поведение. Л.: Наука, 1980. 280 с.
- Суровов Н.Ф., Шаповалова К.Б., Альбертин С.В. Участие неостриатума в механизмах инструментального поведения // ЖВНД им. И.П. Павлова. 1983. Т. 33 (2). С. 256–266.
- Фанарджян В.В., Геворкян О.В., Маллина Р.К. и др. Динамика изменений инструментальных рефлексов у крыс после перерезки кортикоспинального тракта и удаления сенсомоторной коры мозга // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2001. Т. 87 (2). С. 145–154.
- Albertin S.V. Patterned single alternation in cats with dorsal caudate lesions is affected by differential reward cueing // Proc. IV Conf. Neurobiol. Learn. Memory (Irvine, CA, Oct. 17–20, 1990). 1990. P. 45.
- Albertin S.V. Effects of injury of the cortico- and rubrospinal pathways on operant food-procuring reflexes // Neurophysiology. 2014. V. 46 (4). P. 352–360.
- Albertin S.V., Wiener S.I. Neuronal activity in the nucleus accumbens and hippocampus in rats during formation of seeking behavior in a radial maze // Bull. Exp. Biol. Med. 2015. V. 158 (4). P. 405–409.
- Albertin S.V., Mulder A.B., Tabuchi E. et al. Lesions of the medial shell of the *n. accumbens* impair rats in finding larger rewards but spare reward-seeking behavior // Behav. Brain Res. 2000. V. 117. P. 173–183.
- Alexander G.E., DeLong M.R., Strick P.L. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex // Annu. Rev. Neurosci. 1986. V. 9. P. 357–381.
- Alexander G.E., Crutcher M.D., DeLong M.R. Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor, ‘prefrontal’ and ‘limbic’ functions // Prog. Brain Res. 1990. V. 85. P. 119–146.
- Alstermark B., Lundberg A., Norrsell U., Sybirska E. Integration in descending motor pathways controlling the forelimb in the cat // Exp. Brain. Res. 1981. V. 42. P. 299–318.
- Alstermark B., Lundberg A., Pettersson L.G. et al. Motor recovery after serial spinal cord lesions of defined descending pathways in cat // Neurosci. Res. 1987. V. 5. P. 68–73.
- Andrew C.J. Influence of dystonia on the response to long-term L-dopa therapy in Parkinson’s disease // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 1973. V. 36. P. 630–636.
- Aosaki T., Tsubakawa H., Ishida A. et al. Responses of tonically active neurons in the primate’s striatum undergo systematic changes during behavioral sensorimotor conditioning // J. Neurosci. 1994. V. 14. P. 3969–3984.
- Badgaiyan R.D., Fischman A.G., Alpert N.M. Striatal dopamine release in sequential learning // Neuroimage. 2007. V. 38 (3). P. 549–556.
- Bénita M., Condé H., Dormont J.F., Schmied A. Effects of ventrolateral thalamic nucleus cooling on initiation of forelimb ballistic flexion movements by conditioned cats // Exp. Brain Res. 1979. V. 34. P. 435–452.
- Buxbaum L.J., Randerath J. Limb apraxia and the left parietal lobe // Handb. Clin. Neurol. 2018. V. 151. P. 349–363.
- Caljouw S.R., Veldkamp R., Lamothe C.J.C. Implicit and explicit learning of a sequential postural weight-shifting task in young and older adults // Front. Psychol. 2016. V. 7. P. 733. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2016.00733>
- Censor N. Generalization of perceptual and motor learning: a causal link with memory encoding and consolidation? // Neuroscience. 2013. V. 259. P. 201–207.
- Cohen M.X., Elger C.E., Ranganath C. Reward expectation modulates feedback-related negativity and EEG spectra // Neuroimage. 2007. V. 35. P. 968–978.
- DeLong M.R., Georgopoulos A.P. Motor functions of the basal ganglia as revealed by studies of single cell activity in the behaving primates // Adv. Neurobiol. 1979. V. 24. P. 131–140.

- DeLong M.R., Wichman T.* Circuits and circuit disorders of the basal ganglia // *Arch. Neurol.* 2007. V. 64. P. 20–24.
- Denny-Brown D., Yanagisawa N.* The role of basal ganglia in the initiation of movements // *The basal ganglia / Ed. M.D. Yahr. N.Y.: Raven Press, 1976.* P. 113–159.
- Divac I., Markowitch H.J., Pritzel M.* Behavioral and anatomical consequences of small intrastriatal injections of kainic acid in the rat // *Brain Res.* 1978. V. 151. P. 523–532.
- Doumas J., Everard G., Dehem S., Lejeyne T.* Serious games for upper limb rehabilitation after stroke: a meta-analysis // *J. Neuroeng. Rehabil.* 2021. V. 18 (1). P. 100. <https://doi.org/10.1186/s12984-021-99889-1>
- Dragoi G., Buzsaki G.* Temporal encoding of place sequences by hippocampal cell assemblies // *Neuron.* 2006. V. 50. P. 145–157.
- Fabre M., Buser P.* Structures involved in acquisition and performance of visually guided movements in the cat // *Acta Neurobiol. Exp.* 1980. V. 40. P. 95–116.
- Fregna G., Schincadlia N., Baroni A. et al.* A novel immersive virtual reality environment for the motor rehabilitation of stroke patients: a feasibility study // *Front. Robot. AI.* 2022. V. 9. P. 906424. <https://doi.org/10.3389/frobt.2022.906434>
- Gamble K.R., Cummings T.J.Jr., Lo S.E. et al.* Implicit sequence learning in people with Parkinson's disease // *Front. Hum. Neurosci.* 2014. V. 8. P. 563.
- García-Ramos B.R., Villarroel R., González-Mora J.S. et al.* Neurofunctional correlates of a neurorehabilitation system based on eye movements in chronic stroke impairment levels: a pilot study // *Brain Behav.* 2023. V. 13. P. e3049.
- Gellerman L.S.* Chance orders of alternating stimuli in visual discrimination experiments // *Ped. Sem. J. Gen. Psych.* 1933. V. 42. P. 206–208.
- Ghilardi M.F., Moisello C., Silvestr G. et al.* Learning of a sequential motor skill comprises explicit and implicit components that consolidate differently // *J. Neurophysiol.* 2009. V. 101. P. 2218–2229.
- Goldenberg G.* Apraxia and the parietal lobes // *Neuropsychologia.* 2009. V. 47 (6). P. 1449–1459.
- Gonon F.* Prolonged and extrasynaptic excitatory action of dopamine mediated by D1 receptors in the rat striatum *in vivo* // *J. Neurosci.* 1997. V. 17. P. 5972–5978.
- Gray J.A.* A general model of the limbic system and basal ganglia: applications to schizophrenia and compulsive behavior of the obsessive type // *Rev. Neurol.* 1994. V. 150 (8–9). P. 605–613.
- Graybiel A.M.* The basal ganglia and chunking of action repertoires // *Neurobiol. Learn. Mem.* 1998. V. 70. P. 119–136.
- Groenewegen H.J.* The basal ganglia and motor control // *Neural Plast.* 2003. V. 10 (1–2). P. 107–120.
- Gupta A.S., van der Meer M.A.A., Touretzky D.S., Redish A.D.* Segmentation of spatial experience by hippocampal theta sequences // *Nat. Neurosci.* 2012. V. 15 (7). P. 1032–1039.
- Hassler R.* Striatal control of locomotion, intentional actions and of integrations and perceptual activity // *J. Neurol. Sci.* 1978. V. 36. P. 187–224.
- Hayashi A., Kagamihara Y., Nakajima Y. et al.* Disorder in reciprocal innervation upon initiation of voluntary movement in patients with Parkinson's disease // *Exp. Brain Res.* 1988. V. 70. P. 437–440.
- Jasper H.H., Ajmone-Marsan C.A.* Stereotaxic atlas of the diencephalon of the cat. Ottawa: National Research Council of Canada, 1954. 242 p.
- Joel D., Weiner I.* The connections of the dopaminergic system with the striatum in rats and primates: an analysis with respect to the functional and compartmental organization of striatum // *Neuroscience.* 2000. V. 96. P. 451–474.
- Kourtesis P., MacPherson S.E.* How immersive virtual reality methods may meet the criteria of the National academy of neuropsychology and American academy of clinical neuropsychology: a soft ware review of the virtual reality everyday assessment lab (VR-EAL) // *Comput. Hum. Behav. Rep.* 2021. V. 4. P. 100151. <https://doi.org/10.1016/j.chbr.2021.100151>
- Kourtesis P., Collina S., Doumas I.A., MacPherson S.E.* Validation of the virtual reality neuroscience questionnaire: maximum duration of immersive virtual reality sessions without the presence of pertinent adverse symptomatology // *Front. Hum. Neurosci.* 2019. V. 13. P. 417–513.
- Lang A., Gepenne O., Aubert D., Ferre-Chapus C.* Implicit sequence learning in a continuous pursuit tracking task // *Psychol. Res.* 2013. V. 7 (5). P. 517–527.
- Liepmann H.* Apraxia // *Ergebnisse der Gesamten Medizin.* 1920. Bd. 1. S. 516–543.
- Martin J.H., Ghez C.* Red nucleus and motor cortex: parallel motor systems for the initiation and control of skilled movement // *Behav. Brain Res.* 1988. V. 28. P. 217–223.
- Matsumoto N., Hanakawa T., Maki S. et al.* Nigrostriatal dopamine system in learning to perform sequential motor task in a predictive manner // *J. Neurophysiol.* 1999. V. 82. P. 978–988.
- Matt E., Foki T., Fischmeister F. et al.* Early dysfunctions of fronto-parietal praxis networks in Parkinson's disease // *Brain Imaging Behav.* 2017. V. 11 (2). P. 512–525.
- Mekbib D.B., Debelli D.K., Zhang I. et al.* A novel fully immersive virtual reality environment for upper extremity rehabilitation in patients with stroke // *Ann. NY Acad. Sci.* 2021. V. 1473 (1). P. 75–89.
- Miklyaeva E.I., Varlinskaya E.I., Ioffe M.E. et al.* Differences in the recovery rate of learned forelimb movement after ablation of the motor cortex in right and left hemisphere in white rats // *Behav. Brain Res.* 1993. V. 56 (2). P. 145–154.
- Miklyaeva E.I., Castaneda E.I., Wishaw I.Q.* Skilled reaching deficits in unilateral dopamine-depleted rats: impairments in movements and posture and compensatory adjustments // *J. Neurosci.* 1994. V. 14. P. 7148–7158.

- Mink J.W.* The basal ganglia: focused selection and inhibition of competing motor programs // *Prog. Neurobiol.* 1996. V. 50. P. 381–425.
- Mink J.W.* The basal ganglia and involuntary movements // *Arch. Neurol.* 2003. V. 60. P. 1365–1368.
- Modroño C., Socas R., Hernández-Martin E. et al.* Neurofunctional correlates of eye to hand motor transfer // *Hum. Brain Mapp.* 2020. V. 41 (10). P. 2656–2668.
- Nirenberg M.J., Chan J., Pohorille A. et al.* The dopamine transporter: comparative ultrastructure of dopaminergic axons in limbic and motor compartments of the nucleus accumbens // *J. Neurosci.* 1997. V. 17. P. 6899–6907.
- Parkinson J.A., Dalley J.W., Cardinal R.L. et al.* Nucleus accumbens dopamine depletion impairs both acquisition and performance of appetitive approach behavior: implications for mesoaccumbens dopamine function // *Behav. Brain Res.* 2002. V. 137. P. 149–163.
- Pohl P.S., McDowd J.M., Filion D.L. et al.* Implicit learning of a perceptual-motor skill after stroke // *Phys. Ther.* 2001. V. 81. P. 1780–1789.
- Pramstaller P.P., Marsden C.D.* The basal ganglia and apraxia // *Brain.* 1996. V. 119. P. 319–340.
- Rosenzopf H., Wiesen D., Basilakos A. et al.* Mapping the human praxis network: an investigation of white matter disconnection in limb apraxia of gesture production // *Brain Commun.* 2022. V. 4 (1). P. fcac004.
- Schultz Q.* Depletion of DA in the striatum as an experimental model of parkinsonism: direct effects and adaptive mechanisms // *Prog. Neurobiol.* 1982. V. 8. P. 121–166.
- Soares S., Atallah B., Paton J.* Midbrain dopamine neurons control judgement of time // *Science.* 2016. V. 354. P. 1273–1277.
- Sperber C.* Rethinking causality and data complexity in brain lesion-behaviour inference and its implications for lesion-behaviour modelling // *Cortex.* 2020. V. 126. P. 49–62.
- Sperber C.* The strange role of brain lesion size in cognitive neuropsychology // *Cortex.* 2022. V. 146. P. 216–226.
- Steinfels G.F., Heym J., Strecker R.E., Jacobs B.L.* Behavioral correlations of dopaminergic unit activity in freely moving cats // *Brain Res.* 1983. V. 258 (2). P. 217–228.
- Suaud-Chagny M.F., Dugast C., Chergui K. et al.* Uptake of dopamine released by impulse flow in the rat mesolimbic and striatal systems *in vivo* // *J. Neurochem.* 1995. V. 65. P. 2603–2611.
- Suvorov N.F., Albertin S.V., Voilokova N.L.* The neostriatum: neurophysiology and behavior // *Sov. Sci. Rev. F. Physiol. Gen. Biol.* 1988. V. 2. P. 597–677.
- Tabuchi E., Mulder A.B., Wiener S.I.* Reward value invariant place responses and reward site associated activity in hippocampal neurons of behaving rats // *Hippocampus.* 2003. V. 13. P. 117–132.
- Villablanca J.R., Markus R.J., Olmstead S.E.* Effects of caudate nuclei or frontal cortical ablations in cats. 1. Neurology and gross behavior // *Exp. Neurol.* 1976. V. 52. P. 389–420.
- Watabe-Uchida M., Zhu L., Ogawa S.K. et al.* Whole-brain mapping of direct inputs to midbrain dopamine neurons // *Neuron.* 2012. V. 74. P. 858–873.
- Werner W.* Neurons in the primate superior colliculus are active before and during arm movements to visual targets // *Eur. J. Neurosci.* 1993. V. 5. P. 335–340.
- Wickens J.R., Budd C.S., Hyland B.I. et al.* Striatal contributions to reward and decision making. Making sense of regional variations in a reiterated processing matrix // *Ann. NY Acad. Sci.* 2007. V. 1104. P. 192–212.
- Wiener S.I., Shibata R., Tabuchi E. et al.* Spatial and behavioral correlates in nucleus accumbens neurons in zones receiving hippocampal or prefrontal cortical inputs // *Int. Congr. Ser.* 2003. V. 1250. P. 275–292.
- Zastron T., Kessner S.S., Hollander K. et al.* Structural connectivity changes within the basal ganglia after 8 weeks of sensory-motor training in individuals with chronic stroke // *Ann. Phys. Rehabil. Med.* 2019. V. 62 (3). P. 393–397.
- Zoli M., Torri C., Ferrari R. et al.* The emergence of the volume transmission concept // *Brain Res. Rev.* 1998. V. 26. P. 136–147.

Basal Ganglia and Apraxia

S. V. Albertin

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

e-mail: albertinsv@infran.ru

The paper presents an experimental evidence for participation of dorsal and ventral striatum in modeling of different kinds of apraxia in animals. The role of implicit and explicit learning in acquisition and performing of skilled motor behavior in animals is analyzed. The possibilities for practical using of the developed models of apraxia for screening in animals the effective pharmacological drugs as well as for diagnostics and corrections of impaired motor functions are discussed.

Keywords: basal ganglia, apraxia, modeling, implicit and explicit learning, diagnosis and correction, animals

УДК 612.8

ОПСИНЫ И ИХ ТЕСТИРОВАНИЕ В ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКИХ ЭКСПРЕССИОННЫХ СИСТЕМАХ

© 2024 г. Ю. А. Чилигина

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: julchil@mail.ru

Поступила в редакцию 05.12.2023 г.

После доработки 01.09.2024 г.

Принята к публикации 01.09.2024 г.

Светочувствительные белки являются потенциальными оптогенетическими инструментами для восстановления зрительных функций при дегенерации фоторецепторов в сетчатке. Детальное исследование их свойств в гетерологических экспрессионных системах является необходимым этапом, предшествующим экспериментам на животных. Рассматриваются особенности опсинов и факторы, влияющие на их активность в модельных клеточных системах. Особое внимание уделяется опсинам, сопряженным с G-белками, как перспективным инструментам для воссоздания сигнальных каскадных механизмов ON-биполярных клеток сетчатки. Анализируются светоуправляемые сигнальные пути, активируемые натуральными или химерными опсинами, открывающие калиевые каналы внутреннего выпрямления (GIRKs), а также возможная модуляция внутриклеточной сигнализации, опосредованная G-белками. Показано, что сравнение характеристик световой стимуляции (спектральный диапазон, интенсивность, длительность, частота) с полученными фотореологическими ответами клеток (амплитуда канальных токов, кинетика активации и деактивации каналов) в тестовой экспрессионной гетерологической системе позволяет отбирать лучших кандидатов среди светочувствительных белков, перспективных в генной терапии.

Ключевые слова: опсины, родопсин, меланопсин, светочувствительный химерный белок, G-белок-связанный рецептор (GPCR), калиевый канал внутреннего выпрямления (GIRK), гетерологическая экспрессионная система

DOI: 10.31857/S0042132424060032, **EDN:** NRVIEQ

ВВЕДЕНИЕ

Электромагнитное излучение в диапазоне от 380 до 780 нм является важнейшим физическим стимулом, воздействующим на физиологические и биохимические процессы во всех живых системах. Светочувствительные белки способны поглощать кванты света, вызывая в клетке фотореологические ответы. Обнаружено, что в результате экспрессии генов светочувствительных белков в неспециализированных к восприятию света клетках при световой стимуляции возникают ионные токи.

Одна из первых гетерологических систем создана на основе экспрессии гена бактериородопсина в ооцитах лягушки *Xenopus laevis*, где в ответ на свет наблюдали токи через светоуправ-

ляемую протонную помпу (Nagel et al., 1995). Позднее из зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* были выделены светочувствительные белки, названные канальными родопсинами или каналородопсинами: каналородопсин 1 (ChR1) и каналородопсин 2 (ChR2). ChR1 представляет собой избирательно проницаемый для протонов светоуправляемый ионный канал (Nagel et al., 2002, 2003), ChR2 — катион-проводящий канал. Гены каналородопсинов успешно экспрессированы в ооцитах *Xenopus laevis* и в клетках млекопитающих, при стимуляции клеток синим светом в них наблюдали фототоки (Nagel et al., 2002, 2003). Вызываемые световой стимуляцией токи отличались быстрой кинетикой активации и временным разрешением в несколько миллисекунд (Boyden et al., 2005; Deisseroth et al., 2006).

Возможность с помощью света управлять проводимостью ионных каналов, регулировать физиологическую активность нервных клеток и целых нейрональных ансамблей и даже контролировать поведение животных открыла новое оптогенетическое направление (Boyden et al., 2005; Covington et al., 2010; Deisseroth, 2011, 2015; Tye, Deisseroth, 2012; Levitz et al., 2013; Kim et al., 2017; Rost et al., 2017). Одна из важнейших задач оптогенетики — исследование светочувствительных белков как инструментов для восстановления зрительных функций при тяжелых формах наследственных дегенеративных заболеваний, в частности при пигментном ретините, вызывающем дистрофию сетчатки. Пигментный ретинит — это прогрессирующее наследственное заболевание, обусловленное мутациями, возникающими более чем в семидесяти различных генах (Bird, 1988; Wert et al., 2014; Sahel et al., 2021; Wu et al., 2023). При развитии заболевания на фоне продолжающейся гибели фоторецепторных клеток, биполярные, ганглиозные и амакриновые клетки продолжают нормально функционировать, придание этим клеткам восприимчивости к свету (светочувствительности) за счет внедрения генов светочувствительных белков (оптопротезирования) дает надежду на восстановление зрительных функций благодаря активации новых путей передачи информации в сетчатке (Кирпичников, Островский, 2019; Baker, Flanery, 2018; Berry et al., 2019; Firsov, 2019). В экспериментах на модельных животных (мыши линии rd1) с наследственной дегенерацией сетчатки продемонстрировано, что экспрессия экзогенных светочувствительных белков способствовала частичному восстановлению зрения у слепых мышей (Berry et al., 2019; Ganjawala et al., 2019; Kralik et al., 2022). В настоящее время в некоторых странах разрешены и клинические испытания с использованием оптогенетических методик. Однако пока известен один успешный пример генной терапии у человека с пигментным ретинитом (Sahel et al., 2021). В данной работе для оптогенетического протезирования ганглиозных клеток сетчатки использовали каналородопсин Chrimson R. У пациента наблюдали улучшение зрения только при совместном использовании генной терапии и специальных светостимулирующих очков, появилась способность распознавать и считать видимые предметы (Sahel et al., 2021).

В результате накопленных экспериментальных данных по оптогенетическому протезированию слепой сетчатки светочувствительными белками для восстановления утраченных зрительных функций возникли задачи, связанные

с изменением свойств белков и их химерных конструкций. Это повышение светочувствительности и расширение спектров поглощения белков; снижение фототоксичности, возникающей при увеличении интенсивности светового потока; воссоздание системы сигнальных путей, приближенной к здоровой клетке; повышение экспрессии генов экзогенных белков в клетке. Для этого исследуют функциональные особенности тестируемых белков, их чувствительность, проводимость, время активации/инактивации ионного канала. В случае активации внутриклеточных сигнальных путей, опосредованных G-белками, изучают специфичность взаимодействия внутриклеточного домена светочувствительного белка с определенным G-белком.

Для исследования этих вопросов и отбора подходящих кандидатов из числа натуральных и химерных светочувствительных белков применяют тестирование в гетерологических экспрессионных системах (Карпушев, Чилигина, 2023; Ballister et al., 2018; Kralik et al., 2022; Leemann, Kleinlogel, 2023).

Цель настоящего обзора — показать особенности опсинов, их сигнальных путей и светоуправляемых сигнальных ответов в гетерологических экспрессионных системах.

СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

В ходе эволюции во всех царствах живых организмов появлялись светочувствительные молекулы, отличающиеся по строению, функциям, биохимическим свойствам: опсины, фитохромы, бактериофитохромы, криптохромы, ксантопсины, ультрафиолетовые фоторецепторы UVR8 растений (Колесов и др., 2021; Riggsbee, Deiters, 2010; Rost et al., 2017). Особый интерес для оптогенетического протезирования представляют опсины — фоточувствительные белки, содержащие хромофорную группу или ретиналь, который ковалентно связан с остатком лизина через протонированное Шиффово основание. При поглощении кванта света происходит изомеризация хромофора и переход в высокоэнергетическое состояние, при этом белок меняет свою конформацию и активируется. Опсины принято делить на опсины 1-го и 2-го типа.

ОПСИНЫ 1-ГО ТИПА

Опсины 1-го типа характерны для архей, прокариот, водорослей, грибов и представляют собой катионные помпы, транспортеры. К ним относятся канальные родопсины 1 и 2 (проводящие ионы Na^+ , H^+ , K^+ и Ca^{2+} через мембрану), бактериородопсины (протонная помпа) и гало-

родопсины (хлорная помпа). Их отличительная черта — быстрая активация/инактивация. При поглощении света *транс*-ретиналь переходит в 13-*цис*-ретиналь, в результате меняется транспорт ионов через мембрану (Rost et al., 2017), так регулируются фототаксис или бактериальный фотосинтез. После изомеризации у опсинов 1-го типа хромофор остается связанным с белком. Обратная изомеризация происходит самопроизвольно под действием тепловых колебаний молекулы. Свойства опсинов 1-го типа под действием света деполяризовать или гиперполяризовать плазматическую мембрану используют для регулирования физиологической активности клетки. При фотоактивации галородопсинов зеленым, а бактериородопсинов желтым светом возникает гиперполяризация мембранны клетки, при поглощении каналородопсинами синего света — деполяризация. Каналородопин 2 стал одним из первых деполяризующих оптогенетических инструментов, на основе которого создан ряд модифицированных белков (Lin et al., 2011). Выделены и другие каналородопсины, например Chronos из *Stigeoclonium helveticum*, управляемый синим и зеленым светом, с улучшенной кинетикой и с высокой светочувствительностью и Chrimson (из *Chlamydomonas noctigama*) со спектром поглощения, смешенным в красную сторону (600 нм). Попытки изменить некоторые характеристики белков привели к созданию химерных конструкций. Например, C1V1 создан на основе ChR1 и VChR1 (опсин из *Volvox carteri*), обладает максимумом поглощения на 570 нм и более высоким током через канал (Lin et al., 2009); химеры ChEF и ChIEF (ChR1/ChR2) также демонстрируют больший канальный ток и лучше экспрессируются в клетках млекопитающих (Lin et al., 2011); модифицированный каналородопсин ex3mV1Co характеризуется большими токами и максимумом поглощения 505 нм (Watanabe et al., 2021); химеры ChR1/VChR1 отличаются хорошей экспрессией в плазматической мемbrane и повышенным фототоком в клетках HEK (Yizhar et al., 2011).

Эктопическая экспрессия генов микробных канальных родопсинов (ChR2) и их химерных конструкций (CoChR-L112C и CoChR-H94E/L112C/K264T0) в выживших нейронах сетчатки (биполярные и ганглиозные клетки-мишени) слепых животных вызвала частичное восстановление зрения (Bi et al., 2006; Lagali et al., 2008; Doroudchi et al., 2011; Ganjawala et al., 2019). Химерный белок mVChR1, созданный на основе каналородопсина1 *Volvox* (VChR1) и *Chlamydomonas*, при эктопической экспрессии в гетерологических системах показал в ответ на фотостимуляцию (450 нм) большие ка-

нальные токи (626.3 ± 89.0 pA), по сравнению с VChR1 (18.4 ± 2.3 pA). При селективной экспрессии данного белка в ганглиозных клетках сетчатки крыс с пигментной дистрофией наблюдали улучшение зрения, животные реагировали на синие, зеленые, желтые и красные световые полосы, проецируемые на экран (Tomita et al., 2014). В качестве гиперполяризующих оптогенетических инструментов генной терапии можно назвать анионный канал с улучшенной световой чувствительностью и кинетикой (Долгих и др., 2015) или анион-переносящий канальный родопсин из криптофитовой одноклеточной водоросли *Guillardia theta*, последний характеризуется большим фототоком и большой гиперполяризацией клетки (Govorunova et al., 2015). Гиперполяризующие анионные и протонные помпы имеют особое значение для создания OFF-путей и регулирования рецептивных полей ганглиозных клеток в дегенеративной сетчатке.

В здоровой сетчатке человека существует три типа ганглиозных клеток (ON-типа, OFF-типа и ON-OFF-типа). Ганглиозная клетка ON-типа получает информацию от центральных фоторецепторов и биполярных клеток, при освещении центра рецептивного поля происходит ее деполяризация, а при действии светового раздражителя на периферии — гиперполяризация. Ганглиозные клетки OFF-типа возбуждаются при освещении периферии рецептивного поля и тормозятся при раздражении центра рецептивного поля, информация к ним приходит от фоторецепторов, расположенных на периферии. Рецептивные поля ганглиозных клеток этих двух типов слабо отвечают на равномерное освещение, но обеспечивают передачу информации о контрастных по свету стимулах, что обеспечивает восприятие границы объекта. Кроме того, у млекопитающих есть ганглиозные клетки ON-OFF-типа, они дают короткий ON-ответ на стационарный световой стимул и кратковременную OFF-реакцию на ослабление света. Одновременное применение катион- и анион-переносящих каналородопсинов дает перспективу создания ON-OFF- и OFF-ON-рецептивных полей ганглиозных клеток, что крайне важно для восстановления качественного зрительного восприятия. Недавно создан такой бицистронный продукт на основе катионного и анионного каналородопсинов (Петровская и др., 2019).

В целом опсины 1-го типа как оптогенетические инструменты характеризуются высокой эффективностью экспрессии в клетках млекопитающих, быстрой активацией/инактивацией, достаточным временными и пространственным разрешением, но использование каналородопсинов связано с применением высоконтен-

сивного коротковолнового света, а это создает риск фототоксичности. Кроме того, микробные опсины обладают низкой чувствительностью — один квант света открывает только один канал. В этой связи представляют интерес опсины 2-го типа, которые являются G-белок-связывающими рецепторами, обеспечивающими фоторецепцию и регуляцию циркадных ритмов, и характеризуются сигнальными каскадными механизмами, позволяющими усиливать исходный световой сигнал.

ОПСИНЫ 2-ГО ТИПА И ИХ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ

Опсины 2-го типа относятся к семейству рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCRs) класса A (родопсиноподобные рецепторы). Обладая консервативной структурой, семью трансмембранными альфа-спиральными сегментами с чередующимися вне- и внутриклеточными петлями, внутриклеточным С-концом, они отличаются в основном внеклеточным N-концевым доменом (Stenkamp et al., 2002; Rosenbaum et al., 2009; Mathes, 2016). В результате фотоактивации опсинов в клетке запускаются сигнальные пути, опосредованные различными семействами гетеротримерных G-белков. Избирательное связывание GPCRs с α -субъединицей G-белка (G α) имеет решающее значение для точной передачи сигнала (Flock et al., 2017). На основании структурного сходства субъединицы G α делят на 4 семейства: G $_i$, G $_{i/o}$, G $_{q/11}$, G $_{12/13}$, каждое из которых реализует специфический сигнальный путь в клетке (Neves et al., 2002; Milligan, Kostenis, 2006; Kleinlogel, 2016). Существует специфичность взаимодействия опсина с определенным G-белком. Для зрительных опсинов позвоночных (родопсин и колбочковые опсины) это трансдуцин G $_i$, который относится к G $_i$ -семейству. Активированный трансдуцин стимулирует фосфодиэстеразы, гидролизующие молекулы цГМФ. Все незрительные опсины, к ним относится меланопсин, имеют сродство к G $_q$ (активирует фосфолипазу С) (Kleinlogel, 2016). Энцефалопсины, опсины костных тканей (TMT-опсины) и опсины моллюсков взаимодействуют с G $_o$, а нейропсины человека и перопсин активируют G $_i$, эти белки ингибируют аденилатциклазу (Kato et al., 2016; Nagata et al., 2018). Нейропсины книдарий связываются с G $_s$, что приводит к активации аденилатциклазы (Terakita, 2005; Guido et al., 2022). Опсинам 2-го типа свойственна каскадная сигнализация, опосредованная G-белками с участием циклических нуклеотидов.

Функционально можно выделить два пути сигнальной трансдукции:

с участием циклических нуклеотидов и фосфоинозитольный путь. Первый характерен для рецепторов цилиарного типа, например каскад фототрансдукции в фоторецепторе (через G $_i$) с участием фосфодиэстеразы и цГМФ — для энцефалопсина и TMT-опсина (через G $_i$, G $_o$), а также передача через G $_o$ — в клетках морского гребешка или через G $_s$ — у книдарий. Для незрительных опсинов позвоночных (меланопсин) и зрительных опсинов моллюсков и артропод характерен фосфоинозитольный путь, опосредованный G $_q$ (Terakita, 2005; Koyanagi, Terakita, 2014). Все опсины ковалентно связаны с хромофором: зрительные, незрительные, а также G $_i$ - и G $_o$ -опсины — с 11-цис-ретиналом (альдегид витамина А), а перопсин и ретинальные фотоизомеризованные опсины — с транс-ретиналом. Наиболее хорошо изучен сигнальный каскад фототрансдукции в палочках, обеспечивающих сумеречное зрение, и колбочках, ответственных за фотопическое зрение у позвоночных.

Фототрансдукция в палочке позвоночных

При поглощении фотона хромофор родопсина изомеризуется из 11-цис- в транс-форму, что индуцирует перевод пигмента в физиологически активное состояние — в форму метародопсина II (рис. 1а).

После изомеризации хромофор отделяется от белковой части. Конформационные перестройки необходимы для передачи сигнала от родопсина к трансдуцину. Транс-ретиналь опсина инициирует смещение внутримембранных альфа-спиральных сегментов и разрушение цитоплазматического ионного замка Шиффова основания, что приводит к образованию щели, в которую входит С-конец α -субъединицы трансдуцина, таким образом активируя G-белок (Островский, 2020; Hofmann, Lamb, 2022). В результате такого взаимодействия происходит высвобождение связанного ГДФ в обмен на ГТФ, и α -субъединица трансдуцина диссоциирует от комплекса β - γ -субъединиц. Комплекс α -субъединицы трансдуцина (G $_{ta}$) и ГТФ активирует фосфодиэстеразу (ФДЭ) и стимулирует ее активность. ФДЭ гидролизует цГМФ, образуя ГМФ. Внутриклеточная концентрация цГМФ снижается, что в конечном итоге приводит к закрытию неселективных катионных цГМФ-зависимых каналов в наружном сегменте фоторецепторов, возникает гиперполяризация клеточной мембраны палочки, что и является началом фотоответа (Pugh, Lamb, 2000; Terakita, 2005; Arshavsky, Burns, 2014) (рис. 1а). Одна фотоактивная молекула пигмента активирует

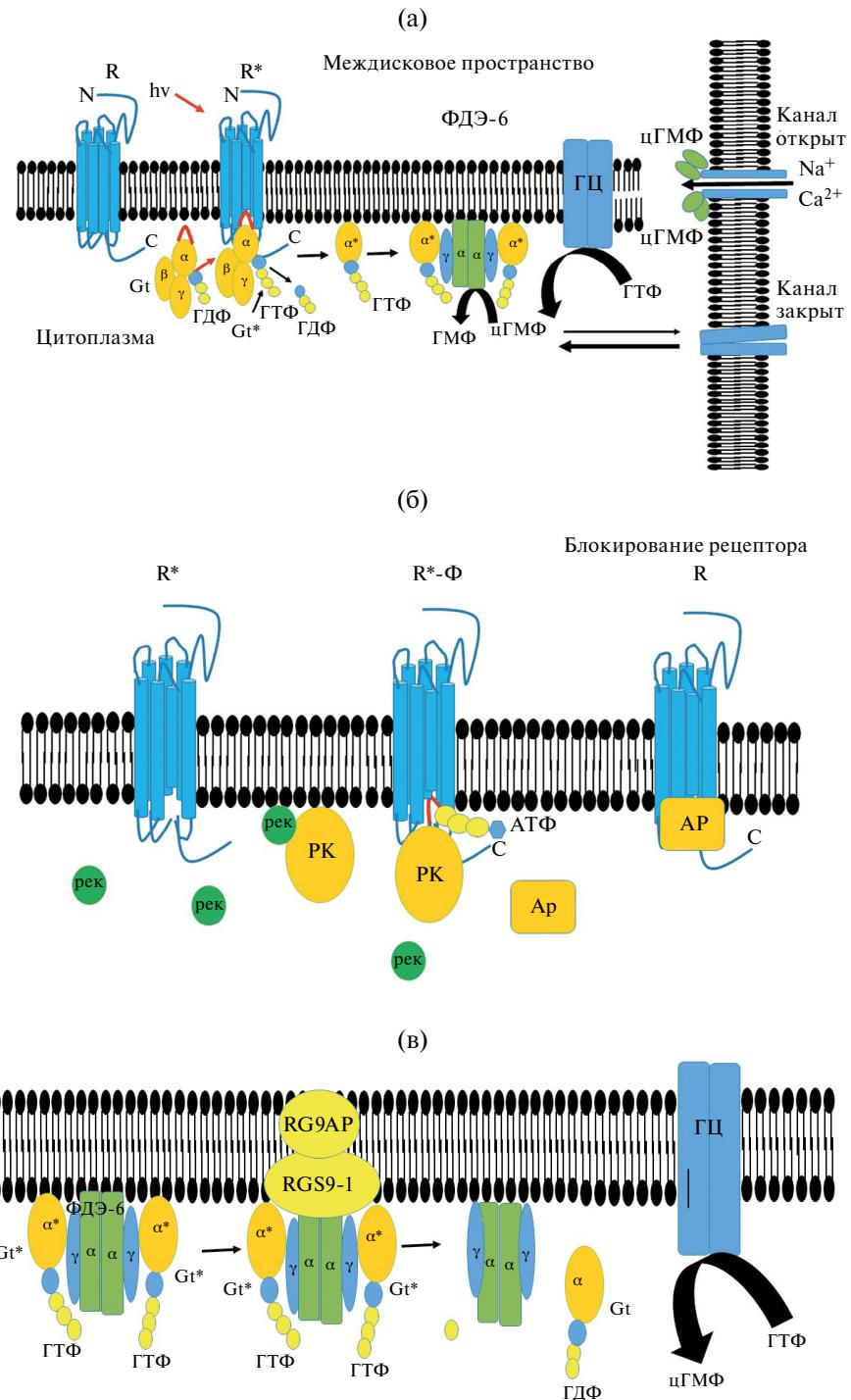


Рис. 1. Схема каскада фототрансдукции в палочке.

(а) активация рецептора на свету. В результате поглощения фотона возникает активация рецептора и передача сигнала от активированного рецептора (родопсина) к трансдьюину, в результате каскада реакций происходит за-крытие неселективных катионных цГМФ-зависимых каналов. (б) деактивация рецептора. Возвращение родопсина в темновое состояние в результате последовательных взаимодействий: рековерин—родопсинкиназа, родопсинкиназа—активированный рецептор, арестин—фосфорилированный метародопсин, блокирование рецептора. (в) вы-ключение фосфодиэстеразы. Белок RGS9-1 связывается с комплексом Gt*-ФДЭ-6, в результате происходит дис-социация комплекса. R — родопсин, R* — активированный родопсин, Gt — трансдьюин, Gt* — активированный трансдьюин, ГДФ — гуанозиндифосфат, ГТФ — гуанозинтрифосфат, ФДЭ-6 — фосфодиэстераза-6, цГМФ — цик-лический гуанозинмонофосфат, ГМФ — гуанозинмонофосфат, ГЦ — гуанилатциклизаза, рек — рековерин, РК — ро-допсинкиназа, Ар — арестин, R*-Ф — фосфорилированный метародопсин.

несколько G-белков, это и представляет собой первую стадию амплификации (усиление сигнала) в каскаде фототрансдукции, что приводит к открытию нескольких тысяч каналов. После генерации ответа фоторецептор возвращается в исходное темновое состояние, в котором цГМФ-зависимые каналы открыты. Регуляция происходит по принципу обратной связи. Закрытие цГМФ-зависимых каналов прекращает вход ионов натрия и кальция в клетку, при этом ток кальция из цитоплазмы продолжается, что приводит к снижению концентрации кальция в цитоплазме, в ответ активируются кальций-зависимые гуанилаткиназы, увеличивается концентрация цГМФ, каналы открываются. Снижение внутриклеточного кальция влияет и на другие кальций-связывающие белки-посредники (рековерин, GCAP, кальмодулин). В частности, рековерин меняет чувствительность родопсинкиназы к кальцию, происходит активное фосфорилирование метародопсина II, это подготавливает активированный рецептор (R^*) к связыванию с арестином, последний блокирует каталитические центры рецептора (Arshavsky, Burns, 2014; Lamb, 2022) (рис. 1б). Безусловно, снижение уровня кальция играет значительную роль в возвращении фоторецептора в темновое состояние, но существуют и другие механизмы регуляции. Например, выключение активных форм фосфодиэстераз путем ускорения ГТФ-азной активности. Ключевым фактором будет белок RGS9-1, который связывается с активированным комплексом ($G_t^*—\text{ФДЭ-6}$), в результате происходит диссоциация G_{ta} —ГДФ и ФДЭ-6 (рис. 1в). Высокая чувствительность к свету делает родопсин хорошим кандидатом для оптопротезирования, тем не менее, для повторной активации родопсина необходима регенерация и наличие специализированных для фоторецепторных клеток ферментных систем и транспортеров, что нужно учитывать в искусственных гетерологических системах.

Вторым нейроном, получающим сигнал от фоторецепторов, является bipolarная клетка, поэтому при гибели фоторецепторов слой bipolarных клеток может быть использован для экспрессии генов светочувствительных белков, таким образом превращая их в псевдорецепторы. В первом синапсе зрительной системы от фоторецептора к bipolarной клетке происходит разделение на ON- и OFF-пути, которые кодируют увеличение и уменьшение интенсивности света соответственно. Такое разделение поддерживается и в высших зрительных центрах. Наиболее изучен сигнальный каскад в ON-биполярных клетках. Это сложный механизм, опосредованный G-белком, позволя-

ющим регулировать чувствительность в темноте и в то же время передавать сигналы при ярком освещении с высоким времененным разрешением. В темноте фоторецепторами в синаптическую щель непрерывно высвобождается глутамат, на свету выход глутамата значительно снижается. Глутамат связывается с метаботропным рецептором (mGluR6) ON-биполярных клеток, что приводит к активации сигнального пути через G_o . Активация α -субъединицы G-белка происходит путем связывания с ГТФ, комплекс G_{ao} —ГТФ взаимодействует с C-концом TRPM1, а комплекс субъединиц $G_{\beta}G_{\gamma}$ с N-концом TRPM1, что приводит к конформационным изменениям, в результате которых канал TRPM1 закрывается. При воздействии света возникает гиперполяризация фоторецептора, количество глутамата в синаптической щели уменьшается, происходит деактивация mGluR6, большая часть белка G_o находится в неактивной форме, где G_{ao} —ГДФ связан с $G_{\beta}G_{\gamma}$ и канал TRPM1 открывается (рис. 2) (Xu et al., 2016).

Метаботропные глутаматные рецепторы (mGluRs) широко распространены в сетчатке и играют значительную роль в передаче сигнала от фоторецепторов. Различные типы mGluRs (от mGluR1 до mGluR8) обнаружены не только в bipolarных клетках, но и горизонтальных, амакриновых, ганглиозных и даже фоторецепторных клетках различных представителей царства животных (Dhingra, Vardi, 2012). Все mGluRs модулируют ионные токи опосредованно через G-белки, в большинстве через G_q . Таким образом, внутриклеточный домен метаботропного глутаматного рецептора способен селективно связываться с G-белками, активируя каскадный механизм передачи сигнала, что используют при создании химерных конструкций.

Еще один кандидат для оптопротезирования — незрительный пигмент меланопсин позвоночных, который синтезируется в субпопуляции внутренних ганглиозных клеток сетчатки. Филогенетически меланопсин близок к рабдомерным опсинам беспозвоночных (R-опсинам), после выцветания или отбеливания способен к восстановлению. В результате фотостимуляции синим светом меланопсин переходит в *транс*-форму — метамеланопсин, но в отличие от метародопсина сохраняет свой хромофор и регенерирует в 11-*цис*-форму. Благодаря способности конвертировать хромофор между 11-*цис*- и *транс*-формой и возвращаться в темновое состояние после поглощения кванта света меланопсин называют бистабильным пигментом. В клетках млекопитающих меланопсин регулирует различные процессы (синхронизация циркадных ритмов

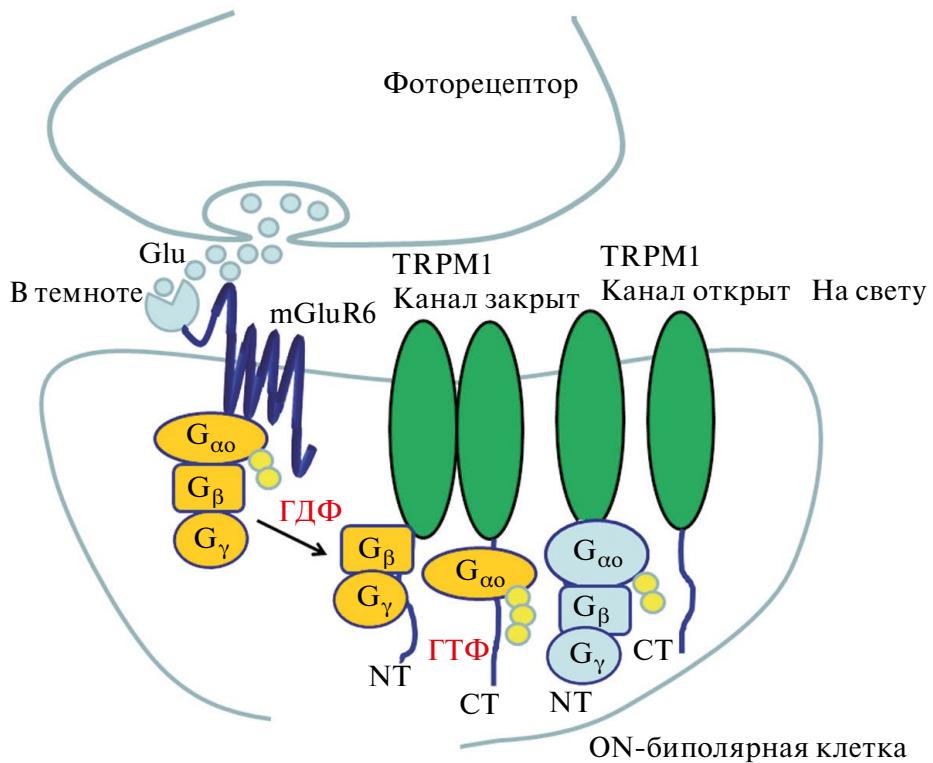


Рис. 2. Схема активации TRPM1-канала в ON-биполярных клетках.

Обозначения: Glu — глутамат, mGluR6 — метаботропный рецептор mGluR6 ON-биполярных клеток, TRPM1 — канал переходного рецепторного потенциала подсемейства M, ГДФ — гуанозиндифосфат, ГТФ — гуанозинтрифосфат, NT — N-конец, CT — C-конец.

со светом: регуляция размера зрачка, модуляция сна, подавление мелатонина шишковидной железой), активируется синим, деактивируется желтым светом. Меланопсин и другие рабдомерные опсины артрапод и моллюсков активируют в клетках $G_{\alpha_{q/11}}$ -сигнализацию (Terakita, 2005; Bailes, Lucas, 2013). В гетерологических системах меланопсин человека активирует также и $G_{i/o}$ пути, а куриный меланопсин и G_s -активность. Меланопсин способен обеспечить клетке достаточно высокую чувствительность к свету (в 3 раза больше, чем опсины 1-го типа), для физиологического ответа клеткам требуется 10^{12} фотонов/($\text{см}^2 \times \text{с}$) (Baker, Flannery, 2018).

Возможный кандидат для оптопротезирования — колбочковый опсин, который также обеспечивает достаточную высокую чувствительность клетке. Продемонстрировано (Berry et al., 2019), что опсин зеленых колбочек человека, экспрессированный в гангиозных клетках сетчатки и в модельных клеточных системах (HEK293) имеет значительно более быстрый ответ на световую стимуляцию, чем родопсин (почти в 10 раз быстрее).

Один из факторов, влияющих на ответ клетки на свет, — специфичность связывания с G-белком. Показано, что опсины способны взаимодействовать более чем с одним G-белком (Bailes, Lucas, 2013; Masuho et al., 2015; Ballister et al., 2018). Например, родопсин и опсин длинноволновых колбочек связываются с G_t и с G_o , которые принадлежат семейству $G_{i/o}$. Человеческий меланопсин способен взаимодействовать не только с G_q , но и с $G_{i/o}$ (Bailes, Lucas, 2013). Исследована (Ballister et al., 2018) активность натуральных и химерных опсинов и способность связывания их с различными G-белками в модельных клетках. Наибольшая неселективная активность обнаружена у родопсина по отношению к $G_{i/o/t}$, в частности бычий родопсин способен связываться с G_i и в меньшей степени с G_o (Leemann, Kleinlogel, 2023). Как показало тестирование в гетерологических системах, опсин длинноволновых колбочек и химерный опсин (AmphiOp1), созданный на основе родопсина человека и ланцетника *Branchiostoma belcheri*, характеризуется высокой селективностью к G_i и G_o . Опсины некоторых беспозвоночных (*Jellyfish*) показывают сродство

к G_s , сигнальный путь приводит к увеличению цАМФ в клетке.

Понимание специфичности клеточных сигнальных путей, опосредованных G-белками, — важнейший шаг для разработки новых оптогенетических инструментов на основе опсинов 2-го типа.

ХИМЕРНЫЕ СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ GPCRs

Химеры на основе каналородопсинов (C1V1, ChEF и ChIEF) характеризуются низкой чувствительностью (один квант света открывает один ионный канал). Альтернативным решением стало создание химерных конструкций на основе GPCRs (opto-GPCRs). Такие белки состоят из светочувствительного домена и измененного C-конца, активирующего G-белок. Первые химеры (opto- β 2AR) были созданы на основе родопсина и β 2-адренорецептора (β 2AR), при этом были сохранены внеклеточные домены родопсина, а внутриклеточные домены были заменены на β 2AR (Kim et al., 2005). Позднее появились химерные белки (opto- α 1AR), созданные на основе α 1-адренорецептора (α 1AR) (Airan et al., 2009). Химерный опсин opto- α 1AR, трансдуцированный в гетерологическую систему, при световой стимуляции активировал G_q , что привело к повышению Ca^{2+} , а в результате фотостимуляции химерного белка opto- β 2AR через G_q -сигнализацию увеличилась концентрация цАМФ в клетке. Модифицированные белки на основе родопсина изменили свою специфичность связывания с G_t на G_q и G_s , полученные ответы на световую стимуляцию сопоставимы с ответами адренорецепторов дикого типа (Airan et al., 2009).

Еще один светочувствительный химерный белок создан на основе родопсина с заменой C-конца на СТ-домен метаботропного серотонинового рецептора (5-HT1A). Такая химера (Rh-CT5-HT1A) активировала $G_{i/o}$ -сигнализацию (Oh et al., 2010).

Обсуждаемые выше химерные конструкции были созданы на основе GPCRs класса А. Однако идея придания светочувствительности ON-биполярным клеткам сетчатки, сигнальный каскад в которых запускается метаботропными глутаматными рецепторами, привела к созданию химеры opto-mGluR6, сочетающей в себе внутриклеточный домен от метаботропного глутаматного рецептора mGluR6 (GPCR класс C) и внеклеточный домен от меланопсина (GPCR класс A) (Wyk et al., 2015; Kleinlogel, 2016). Выбор меланопсина в качестве свето-

чувствительного белка обусловлен его особенностями — устойчивостью к обесцвечиванию и связанностью хромофора с белковой частью опсина после фотоизомеризации. Внутриклеточные домены меланопсина, а именно: вторая и третья внутриклеточные петли (IL-2 и IL-3) заменены на соответствующие петли mGluR6. Таким образом, меланопсиновая часть рецептора выполняет светочувствительную функцию, а внутриклеточный домен mGluR6 (IL-2, IL-3 и C-конец белковой молекулы) активирует сигнальные пути клетки (Wyk et al., 2015; Kleinlogel, 2016; Leemann, Kleinlogel, 2023). В химере β Rhod- β 2AR последовательно заменили IL-2, IL-3 и C-конец родопсина гомологичными доменами β 2AR. Замена IL-3 привела к изменению селективности G-белка по пути G_q -активности (Leemann, Kleinlogel, 2023). А в химере Mela(trunc)-mGluR6(IL-3⁺CT) стимулировали G_i -сигнализацию. Показано также, что mGluR6 может не только активировать G_o и G_i , но и G_t (Tian, Kammermeier, 2006; Leemann, Kleinlogel, 2023). Продемонстрировано (Ballister et al., 2018), что в тестовых клеточных системах родопсин человека является $G_{i/o/t}$ -связанным опсином. Опсин длинноволновых колбочек оказался активен в отношении G_i и G_t . Это и объясняет эффективность применения родопсина и опсина средневолновых колбочек сетчатки в ON-биполярных клетках для восстановления зрения (Gaub et al., 2014; Cehajic-Kapetanovic et al., 2015).

ТЕСТИРОВАНИЕ ОПТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИНСТРУМЕНТОВ В ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКИХ ЭКСПРЕССИОННЫХ СИСТЕМАХ

В настоящее время достаточно широко используют гетерологические экспрессионные системы для воссоздания различных сигнальных путей в клетке. Использование управляемой стимуляции внутриклеточных молекулярных механизмов в модельной клетке позволяет протестировать активность белков, каналов, рецепторов еще до внедрения генетических конструктов в организм животного. Для подобных исследований часто используют различные клеточные линии, например HEK293 (human embryonic kidney 293), COS (фибробластоподобные клетки, полученные из ткани почек обезьяны), СНО (эпителиальные клетки, производные клеток яичника китайского хомячка), ВНК (линия клеток, полученная из почек детенышем хомячка). Клеточная линия HEK293 получена путем трансформации эмбриональных клеток почек человека с помощью редуцированного адено-вируса человека 5-го типа (Graham et al., 1977),

позднее появились ее подтипы и производные HEK293-T и HEK293-F. Преимущества таких клеточных линий — простота культивирования, высокая трансфективность, использование легкодоступных реагентов трансфекции — фосфата кальция или полиэтиленимина (PEI), быстрая скорость роста и способность рости в среде без сыворотки. Клетки одной линии однородны по составу, размеру, форме, им свойственна высокая эффективность экспрессии и низкие эндогенные токи (Thomas, Smart, 2005). Для тестирования в качестве гетерологической экспрессионной системы часто выбирают клетки линии HEK293-T (Карпушев, Чилигина 2023; Masseck et al., 2014; Wyk et al., 2015; Spoida, 2016; Ballister et al., 2018; Kralik et al., 2022). В такую модельную систему путем трансфекции (трансдукции) встраивается генетический конструкт (вектор), содержащий гены светочувствительного белка, а также, если это необходимо, гены ионных каналов, обеспечивающих реализацию сигнальных путей внутри клетки. Активация светочувствительного белка будет отражаться в изменении канальных ионных токов, регистрируемых электрофизиологическими методиками, в частности методом patch-clamp. В случае опсинов 1-го типа исследуются катионные или анионные токи, проходящие непосредственно через сам светочувствительный белок-канал (Boyden et al., 2005; Tomita et al., 2014; Govorunova et al., 2015). При исследовании активности опсинов 2-го типа проводят совместную трансфекцию векторов, содержащих гены светочувствительных белков и ионных каналов, управляемых G-белками, или используют клеточные линии HEK293, стабильно экспрессирующие ионные каналы, например G-белок-связанные калиевые каналы внутреннего выпрямления GIRKs (G-protein-gated inwardly rectifying potassium channels) или Kir3. При тестировании опсинов 2-го типа в гетерологических системах возникает ряд вопросов. Во-первых, обеспечена ли клетка необходимым количеством эндогенных G-белков для реализации сигнальных путей? Показано, что некоторые G-белки, например G_i , действительно присутствуют в клетках HEK293-T, однако белок G_o не был обнаружен (Law et al., 1993; Thomas, Smart, 2005). Во-вторых, как добиться регенерации опсинов после стимуляции светом? Это особенно важно при использовании режима многократной повторной световой стимуляции. Выбор GIRKs при тестировании активности опсинов определяется их функциональной регуляцией. Считается, что внутреннее выпрямление, наблюдаемое во всех GIRKs, возникает в результате внутренней блокады канала внутриклеточными катионами,

которые блокируют внешний калиевый ток за счет прикрепления к трансмембранным и цитоплазматическим доменам канала, образуя внутренний шлюз. Каналы семейства GIRKs представляют собой гомомерные или гетеромерные комплексы субъединиц (GIRK1 ($Kir3.1/Kcnj3$), GIRK2 ($Kir3.2/Kcnj6$), GIRK3 ($Kir3.3/Kcnj9$) и GIRK4 ($Kir3.4/Kcnj5$), каждый имеет два трансмембранных домена и внутриклеточные N- и C-концевые домены. GIRKs сопряжены с G-белками, при этом $G_{i/o}$ активируют, а G_q ингибируют каналы (Lei et al., 2000; Bünenmann et al., 2001). В результате активации GPCR происходит диссоциация тримерного G-белка на содержащую ГТФ α -субъединицу и димер из $\beta\gamma$ -субъединиц ($G_{\beta\gamma}$), происходит активация калиевого канала внутреннего выпрямления, что приводит к открытию канала и гиперполяризации клетки. Таким образом, фотоактивация опсинов 2-го типа как рецепторов, сопряженных с G-белками, встроенных в результате экзогенной экспрессии в модельную клетку, будет изменять ток калиевых каналов внутреннего выпрямления. Исследование активности GIRKs в функциональной тестовой клеточной системе позволит смоделировать сигнальные пути передачи светового сигнала внутри ON-биполяров. Работа GIRKs зависит от концентрации $\beta\gamma$ -димеров G-белков (Hommers et al., 2003; Skylar, Bruchas, 2017). Известно, что TRPM1-канал ON-биполярных клеток закрывается комплексом $G_{\beta\gamma}$ при участии G_{ao} ГДФ. Однако эффекты взаимодействия субъединиц G-белка с GIRK и TRPM1 противоположны: комплекс $G_{\beta\gamma}$ открывает GIRK, но закрывает TRPM1, $G_{ai/o}$ ГДФ снижает базовый ток GIRK, G_{ao} ГДФ, по-видимому, увеличивает ток TRPM1. Тем не менее тестирование различных опсинов в гетерологических клеточных системах, содержащих GIRKs, будет отражать и особенности взаимодействия субъединиц G-белков в TRPM1-каналах. В модельных клетках исследуют активность натуральных светочувствительных белков: родопсина позвоночных vRh (Masseck et al., 2014), опсина коротковолновых колбочек vSWO (Masseck et al., 2014), опсина средневолновых колбочек OPN1MW (Berry et al., 2019; Kralik et al., 2022), опсина длинноволновых колбочек vLWO, меланопсина мыши mOpn4L, меланопсина человека hOpn4L (Spoida, 2016; Kralik et al., 2022), опсина медузы JellyOp (Wyk, Kleinlogel, 2023), сравнивая белки дикого типа с различными химерными конструкциями: opto-mGluR6, Mela(CT+IL-3mGluR6), Mela(CTmGluR6), OPN1MW(CTmGluR6) (Wyk et al., 2015; Kralik et al., 2022). Активность опсинов при световой стимуляции оценивают на основе

Таблица 1. Характеристики сигнального пути, реализуемого в ответ на световую стимуляцию натулярных и химерных опсинов в гетерологической экспрессионной системе (HEK293)

Светочувствительный белок	Характеристика световой стимуляции	Путь G-белка	τ ON, с	τ OFF, с	Источник
vRh	475	$G_{i/o}$	3.4	33	Masseck et al., 2014
vSWO	450	$G_{i/o}$	1.2	12	Masseck et al., 2014
vLWO	590	$G_{i/o}$	1.1	11	Masseck et al., 2014
Rh	485	$G_{i/o}$	9–10	43–53	Oh et al., 2010
5-HT _{1A}	485	$G_{i/o}$	1–2	35–48	Oh et al., 2010
Rh-CT _{5-HT1A}	485	$G_{i/o}$	9–10	48–55	Oh et al., 2010
JellyOp-Gas	490	G_s	0.03 ± 0.001	15.3 ± 0.1	Wyk, Kleinlogel, 2023
hOpn4L	479 — активация 560 — деактивация	$G_q, G_{i/o}$	2.0–2.4	10–12	Spoida, 2016
mOpn4L	479 — активация 560 — деактивация	$G_q, G_{i/o}$	1.4–1.7	9–10	Spoida, 2016
Melanopsin WT	470	G_q, G_i	1.6 ± 0.3	17.6 ± 4.8	Kralik et al., 2022
OPN1MW	470	G_i	0.9 ± 1.2	8.1 ± 4.3	Kralik et al., 2022
Mela(CT+IL-3mGluR6)	470	G_o	1.6 ± 0.3	12.8 ± 1.7	Kralik et al., 2022
Mela(CTmGluR6)	470	G_o	0.7 ± 0.2	12.1 ± 2.3	Kralik et al., 2022
OPN1MW(CTmGluR6)	470	G_o	0.8 ± 0.2	9.8 ± 2.2	Kralik et al., 2022

Примечание: τ ON (с) — постоянная времени активации калиевого канала внутреннего выпрямления (GIRK) на включение светового стимула, τ OFF (с) — постоянная времени деактивации GIRK на выключение светового стимула; vSWO — коротковолновой опсин колбочек мыши, vLWO — длинноволновой опсин человека, vRh — родопсин позвоночных, Rh — родопсин, 5-HT_{1A} — подтип серотонинового рецептора, Rh-CT_{5-HT1A} — химерный белок с заменой С-терминального домена на домен 5-HT_{1A}, JellyOp-Gas — химерный опсин кубомедузы с усиленной селективностью к G_s , hOpn4L — меланопсин человека, mOpn4L — меланопсин мыши, Melanopsin WT — меланопсин дикого типа, OPN1MW — средневолновой опсин колбочек, Mela(CT+IL-3mGluR6) — химерный белок на основе меланопсина и метаботропного глутаматного рецептора mGluR6, в котором третья внутриклеточная петля IL-3 была заменена на такую же mGluR6, Mela(CTmGluR6) — химерный белок на основе меланопсина и метаботропного глутаматного рецептора mGluR6, OPN1MW(CTmGluR6) — химерный белок, на основе средневолнового опсина и метаботропного глутаматного рецептора mGluR6.

амплитуды канальных токов и кинетики GIRKs, используя постоянную времени на включение (τ ON) и выключение (τ OFF) светового стимула (табл. 1).

Параметры световой стимуляции, а именно: длительность, интенсивность, частота, а также индивидуальный диапазон спектров поглощения опсинов будут влиять на токи GIRK в гетерологической системе (Oh et al., 2010; Masseck et al., 2014; Wyk et al., 2015; Spoida, 2016; Kralik et al., 2022; Wyk, Kleinlogel, 2023). Показано (Masseck et al., 2014), что длительность световой стимуляции опсинов влияет на амплитуду тока GIRK. Авторы сравнили между собой различные опсины: родопсин позвоночных (vRh), коротковолновые опсины колбочек мыши (vSWO) и длинноволновые опсины колбочек человека (vLWO). Для достижения 50% канального тока

GIRK достаточно 50 мс световой стимуляции в случае vRh, 200 мс — для vLWO, а 500 мс — для vSWO. Многократная ритмическая фотостимуляция vLWO и vSWO в течение 1 с не повлияла на амплитуду канального тока GIRK, но при повторной световой стимуляции vRh амплитуда ответа снизилась до 20% (Masseck et al., 2014). Интенсивность светового потока также отражается на величине канальных токов, при ее снижении до 0.002 мВт/мм² амплитуда ответа уменьшилась до 70% для vRh, до 30% — для vLWO и до 20% — для vSWO от исходного уровня. Максимальный ток GIRK был получен при 2 мВт/мм². Для каждого опсина (vRh, vSWO, vLWO) подобраны соответствующие индивидуальным пикам максимальной спектральной чувствительности параметры фотостимуляции (475, 360, 550–560 нм соответственно). Напри-

мер, при стимуляции vSWO в диапазоне от 380 до 400 нм наблюдали наибольшую активацию канальных токов GIRK, а уже при 510 нм токи были не более 10% от максимальных. В тестовых системах родопсин проявил себя как наиболее чувствительный к интенсивности светового потока, но вместе с тем и наиболее уязвимый к выцветанию пигмент, по кинетике уступающий колбочковым опсинам. Интересно, что ответы на световую стимуляцию меланопсина отличались в зависимости от воздействующего стимула. При фотостимуляции мышного и человеческого меланопсина (mOpn4L и hOpn4L) синим светом (470 нм 1.8 мВ/мм²) на 10 с обнаружены значительные токи GIRK. В то же время в ответ на включение желтого света (560 нм 1.2 мВ/мм²) на 50 с регистрировали деактивацию канальных токов, которая для hOpn4L начиналась с 560 нм и продолжалась до 620 нм для mOpn4L. Максимум поглощения меланопсина находится в диапазоне от 460 до 490 нм. Возможно, светоиндуцированное фосфорилирование на С-конце вызвало деактивацию меланопсина (Blasic et al., 2012). Повторная ритмическая стимуляция в режиме 20 вспышек с частотой 1/30 с и со спектральным максимумом 470 и 560 нм соответственно для каждого меланопсина привела к снижению амплитуды канальных токов на 50%. Минимальная длительность световой стимуляции для получения 90% активации канала составила 100 мс в случае mOpn4L и более 500 мс для hOpn4L, при этом мышный меланопсин давал более быстрый ответ на включение и на выключение стимула (Spoida, 2016). Для меланопсина характерен определенный диапазон наибольшей чувствительности от 410 до 470 нм, в котором для получения максимального тока GIRK достаточно 10 с стимуляции (0.03 мВт/мм², 470 нм). Основной путь, реализуемый в ответ на световую сигнализацию опсинов, — это внутриклеточная сигнализация, опосредованная G_{i/o}-белками, вызывающая токи GIRKs (Masseck et al., 2014). Однако на примере человеческого меланопсина (hOpn4L) доказана (Spoida, 2016) возможность активации G_q-внутриклеточного пути в гетерологической системе. В тестовых системах меланопсин обладает достаточно высокой чувствительностью, быстрой кинетикой и, по сравнению с родопсином, является устойчивым к выцветанию (табл. 1). При разработке химерных конструкций ставили задачу ускорить кинетику активации при сохранении высокой светочувствительности химерного белка. В одной из последних работ (Wyk, Kleinlogel, 2023) описан новый оптогенетический инструмент, исследованный в тестовых клеточных системах, — это химерный опсин кубомедузы с усиленной

селективностью к G_s — JellyOp-Gas. Химерный JellyOp-Gas продемонстрировал высокую скорость внутриклеточной сигнализации, работая в 30 раз быстрее, чем любой опсин сопряженный с G_{i/o}. Полученные канальные токи GIRK значительно превышали токи, вызываемые JellyOp дикого типа. Такая активность химерного белка обусловлена, по мнению авторов, конститутивным связыванием JellyOp-Gas с G_s, что обеспечило большую диссоциацию комплекса G_{βγ}, что и способствовало увеличению канальных токов GIRK (Wyk, Kleinlogel, 2023).

В последнее время при разработке химерных рецепторов на основе opto-GPCRs все большее внимание уделяют изменению внутриклеточной сигнализации, опосредованной G-белками (G_{i/o/t} или G_q) (Masseck et al., 2014; Wyk et al., 2015; Kleinlogel, 2016; Spoida, 2016; Kralik et al., 2022; Wyk, Kleinlogel, 2023). Особенный интерес для генной терапии вызывают химерные конструкции светочувствительных белков, разработанные на основе метаботропного глутаматного рецептора opto-mGluR6, с заменой внутриклеточной петли (IL-3) от mGluR6 и светочувствительного домена от меланопсина или средневолнового опсина колбочек (OPN1MW). Модификации внутриклеточных петель и проксимального С-конца химерных белков позволяют увеличить кинетику и амплитуду светоуправляемых ответов за счет изменения тропизма G-белков. Химера opto-mGluR6, где светочувствительным доменом является меланопсин, меняет тропизм G_{α_q} на G_{α_o}, свойственный ON-биполярным клеткам. В тестовых системах показано, что канальные токи, вызванные фотостимуляцией химерных белков Mela(CT+IL-3mGluR6) (44.0 ± 3.7 pA/pF), Mela(CTmGluR6) (98.0 ± 9.7 pA/pF), OPN1MW(CTmGluR6) (78.0 ± 9.6 pA/pF), значительно выше, по сравнению с токами, инициируемыми меланопсином дикого типа (22 ± 5.7 pA/pF) и OPN1MW (46.1 ± 7.8 pA/pF) (Kralik et al., 2022). Химеры также характеризовались улучшенной кинетикой и на включение, и на выключение световой стимуляции (табл. 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Необходимым этапом в исследовании светочувствительных белков как оптогенетических инструментов для терапевтического восстановления зрительных функций при тяжелых формах наследственных дегенеративных заболеваний является тестирование натуральных и химерных белков в экспрессионных гетерологических системах. Сопоставление параметров световой стимуляции (спектральный диапазон, интен-

сивность, длительность, частота) с характеристиками ответа (амплитуда канальных токов, кинетика активации и деактивации каналов) позволяет комплексно оценить активность опсинов в тестовых системах. Опсины 2-го типа как рецепторы, сопряженные с G-белками, способные активировать внутриклеточные каскадные сигнальные механизмы, обеспечивают большую чувствительность клеток к свету и становятся наиболее перспективными оптогенетическими инструментами для генной терапии. Реконструкция сигнальных путей в гетерологических экспрессионных системах нацелена на моделирование механизмов передачи светового сигнала в специализированных клетках сетчатки. Для воспроизведения каскада ON-биполярных клеток в экспрессионных гетерологических системах применяют химерные конструкции на основе метаботропного глутаматного рецептора (opto-mGluR6). Модификация внутриклеточных доменов и C-конца химерных белков дает возможность влиять на тропизм G-белков регулировкой светоуправляемого ответа. Активация сигнального пути посредством световой стимуляции белка и возникающий ответ каналов внутреннего выпрямления GIRKs позволяют проводить отбор оптогенетических инструментов в клетке, которая становится функциональной тестовой системой. Химерный светочувствительный белок должен сочетать в себе высокую чувствительность, улучшенные кинетические свойства, обеспечивая ON- и OFF-пути передачи светового сигнала, приближенные к таковым в здоровой сетчатке. В дальнейшем использование тестовых систем позволит повысить эффективность оптогенетического протезирования сетчатки.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаю свою благодарность и признательность Михаилу Леонидовичу Фирсову за ценные замечания и редактирование текста рукописи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа поддержана Минобрнауки России, соглашение № 075-15-2022-296, на создание и развитие научного центра мирового уровня Павловский центр “Интегративная физиология — медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо собственных исследований с участием людей или животных в качестве объектов изучения.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Как автор данной работы я заявляю, что у меня нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Долгих Д.А., Малышев А.Ю., Саложин С.В. Анионный канальный родопсин, экспрессированный в культуре нейронов и *in vivo* в мозге мыши: светоиндуцированное подавление генерации потенциалов действия // ДАН. 2015. Т. 465 (6). С. 737–740.
- Карпушев А.В., Чилигина Ю.А. Электрофизиологическое тестирование активации G-белок-зависимого сигнального каскада светочувствительными химерными рецепторами // Мат. III Всерос. науч. конф. с междунар. уч. “Оптогенетика+ 2023” (СПб., 6–8 апреля 2023 г.). СПб.: ИЭФБ, 2023. С. 48–49.
- Кирпичников М.П., Островский М.А. Оптогенетика и зрение // Вестн. РАН. 2019. Т. 89 (2). С. 125–30.
- Колесов Д.В., Соколинская Е.Л., Лукьянов К.А., Богданов А.М. Молекулярные инструменты направленного контроля электрической активности нервных клеток. Ч. I // Acta Naturae. 2021. Т. 13 (3). С. 52–64.
- Островский М.А. Молекулярная физиология зрительного пигмента родопсина: актуальные направления // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2020. Т. 106 (4). С. 401–420.
- Петровская Л.Е., Рошин М.В., Смирнова Г.Р. и др. Бицистронная генетическая конструкция для оптогенетического протезирования рецептивного поля ганглиозной клетки дегенеративной сетчатки // ДАН. 2019. Т. 486. С. 258–261.
- Airan R.D., Thompson K.R., Feno L.E. et al. Temporally precise *in vivo* control of intracellular signaling // Lett. Nat. 2009. V. 458. P. 1025–1029.
- Arshavsky V., Burns M. Current understanding of signal amplification in phototransduction // Cell. Logist. 2014. V. 4 (2). P. e28680. <https://doi.org/10.4161/cl.29390>
- Bailes H., Lucas R. Human melanopsin forms a pigment maximally sensitive to blue light ($\lambda_{\text{max}} \approx 479$ nm) supporting activation of Gq/11 and Gi/o signalling cascades // Proc. Biol. Sci. 2013. V. 280. P. 20122987. <http://doi.org/10.1098/rspb.2012.2987>
- Baker C., Flannery J. Innovative optogenetic strategies for vision restoration // Front. Cell. Neurosci. 2018. V. 12. P. 316. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00316>
- Ballister E.R., Rodgers J., Martial F., Lucas R.J. A live cell assay of GPCR coupling allows identification of optogenetic tools for controlling Go and Gi signaling // BMC Biol. 2018. V. 16. P. 10. <https://doi.org/10.1186/s12915-017-0475-2>
- Berry M.H., Holt A., Salari A. et al. Restoration of high-sensitivity and adapting vision with a cone opsin // Nat. Com. 2019. V. 10. P. 1221. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09124-x>

- Bi A., Cui J., Ma Yu-P. et al.* Ectopic expression of a microbial-type rhodopsin restores visual responses in mice with photoreceptor degeneration // *Neuron*. 2006. V. 50. P. 23–33.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.02.026>
- Bird A.C.* Clinical investigation of retinitis pigmentosa // *Aust. N. Z. J. Ophthalmol.* 1988. V. 16. P. 189–198.
- Blasic J.R.Jr., Brown L.R., Robinson Ph.R.* Light-dependent phosphorylation of the carboxy tail of mouse melanopsin // *Cell. Mol. Life Sci.* 2012. V. 69 (9). P. 1551–1562.
<https://doi.org/10.1007/s00018-011-0891-3>
- Boyden E., Zhang F., Bamberg E. et al.* Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity // *Nat. Neurosci.* 2005. V. 8. P. 1263–1268.
<http://dx.doi.org/10.1038/nn1525>
- Bünemann M., Bucheler M.M., Philipp M. et al.* Activation and deactivation kinetics of alpha 2A- and alpha 2C-adrenergic receptor-activated G protein-activated inwardly rectifying K⁺ channel currents // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 47512–47517.
<https://doi.org/10.1074/jbc.m108652200>
- Cehajic-Kapetanovic J., Eleftheriou C., Allen A.E. et al.* Restoration of vision with ectopic expression of human rod opsin // *Curr. Biol.* 2015. V. 25. P. 2111–2122.
<https://doi.org/10.1016%2Fj.cub.2015.07.029>
- Covington H.E., Lobo M.K., Maze I. et al.* Antidepressant effect of optogenetic stimulation of the medial prefrontal cortex // *J. Neurosci.* 2010. V. 30 (48). P. 16082–16090.
<https://doi.org/10.1523%2FJNEUROSCI.1731-10.2010>
- Deisseroth K., Feng G., Majewska A. et al.* Next-generation optical technologies for illuminating genetically targeted brain circuits // *J. Neurosci.* 2006. V. 26 (41). P. 10380–10386.
<https://doi.org/10.1523/jneurosci.3863-06.2006>
- Deisseroth K.* Optogenetics // *Nat. Methods.* 2011. V. 8 (1). P. 26–29.
<https://doi.org/10.1038/nmeth.f.324>
- Deisseroth K.* Optogenetics: 10 years of microbial opsins in neuroscience // *Nat. Neurosci.* 2015. V. 8 (9). P. 1213–1225.
<https://doi.org/10.1038/nn.4091>
- Dhingra A., Vardi N.* “mGlu receptors in the retina” — WIREs membrane transport and signaling // *Wiley Interdiscip. Rev. Membr. Transp. Signal.* 2012. V. 1 (5). P. 641–653.
<https://doi.org/10.1002/wmts.43>
- Doroudchi M., Greenberg K., Liu J. et al.* Virally delivered channelrhodopsin-2 safely and effectively restores visual function in multiple mouse models of blindness // *Mol. Ther.* 2011. V. 19. P. 1220–1229.
<https://doi.org/10.1038/mt.2011.69>
- Firsov M.L.* Perspective for the optogenetic prostheticization of the retina // *Neurosci. Behav. Physi.* 2019. V. 49. P. 192–198.
<https://doi.org/10.1007/s11055-019-00714-2>
- Flock T., Hauser A., Lund N. et al.* Selectivity determinants of GPCR-G-protein binding // *Nature*. 2017. V. 545 (7654). P. 317–322.
<https://doi.org/10.1038/nature22070>
- Ganjawala T.H., Lu Q., Fenner M.D. et al.* Improved CoChR variants restore visual acuity and contrast sensitivity in a mouse model of blindness under ambient light conditions // *Mol. Ther.* 2019. V. 27 (6). P. 1195–1205.
<https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.04.002>
- Gaub B.M., Berry M.H., Holt A.E. et al.* Restoration of visual function by expression of a light-gated mammalian ion channel in retinal ganglion cells or ON-bipolar cells // *PNAS USA*. 2014. V. 111 (51). P. E5574–83.
- Gorovunova E.G., Sineshchekov O.A., Janz R. et al.* Natural light-gated anion channels: a family of microbial rhodopsins for advanced optogenetics // *Science*. 2015. V. 349 (6248). P. 647–650.
<https://doi.org/10.1126/science.aaa7484>
- Graham F.L., Russell W.C., Smiley J. et al.* Characteristics of a human cell line transformed by DNA from human adenovirus type 5 // *J. Gen. Virol.* 1977. V. 36. P. 59–72.
<https://doi.org/10.1099/0022-1317-36-1-59>
- Guido M.E., Marchese N.A., Rios M.N. et al.* Non-visual opsins and novel photo-detectors in the vertebrate inner retina mediate light responses within the blue spectrum region // *Cell. Mol. Neurobiol.* 2022. V. 42 (1). P. 59–83.
<https://doi.org/10.1007/s10571-020-00997-x>
- Hofmann K.P., Lamb T.D.* Rhodopsin, light-sensor of vision // *Prog. Retin. Eye Res.* 2022. V. 93. P. 101116.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.preteyeres.2022.101116>
- Hommers L.G., Lohse M.J., Bünemann M.* Regulation of the inward rectifying properties of G-protein-activated inwardly rectifying K⁺ (GIRK) channels by G $\beta\gamma$ subunits // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278 (2). P. 1037–1043.
<https://doi.org/10.1074/jbc.m205325200>
- Kato M., Sugiyama T., Sakai K. et al.* Two opsin 3-related proteins in the chicken retina and brain: a TMT-type opsin 3 is a blue-light sensor in retinal horizontal cells, hypothalamus, and cerebellum // *PLoS One*. 2016. V. 11 (11). P. e0163925.
<https://doi.org/10.1371%2Fjournal.pone.0163925>
- Kim J.-M., Hwa J., Garriga P.* Light-driven activation of beta 2-adrenergic receptor signaling by a chimeric rhodopsin containing the beta 2-adrenergic receptor cytoplasmic loops // *Biochemistry*. 2005. V. 44. P. 2284–2292.
<https://doi.org/10.1021/bi048328i>
- Kim C.K., Adhikari A., Deisseroth K.* Integration of optogenetics with complementary methodologies in systems neuroscience // *Nat. Rev. Neurosci.* 2017. V. 18 (4). P. 222–235.
<https://doi.org/10.1038/nrn.2017.15>
- Kleinlogel S.* Optogenetic user’s guide to opto-GPCRs // *Front. Biosci.* 2016. V. 21. P. 794–805.
<https://doi.org/10.2741/4421>

- Koyanagi M., Terakita A.* Diversity of animal opsin-based pigments and their optogenetic potential // *Biochim. Biophys. Acta.* 2014. V. 1837. P. 710–716.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2013.09.003>
- Kralik J., Wyk M., Stocker N., Kleinlogel S.* Bipolar cell targeted optogenetic gene therapy restores parallel retinal signaling and high-level vision in the degenerated retina // *Comm. Biol.* 2022. V. 5. P. 1116.
<https://doi.org/10.1038/s42003-022-04016-1>
- Lagali P., Balya D., Awatramani G. et al.* Light-activated channels targeted to ON bipolar cells restore visual function in retinal degeneration // *Nat. Neurosci.* 2008. V. 11. P. 667–675.
<https://doi.org/10.1038/nn.2117>
- Lamb T.D.* Photoreceptor physiology and evolution: cellular and molecular basis of rod and cone phototransduction // *J. Physiol.* 2022. V. 600 (21). P. 4585–4601.
- Law S., Yasuda K., Bell G., Reisine T.* Gi alpha 3 and G(o) alpha selectively associate with the cloned somatostatin receptor subtype SSTR2 // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 10721–10727.
- Lei Q., Jones M.B., Talley E.M. et al.* Activation and inhibition of G protein coupled inwardly rectifying potassium (Kir3) channels by G protein $\beta\gamma$ subunits // *PNAS USA.* 2000. V. 97. P. 9771–9776.
<https://doi.org/10.1073/pnas.97.17.9771>
- Leemann S., Kleinlogel S.* Functional optimization of light-activatable opto-GPCRs: illuminating the importance of the proximal C-terminus in G-protein specificity // *Front. Cell Dev. Biol.* 2023. V. 11. P. 1053022.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1053022>
- Levitz J., Pantoja C., Gaub B. et al.* Optical control of metabotropic glutamate receptors // *Nat. Neurosci.* 2013. V. 16. P. 507–516.
<https://doi.org/10.1038/nn.3346>
- Lin J.Y., Lin M.Z., Steinbach P., Tsien R.Y.* Characterization of engineered channelrhodopsin variants with improved properties and kinetics // *Biophys. J.* 2009. V. 96 (5). P. 1803–1814.
<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2008.11.034>
- Lin J.Y.* A user's guide to channelrhodopsin variants: features, limitations and future developments // *Exp. Physiol.* 2011. V. 96. P. 19–25.
<https://doi.org/10.1113/expphysiol.2009.051961>
- Mathes T.* Natural resources for optogenetic tools // *Optogenetics* / Ed. A. Kianianmomeni. N.Y.: Springer, 2016. P. 19–36.
- Masseck O., Spoida K., Dalkara D. et al.* Vertebrate cone opsins enable sustained and highly sensitive rapid control of Gi/o signaling in anxiety circuitry // *Neuron.* 2014. V. 81. P. 1263–1273.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.01.041>
- Masuho I., Ostrovskaya O., Kramer G.* Distinct profiles of functional discrimination among G proteins determine the actions of G protein-coupled receptors // *Sci. Signal.* 2015. V. 8 (405). P. ra123.
<https://doi.org/10.1126/scisignal.aab4068>
- Milligan G., Kostenis E.* Heterotrimeric G-proteins: a short history // *Br. J. Pharmacol.* 2006. V. 147 (1). P. S46–S55.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706405>
- Nagata T., Koyanagi M., Lucas R., Terakita A.* An all-trans-retinal-binding opsin peropsin as a potential dark-active and light-inactivated G protein-coupled receptor // *Sci. Rep.* 2018. V. 8 (3535). P. 1–7.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-21946-1>
- Nagel G., Mockel B., Buldt G., Bamberg E.* Functional expression of bacteriorhodopsin in oocytes allows direct measurement of voltage dependence of light induced H⁺ pumping // *FEBS Lett.* 1995. V. 377. P. 263–266.
[https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)01356-3](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)01356-3)
- Nagel G., Ollig D., Fuhrmann M. et al.* Channelrhodopsin-1: a light-gated proton channel in green algae // *Science.* 2002. V. 296 (5577). P. 2395–2398.
<https://doi.org/10.1126/science.1072068>
- Nagel G., Szellas T., Huhn W. et al.* Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel // *PNAS USA.* 2003. V. 100 (24). P. 940–945.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1936192100>
- Neves S.R., Ram P.T., Iyengar R.* G-protein pathways // *Science.* 2002. V. 296 (5573). P. 1636–1639.
<https://doi.org/10.1126/science.1071550>
- Oh E., Maejima T., Liu C. et al.* Substitution of 5-HT1A receptor signaling by a light-activated G protein-coupled receptor // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285 (40). P. 30825–30836.
<https://doi.org/10.1074/jbc.m110.147298>
- Pugh E.N., Lamb T.D.* Phototransduction in vertebrate rods and cones: molecular mechanisms of amplification, recovery and light adaptation. Ch. 5 // *Handbook of biological physics* / Eds D.G. Stavenga, W.J. DeGrip, E.N. Pugh Jr. North-Holland, 2000. V. 3. P. 183–255.
- Riggsbee C.W., Deiters A.* Recent advances in the photochemical control of protein function // *Trends Biotechnol.* 2010. V. 28 (9). P. 468–475.
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.06.001>
- Rosenbaum D.M., Rasmussen S.G., Kobilka B.K.* The structure and function of G-protein-coupled receptors // *Nature.* 2009. V. 459 (7245). P. 356–363.
<https://doi.org/10.1038/nature08144>
- Rost B.R., Schneider-Warmer F., Schmitz D., Hegemann P.* Optogenetic tools for subcellular applications in neuroscience // *Neuron.* 2017. V. 96 (3). P. 572–603.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.09.047>
- Sahel J.-A., Boulanger-Scemama E., Pagot Ch. et al.* Partial recovery of visual function in a blind patient after optogenetic therapy // *Nat. Med.* 2021. V. 27. P. 1223–1229.
<https://doi.org/10.1038/s41591-021-01351-4>
- Skylar M.S., Bruchas M.R.* Optogenetic approaches for dissecting neuromodulation and GPCR signaling in neural circuits // *Curr. Opin. Pharmacol.* 2017. V. 32. P. 56–70.
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2016.11.001>

- Spoida K.* Melanopsin variants as intrinsic optogenetic on and off switches for transient versus sustained activation of G protein pathways // *Curr. Biol.* 2016. V. 26. P. 1206–1212.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.03.007>
- Stenkamp R.E., Filipek S., Driessens C.A. et al.* Crystal structure of rhodopsin: a template for cone visual pigments and other G protein-coupled receptors // *Biochim. Biophys. Acta.* 2002. V. 1565 (2). P. 168–182.
[https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(02\)00567-9](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(02)00567-9)
- Terakita A.* The opsins // *Genome Biol.* 2005. V. 6 (3). P. 213.
<https://doi.org/10.1186/gb-2005-6-3-213>
- Tian L., Kammermeier P.J.* G protein coupling profile of mGluR6 and expression of G alpha proteins in retinal ON bipolar cells // *Vis. Neurosci.* 2006. V. 23 (6). P. 909–916.
<https://doi.org/10.1017/s0952523806230268>
- Thomas P., Smart T.G.* HEK293 cell line: a vehicle for the expression of recombinant proteins // *J. Pharmacol. Toxicol. Meth.* 2005. V. 51. P. 187–200.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vascn.2004.08.014>
- Tomita H., Sugano E., Murayama N. et al.* Restoration of the majority of the visual spectrum by using modified *Volvox* channelrhodopsin-1 // *Mol. Ther.* 2014. V. 22. P. 1434–1440.
<https://doi.org/10.1038/mt.2014.81>
- Tye K.M., Deisseroth K.* Optogenetic investigation of neural circuits underlying brain disease in animal models // *Nat. Rev. Neurosci.* 2012. V. 13 (4). P. 251–266.
<https://doi.org/10.1038/nrn3171>
- Watanabe Y., Sugano E., Tabata K. et al.* Development of an optogenetic gene sensitive to daylight and its implications in vision restoration // *Regen. Med.* 2021. V. 6 (1). P. 64.
<https://doi.org/10.1038/s41536-021-00177-5>
- Wert K., Lin J.H., Tsang S.H.* General pathophysiology in retinal degeneration // *Dev. Ophtalmol.* 2014. V. 53. P. 33–43.
<https://doi.org/10.1159%2F000357294>
- Wu K., Kulpay M., Toameh D et al.* Retinitis pigmentosa: novel therapeutic targets and drug development // *Pharmaceutics.* 2023. V. 15 (2). P. 685.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020685>
- Wyk M., Kleinlogel S.A.* A visual opsin from jellyfish enables precise temporal control of G protein signaling // *Nat. Comm.* 2023. V. 14 (1). P. 2450.
<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1723578/v1>
- Wyk M., Pielecka-Fortuna J., Löwel S., Kleinlogel S.* Restoring the on switch in blind retinas: opto-mGluR6, a next-generation, cell tailored optogenetic tool // *PLoS Biol.* 2015. V. 13 (5). P. e1002143.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002143>
- Xu Y., Orlandi C., Cao Y. et al.* The TRPM1 channel in ON-bipolar cells is gated by both the α and the $\beta\gamma$ subunits of the G-protein Go // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 20940.
- Yizhar O., Fennell L.E., Prigge M. et al.* Neocortical excitation/inhibition balance in information processing and social dysfunction // *Nature.* 2011. V. 477. P. 172–178.
<https://doi.org/10.1038/nature10360>

Opsins and Their Testing in Heterological Expression Systems

Y. A. Chilagina

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

e-mail: julchil@mail.ru

The study of photosensitive proteins as optogenetic tools for the therapeutic restoration of visual functions in heterologous expression systems is a necessary step prior to their optogenetic prostheticization in the retina. The review considers the features of opsins and factors affecting their activity in model cell systems. Particular attention is paid to G-protein-coupled opsins as promising tools for recreating the signaling cascade mechanisms in retinal ON-bipolar cells. Based on the analysis of light-controlled responses of natural and chemical light-sensitive proteins in tests, the selection of the best, promising in gene therapy is made.

Keywords: opsins, rhodopsin, melanopsin, light-sensitive chimeric proteins, G protein-coupled receptor (GPCR), G protein-gated inwardly rectifying potassium channel (GIRK), heterologous expression system

УДК 615.89; 616.7

КОМПЛЕКС ПЕПТИДОВ КОЛЛАГЕНА И ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ: ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ БОЛЕЗНЕЙ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА

© 2024 г. Т. И. Николаева^{1,*}, К. С. Лаурина вичюс², М. В. Молчанов¹,
С. М. Кузнецова¹, В. И. Емельяненко¹, П. В. Шеховцов¹

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Московская обл., Пущино, Россия

²Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, Московская обл., Пущино, Россия

*e-mail: tomivnik@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.04.2024 г.

После доработки 05.07.2024 г.

Принята к публикации 05.07.2024 г.

Болезни опорно-двигательного аппарата человека представляют медицинскую проблему. Артриты, артрозы суставов, хондродисплазии позвоночника сопровождаются разрушением соединительных тканей, их структурных компонентов: коллагеновых фибрилл и протеогликанов. Гликозаминогликаны (хондропротекторы) давно используются для лечения артритов и артрозов, тогда как пептиды коллагена (гидролизованный коллаген) лишь в последние 10–15 лет применяются при заболеваниях суставов. Проектирование состава нутрицевтиков из коллагена и протеогликанов помогает решить задачу восполнения недостающих структурных компонентов в тканях опорно-двигательного аппарата. Мы полагаем, что одно из перспективных решений проблемы — получение комплекса пептидов коллагена и гликозаминогликанов, специфичных для соединительных тканей. Цель данного обзора — анализ имеющихся в литературе данных по пептидам коллагена, их комплексов с гликозаминогликанами, а также сравнение их по характеристикам с образцами, полученными в наших исследованиях.

Ключевые слова: коллаген, низкомолекулярные пептиды, гликозаминогликаны, масс-спектрометрия, ЯМР-спектроскопия, молекулярные массы, витаминно-минеральный комплекс

DOI: 10.31857/S0042132424060047, **EDN:** NRPSBX

ВВЕДЕНИЕ

Болезни опорно-двигательного аппарата человека представляют медицинскую проблему. По данным МЗ РФ болезнями соединительных тканей суставов страдают от 7,5 до 30 млн человек. Официальные данные МЗ РФ, расчет Росстата за последние 20 лет находятся на сайте <https://rosstat.gov.ru/folder/13721#>.

КОЛЛАГЕНОВЫЕ ФИБРИЛЛЫ И ПРОТЕОГЛИКАНЫ

Более 100 млн человек на планете страдают заболеваниями артрита, артроза, остеопороза (Grover, Samson, 2016; Porfirio, Fanaro, 2016). Болезни суставов, хондродисплазии позвоночника человека сопровождаются разрушением

структурных компонентов тканей: коллагеновых фибрилл и протеогликанов. Коллаген — основной белок соединительных тканей суставов: костей, хрящей, связок, сухожилий. Фибриллы коллагена определяют механическую прочность этих тканей, осуществляют передачу сигналов между клетками. Патологические процессы в тканях суставов коррелируют с более низкими концентрациями коллагена, по сравнению с нормой. Наблюдается истончение фибрилл коллагена, их разволокнение и потеря эластичности (Клиническая ревматология, 2005). В состав тканей хрящей, связок, сухожилий входят также протеогликаны, обеспечивая этим тканям упруго-эластичные и функциональные свойства. Протеогликаны образуют сеть из полисахаридных цепей гликозаминогликанов: гиалуроновой

кислоты (ГК), хондроитин-4-сульфата, хондроитин-6-сульфата, кератан-сульфата. На рис. 1 схематически изображен внеклеточный матрикс (ВКМ) хрящевой соединительной ткани. ВКМ гиалиновых хрящей содержит 10% хондроцитов, 8% коллагена, 7% протеогликанов, 75% воды.

Поэтому на долю коллагена и гликозаминогликанов в хрящевой ткани проходится примерно равное содержание компонентов.

В медицинской практике для лечения болезней суставов используют преимущественно гликозаминогликаны (известны под названием хондропротекторы), а также их структурные единицы природного и синтетического происхождения. Поскольку в норме в хрящах суставов содержится примерно одинаковое количество и коллагена, и гликозаминогликанов, отсутствие коллагеновой компоненты в лекарствах приводит к восстановлению хрящей не более чем на 50%. Другие лечебные средства, в том числе стероидные и нестероидные препараты, направлены лишь на снижение боли и на восста-

новление подвижности суставов. Более того, эти лекарства обладают вредным побочным влиянием: они нарушают функционирование сердца, печени, почек и других внутренних органов. Поэтому есть основания для поиска альтернативных средств, которые могут заменить лекарства. Среди болезней опорно-двигательного аппарата человека самые распространенные — артрит, артроз, миозит, мышечно-связочная дисфункция, остеомиелит, остеопороз, остеохондроз, подагра, радикулит, рахит, сколиоз.

Следует заметить, что при заболеваниях опорно-двигательного аппарата в наибольшей степени разрушаются хрящи (Aigner, Stöve, 2003). Это определяется структурой фибрилл, которые имеют плотную упаковку молекул коллагена, но небольшой диаметр фибрилл, по сравнению с фибриллами кожи, сухожилий, связок. Кроме того, хрящи локализованы в местах связывания разных соединительных тканей, что может нарушать их функционирование. Суставно-связочный аппарат в позвоночнике и суставах

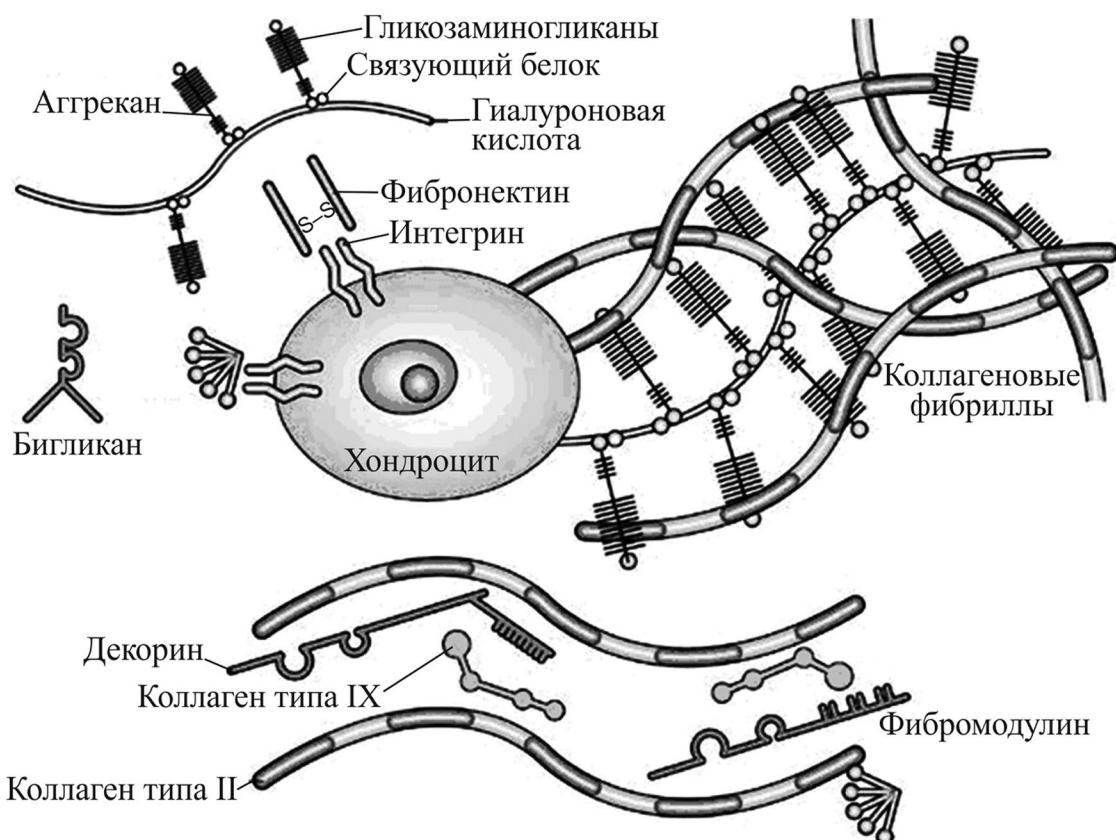


Рис. 1. Внеклеточный матрикс хрящевой соединительной ткани.

Суставной гиалиновый хрящ содержит 10% хондроцитов, 8% коллагена, 7% протеогликанов, 75% воды (по: Fox et al., 2009, модифицировано).

испытывает большую механическую нагрузку, и соединительные ткани в значительной степени могут также разрушаться в результате перегрузок. Гиалиновые хрящи, которые содержатся в замыкающих пластинках межпозвонковых дисков, придают жесткой структуре позвоночника определенную степень гибкости. При этом разрыв коллагеновых фибрилл и протеогликанов в замыкающих пластинках приводит к образованию позвонковых грыж (Лазерная инженерия хрящей, 2006). Известно, что в суставах гиалиновые хрящи тонким слоем окружают костную ткань (Павлова и др., 1988). Для укрепления тканей опорно-двигательного аппарата используют преимущественно синтетические биоматериалы. Однако во многих странах, кроме медицинских методов, разрабатывают также нутрициологический подход.

СТРОЕНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА СОЕДИНИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ

Биосинтез коллагена и протеогликанов происходит в специализированных клетках соединительных тканей. Например, в хондроците хрящевой ткани синтезируются и коллаген типа II, и гликозаминогликаны, но в разных частях клетки. Коллаген типа I — основной белок тканей опорно-двигательного аппарата: костей, сухожилий, связок. Синтезируется коллаген в остеобластах костей и фибробластах кожи.

Структура молекулы коллагена формируется из трех полипептидных α -цепей. Каждая α -цепь содержит регулярную последовательность триплетов из аминокислот Gly-X-Y, где первой аминокислотой является глицин. Таким образом, глицин составляет до 33% от содержания всех аминокислот в молекуле коллагена. Кроме выполнения структурной функции, глицин необходим для функционирования нервной системы (Потупчик и др., 2015). В триплетах в позициях X и Y располагаются аминокислоты пролин и гидроксипролин, причем содержание каждой из них составляет примерно 10%. Эти аминокислоты стабилизируют тройную спираль коллагена. Позиции X и Y занимают также гидрофобные аминокислоты: аланин, валин, серин, лейцин, треонин, фенилаланин, изолейцин, метионин, цистеин и гидрофильные аминокислоты: аргинин, гистидин, лизин, гидроксилизин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота.

В разных соединительных тканях молекула коллагена типа I имеет свои характерные свойства, которые необходимы для выполнения структурной функции. В костях молекула коллагена содержит большое число альдегидных групп для межмолекулярного связывания и формиро-

вания суперспирализованных, плотноупакованных фибрилл. В сухожилиях и связках на основе коллагена типа I образуются фибриллы и волокна большой длины. Молекулы упакованы параллельно с прямой ориентацией, что соответствует напряжению вдоль оси фибрилл. Отметим, что фибриллы тканей опорно-двигательного аппарата формируются также из комплексов молекул коллагена типов I, II с коллагенами типов III, V, VI, IX, XI. Содержащиеся в небольших количествах минорные коллагены типов V, VI регулируют толщину фибрилл в сухожилиях, связываясь с коллагеном типа I. При связывании с коллагеном типа II минорных коллагенов типов IX, XI регулируется толщина фибрилл в хрящах и образуются фибриллы наименьшей толщины (20–40 нм). При этом механическая прочность тканей определяется суперспиральной структурой коллагеновых фибрилл. С коллагеновыми фибриллами в связках и сухожилиях связываются протеогликаны, что приводит к образованию коллагеновых волокон.

ВКМ — структурная основа всех соединительных тканей. Матрикс образуется в процессе связывания коллагена с другими биополимерами и молекулами. Протеогликаны и гликозаминогликаны, расположенные между коллагеновыми фибриллами, занимают большой объем в ткани. Их взаимодействие с коллагеном происходит преимущественно электростатически. Молекулярные механизмы образования матрикса в разных тканях различаются. В хрящах, сухожилиях, связках волокна формируются посредством связывания коллагеновых фибрилл с протеогликанами. Длина волокон в сухожилиях и связках достигает нескольких миллиметров и сантиметров. В промежутках между коллагеновыми фибриллами хрящей, сухожилий и связок расположены также гликопротеины (Kucharz, 1992). Волокна костей образуются на основе коллагеновых фибрилл типа I и кальциевых солей (Hong et al., 2022). Кристаллы солей и фибриллы расположены параллельно по отношению друг к другу. Упаковка таких слоев происходит в разных направлениях — от концентрической во внутренних частях костей до параллельной на их поверхностях (Николаева и др., 2007).

Коллаген, поступающий с пищей, распадается на фрагменты в процессе гидролиза под влиянием ферментов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Далее фрагменты могут расщепляться до пептидов. Низкомолекулярные пептиды могут расщепляться до аминокислот, ди- и трипептидов. В ЖКТ ди- и трипептиды всасываются с более высокой скоростью, по сравнению

с аминокислотами, поскольку в ЖКТ наряду с пассивным переносом веществ существует механизм АТФ-зависимого транспорта (Тутельян и др., 2003).

ПОЛУЧЕНИЕ ПЕПТИДОВ КОЛЛАГЕНА

Для того чтобы коллаген усвоился в ЖКТ, требуется провести его гидролиз и получить низкомолекулярные пептиды. Однако перед гидролизом спиральные цепи молекул коллагена должны быть доступны для действия ферментов. Поскольку в нативном состоянии коллаген является молекулой большой длины и жесткой трехспиральной структуры, процесс денатурации белка позволяет развернуть полипептидные цепи. На рис. 2 схематически представлены денатурация молекулы коллагена и расщепление коллагена на низкомолекулярные пептиды.

В соединительных тканях в организме человека и животных на долю коллагена приходится до 30% белков (Николаева и др., 2007). Традиционная процедура для получения гидролизатов коллагена — экстракция белка из тканей животных разбавленными органическими кислотами (уксусная, лимонная). При этом применяют большие объемы растворов. Затем проводят концентрирование коллагена и ферментативный гидролиз. Обычно выход аминокислот и пептидов коллагена из соединительных тканей составляет 3–5%. Выход конечного продукта увеличивается до 10–15% в результате последовательных этапов ферментативного гидролиза и химического гидролиза (Пивненко и др., 2005). Однако химический гидролиз изменяет структуру аминокислот.

Другой способ получения гидролизатов коллагена — протеолиз коллагена в результате последовательного действия ряда ферментов.

В работе (Ahmed et al., 2020) изучено влияние разных ферментов на коллаген, выделенный экстракцией из тканей и находящийся в растворе. В результате пошагового действия трех ферментов гидролиз проявляет высокую эффективность в отношении расщепления коллагена и выхода пептидов. Более того, с использованием пепсина, трипсина и α -химотрипсина получены пептиды коллагена, которые могут стимулировать ингибирующую активность ангиотензин I-превращающего фермента (Aleman et al., 2013).

Гидролизованный коллаген непосредственно из соединительных тканей сложно получить, что обусловлено строением тканей и высокой механической прочностью коллагеновых фибрилл, а это не дает возможности выделить большое количество расщепленного белка. Нами отработан экспериментальный метод получения гидролизатов коллагена и низкомолекулярных пептидов из гиалиновых хрящей, повышающий выход компонентов. Сначала проводится гомогенизация тканей, а затем ферментативный гидролиз (Николаева и др., 2015–2021). Известно, что в хрящах сельскохозяйственных животных и рыб содержатся прочно связанные спирализованные молекулы и фибриллы коллагена типа II. Плотная упаковка молекул коллагена достигается межмолекулярными связями в поперечном и продольном направлениях фибрилл. Пространственную структуру коллагеновых фибрилл в тканях хрящей стабилизируют протеогликаны. Разрушить сеть ВКМ можно разными методами дезинтеграции тканей. Процедура обработки сырья в гомогенизаторе высокого давления позволяет расщепить коллагеновые фибриллы и волокна большой длины на фрагменты (Капцов и др., 1989). Следовательно, гомогенизация позволяет получить частицы коллагеновых фибрилл, более доступные для протеолиза.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГОМОГЕНАТОВ

Вследствие спиральной структуры нативный коллаген слабо доступен для действия ферментов. Поэтому денатурация коллагена — необходимый этап эффективного ферментативного гидролиза. Поскольку при денатурации белков происходит разрушение вторичной, третичной и четвертичной структуры, тройные спирали коллагена раскручиваются, образуются клубки полипептидных цепей, и фибриллы распадаются. Показано (Игнатьева и др., 2005), что денатурация коллагена в фибриллах хрящей происходит в диапазоне температур 50–90°C.

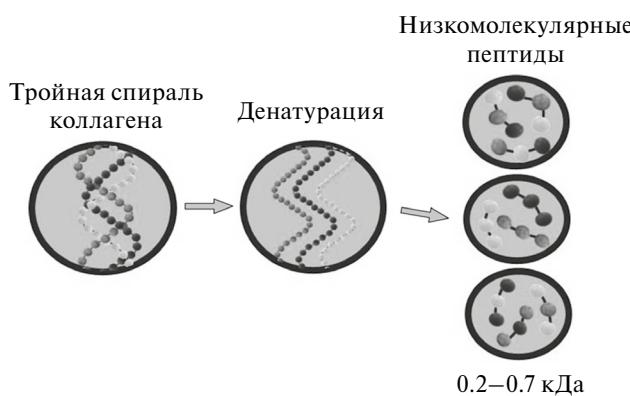


Рис. 2. Денатурация молекулы коллагена и расщепление коллагена на низкомолекулярные пептиды.

Протеогликаны препятствуют полной денатурации коллагена типа II в биологических тканях. Поэтому начальный этап обработки хрящей начинается с разрушения протеогликановой сети. Нами проведены исследования совместного действия значений высокого давления и температуры на гомогенизацию гиалиновых хрящей. Отметим, что температура — это существенный фактор для получения пептидов коллагена из хрящевой ткани. При этом температурные условия гомогенизации хрящей, влияющие на денатурацию коллагена, не изучены. Определение температурных условий гомогенизации позволяет регулировать денатурацию коллагена. При температуре $\sim 100^{\circ}\text{C}$ денатурация коллагена происходит таким образом, что после ферментативного гидролиза молекулы расщепляются на аминокислоты (Selvakumar et al., 2012). Однако в ЖКТ аминокислоты всасываются медленнее, чем низкомолекулярные пептиды, содержащие от двух до трех аминокислот (Тутельян и др., 2003). Такие пептиды быстро усваиваются организмом, поступают в клетки и участвуют в биосинтезе коллагена.

Мы проводили определение значений температуры, вызывающих денатурацию коллагена в гомогенатах гиалиновых хрящей, анализируя данные калориметрических исследований. Сначала были изучены тепловые переходы фибрилл коллагена из нативного состояния в разупорядоченное в гомогенате, который был получен при температурах $20\text{--}30^{\circ}\text{C}$, исключающих денатурацию коллагена (контроль). Тепловые переходы в процессе прогрева гомогената наблюдались в интервале $40\text{--}80^{\circ}\text{C}$. Существенные термодинамические характеристики: энталпия перехода ΔH и полуширина перехода ΔT . Следует заметить, что величину ΔH применяют для оценки общего количества нековалентных связей в макромолекулах (Эдсол, Гатфренд, 1986). Величину ΔT можно применять для анализа гомогенности полученных образцов. Более того, минимальная величина ΔT коррелирует с минимальной толщиной фибрилл, которая совпадает с размерами фибрилл *in vivo* (Николаева и др., 2012).

После гомогенизации хрящей при разных, но денатурирующих коллаген, температурах мы определили термодинамические параметры разупорядоченности коллагеновых фибрилл (Николаева и др., 2021). Получены параметры, при которых структура коллагеновых фибрилл разрушается, а количество межмолекулярных связей снижается. Применение фотон-корреляционной спектроскопии и сканирующей микрокалориметрии обеспечивает сравнение

гомогенности гиалиновых хрящей. Совместное использование этих физических методов позволяет также определить оптимальную температуру гомогенизации для каждого вида хрящевого сырья.

Мы установили, что при температурах 70 и 80°C образуются гомогенаты с разными физико-химическими свойствами. При температуре 80°C получен более гомогенный образец гиалиновых хрящей. Более полная денатурация коллагена также происходит при 80°C . Размеры частиц в гомогенате при 80°C в 1.5 раза меньше, чем при 70°C . Следовательно, молекулы коллагена в гомогенате при 80°C более доступны для действия ферментов. Определена оптимальная температура гомогенизации для гиалиновых хрящей, которая равна 80°C . В результате совместного действия высокого давления ($70\text{--}80$ МПа) и температуры ($70\text{--}80^{\circ}\text{C}$) на гомогенизацию гиалиновых хрящей найдены условия гомогенизации ткани, при которых после протеолитического расщепления коллагена выход пептидов увеличивается в два раза, если сравнивать с пептидами, полученными авторами патента РФ № 2290936 (Хавинсон и др., 2007), и возрастает в три раза, если сравнивать с выходом коллагена после гидролиза хрящевых тканей гидробионтов, проведенного авторами патента РФ № 2250047 (Пивненко и др., 2005).

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ

Гидролиз коллагена в соединительных тканях можно проводить следующими способами: под влиянием температуры (тепловой гидролиз), под действием протеолитических ферментов (ферментативный гидролиз), под влиянием кислот и щелочей (химический гидролиз). Ферментативный гидролиз предпочтителен, поскольку после него не нарушается структура аминокислот. Под действием ферментов молекулярные связи между полипептидными цепями коллагена разрываются, а полипептидная цепь гидролизуется на более мелкие пептиды с молекулярной массой менее 5 кДа (Ahmed et al., 2020). Гидролизаты, которые содержат комплекс аминокислот и низкомолекулярных пептидов, не требуют больших затрат энергии в процессе пищеварения и усвоения.

Гидролиз биополимеров гиалиновых хрящей мы проводили последовательными процедурами с применением ряда ферментов. Как правило, для гидролиза белков используют не отдельные протеазы, а комплексы ферментов (Телишевская, 2000). Эти ферменты обладают специфичным действием, разрывая определенные связи в белках. Известно, что химопсин содержит

смесь α -химотрипсина и трипсина. Трипсин гидролизует пептидные связи, содержащие остатки аргинина и лизина; α -химотрипсин расщепляет пептидные связи с остатками ароматических аминокислот тирозина и триптофана. Сначала был исследован протеолиз под влиянием ферментов с каталитической активностью при разных значениях pH. Мы сравнивали действие ферментов панкреатина, пепсина, химопсина, трипсина и папаина с импортными аналогами. Далее нами был выбран папаин импортного производства (AppliChem, Deutschland) и лекарственное протеолитическое средство карипазим, которое выпускают в России ЗАО “ВифиТех” и ООО “МедФлорина” (пос. Оболенск, Московская обл.). В состав карипазима входят следующие ферменты: папаин, химопапаины А и Б, пептидазы А и Б, лизоцим, содержащие в своих активных центрах сульфогидрильные группы. Папаин и его аналоги гидролизуют пептидные, амидные и эфирные связи, содержащие аргинин, лизин, фенилаланин, а также тиоловые эфиры и N-ацетилированные связи. Выражена специфичность в отношении глицина и лейцина. Поэтому под влиянием папаина молекулы коллагена легко расщепляются на фрагменты, поскольку коллаген содержит не менее 33% аминокислоты Gly. Более того, высокая эффективность действия папаина на биополимеры хрящевой ткани связана также с расщеплением полисахаридных цепей протеогликанов.

В процессе ферментативного гидролиза температура, время, pH и концентрация фермента являются ключевыми факторами для образования пептида, и, следовательно, они влияют на характеристики полученного пептида. Параметры протеолиза варьируют для разных ферментов, но предпочтительными являются следующие значения: температура 35–70°C, концентрация фермента 0.01–5.00%, pH 1.5–11 и время 10–600 мин. Эти величины определены при исследовании гидролиза белков из тканей и органов сельскохозяйственных животных (Телишевская, 2000) и морских рыб (Ahmed et al., 2020). Температура и pH существенно влияют на кинетику ферментативной реакции и различаются для каждого фермента.

В результате исследования ферментативных гидролизатов, полученных под влиянием карипазима, показано, что степень гидролиза выше у образцов производителя ООО “МедФлорина”, по сравнению с образцами производителя ЗАО “ВифиТех” и папаином зарубежного производителя “AppliChem”. Степень гидролиза с повышением температуры от 50 до 60°C и концентрации карипазима от 1 до 10% возрастает (Николаева

и др., 2023). При повышении температуры протеолиза и концентрации карипазима молекулярный вес пептидов коллагена снижается.

Распределение пептидов по молекулярным массам после гидролиза в течение 3 ч находится в диапазоне 240–620 Да, тогда как после гидролиза в течение 6 ч пептидный профиль расположен в интервале 240–520 Да. В пептидах коллагена могут содержаться триплеты аминокислот, содержащие преимущественно аминокислоты глицин, пролин, гидроксипролин, аланин (Gly-Pro-Hyp, Gly-Pro-Ala), а также дипептиды (Gly-Pro, Hyp-Gly) и другие составы аминокислот, включающие от 2 до 10 аминокислотных остатков. Исследование методом ядерно-магнитного резонанса (ЯМР) гидролиза образцов коллагена показало, что в пептидах содержится 2–10 аминокислотных остатков, что подтверждает данные масс-спектроскопии.

РЕГУЛЯЦИЯ РАЗМЕРОВ ПЕПТИДОВ КОЛЛАГЕНА ТИПА II, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ГИАЛИНОВЫХ ХРЯЩЕЙ БИОКАТАЛИТИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Мы определили (Николаева и др., 2018, 2019), что ферментами, катализирующими расщепление специфических связей в полипептидных цепях, можно влиять на размеры пептидов и разрабатывать образцы, содержащие пептиды коллагена разных молекулярных масс. Под влиянием химопсина получены пептиды молекулярных масс от 900 до 7000 Да, а под действием карипазима — пептиды с меньшей молекулярной массой — от 250 до 780 Да. Растворимость лиофилизованных образцов, полученных в результате протеолиза ферментами, различалась: от легко растворимой после действия карипазима до умеренно растворимой после действия химопсина. Таким образом, пептиды низких молекулярных масс (от 250 до 780 Да) обладали более высокой степенью растворения в воде.

В работе (Николаева и др., 2018) приведены масс-спектры пептидов коллагена и гликозаминогликанов, полученных после гидролиза при температуре 55°C. Распределение компонентов гликозаминогликанов по молекулярным массам в гидролизатах, образованных в течение шести часов, находится в диапазоне 240–720 Да. Как уже отмечалось, гиалиновые хрящи содержат следующие гликозаминогликаны: ГК, хондроитин-4-сульфат, хондроитин-6-сульфат, кератан-сульфат. Гликозаминогликаны — гетерополисахариды высокого молекулярного веса, состоящие из повторяющихся дисахаридных единиц. Хондроитин-сульфаты содержат дисаха-

риды идуроновой кислоты и сульфатированного N-ацетилгалактозамина. Кератан-сульфат содержит галактозу и N-ацетилглюкозамин. Молекулы ГК, которые включают чередующиеся остатки глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина, могут расщепляться на более однородные фрагменты, по сравнению с хондроитин-сульфатами и кератан-сульфатом. В данных условиях гидролиза получены низкомолекулярные компоненты гликозаминогликанов, структура которых соответствует дисахаридам.

Расщепленность ГК, хондроитин-сульфатов и кератан-сульфата на моносахариды и дисахариды способствует их биодоступности и эффективному усвоению в организме человека. На ЯМР-спектрах идентифицирована глюкоза, которая является одним из конечных продуктов расщепления гликозаминогликанов (Николаева и др., 2023).

ПОЛУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСА ПЕПТИДОВ КОЛЛАГЕНА И ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ

Мы получили из хрящевой ткани с помощью ферментного препарата карипазим комплекс тканеспецифичных низкомолекулярных пептидов коллагена и дисахаридов гликозаминогликанов, молекулярные массы которых изменяются от 240 до 720 Да. При сопоставлении наших данных с результатами, опубликованными в работах других авторов, замечено, что пептиды коллагена типа II из хрящей цыплят образуют комплексы с высокомолекулярными хондроитин-сульфатами и ГК. При этом молекулярные массы пептидов в BioCell Collagen II (Now Int., USA) изменяются от 1500 до 2500 Да (Alkayali, 2000) и, соответственно, на порядок выше, по сравнению с пептидами, полученными в нашей работе. Как видно из рис. 3, наш образец по молекулярным массам сравним с образцом FlexiNovo (Adamed Consumer Healthcare S.A., Polska) и имеет преимущество при сравнении с образцом BioCell Collagen II (Now Int., USA).

Полученный в ООО “ФармОущенЛаб” (Россия) комплекс коллагена и гликозаминогликанов содержится в пищевом общеукрепляющем профилактическом продукте из хрящевой ткани гидробионтов “Артрофиш” (Пивненко и др., 2015). Однако ферментативные гидролизаты, которые выделены с помощью гепатопанкреатина, состоят из гликозаминогликанов с высокомолекулярными, среднемолекулярными и низкомолекулярными компонентами. Молекулярный вес в последней группе гликозаминогликанов изменяется от 1000 до 10000 Да.

Эти данные превышают молекулярные веса гликозаминогликанов, которые получены под влиянием карипазима в нашей работе. Исследования по коллагену в гидролизатах гидробионтов направлены на определение содержания свободных аминокислот и их состава, но не пептидов.

Коллагеновый пептид типа II в комплексе с ГК подавляет синовиальное воспаление и нормализует состав синовиальной жидкости (Ших, 2021).

В организме человека ГК присутствует в соединительных тканях и органах: в синовиальной жидкости, в кровеносных сосудах, головном мозге, хрящах, сердечных клапанах. Наиболее высокая концентрация наблюдается в синовиальной жидкости в суставах и составляет 3–4 мг/мл. Известно, что у пациентов с остеоартрозом снижается концентрация ГК в синовиальной жидкости. Исследование на модели клеток кишечного эпителия Caco-2 показало, что количество ГК, которая всасывается клетками Caco-2, увеличивается по мере того, как молекулярная масса уменьшается (Hisada et al., 2008).

Следует отметить, что для формирования фибрилл и волокон необходим набор из компонентов биополимеров, специфичных для матрикса соединительной ткани. Комплекс тканеспецифичных веществ можно получать из соединительных тканей сельскохозяйственных животных. Низкий молекулярный вес биополимеров определяет их биодоступность в организме человека и высокий уровень усвоения в ЖКТ. Поступая в клетки (хондроциты), аминокислоты, низкомолекулярные пептиды коллагена и гликозаминогликаны могут участвовать в образовании фибрилл коллагена и протеогликанов, в формировании матрикса хрящевой ткани, в укреплении матрикса и таким образом влиять на процесс выздоровления при болезнях суставов и позвоночника.

ЛЕЧЕНИЕ БОЛЕЗНЕЙ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА

Лекарственные средства на основе коллагена для лечения болезней опорно-двигательного аппарата не созданы. Тем не менее в некоторых странах после использования гидролизатов коллагена достигнуты определенные успехи в лечении остеоартроза (Ameye, Chee, 2006; Lopez, 2012). В последние 10–15 лет разрабатывают нутрицевтики, которые получают из соединительных тканей животных и гидробионтов, дополненных экстрактами из растений (Ших, 2021). Нутрицевтики — это концентраты био-

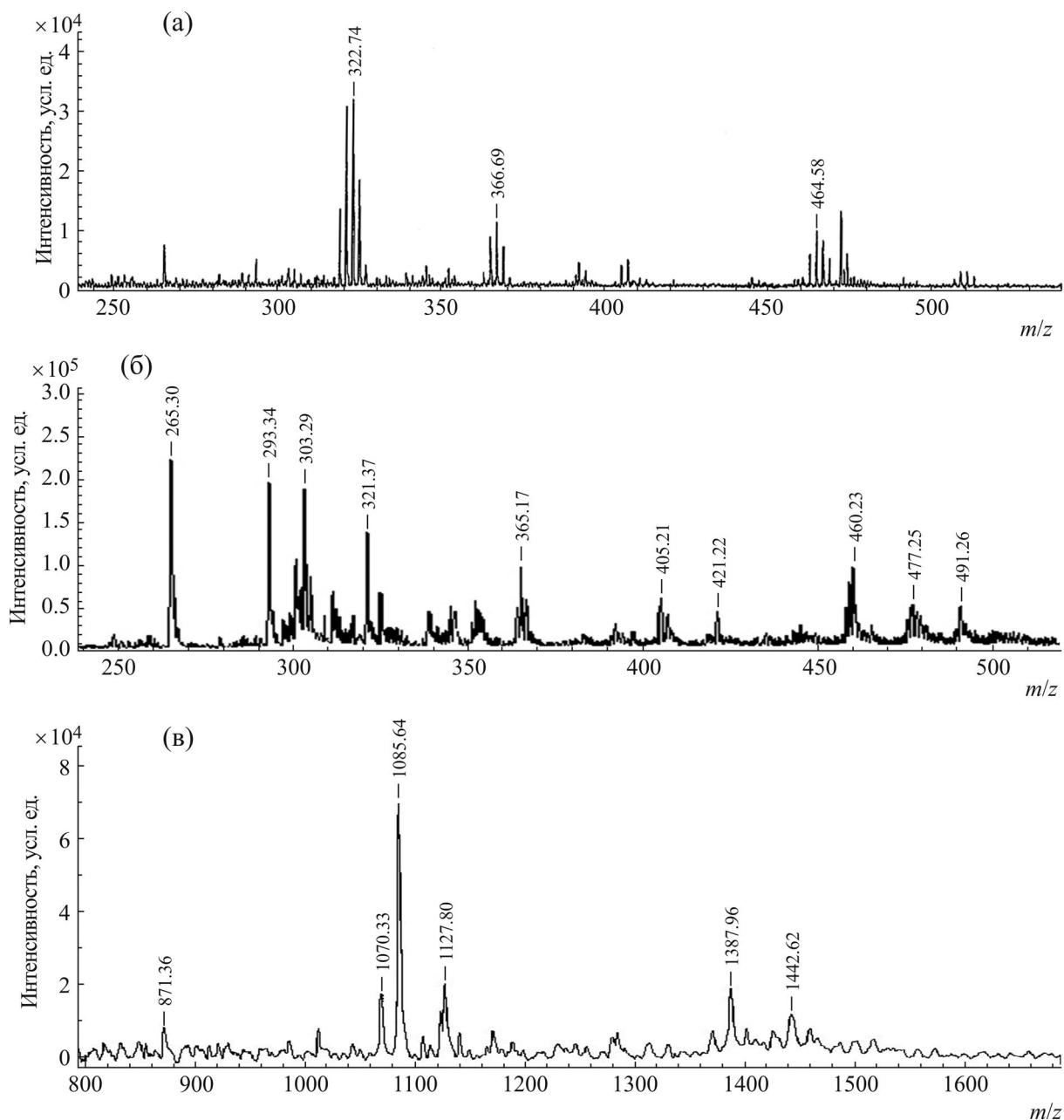


Рис. 3. Распределение молекулярных масс пептидов, образованных под влиянием карипазима в 33.4 mM K-На-фосфатном буфере, pH 6.0 при температуре 55°C, концентрации 10% в течение 6 ч (а) и в импортных аналогах, содержащих гидролизат коллагена типа II: FlexiNovo (Adamed Consumer Healthcare S.A., Polska) (б) и BioCell Collagen II (Now Int., USA) (в).

Распределение молекулярных масс пептидов характеризует соотношение массы иона и числа зарядов иона — m/z . Поскольку заряд иона почти всегда равен 1 при МАЛДИ-масс-спектрометрии (МАЛДИ — матрично-активированная лазерная десорбция), значение m/z считается массой иона.

В настоящей работе рассматриваются и сравниваются данные молекулярных масс, расположенные по оси X. Величина пика иона по оси Y (интенсивность) определяется относительным количеством иона в образце.

логически активных веществ, предназначенные для приема в пищу в целях обогащения рациона питания человека отдельными биологически активными веществами и/или их комплексами.

Первая страна, в которой в качестве функционального питания применили нутрицевтики, —

Япония. Отметим, что в США, странах Европы, в Китае, Южной Корее и Японии нутриенты используют в медицине в целях профилактики и лечения болезней человека. После совместного действия гидролизата коллагена и витамина С состояние больных остеоартрозом облегчается

(Lopez, 2012). Коллагеновые гидролизаты способствуют улучшению функций коленного сустава у пациентов не только с облегченной формой остеоартроза, но и с его сложной формой. Однако прием гидролизатов необходимо проводить в течение длительного времени — не менее полугода (Schadow et al., 2017).

Остеопороз

Остеопороз как хроническое заболевание характеризуется снижением костной массы. Рассмотрена возможность (Chen et al., 2022) применения гидролизатов коллагена в качестве нутрицевтиков для предупреждения и лечения остеопороза. Исследование влияния гидролизатов коллагена на метаболизм костей показывает, что гидролизаты коллагена молекулярных масс 2000–6000 Да можно использовать для лечения остеопороза. Гидролизаты коллагена Fortibone® (Gelita AG, Deutschland) в ЖКТ, которые расщепляются на ди-, три-, тетрапептиды, обнаружены в кровеносной системе. Таким образом, низкомолекулярные пептиды коллагена из двух–четырех аминокислот могут легко усваиваться в организме человека.

Подтверждено (Chen et al., 2022) влияние гидролизатов коллагена на пролиферацию остеобластов человека. Соответственно, установлена зависимая от дозы стимуляция экспрессии гена мРНК коллагена типа I и биосинтеза белка. Заметим, что применяемые нутрицевтические средства могут регулировать специфические функции в организме человека и снижать риск развития остеопороза. Для предупреждения остеопороза эффективно сочетание гидролизатов коллагена с кальцием и витамином D, что повышает плотность костной массы и уменьшает риск переломов. Показано (Chen et al., 2022) анаболическое влияние специфических коллагеновых пептидов на образование костей и повышение плотности минералов в костях. Женщины в период менопаузы применяли пептиды Fortibone® ежедневно по 5 г в течение одного года. Контрольная группа использовала мальтодекстрин. Необходимо отметить, что лекарственные средства, которые применяют для лечения остеопороза: бифосфонаты, моноклональные антитела, имеют побочные эффекты. Тогда как у гидролизатов коллагена, полученных в результате теплового и ферментативного гидролиза, они отсутствуют, или наблюдаются аллергические реакции лишь у небольшого числа пациентов.

Получены данные, что специфические коллагеновые пептиды повышают плотность минералов в костях у женщин (León-López et al., 2019).

Содержание маркеров N-концевого пропептида коллагена типа I (P1NP) и C-концевого телопептида коллагена типа I (CTX1) показывает, что увеличивается образование костей и снижается их деградация. Коллагеновые пептиды могут действовать как сигнальные молекулы и таким образом влиять на анаболический процесс. Одна группа женщин в период менопаузы применяла гидролизаты коллагена в сочетании с кальцием и витамином D. Другая группа использовала комплекс пептидов коллагена в сочетании с кальцитонином, кальцием, витамином D. Установлено, что потеря костной массы у женщин второй группы значительно ниже, чем у женщин первой.

Тендинопатия

Для лечения болезни сухожилий ног (ахиллов тендинит) проведена (Hong et al., 2019) проверка действия комплекса из гидролизованного коллагена типа I, глюкозамина, хондроитин-сульфата, витамина С с растительными добавками. Клинические испытания по изучению снижения боли проводили в течение двух месяцев. Однако положительный эффект удалось установить лишь у 1/3 пациентов. Поэтому авторы работы применили более высокие концентрации компонентов, которые использовали в течение одного месяца, но положительного результата не получили.

Также для лечения ахиллова тендинита использован (Choudhary et al., 2021) комплекс из гидролизованного коллагена кожи свиней, хондроитин-сульфата, гиалуроната натрия и витамина С. Применение этого состава в течение трех месяцев более эффективно для снижения боли, по сравнению с приемом лекарства диклофенак.

Отметим, что применение нутрицевтических средств для лечения соединительных тканей требует длительного времени. Известно, что биосинтез коллагена в клетках и образование фибрилл коллагена во ВКМ кожи происходит в течение полугода (Persikov, Brodsky, 2002). Тогда как в хрящевой ткани на образование матрикса и укрепления ткани требуется около года (Лазерная инженерия хрящей, 2006). Такое различие, по-видимому, обусловлено более низким числом клеток (хондроцитов) в хрящевой ткани, по сравнению с клетками (фибробластами) кожной ткани.

Остеоартроз (остеоартрит)

Остеоартроз (остеоартрит) — это хроническое дегенеративно-дистрофическое заболевание суставов, которое характеризуется дегенера-

цией суставного хряща с последующими изменениями субхондральной кости. Вследствие воздействия различных факторов возникают нарушения обмена веществ, синтезирующей активности хондроцитов и повреждения матрикса суставного хряща. Установлено, что в основе нарушения структуры хряща лежат качественные изменения и количественное уменьшение протеогликанов и коллагеновых фибрилл (Клиническая ревматология, 2005). В норме в суставном хряще уравновешены процессы их синтеза и деградации. При остеоартрозе происходит потеря гликозаминогликанов, протеогликанов и изменение структуры коллагеновых фибрилл.

Определенную роль в патогенезе остеоартроза играет воспаление. Показано (Schadow et al., 2017), что при остеоартрозе активизируются ферменты, которые расщепляют протеогликаны: агреканазы ADAMTS4 и ADAMTS5. Затем действуют коллагеназы MMP-1, MMP-3 и MMP-13, далее расщепляющие протеогликаны, а также коллагеновые фибриллы.

Проверено влияние коллагеновых пептидов Mobiforte® (Astrid Twardy GmbH, Deutschland), Peptan® F 2000 и Peptan® F 5000 (Rousselot BVBA, Belgium) на обмен веществ у мышей. Показано, что коллагеновые пептиды регулируют содержание противовоспалительных цитокинов: IL-6, TNF α и sICAM-1. Обнаружено, что Mobiforte® и Peptan® F 5000 при относительно высоких концентрациях повышают содержание IL-6 в культуре хондроцитов. Mobiforte® и Peptan® F 5000 при этих концентрациях ингибировали также активность агреканазы ADAMTS4.

Исследование и лечение остеоартрита коленного сустава пептидами коллагена у женщин проводили в течение шести месяцев. Peptan® В 2000 (Rousselot BVBA, Belgium) получен из гиалиновых хрящей крупного рогатого скота. В качестве контроля (плацебо) использован мальтодекстрин. Женщины в возрасте от 40 до 70 лет принимали ежедневно по 8 г Peptan® В 2000. Клинические испытания показали положительное действие пептидов Peptan® В 2000 в виде снижения боли, повышения подвижности и улучшения функций коленного сустава у пациентов с остеоартритом. Коллагеновые пептиды снижали боль более эффективно, по сравнению с глюкозамином. Поэтому на основании проведенных исследований предложено (Biguere et al., 2012) применять больным остеоартритом пептиды Peptan® В 2000 для улучшения своего здоровья.

Следует заметить, что используемые в медицинской практике гидролизаты коллагена, которые получают из разных тканей, облегчают состояние больных артритами и артрозами

на начальном и среднем этапе заболеваний (van Vijven et al., 2012). Гидролизаты кожного коллагена в течение шести месяцев применяли в клинических испытаниях в трех странах: Англии, Германии и США (Moskowitz, 2000). Статистически значимое различие по снижению боли у пациентов, если сравнивать с пациентами, которые принимали плацебо, установлено лишь в Германии.

Цель исследования в работе (Zdzieblik et al., 2021) — оценка применения специфичных коллагеновых пептидов для уменьшения боли у спортсменов с проблемами функционирования коленей во время занятий спортом. Спортсмены с болью в суставах принимали по 5 г биологически активных пептидов коллагена Fortigel® (Gelita AG, Deutschland) или плацебо ежедневно в течение 12 недель. Данное исследование молодых физически активных индивидуумов показало, что ежедневный прием 5 г коллагеновых пептидов приводит к статистически значимому снижению боли в коленных суставах после 12 недель лечения, по сравнению с плацебо. В целом, этим исследованием подтверждена эффективность использования коллагеновых пептидов при болях в коленном суставе, при этом уровень физической активности определяет варианты терапии, режим применения и дозировки.

Остеоартрит протекает по механизму метаболических процессов катаболизма и анаболизма. Баланс в направлении анаболизма, биосинтеза коллагена и гликозаминогликанов, образования коллагеновых фибрилл и протеогликанов возможно регулировать низкомолекулярными пептидами коллагена и гликозаминогликанами. Потерю гликозаминогликанов и коллагена у больных остеоартрозом можно устраниć нутрицевтиками, которые содержат низкомолекулярные компоненты и которые легко усваиваются. Применен (Farì et al., 2022) комплекс из пептидов коллагена Fortigel®, витамина С, гиалуроната натрия, марганца и меди в сочетании с лечебной физкультурой (кинезиотерапией). Больные испытывали хроническую боль в нижней части позвоночника — поясничный остеоартроз. Контролем была группа больных, реабилитацию которых проводили только лечебной физкультурой. Пероральная добавка гидролизованных пептидов коллагена Fortigel® показала себя как эффективное вспомогательное средство при неинвазивных методах лечения, которые используются в настоящее время для проблем, связанных с износом и старением суставных хрящей.

В 2010 г. показано (Asari et al., 2010), как гидролизат коллагена связывается с TLR4 (толл-

подобный рецептор 4), присутствуя в кишечном эпителии. Такое связывание индуцирует выработку IL-10 — цитокина с противовоспалительным действием. Более того, анализ массива ДНК из толстого кишечника показал, что гидролизат коллагена стимулирует повышающую экспрессию цитокина, но понижающую регулировку экспрессии плейотропина. Эти биологические механизмы определяют противовоспалительные эффекты и модулируют биохимические пути боли.

Также терапевтический эффект заключается в том, что влияние гидролизата коллагена может быть достигнуто по механизму, подобному действию глюкозамина. Глюкозамин может облегчить симптомы, связанные с остеоартритом. Глюкозамин *in vivo* под действием лизосомальных ферментов превращается в N-ацетилглюкозамин внутри клеток (Anderson et al., 2005). N-ацетилглюкозамин — моносахарид, который вместе с глюкуроновой кислотой образует основной дисахарид в ГК. Поэтому N-ацетилглюкозамин, который получают для перорального приема ГК, может облегчить симптомы остеоартрита, в частности продемонстрирован (Punzi et al., 1989) противовоспалительный эффект аналогов ГК.

В исследовании (Clark et al., 2002) показано, что у морских свинок аскорбиновая кислота замедляет прогрессирующий остеоартрит посредством регуляции экспрессии и активности пролил-4-гидроксилазы коллагена II типа и агрекана в хряще. Следовательно, витамин С оказывает ряд регуляторных эффектов на костно-суставную систему, преимущественно при остеогенезе, хондрогенезе и остеобластогенезе (Aghajanian et al., 2015).

Медь служит кофактором для ряда ферментов, включая супероксиддисмутазу, цитохромоксидазу и лизилоксидазу, в хрящах и в других тканях. Последний фермент стимулирует поперечную сшивку полипептидных цепей коллагена и таким образом усиливает механическую прочность фибрill. Дефицит меди приводит к уменьшению сшивки, что провоцирует ослабление хряща и способствует его фрагментации (Fife et al., 1994).

Марганец показал свою эффективность в уменьшении симптомов остеоартрита в сочетании с хондропротекторами (Ganini et al., 2018), возможно, благодаря антиоксидантному действию супероксиддисмутазы.

Рассмотрен (Elango et al., 2022) возможный механизм действия пептидов коллагена при лечении остеоартрита. Наиболее распространенный белок в суставном хряще и межпозвонковых дисках — коллаген типа II. Поэтому считается,

что он способствует росту, восстановлению и заживлению хрящей без побочных эффектов при пероральном приеме. В таблице работы (Elango et al., 2022) обобщены результаты исследований антиартритного действия коллагеновых пептидов. Ранее сообщалось (Paul et al., 2019), что коллагеновые добавки, содержащие большое количество глицина, пролина, оксипролина улучшают физиологию суставного хряща и защищают от окисления и воспаления.

Одна из основных задач приема коллагеновых добавок относится к регуляции перорально вводимых антигенов для подавления или снижения иммунного ответа (Mobasher et al., 2021). Реакция восприимчивости и невосприимчивости к коллагену зависит от спиральной структуры белка. Известно, что специфические эпитопы тройной спирали коллагена взаимодействуют с клетками иммунной системы. Считается, что пептиды с более низкой молекулярной массой могут без труда всасываться после приема пищи в тонком кишечнике и транспортироваться через кровеносную систему в остальную часть тела, включая кости и суставы, где они поддерживают гомеостаз (Skov et al., 2019). Чтобы облегчить всасывание и получить фрагменты пептидов, коллаген гидролизуют с помощью тепловой денатурации и ферментов. В зависимости от процесса могут быть получены совершенно разные пептиды коллагена с уникальными пептидными последовательностями и молекулярной массой. Различные биологические процессы, в частности снижение воспаления суставов и субхондральной кости, могут регулироваться пептидами коллагена. Кроме того, коллагеновые пептиды с более низкой молекулярной массой могут лучше всасываться в тонком кишечнике и тем самым достигать тканей-мишеней, включая суставы.

Исследования показали, что гидролизованные коллагеновые пептиды с молекулярной массой около 8 кДа (Zhang et al., 2016) всасываются через ворсинки кишечника, а пептиды коллагена в диапазоне от 1.5 до 2.5 кДа (Oesser et al., 1999) поглощаются серозной оболочкой кишечника и оздоравливают суставы. После приема внутрь организма пептиды обнаруживаются в кровеносной системе на протяжении 4 ч (Wang et al., 2015). Сигналы инициируются связыванием пептидов коллагена с α 2A-доменом рецептора интегрина, что способствует росту хондроцитов (Siebert et al., 2010).

Утверждается (Pabst, Mowat, 2012), что коллагеновые пептиды уменьшают системные атаки Т-клеток на хрящ за счет взаимодействия эпитопов с тканью кишечника, что позволяет избежать повреждения хряща и воспаления

суставов. Гидролизаты коллагена расщепляли и далее превращали в более мелкие пептиды для придания им иммуномодулирующих свойств. Более мелкие пептиды улучшают биодоступность коллагена, по сравнению с неденатурированным коллагеном (León-López et al., 2019). Чтобы подтвердить это открытие, несколько исследований *in vitro* показали, что пептиды коллагена могут накапливаться в хряще при высоких дозах, активизировать хондроциты для образования макромолекул ВКМ, стимулировать активность остеобластов и подавлять активность остеокластов (Oesser et al., 2003; Guillerminet et al., 2010).

Клиническое исследование с участием 147 здоровых атлетов, которым давали по 25 мл жидкого препарата (содержащего 10 г гидролизата коллагена) и жидкий ксантан (группа плацебо), показало, что добавление гидролизатов коллагена уменьшает дискомфорт и боль в суставах при ходьбе, переносе предметов и поднятии тяжестей (Clark et al., 2008). В другом клиническом исследовании 15 здоровых мужчин получали разовую дозу перорального препарата, состоящего из 10 г гидролизата коллагена, растворенного в 100 мл молока или воды. Исследование показало наличие более высокой концентрации специфичных для коллагена аминокислот (глицин, пролин, оксипролин и оксилизин) в плазме крови, которые затем были обнаружены в синовиальной ткани сустава (Walrand et al., 2008). Полученные в работе (Schunck et al., 2007) результаты позволяют сделать предположение, что коллагеновый пептид типа II способствует уменьшению дегенеративных изменений во ВКМ, стимулируя анаболические процессы в хрящевой ткани.

Анализируя данные литературы, мы полагаем, что более эффективно могут всасываться и участвовать в образовании ВКМ ди- и трипептиды коллагена, моно- и дисахариды гликозаминогликанов. Мы предлагаем следующий механизм поступления необходимых компонентов для лечения артрита, который схематически изображен на рис. 4.

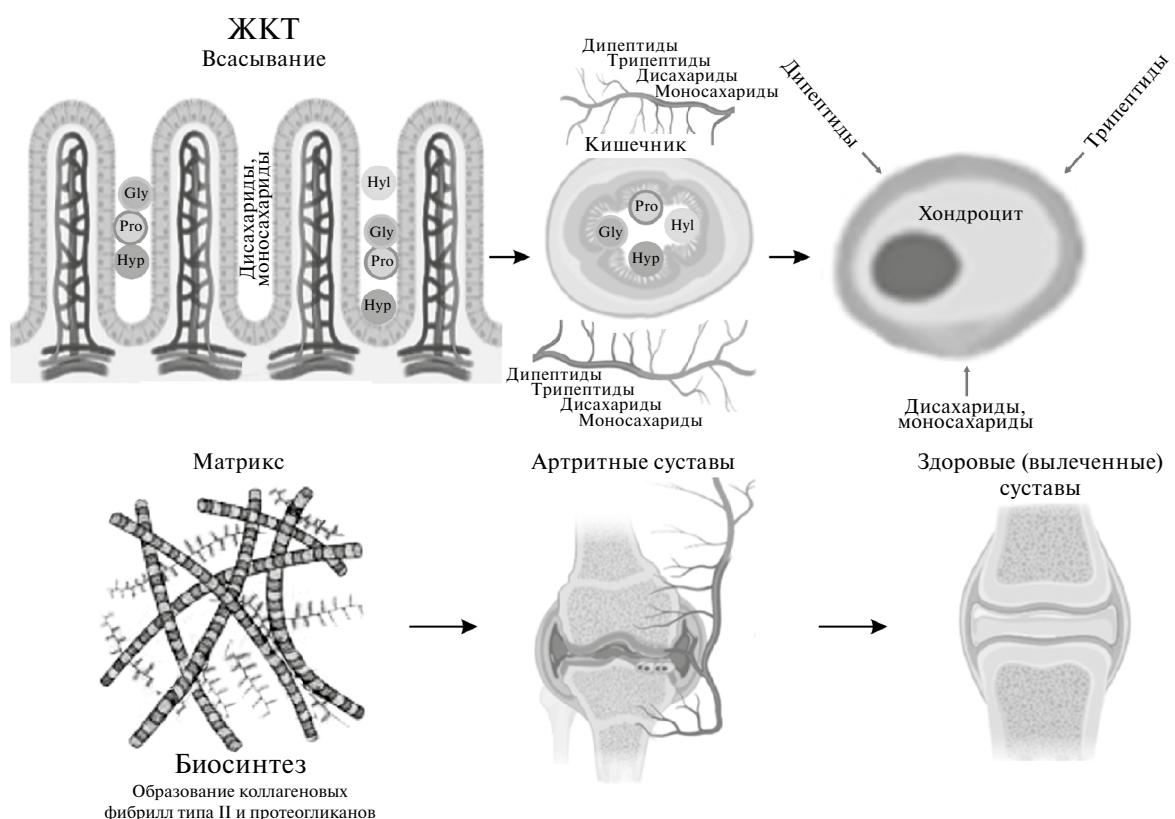


Рис. 4. Предложен возможный механизм поступления компонентов для биосинтеза коллагена, протеогликанов и образования матрикса хрящевой ткани. Аминокислоты глицин (Gly), пролин (Pro), гидроксипролин (Hyp), гидроксилизин (Hyl) входят в структуру тройной спирали коллагена, составляют основные компоненты триплетов Gly-X-Y. После расщепления молекул коллагена в ЖКТ до аминокислот, дипептидов и трипептидов происходит их всасывание, поступление в кровь, а затем в хондроциты. Дипептиды состоят из двух аминокислотных остатков, трипептиды — из трех. Пептиды и синтезированные в клетках молекулы связываются вблизи поверхности клеток, образуя внеклеточный матрикс и хрящевую ткань. Происходит замещение разрушенных хрящей новыми хрящами.

ВИТАМИННО-МИНЕРАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС

Эффективность нутрицевтиков возрастает, если в их состав входят витамины, микро- и макроэлементы. Эти вещества активизируют ферменты, стимулируют биосинтез коллагена и протеогликанов. Морские водоросли фукус пузырчатый и аскофиллум узловатый, на основе которых получены (Сова, Попова, 2008) лечебно-профилактические пищевые добавки в ООО “Натив” (г. Пущино Московской обл.), содержат полный набор витаминов, микро- и макроэлементов, требующихся для образования ВКМ. Для укрепления суставно-связочного аппарата создан состав из водорослей, витамина D и автолизата дрожжей с микро- и макроэлементами, полученными в хелатной форме (Шеховцов, 2018).

Следует отметить, что нутрицевтики других производителей, например *Geladrink®* (Orling, Česká), содержат витамины и минералы, состав которых не полон для стимуляции образования фибрилл коллагена в соединительных тканях. Нашиими научно-техническими разработками нутрицевтиков решается проблема профилактики болезней суставов и позвоночника. Кроме того, приемом нутриентов можно предотвратить болезни соединительных тканей на начальном этапе заболевания.

Мы разработали природоподобную технологию получения комплексов низкомолекулярных пептидов коллагена с гликозаминогликанами. Более того, мы дополнены комплексы витаминами, микро- и макроэлементами, которые специфичны для соединительных тканей и которые могут катализировать ферменты клеток и ВКМ.

Заметим, что мышечно-скелетные и суставные боли после перенесенного ковида остаются в течение одного–трех месяцев (Lauwers et al., 2022). Чтобы поддержать организм и опорно-двигательную систему в этот период желательно принимать комплексы из низкомолекулярных пептидов коллагена и гликозаминогликанов, дополненные витаминами C, B2, B6, D и минералами: железом, медью, марганцем, а также другими витаминами и минералами, входящими в структуру ВКМ соединительных тканей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При лечении болезней опорно-двигательного аппарата лекарственные средства на основе коллагена не созданы. Для устранения создавшегося пробела в последние 10–15 лет разрабатывают нутрицевтики, которые получают из тканей

животных и гидробионтов, дополненные компонентами растительного происхождения. Нутрицевтики — это концентраты биологически активных веществ, которые используются для улучшения здоровья. В последние годы ученых и диетологов привлекает стратегия, включающая прием нутриентов для регуляции обмена веществ. В отличие от лекарств, негативно воздействующих на печень и другие внутренние органы, вещества из соединительных тканей животных, полученные после денатурации коллагена, не имеют побочного эффекта или же обладают слабым побочным эффектом. Безопасность и эффективность гидролизованного коллагена и пептидов коллагена при артритах и артозах показаны в многочисленных клинических исследованиях.

Проектирование состава нутрицевтиков на основе коллагена и протеогликанов помогает решить проблему восполнения недостающих структурных компонентов в тканях опорно-двигательного аппарата. Одним из перспективных решений проблемы восполнения является получение комплекса низкомолекулярных пептидов коллагена с гликозаминогликанами, которые специфичны для соединительных тканей.

Отметим, что при заболеваниях опорно-двигательного аппарата в наибольшей степени разрушаются хрящи. Нарушения в тканях при артритах и артозах происходят в гиалиновых хрящах. Поэтому в нашей работе в качестве объекта исследования взяты гиалиновые хрящи сельскохозяйственных животных.

Наш метод получения гидролизатов (низкомолекулярных пептидов) коллагена включает гомогенизацию сырья при оптимальных условиях, определение физико-химических свойств гомогенатов, а также ферментативный гидролиз гомогенатов. Для решения задач импортозамещения проводится поиск ферментов российских производителей в целях изучения их действия на соединительные ткани и применения в разработках гидролизатов коллагена. Низкомолекулярные пептиды коллагена, содержащие две–три аминокислоты, более эффективно участвуют в биосинтезе коллагена и образовании фибрилл коллагена. Пептиды с большим содержанием аминокислот могут быть структурными блоками для образования фибрилл коллагена (Ahmed et al., 2020).

Мы получили комплекс низкомолекулярных пептидов коллагена типа II и дисахаридов гликозаминогликанов, молекулярные массы которых изменяются от 240 до 720 Da. Наши образцы по молекулярным массам сравнимы с аналогом *FlexiNovo* (Польша) и имеют преимущества

по сравнению аналогом BioCell Collagen II (США). Комплекс низкомолекулярных пептидов коллагена с гликозаминогликанами может найти применение при лечении хронических болезней соединительных тканей, а также для укрепления тканей в восстановительный период после перенесенного ковида.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы считают своим приятным долгом выразить благодарность рецензентам за критический анализ рукописи и ценные замечания.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Экспериментальная часть работы выполнена сотрудниками в рамках бюджетного финансирования по Государственному заданию ИТЭБ РАН № 075-00224-01 по теме №5 “Физико-химические основы биомедицины” и при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере, программа Старт-1, соглашение № 183ГС1/8727.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Поскольку целью данного обзора был анализ имеющихся в литературе данных по разработке низкомолекулярных пептидов коллагена, их комплексов с гликозаминогликанами, а также сравнение их по характеристикам с образцами, полученными в наших исследованиях, в небольшой по объему экспериментальной части работы мы не применяли животных в качестве объектов исследований. Сырье для экспериментов было закуплено в магазине в замороженном виде и сопровождалось ветеринарно-санитарной документацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Игнатьева Н.Ю., Аверкиев С.В., Соболь Э.Н., Лунин В.В. Денатурация коллагена II в хрящевой ткани при термическом и лазерном нагреве // Журн. физ. хим. 2005. Т. 79 (8). С. 1505–1513.
- Капцов В.В., Русаков Г.Н., Илларионов Ю.А. и др. Лабораторный гомогенизатор. Патент РФ № 2035855. Заявка 06.09.1989. Опубл. 27.05.1995.
- Клиническая ревматология / Ред. В.И. Мазуров. СПб.: Фолиант, 2005. 515 с.
- Лазерная инженерия хрящей / Ред. В.Н. Багратишвили, Э.Н. Соболь, А.Б. Шехтер. М.: Физматлит, 2006. 488 с.

Николаева Т.И., Тиктюко Е.И., Ильясова Е.Н., Кузнецова С.М. Структурно-термодинамические аспекты упаковки коллагеновых фибрилл // Биофизика. 2007. Т. 52 (5). С. 899–911.

Николаева Т.И., Кузнецова С.М., Рогачевский В.В. Фибриллообразование коллагена *in vitro* при температурах, близких к физиологической // Биофизика. 2012. Т. 57. С. 973–981.

Николаева Т.И., Молчанов М.В., Лауриначюс К.С. и др. Ферментативный гидролиз биополимеров хрящевой ткани под влиянием фитопаина // Междунар. журн. прикл. фунд. иссл. 2015. Т. 12 (7). С. 1252–1256.

Николаева Т.И., Молчанов М.В., Лауриначюс К.С. и др. Исследование ферментативного гидролиза коллагенов хрящевой ткани // Междунар. журн. прикл. фунд. иссл. 2016. Т. 10 (3). С. 442–447.

Николаева Т.И., Лауриначюс К.С., Капцов В.В. и др. Разработка комплекса низкомолекулярных пептидов коллагена с гликозаминогликановыми компонентами // Бюл. эксперим. биол. мед. 2018. Т. 165 (5). С. 571–576.

Николаева Т.И., Лауриначюс К.С., Капцов В.В. и др. Коллагеновые пептиды из гиалиновых хрящей для лечения и профилактики болезней суставов: получение и свойства // Бюл. эксперим. биол. мед. 2019. Т. 167 (2). С. 194–199.

Николаева Т.И., Кузнецова С.М., Емельяненко В.И. и др. Получение коротких пептидов коллагена типа II: температурные условия гомогенизации хрящей и гидролиз коллагена // Бюл. эксперим. биол. мед. 2021. Т. 171 (1). С. 28–31.

Николаева Т.И., Барсук Д.А., Молчанов М.В. и др. Сравнительный анализ степени гидролиза биополимеров в гомогенатах гиалиновых хрящей под воздействием протеолитических ферментов // Биофизика. 2023. Т. 68 (6). С. 1229–1236.

Павлова В.Н., Копьева Т.Т., Слуцкий Л.И., Павлов Г.Г. Хрящ. М.: Медицина, 1988. 318 с.

Пивненко Т.Н., Клычкова Г.Ю., Ковалев Н.Н. и др. Пищевой общеукрепляющий профилактический продукт из хрящевой ткани гидробионтов и способ его получения. Патент РФ № 2250047С1. Опубл. 20.04.2005.

Пивненко Т.Н., Ковалев Н.Н., Запорожец Т.С. Биологически активная добавка к пище “Артрофиш” (в помощь практическому врачу). М.: Академия Естествознания, 2015. 66 с.

Потупчик Т., Веселова О., Эверт Л. и др. Спектр фармакологических эффектов глицина // Врач. 2015. № 12. С. 14–17.

Сова В.В., Попова Н.Д. Способ получения лечебно-профилактической добавки. Патент РФ № 2384342. Заявка 24.11.2008. Опубл. 20.03.2010.

Телишевская Л.Я. Белковые гидролизаты. Получение, состав, применение. М.: Аграрная наука, 2000. 296 с.

- Тутельян В.А., Хавинсон В.Х., Малинин В.В. Физиологическая роль коротких пептидов в питании // Бюл. эксп. биол. мед. 2003. Т. 135 (1). С. 1–5.
- Хавинсон В.Х., Малинин В.В., Рыжак Г.А. Способ получения средства для поддерживающей терапии, обладающего тканеспецифичной активностью // Патент РФ № 2290936С1. Опубл. 10.01.2007.
- Шеховцов П.В. Биологически активная добавка к пище на основе бурых морских водорослей для устранения соединительнотканной недостаточности и укрепления суставно-связочного аппарата. Патент РФ № 2653001С1. Опубл. 04.05.2018.
- Ших Е.В. Клинико-фармакологические аспекты применения гидролизованного коллагена второго типа для профилактики и лечения остеоартроза // Фармакол. фармакотер. 2021. № 4. С. 10–18.
- Эдсол Д., Гамфренд Х. Биотермодинамика. М.: Мир, 1986. 296 с.
- Aghajanian P., Hall S., Wongworawat M.D., Mohan S. The roles and mechanisms of actions of vitamin C in bone: new developments // J. Bone Miner. Res. 2015. V. 30 (11). P. 1945–1955.
- Ahmed M., Verma A.K., Patel R. Collagen extraction and recent biological activities of collagen peptides derived from sea-food waste: a review // Sust. Chem. Pharm. 2020. V. 18. P. 315–328.
- Aigner T., Stöve J. Collagens — major component of the physiological cartilage matrix, major target of cartilage degeneration, major tool in cartilage repair // Adv. Drug Deliv. Rev. 2003. V. 55. P. 1569–1593.
- Aleman A., Gomez-Guillen M., Montero P. Identification of ACE-inhibitory peptides from squid skin collagen after *in vitro* gastrointestinal digestion // Food Res. Int. 2013. V. 54 (1). P. 790–795.
- Alkayali A. Hydrolysed collagen type II and use thereof. Patent US6025327A. Appl. 2000.02.15. Publ. 2017.08.08.
- Ameye L.G., Chee W.S. Osteoarthritis and nutrition. From nutraceuticals to functional foods: a systematic review of the scientific evidence // Arthr. Res. Ther. 2006. V. 8 (4). P. R127.
- Anderson J.W., Nicolosi R.J., Borzelleca J.F. Glucosamine effects in humans: a review of effects on glucose metabolism, side effects, safety considerations and efficacy // Food Chem. Toxicol. 2005. V. 43 (2). P. 187–201.
- Asari A., Kanemitsu T., Kurihara H. Oral administration of high molecular weight hyaluronan (900 kDa) controls immune system *via* Toll-like receptor 4 in the intestinal epithelium // J. Biol. Chem. 2010. V. 285 (32). P. 24751–24758.
- Bruyère O., Zegels B., Leonori L. et al. Effect of collagen hydrolysate in articular pain: a 6-month randomized, double-blind, placebo controlled study // Comp. Ther. Med. 2012. V. 20 (3). P. 124–130.
- Chen Y., Chen J., Chen J. et al. Recent advances in seafood bioactive peptides and their potential for managing osteoporosis // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2022. V. 62 (5). P. 1187–1203.
- Choudhary A., Sahu S., Vasudeva A. et al. Comparing effectiveness of combination of collagen peptide type I, low molecular weight chondroitin sulfate, sodium hyaluronate and vitamin C versus oral diclofenac sodium in Achilles tendinopathy a prospective randomized control trial // Cureus. 2021. V. 13 (11). P. e19737.
- Clark A.G., Rohrbaugh A.L., Otterness I., Kraus V.B. The effects of ascorbic acid on cartilage metabolism in guinea pig articular cartilage explants // Matrix Biol. 2002. V. 21 (2). P. 175–184.
- Clark K.L., Sebastianelli W., Flechsenhar K.R. et al. 24-week study on the use of collagen hydrolysate as a dietary supplement in athletes with activity-related joint pain // Curr. Med. Res. Opin. 2008. V. 24. P. 1485–1496.
- Elango J., Zamora-Ledezma C., Ge B. et al. Paradoxical duel role of collagen in rheumatoid arthritis: cause of inflammation and treatment // Bioengineering. 2022. V. 9. P. 321–340.
- Fari G., Santagati D., Pignatelli G. et al. Collagen peptides, in association with vitamin C, sodium hyaluronate, manganese and copper, as part of the rehabilitation project in the treatment of chronic low back pain // Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets. 2022. V. 22 (1). P. 108–115.
- Fife R.S., Moody S., Houser D., Proctor C. Studies of copper transport in cultured bovine chondrocytes // Biochim. Biophys. Acta. 1994. V. 1201 (1). P. 19–22.
- Fox A.J.S., Bedi A., Rodeo A.S. The basic science of articular cartilage: structure, composition, and function // Sports Health. 2009. V. 1 (6). P. 461–468.
- Ganini D., Santos J.H., Bonini M.G., Mason R.P. Switch of mitochondrial superoxide dismutase into a prooxidant peroxidase in manganese-deficient cells and mice // Cell Chem. Biol. 2018. V. 25 (4). P. 413–425.
- Grover A.K., Samson S.E. Benefits of antioxidant supplements for knee osteoarthritis: rationale and reality // Nutr. J. 2016. V. 15 (1). P. 1–13.
- Guillermiset F., Beaupied H., Fabien-Soulé V. et al. Hydrolyzed collagen improves bone metabolism and biomechanical parameters in ovariectomized mice: an *in vitro* and *in vivo* study // Bone. 2010. V. 46. P. 827–834.

- Hisada N., Satsu H., Mori A. et al.* Low-molecular-weight hyaluronan permeates through human intestinal Caco-2 cell monolayers via the paracellular pathway // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2008. V. 72. P. 1111–1114.
- Hong H., Fan H., Chalamaiah M., Wu J.* Preparation of low-molecular-weight, collagen hydrolysates (peptides): current progress, challenges, and future perspectives // *Food Chem.* 2019. V. 301. P. 222–232.
- Hong M.-H., Lee J.H., Jung H.S. et al.* Biomineralization of bone tissue: calcium phosphate-based inorganics in collagen fibrillar organic matrices // *Biomater. Res.* 2022. V. 26. P. 42–71.
- Kucharz E.J.* The collagen: biochemistry and pathophysiology. Berlin: Springer-Verlag, 1992. 430 p.
- Lauwers M., Au M., Yuan S., Wen C.* COVID-19 in joint ageing and osteoarthritis: current status and perspectives // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23 (2). P. 720–737.
- León-López A., Morales-Peña A., Martínez-Juárez V.M. et al.* Hydrolyzed collagen — sources and applications // *Molecules.* 2019. V. 24 (22). P. 4031–4047.
- Lopez H.L.* Nutritional interventions to prevent and treat osteoarthritis. Part II: focus on micronutrients and supportive nutraceuticals // *PM R.* 2012. V. 4. P. S155–S168.
- Mobasher A., Mahmoudian A., Kalvaityte U. et al.* A white paper on collagen hydrolysates and ultrahydrolysates: potential supplements to support joint health in osteoarthritis? // *Curr. Rheumatol. Rep.* 2021. V. 23. P. 78–93.
- Moskowitz R.W.* Role of collagen hydrolysate in bone and joint disease // *Semin. Arthr. Rheum.* 2000. V. 30. P. 87–99.
- Oesser S., Adam M., Babel W., Seifert J.* Oral administration of (14)C labeled gelatin hydrolysate leads to an accumulation of radioactivity in cartilage of mice (C57/BL) // *J. Nutr.* 1999. V. 129. P. 1891–1895.
- Oesser S., Seifert J.* Stimulation of type II collagen biosynthesis and secretion in bovine chondrocytes cultured with degraded collagen // *Cell Tiss. Res.* 2003. V. 311. P. 393–399.
- Pabst O., Mowat A.M.* Oral tolerance to food protein // *Mucosal. Immunol.* 2012. V. 5. P. 232–239.
- Paul C., Leser S., Oesser S.* Significant amounts of functional collagen peptides can be incorporated in the diet while maintaining indispensable amino acid balance // *Nutrients.* 2019. V. 11. P. 1079–1088.
- Persikov A.V., Brodsky B.* Unstable molecules form stable tissues // *PNAS USA.* 2002. V. 99 (3). P. 1101–1103.
- Porfirio E., Fanaro G.B.* Collagen supplementation as a complementary therapy for the prevention and treatment of osteoporosis and osteoarthritis: a systematic review // *Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.* 2016. V. 19 (1). P. 153–164.
- Punzi L., Schiavon F., Cavasin F. et al.* The influence of intra-articular hyaluronic acid on PGE2 and cAMP of synovial fluid // *Clin. Exp. Rheumatol.* 1989. V. 7 (3). P. 247–250.
- Schadow S., Simons V.S., Lochnit G. et al.* Metabolic response of human osteoarthritic cartilage to biochemically characterized collagen hydrolysates // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18 (1). P. 207–227.
- Schunck M., Schulze C.H., Oesser S.* P189 collagen hydrolysate supplementation stimulates proteoglycan metabolism and gene expression of articular chondrocytes // *Osteoarthr. Cartilage.* 2007. V. 15. P. B136.
- Selvakumar P., Ling T.C., Covington A.D., Lyddiatt A.* Enzymatic hydrolysis of bovine hide and recovery of collagen hydrolysate in aqueous two-phase systems // *Separ. Purific. Technol.* 2012. V. 89. P. 282–287.
- Siebert H.C., Burg-Roderfeld M., Eckert T. et al.* Interaction of the $\alpha 2A$ domain of integrin with small collagen fragments // *Protein Cell.* 2010. V. 1. P. 393–405.
- Skov K., Oxfeldt M., Thøgersen R. et al.* Enzymatic hydrolysis of a collagen hydrolysate enhances postprandial absorption rate — a randomized controlled trial // *Nutrients.* 2019. V. 11. P. 1064.
- van Vijen J.P., Luijsterburg P.A., Verhagen A.P. et al.* Symptomatic and chondroprotective treatment with collagen derivatives in osteoarthritis: a systematic review // *Osteoarthritis Cartilage.* 2012. V. 20 (8). P. 809–821.
- Walrand S., Chiotelli E., Noirt F. et al.* Consumption of a functional fermented milk containing collagen hydrolysate improves the concentration of collagen-specific amino acids in plasma // *J. Agric. Food Chem.* 2008. V. 56. P. 7790–7795.
- Wang L., Wang Q., Liang Q. et al.* Determination of bioavailability and identification of collagen peptide in blood after oral ingestion of gelatin // *J. Sci. Food Agric.* 2015. V. 95. P. 2712–2717.
- Zdzieblik D., Brame J., Oesser S. et al.* The influence of specific bioactive collagen peptides on knee joint discomfort in young physically active adults: a randomized controlled trial // *Nutrients.* 2021. V. 13 (2). P. 523.
- Zhang J., Jeevithan E., Bao B. et al.* Structural characterization, *in vivo* acute systemic toxicity assessment and *in vitro* intestinal absorption properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin acid and pepsin solubilized type I collagen // *Proc. Biochem.* 2016. V. 51. P. 2017–2025.

Complex of Collagen Peptides and Glycosaminoglycans: Prevention and Treatment of Diseases of the Musculoskeletal System

T. I. Nikolaeva^{a,*}, K. S. Laurinavichus^b, M. V. Molchanov^a,
S. M. Kuznetsova^a, V. I. Emelyanenko^a, P. V. Shekhovtsov^a

^a*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow region, Russia*

^b*Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow region, Russia*

*e-mail: tomiynik@yandex.ru

Disorders of the human musculoskeletal system represent medical problem. Diseases of arthritis, arthrosis of joints, chondrodysplasia of the spine are accompanied by destruction of connective tissues, their structural components: collagen fibrils and proteoglycans. Glycosaminoglycans (chondroprotectors) have been used for a long time to treat arthritis and arthrosis, while collagen peptides (hydrolyzed collagen) are used only in the last 10–15 years to treat joint diseases. Designing the composition of nutraceuticals made of collagen and proteoglycans helps to solve the problem of replenishing missing structural components in the tissues of the musculoskeletal system. We consider that one of promising solutions of this problem is to obtain the complex of collagen peptides and glycosaminoglycans specific for connective tissues. The purpose of this review is to analyze the data available in the literature about collagen peptides, their complexes with glycosaminoglycans and to compare their characteristics with the samples obtained in our studies.

Keywords: collagen, low molecular weight peptides, glycosaminoglycans, mass spectrometry, NMR spectroscopy, molecular weights, complex of vitamins and minerals

УДК 599.742.11:574.3:574.38:575.222.7

ВОЛК (*Canis lupus* L.), ВОЛКО-СОБАЧЬИ (*C. lupus* × *C. familiaris*), СОБАКО-ВОЛЧЬИ (*C. familiaris* × *C. lupus*) ГИБРИДЫ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ НИША

© 2024 г. В. В. Кочетков

Центрально-Лесной государственный природный биосферный заповедник,
Тверская обл., Нелидовский р-н, Россия

e-mail: kvaldai@mail.ru

Поступила в редакцию 20.05.2024 г.

После доработки 19.07.2024 г.

Принята к публикации 21.07.2024 г.

Многолетние исследования (1975–2023 гг.) в ЦЛБЗ экологии популяционной группировки волка с использованием оригинальной методики подтверждают, что семья — это родители и только молодые особи (до одного года). Иная социальная структура характерна для стай с гибридами волка и собаки. Опираясь на публикации о бездомных (одичавших) собаках и их гибридами с волком, автор предложил идентифицировать гибридные стаи как волко-собачьи (самка — волк) и собако-волчьи (самка — собака): первые наследуют жизненную стратегию и образ жизни волка, а вторые — собак, поэтому живут разновозрастными стаями (парцеллами) круглый год и могут объединяться в стае более 18 особей. Анализ социальной, пространственной и поведенческой ниш (подниш) одичавших собак, волка и его гибридов показал, что они занимают разные экологические ниши. Автор не только предложил новый подход при изучении фундаментальной и реализованной ниш других видов животных, но и продемонстрировал его на примере исследований ширины трофической ниши популяций волка и лося.

Ключевые слова: волк, семья, гибрид, фундаментальная, реализованная и трофическая ниши, ширина ниши, лось

DOI: 10.31857/S0042132424060053, EDN: NROCJR

ВВЕДЕНИЕ

В России информация о появлении волко-собачьих гибридов отмечалась еще в XIX в. (Сабанеев, 1877). С начала 1960-х гг. бродячие и одичавшие собаки наблюдались более чем в 19 областях, краях и автономных республиках России, в Украине, Грузии, Азербайджане, Казахстане, республиках Средней Азии (Слудский и др., 1981; Рябов, 1993). Только за 9 месяцев 1984 г. в Украине было добыто 727 волков и 84740 собак и гибридов (Гурский, 1986). Не явились исключением и заповедные системы. В Боржомском заповеднике рост численности собак с 5 в 1974 г. до 60 в 1980 г. наблюдался при сокращении популяции волка в 1973–1980 гг. (Бараташвили, 1983).

Появлению волко-собачьих гибридов и одичавших собак в природных экосистемах способ-

ствовало и значительное сокращение численности волка как вредителя животноводства и охотничье хозяйства (Рябов, 1973, 1985, 1993; Гурский, 1975; Nowak, 1967; Soldatovic et al., 1970).

Во всех штатах США отмечали присутствие одичавших собак. Только в штате Джорджия их число достигало 300000 особей, общая численность в стране оценивалась в 10–20 млн особей, а ежегодный ущерб — 500 млн долл. (Рябов, 1993). В настоящее время потери от бездомных собак и гибридов в стране, по непроверенным сведениям из Интернета, достигли 1 млрд долл. Аналогичная проблема с бездомными собаками и волко-собачьими гибридами в Европе (Boitani, 1983; Boitani, Ciucci, 1995).

Логично, что, возвратив в экосистемы семьи волка, мы избавимся от одичавших собак. Но как

решить проблему с гибридами? Даже если они смогут выполнять функции волков в природе, занимать их экологическую нишу и вести их образ жизни. Фенотип у них иной. Найдя методики, позволяющие достоверно отличить гибридных особей от волка, мы сможем приступить к решению и этой проблемы. Но прежде мы должны выявить особенности образа жизни волка, одичавших собак и их гибридов.

Экология и поведение одичавших собак и их гибридов с волком изучены недостаточно (Рябов, 1973, 1993; Гурский, 1975; Поярков, 1986; Васильев, 1989; Boitani, 1983). Согласно исследованиям, одичавшие собаки и гибиды живут в стаях разного возрастного состава круглогодично, в то время как у волков стайно-семейный образ жизни характерен только для осенне-зимнего периода. Проанализируем некоторые результаты наблюдений за радиомеченными волками и акцентируем внимание на следующих особенностях.

В Миннесоте (Gese, Mech, 1991) из родительского участка обитания в разное время года расселялись взрослые, полузврелые и молодые особи. Аналогичная картина наблюдалась на Аляске (Ballard et al., 1987), в национальных парках Глейшер (Boyd, Pletscher, 1999) и Денали (Mech et al., 1998). Следовательно, среди семей волка были и стаи, социальная структура и дисперсия которых была характерна для одичавших собак и их гибридов с волком.

Чтобы различать в природных экосистемах семьи волков и стаи гибридов волка с собакой, следует в первую очередь применять методики с высокой достоверностью определения социальной структуры семей волка: при установлении возрастного состава семьи (стаи) прижизненно и на элиминированных животных.

Авторы большинства наблюдений, анализируя присутствие полузврелых особей в составе семьи (стаи) волка, не ссылались при этом на методики определения возрастной структуры членов этих группировок, что вызывает сомнение в достоверности приведенных данных.

Но даже методики, которые применяли авторы опубликованных работ, не гарантируют высокую достоверность определения возраста именно у полузврелых особей волка, что очень важно для дальнейшего анализа. Наличие или отсутствие этой возрастной группы в составе семьи (стаи) в корне меняет представление о социальной жизни волка.

Так, например, по степени стертости зубов (Gipson et al., 2000) принято выделять следующие возрастные группы: младше 1 года — зубы

не стерты, края резцов острые; 1–2 года — легкая стертость острых краев долей резцов и дистальной части маленького заднего гребня верхнего клыка. На рисунках авторов показаны условные границы стертости для зверей разных возрастов, но без точного шаблона достоверно выделить наличие именно полузврелых особей затруднительно (прижизненно и по черепу).

Не дают высокой степени достоверности и методики выявления полузврелого волка в выборке по структуре черепа (Гурский, 1973) и даже по слоистым структурам зубов (Клевезаль, Клейненберг, 1967): четкие разделяющие линии чередуются с нечеткими или же слои совсем не выделяются. Особенно это характерно для младших возрастных групп.

Высказано предположение, что одичавшие собаки и гибиды заняли экологическую нишу волка (Бибиков, Бибикова, 1985). Впервые понятие экологической ниши ввели Гринелл (Grinnell, 1914) и Элтон (Elton, 1927). Если первый автор акцентировал внимание на пространственном распределении видов относительно друг друга, то второй — на функциональном аспекте, т.е. трофическом месте вида в цепях питания. Позднее Хатчинсон (Hutchinson, 1957) предложил многомерную модель ниши как попытку определить место и роль вида, учитывая все его связи в сообществе и со средой обитания. Принято считать, что фундаментальная ниша — это наибольший абстрактно заселенный гиперобъем, когда вид не ограничен конкуренцией с другими видами, а реализованная ниша — меньший гиперобъем, занимаемый в условиях биотических ограничений (Hutchinson, 1965). “Экологическая ниша — понятие, включающее в себя не только физическое пространство, занимаемое организмом, но и функциональную роль организма в сообществе (например, его трофическое положение) и его положение относительно градиентов внешних факторов — температуры, влажности, рН, почвы и других условий существования” (Одум, 1986, с. 119). Следовательно, экологическая ниша характеризует функциональное место биологического вида в биогеоценозе (подчеркну, что в биогеоценозе учитываются и взаимосвязи между видами, а в экосистеме — только количество и структура видов). С этих позиций и следует рассматривать особенности экологических ниш волка, бродячих, одичавших собак и гибридов волка с собакой.

Отсутствие простой и репрезентативной методики анализа данных в рамках исследований экологической ниши вида не дает возможности обосновать рекомендации по рациональному

использованию биологических ресурсов. Несомненно, ученые смогли бы давать более правильные прогнозы о динамике популяций лося, если бы обладали точными знаниями “о первоначальной экологической нише, связанной с приспособительными особенностями морфологии, экологической физиологии и высшей нервной деятельности, в свою очередь определяющих особенности аутэкологии и поведения” (Баскин, 1984, стр. 46). Отметим важность высказанных автором суждений, не только углубляющих понятие об экологической нише, но и являющихся ориентиром для конкретизации исследований в этом направлении: показатели ниши могут меняться в зависимости от условий среды обитания и это можно выразить в цифрах. Приспособительные механизмы морфологии связаны с географическими особенностями местообитаний популяций и поэтому отражают функциональную роль вида в конкретных географических зонах. Экологическая физиология также связана с обитанием популяций в определенных биотопах. Значит, жизнедеятельность каждого вида в биогеоценозе можно отразить не только на видовом уровне (функциональная ниша), но и на уровне популяции и популяционной группировки (реализованная ниша).

Многолетние наблюдения (51 год) за жизнедеятельностью экосистем в Центрально-Лесном биосферном заповеднике (ЦЛБЗ) вызывают сомнение в конкурентной борьбе между видами животных и растений. Борьба за существование с последующей адаптационной эволюцией вызвала бы хаос в биосфере. Логичней полагать, что каждому виду прописана своя роль в биогеоценозе, которой он четко придерживается. Именно функциональные особенности и упорядоченность видового состава животных и растений для разных биогеоценозов и являются основой стабильности функционирования биосферы. Тогда по функциональной экологической нише мы сможем судить о запрограммированной функциональной роли вида, а по реализованной нише популяционных группировок и популяций — о степени адаптации вида к конкретным условиям.

Научному сообществу предлагается несколько иное определение ниш. Фундаментальная ниша трактуется как гиперобъем, занимаемый, например, видом *Canis lupus* в пределах всего его ареала обитания. Реализованная — в пределах популяции или популяционной группировки. Совокупность реализованных ниш популяций составит фундаментальную нишу вида. И для фундаментальной, и для реализованной ниш можно выявить их ширину в рамках ежегод-

ных и многолетних наблюдений (например, пространственную, территориальную, трофическую, поведенческую, маркировочную). По динамике ниш мы сможем давать оценку состояния популяции (популяционной группировки) и вида в биогеоценозе в конкретном временном интервале.

Цель данной публикации — приняв за базовую основу данные многолетних исследований экологии и поведения волка в ЦЛБЗ, провести сравнительный анализ с опубликованными материалами других авторов и решить следующие задачи: а) отметить особенности социальной структуры семей волка в ЦЛБЗ; б) указать на различия в экологии и поведении волка, волко-собачьих и собако-волчьих гибридов; в) продемонстрировать новый подход в изучении фундаментальной и реализованной ниш животных, опробованный на исследовании ширины трофической ниши популяций волка и лося; г) доказать на примере социальной, пространственной и поведенческой ниш, что бродячие (одичавшие) собаки и гибриды волка с собакой занимают разные экологические ниши.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования экологии и поведения популяционной группировки волка проводились в период 1975–2023 гг. на контрольной территории площадью 1000 км²: заповедное ядро, охранная зона ЦЛБЗ и охотничьи хозяйства.

Наличие выводка в той или иной семье устанавливали вначале методом идентификации размера отпечатка передней правой стопы волка по гипсовым слепкам родительских пар. Затем методом подвышки, опроса охотников, местного населения подтверждались данные о выводке. В снежный период методом тропления определяли количественный состав семьи: выделяли родительскую пару и молодых (в ноябре–январе); по количеству постоянных лежек или следам, когда волки идут цепью (на дороге, по насту после снегопада, при подготовке к атаке лося) — число особей в семье. Молодых самцов определяли по характеру мочевой метки. Итоговый результат, отражающий ежегодную динамику количественного размера семей популяционной группировки волка представлен в табл. 1. В анализ включены 147 семей волка, а также учтены сведения по количественному составу 135 стай (семей) волка из Калининской (Тверской) обл., согласно данным районных охотоведов в январе 1980 г.

Таблица 1. Динамика размера семей волка в ЦЛБЗ в период 1975–2023 гг.

Год	Размер семьи										
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1975	1		1								
1976	1		2								
1977	1	1	1	1	1						
1978	1	1	2								
1979		1	2		1						
1980	3		1	3							
1981	1	1	2					1			
1982	2	1	1								
1983		1						1			
1984	1		1	2		1					
1985	1	1			1						
1986	1	2						1			
1987	1		1				1				
1988		1									
1989		1	1								
1990	1		1								
1991					1				1		
1992					1		1				
1993	1					1					
1994	2					2					
1995	1	1				2					
1996	1	1		1	1						
1997		1	1	1							
1998	2	1			1				1		
1999			1					1			
2000						1					
2001				1			1				
2002		1	1	1							
2003		1		1							
2004			1								
2005		1			1						
2006			3								
2007			1	1							
2008		1	1								
2009		1	1								
2010			2								
2011			2								
2012		2									
2013	1				1	1					
2014		1		1							
2015		1	1	1							
2016			1		2						
2017		1								1	
2018					1						
2019	1	1	1		1						
2020	1	1		1							
2021				1							
2022	1			1	2						
2023			1								
Итого	25	27	33	17	20	4	3	4	1	1	
В %	18.5	20	24.5	12.6	14.8	3	2.2	3	0.7	0.7	

В статье употребляется следующая терминология: взрослый (синоним: матерый, $adult \geq 24$ мес.) — старше двух лет, полузврослый (синоним: переярок, *subadult*, *yearling* — 12–23 мес.) — 1–2 года и молодой (синоним: прибылой, *juvenis*, *pup* < 12 мес.) — до 1 года (Ballard et al., 1987). В летне-осенний период наличие взрослых самца и самки, полузврослых и молодых в составе семьи устанавливали по особенностям воя. Вой взрослого самца грубый, басовитый, на “О”, состоит из двух колен: начало и более короткое окончание. Вой взрослой самки более протяжный, нежный, на “У”, состоит из двух колен: одинаковых по продолжительности начала и окончания воя. Вой полузврослого волка напоминаетвой взрослого самца и взрослой самки: первая часть, как у самца, но несколько мягче, вторая часть, как у самки, но на “О”, третья часть похожа на “же-вание” звука и состоит из трех колен: подъем, спад, подъем (рис. 1).

Методика подывивки апробирована известным егерем региона П.И. Ручкиным, записана на магнитофон и эффективно применялась в исследованиях: при поиске логова, при установлении присутствия полузврослых особей на исследуемой территории и в составе семьи. (В приложении к электронному варианту статьи помещена в авторском исполнении запись воя: взрослых самца и самки; полузврослого; как самка подзывает волчат; как самец просит самку ответить.)

При определении ширины реализованной трофической ниши популяционной группировки и семей волка в ЦЛБЗ включены данные копрологического анализа ($n = 1228$) шести семей: Белейкинской, Горбуновской, Могилицкой, Столоватской, Устинской и Черно-Верховской. В процессе охот на волка вне заповедного ядра

из этих семей в разные годы элиминировались взрослый самец или самка, но территориальная структура этих семей сохранялась. Следовательно, питание отражает особенности охотничьего поведения родительских пар, местообитаний и видового состава потенциальных жертв.

В качестве исходной модели социальной организации семьи волка приведены материалы полевых наблюдений в ЦЛБЗ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основу популяций волка составляют семьи, ведущие стайный образ жизни, пары (взрослые самец и самка без молодых особей) и одиночные волки. Стая — это группа волков, состоящая из взрослых животных, родителей и их детей, т.е. это семья, поэтому правильно употреблять термин не стая, а семья волков. Но если в группе присутствуют особи из других семей, тогда уместнее употреблять термин “стая”. Кроме молодых особей в семье могут присутствовать и полузврослые от этих же родителей, и в этом случае это также одна семья, а не стая. Насколько же правомерно утверждение, что в состав семьи входят не только родительская пара и молодые, но и полузврослые особи?

В большинстве источников авторы, указывая на наличие полузврослых особей в семье, ссылаются на М.П. Павлова (Павлов, 1982), но в книге нет описания методики, а есть лишь указание на состав семьи: “Сравнительно полноценной можно считать волчью семью, в которой при волке и волчице находятся 2–3 переярка, 4–5 прибылых волчат. Принимая этот критерий, надо учитывать, что процветание семей обеспечивает переярки: чем их больше, тем сильнее семья. Теоретически (т.е. при расчете по зарегистрированному максимальному приплоду — 15 особей) волчья семья может состоять из 32 особей. В охотничьей практике встречались семьи из 16 волков: 2 матерых, 4 переярков, 10 прибылых. Такая семья лишь однажды была обнаружена охотником-волчатником А.С. Соколовым почти за 40-летний период охоты на этих зверей в Калининской области” (Павлов, 1982, с. 46). Далее автор приводит данные о доле переярков среди добытых волков в Кировской обл. и ссылки по Владимирской обл., Литовской ССР и госзаповедникам, но не описывает методику определения наличия переярков в выборках.

Анализируя возрастной состав трех семей волка в 1972–1975 гг. в Кавказском заповеднике, автор (Кудактин, 1979) отмечает долю переярков в составе семей по двум показателям — учтенным прижизненно и элиминированным особям,

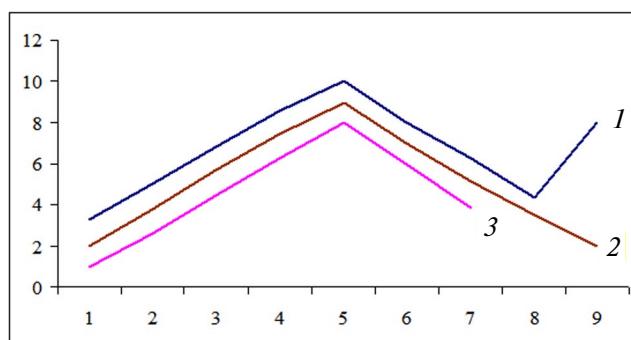


Рис. 1. Характер воя взрослых самца (3), самки (2) и полузврослого (1) волка (по оси абсцисс — продолжительность воя, в условных единицах; по оси ординат — громкость воя, в условных единицах).

но не дает ссылок на методику определения этой возрастной группы, несмотря на утверждение: “В семье Уруштен выборочно отстреливали переярков” (Кудактин, 1979, с. 58). Если А.С. Соколов лишь однажды отмечал наличие переярков в составе семьи, то в Кавказском заповеднике переярки регистрировались ежегодно, формируя в составе семьи, по мнению автора (Кудактин, 1979, с. 56), “сложное иерархическое объединение животных”.

При анализе половозрастной структуры популяционной группировки волка в Беловежской пуще на основании просмотра 129 добытых животных, прибылые и переярки были отнесены (Буневич, 1989) к категории молодых, но возраст каждой особи не устанавливался.

В заповеднике “Калужские засеки” в период с 27 августа по 11 сентября 2006 г., исследовали звуковую активность у семейной группы волков. Отметили, что 28% воев осуществлялись совместно взрослыми, переярками и щенками, 11% — взрослыми и переярками, 39% — группой переярков и 22% — переярками и щенками. Хотя методика определения возрастных групп не приводится, но есть пояснение, что “взрастную (для всех) и половую (для взрослых и некоторых переярков) принадлежность особи устанавливали по основной частоте звука” (Каспарсон и др., 2007, с. 189).

Кроме стайных переярков, некоторые авторы отмечают наличие этой возрастной категории в составе нетерриториальных групп. “Нетерриториальные звери — это обычно переярки и взрослые неразмножающиеся особи, изгнанные из стаи. Они нередко объединяются в группы по 2–5 особей, образуя временные стаи различного состава” (Бибиков и др., 1985, с. 426). Возможно, термин “нетерриториальные” неудачен, так как любое животное имеет территорию или участок обитания, и, кроме того, эти утверждения не подкреплены материалами картографических схем, не указана методика выявления таких особей.

По мнению А.А. Соколова (Соколов, 1951), семьи между собой никогда не соединяются, поэтому никаких сборных волчьих стай быть не может. А это существенно, так как семья, состоящая из молодых и их родителей, может временно распадаться на отдельные группы. Объединение этих временных групп ошибочно может трактоваться как объединение разных семей в стаю.

В ЦЛБЗ такое явление регистрировалось неоднократно у разных семей, а также подтверждалось и наблюдениями охотоведов в Калининской (Тверской) обл., что создавало

иллюзию высокой численности волка. Например, в ЦЛБЗ семью из семи особей периодически регистрировали отдельными группами: 5 + 2, 4 + 3, но постоянно только двумя, так как каждую возглавлял один из родителей. Не зная об этой особенности, обычно считали все группы и получали численность в 21 особь.

Способность семей волка распадаться на отдельные две группы отмечают и другие исследователи. Так, В.В. Козлов (Козлов, 1952) приводит пример деления стаи в 10 особей на две группы по пять особей, а Мич (Mech, 1966) отмечает, что из 25 дней наблюдений стая в 15 особей периодически распадалась на две группы по пять и десять или семь и восемь особей.

Понятие “стая” достаточно широко и часто употребляют зарубежные и отечественные исследователи, но автор не нашел в их статьях методики прижизненного определения полувзрослых особей в семье с высокой степенью достоверности, а тем более из разных семей — из стаи. За весь период наблюдений только в 1981 г. в Калининской (Тверской) обл. достоверно было зарегистрировано присутствие нескольких половозрелых самок в одной семье (стае): в ЦЛБЗ 14 марта при троплении Дулинской семьи, состоящей из 10 особей, на двух лежках были обнаружены следы течки у двух самок по кровяным выделениям; в Оленинском р-не в начале апреля на отправленной приваде из семи здесь обитавших волков добыли четырех, среди которых было три беременные самки; в Кувшиновском р-не в марте в окладе из флагов отстреляли семью (стаю), и среди погибших были две половозрелые самки.

Не удалось найти первоисточник, где изначально введено понятие “переярок” (полувзрослый). Например, Н.А. Зворыкин (Зворыкин, 1939) описывает переярков как старших братьев и сестер прибылых, которые остаются при выводке до двухлетнего возраста. Упоминают переярков и другие авторы (Сабанеев, 1877; Соловьев, 1925; Соколов, 1951).

Роль этой возрастной группы в жизнедеятельности популяций не показана. Более того, этот интервал очень короток — всего лишь один год, затем они переходят в категорию взрослых особей. За этот период они должны выполнить свою миссию, но какую — непонятно. Ведь определение возрастной структуры семьи позволит грамотно наметить дальнейшее изучение. Если заключение о ежегодном пополнении семьи волка полувзрослыми особями верно, тогда следует изучать построение внутрисемейной иерархической структуры. В противном случае структура упрощается до взаимоотношений

между родителями и детьми, а альфа и бета особи в семье будут отсутствовать, и с других позиций следует рассматривать и максимальные размеры семей (стай), превышающие 16–18 особей, вместо 32 возможных, как предполагает М.П. Павлов (Павлов, 1982).

Например, в Дарвинском заповеднике (Вологодская и Ярославская обл.) при анализе карточек встреч следов и визуальных наблюдений волка в 1949–1983 гг. максимальный размер стаи составил 13 особей (Калецкая, Филонов, 1987). Авторы отмечают, что крупные стаи регистрировались в периоды высокой численности волка, но их данные из таблицы 1 (Калецкая, Филонов, 1987, с. 1232) отражают несколько иную картину. Если в 1949–1960 гг. средняя численность волка в год была 17 особей, средний размер группы — 2.6 особи, встречаемость групп 6–9 особей — 9%, 10–13 особей — 2%, то эти же показатели в 1978–1983 гг. составили: 20 особей, 2.6 особи, 11 и 2%, а в 1968–1977 гг. соответственно 11 особей, 2.9 особи, 12 и 3%, т.е. при низкой численности средний размер группы и процент встречаемости групп численностью в 6–9 и 10–13 особей за период был выше. Для сравнения представлены данные о характере изменений числа особей в семьях и о количестве семей в ЦЛБЗ (рис. 2).

Характерно, что максимальные размеры семей отмечались нами не только в период высокой численности (в 1977–1984 гг.), но и при

низкой — в 1991–1995 гг. (коэффициент достоверности аппроксимации $R^2 = 0.2$). При этом высокая численность популяционной группировки зависела от числа семей и в меньшей мере от размера семьи, и за весь период наблюдений величина семей варьировала, но не превышала одиннадцати особей, т.е. пары родителей и девять молодых.

Если бы на семейной территории часть молодых, став полувзрослыми, осталась, согласно выводам авторов (Кудактин, 1979; Павлов, 1982), то следы групп этих особей обязательно были бы зафиксированы в мае–июне, но в этот период регистрировались следы только родительских пар и одиночных особей.

Но в Дарвинском заповеднике следы групп волка отмечались в течение всего года (максимальные размеры) — от четырех до девяти особей в мае–августе и от семи до тринадцати особей — в остальные месяцы (Калецкая, Филонов, 1987). На основании этого авторы приходят к выводу, что, хотя стайность — это основной способ и существования волка, и социальной организации в течение круглого года, но это явление не строго сезонное.

Может ли высокая плодовитость самок быть генетически наследуемой, или это прерогатива отдельных семей, связанная с условиями обитания? Согласно наблюдениям (Кудактин, 1979), в четырехлетнем периоде в трех семьях число волчат было небольшим. Так, в семье Умпирь —

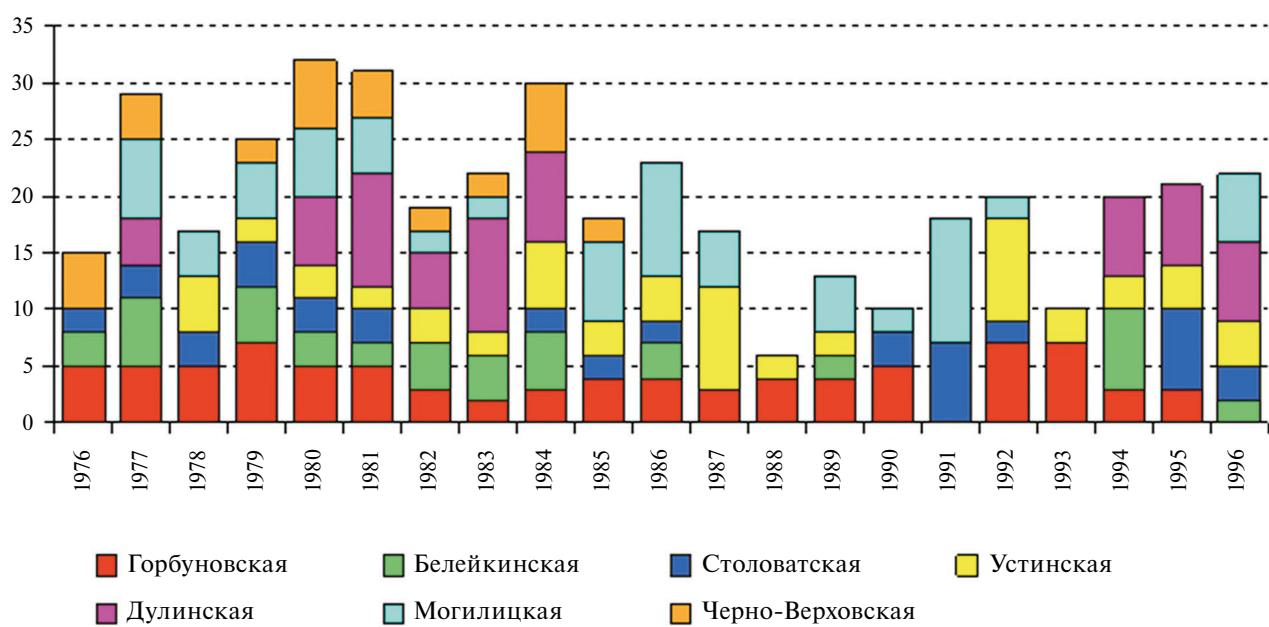


Рис. 2. Особенности многолетней динамики размера семей волка в пределах популяционной группировки в ЦЛБЗ (по оси абсцисс — годы, по оси ординат — особи).

3–4 особи, в семье Алоус — 2–3 и в семье Уруштен — 2–3 особи. В 1972–1980 гг. максимальный размер стаи в этих же семьях не превышал восьми особей (Кудактин, 1982).

В ЦЛБЗ размеры семей изменялись следующим образом (рис. 3).

И если характеризовать динамику по индексу стайности, то средний показатель варьировал от 3.4 до 7.1. Максимальный индекс стайности был зарегистрирован у Дулинской (10 особей) и Могилицкой (11 особей) семей. С учетом же того, что семья в зимний период — это пара родителей и молодые, то максимальный показатель плодовитости был отмечен в девять особей.

Рассмотрим распределение семей по их количественному составу в многолетнем цикле наблюдений (табл. 1).

Базовые размеры семьи, 3–7 особей, составляли 90.4% и лишь 9.6% — 8–12 особей. По данным учета 141 семьи волка в январе 1982 г. в Калининской (Тверской) обл. основу популяции составляли семьи размером от трех до девяти особей — 90.1%, а от девяти до четырнадцати (плюс одна семья шестнадцать особей) — 9.9%. Следовательно, лишь незначительный процент в популяции волка составляли семьи более 7–8 особей.

Наши данные подтверждают и публикации отечественных авторов. Так, в Алтайском крае в 1970–1982 гг. из 293 учтенных стаи волка преобладали группы от трех до девяти особей, и только 10% — от девяти до пятнадцати особей. В Кемеровской обл. из 46 зарегистрированных стаи лишь в пяти было 9, 11 и 12 особей. В Новосибирской обл. стаи более 7 особей не отмечали. В Горно-Алтайской а. обл. из 43 встреч стаи волка в шести случаях регистрировали 10, 11 и 15 особей (Бондарев, 2002).

В Псковской обл. максимальные размеры стаи волка достигали 10–12 особей, а максимальное число щенков в выводках составило 9 особей (Данилов и др., 1979).

В Ямало-Ненецком а. окр. (Гыданский п-ов) за 5 лет авиаохоты было встречено 28 семейных групп волка, но лишь дважды максимум в 8 особей (Чувашов, 1989). В Читинской обл. среди 196 выводков в 1978–1986 гг. были отмечены семьи в 10 особей в 1981 г., в 11 особей — в 1978 и 1983 гг., в 12 особей — в 1980 г. (Пузанский, 1989). В Сохондинском заповеднике стаи волков состояли преимущественно из 3–5 особей, максимум — 9 особей, а в пределах Хэнтей-Даурской горной страны — 11 особей (Баранов, 1989).

Динамика размера семей волка

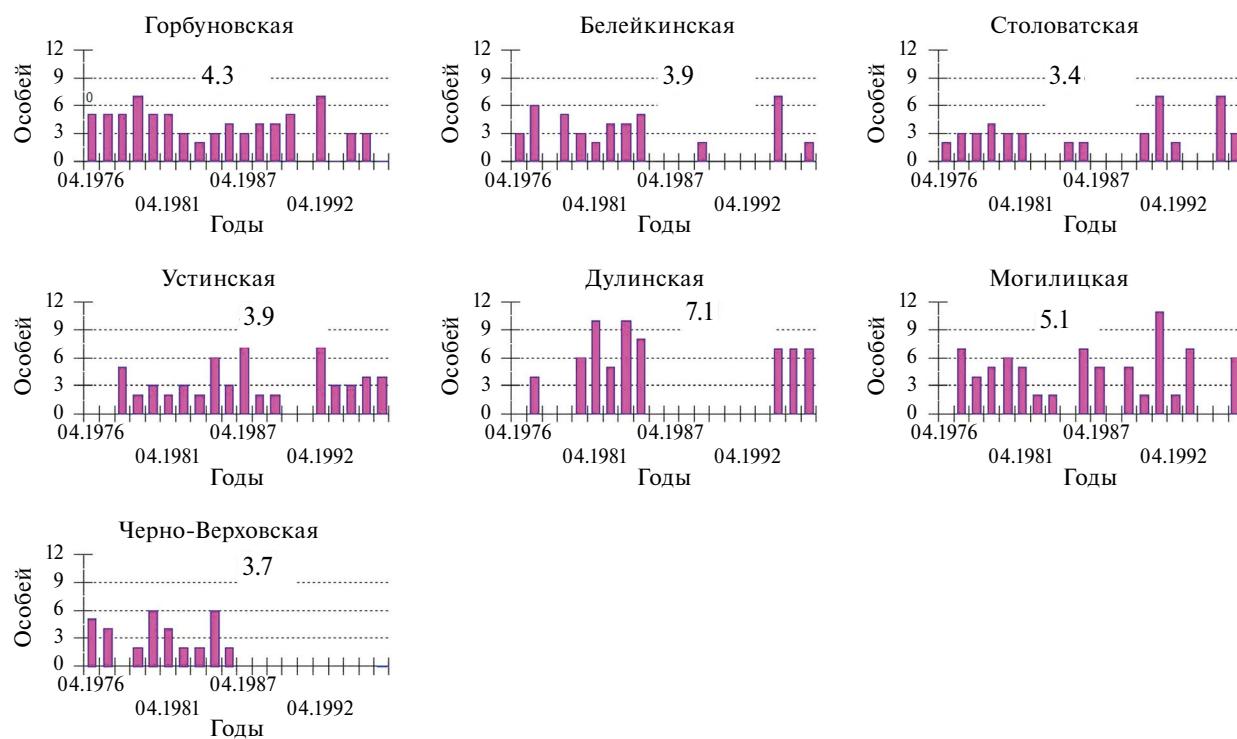


Рис. 3. Особенности изменений размера семей волка по биологическим годам (по оси абсцисс — годы; по оси ординат — особи; 4.3, 3.9, 3.4... — усредненный индекс стайности).

Следовательно, максимальная численность семьи (стай) волка не превышала 15–16 особей.

Для Северной Америки формирование разносемейных стай регистрируется довольно часто (van Ballenberghe, 1983), и такие стаи могут состоять из 18, 19, 20, 22, 25, 29 и даже 42 особей (Fuller et al., 2003). Рассмотрим это

на примере исследований в национальном парке Денали, Аляска (Mech et al., 1998), где под наблюдением находились 33 стаи волков (табл. 2).

Размер стай варьировал от трех до двадцати девяти особей и в шести семьях превышал 16–17 особей, т.е. не вписывался в общие пока-

Таблица 2. Максимальные размеры стай волка в национальном парке Денали (по: Mech et al., 1998, с изменениями)

Стая	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	Суммарно	<i>N</i>	Значение	SD	SE
Headquarters	2	2	7	14	11	10	5	9	60	8	7.5	4.3	1.5
East Fork	9	8	19	27	29	16	15	9	132	8	16.5	8.1	2.9
Clearwater	6	6	4	8					24	4	6.0	1.6	0.8
Alma Lakes	3								3	1	3.0	0.0	0.0
McLeod Lake		7	12	12	20	13	13	15	92	7	13.1	3.9	1.5
McLeod West						11	17		28	2	14.0	4.2	3.0
Birch Creek		11	23	15	16	6			71	5	14.2	6.3	2.8
Birch North						5			5	1	5.0	0.0	0.0
Bearpaw		10	1						11	2	5.5	6.4	4.5
Windy Creek		8	5	8	17				38	4	9.5	5.2	2.6
Totek Hills		15	7	12					34	3	11.3	4.0	2.3
Ewe Creek	6	8	5	3	4	3	3		32	7	4.6	1.9	0.7
Chulitna	2	5							7	2	3.5	2.1	1.5
Pirate Creek			9						9	1	9.0	0.0	0.0
Castle Rocks			8						8	1	8.0	0.0	0.0
Swift Fork			2						2	1	2.0	0.0	0.0
Highpower			8	10	12	11	10		51	5	10.2	1.5	0.7
McKinley River		10	10	8	10	9	7	3	57	7	8.1	2.5	1.0
Sushana	2								2	1	2.0	0.0	0.0
Stampede		7	10	4		2	2	3	28	6	4.7	3.2	1.3
Little Bear		7	12			23	12	12	66	5	13.2	5.9	2.6
Foraker			7	9		8	7	6	37	5	7.4	1.1	0.5
Chitsia			4	8		12	9	8	41	5	8.2	2.9	1.3
Chilchukabena						6	7		13	2	6.5	0.7	0.5
Slippery Creek						5	1		6	2	3.0	2.8	2.0
Tonzona						5			5	1	5.0	0.0	0.0
Ferry						7			7	1	7.0	0.0	0.0
Reindeer							7		7	1	7.0	0.0	0.0
Yanert							5	18	43	3	14.3	8.1	4.7
Thorofare							2	7	9	1	4.5	3.5	2.5
Turtle Hill							8	7	15	2	7.5	0.7	0.5
Savage							5	8	13	2	6.5	2.1	1.5
Jenny Creek								6	6	1	6.0	0.0	0.0
Сумма	30	90	134	150	160	157	148	93	966				
Размер образца	7	11	16	14	12	18	18	12		108			
Значение	4.3	8.2	8.4	10.7	13.3	8.7	8.2	7.8			8.9	5.6	0.5
SD	2.8	3.4	5.7	5.8	7.4	5.1	5.1	3.4					
SE	1.0	1.0	1.4	1.6	2.1	1.2	1.2	1.0					

затели по индексу стайности, характерному для семей волка.

Рассмотрим динамику числа родившихся волчат в стаях волка (табл. 3).

Прирост за все годы наблюдений составил от 1 до 12 щенков на одну стаю, но максимальные размеры в 11 и 12 щенков в East Fork, McLeod Lake, Birch Creek, Little Bear в 1988, 1990 и 1991 гг. составляли суммарный приплод от двух самок в стае. Принимая во внимание, что стая — это семья, состоящая из родителей и молодых, отберем только те стаи, которые можно отнести к правильным семьям, т.е. из общего числа особей в стае вычтем молодых и оставим

только родительскую пару, тогда из 108 стай лишь 12 (11%) можно отнести к правильным.

Рассмотрим наиболее не характерные для волка стаи — это East Fork (размер стай в отдельные годы составлял 19, 27, 29 особей), McLeod Lake (20 особей), Birch Creek (23 особи), Little Bear (23 особи) и Yanert (20 и 18 особей), учитя, что максимальный размер выводка составлял 9 особей, к этой категории отнесем и стаи размером более 11 особей.

Из 966 волков молодые составили всего лишь 343 особи или 36%. Следовательно, территории стай использовались для комфортного проживания взрослых особей.

Таблица 3. Минимальное количество родившихся щенков в стаях, по данным осеннего учета, в период многолетних наблюдений (по: Mech et al., 1998, с изменениями)

Стая	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	Суммарно	N	Значение	SD	SE
Headquarters	0	0	5	7	3	3	2	7	27	8	3.4	2.8	1.0
East Fork	2	2	12*	9	9	3	7	4	48	8	6.0	3.8	1.3
Clearwater	0	2	0	6					8	4	2.0	2.8	1.4
McLeod Lake	3	5	4	11*	5	4	5	37	7	5.3	2.6	1.0	
McLeodWest					4	8			12	2	6.0	2.8	2.0
Birch Creek	4	12*	2	1	3				22	5	4.4	4.4	2.0
Bearpaw	4								4	1	4.0	0.0	0.0
Windy Creek	3	0	5	9					17	4	4.3	3.3	1.9
Totek Hills	4								4	1	4.0	0.0	0.0
Ewe Creek	1	2	0	2					5	4	1.3	1.0	0.5
Chulitna	5								5	1	5.0	0.0	0.0
Pirate Creek	7								7	1	7.0	0.0	0.0
Castle Rocks	6								6	1	6.0	0.0	0.0
Highpower	5	3	5	3	3	3			19	5	3.8	1.1	0.5
McKinley River	0	1	5	4	2	1	13		6	2.2	1.9	0.8	
Stampede	5	6		0	0	0	11		5	2.2	3.0	1.3	
Little Bear	5	5		11*	6	3	30		5	6.0	3.0	1.3	
Foraker		4	3	3	3		13		4	3.3	0.5	0.3	
Chitsia		0	5	5	3	1	14		5	2.8	2.3	1.0	
Chilchukabena				3	3		6		2	3.0	0.0	0.0	
Slippery Creek				3	0		3		2	1.5	2.1	1.5	
Reindeer				3			3		1	3.0	0.0	0.0	
Yanert				0	6		6		2	3.0	4.2	3.0	
Thorotare					0	5	5		2	2.5	3.5	2.5	
Turtle Hill						5	3	8	2	4.0	1.4	1.0	
Savage					2	4	6	2	2	3.0	1.4	1.0	
Jenny Creek						4	4	1	4.0	0.0	0.0		
Сумма	2	28	64	52	53	53	54	37	343				
Размер образца	3	10	13	13	10	15	16	11		91			
Значение	0.7	2.8	4.9	4.0	5.3	3.5	3.4	3.4			3.8	2.8	0.3
SD	1.2	1.5	3.9	2.7	3.3	2.5	2.5	2.1					
SE	0.7	0.5	1.1	0.7	1.0	0.6	0.6	0.6					

Примечание: * представляет два помета.

В ЦЛБЗ за период наблюдений количество взрослых особей (родителей семей) составило 270, а молодых — 442 или 62% (см. табл. 1), т.е. почти в 2 раза больше, чем в Денали. Значит, ресурсы территории семей используются в большей степени для выращивания, воспитания и обучения молодых особей, для поддержания численности популяции.

Предварительный анализ показывает, что участки обитания стай в Денали используются неэффективно, так как процент щенков во всех семьях (правильных и неправильных) составил от 13 до 78, в то время как в районе ЦЛБЗ эти показатели стабильно выше: от 33 до 83%. В летний период в ЦЛБЗ на семейной территории волка обитали только две взрослые особи плюс молодые (или же только семейная пара), и периодически оставляли следы одиночные особи.

В национальном парке Денали иная ситуация, и большие размеры стай в течение года. Почему? В чем смысл такой стратегии? Ведь пара волков в состоянии добыть даже взрослого лося в любой сезон года (Кочетков, 2012). Следует предположить, что рядом с семьями волков обитают и гибриды волка с собакой, ведь именно у них, в сравнении с жизнью семей волка в ЦЛБЗ, другая жизненная стратегия и социальная структура семьи.

Учитывая обозначенные различия, желательно переосмыслить результаты исследований экологии и поведения волка в местах его возможной гибридизации с собакой. Мич (Mech, 1999) на основании собственных исследований и анализа публикаций других авторов пришел к заключению, что молодые члены составляют временную часть стаи, долгосрочным же участником стаи является размножающаяся пара, а попытки спроектировать информацию о поведении групп неродственных невольных волков на семейные структуры стай в естественной среде обитания привели к серьезным недоразумениям. Такой подход, по его мнению, аналогичен попытке сделать выводы о динамике человеческой семьи на основе изучения людей в лагерях для беженцев.

Л.С. Рябов (Рябов, 1993), изучая жизнедеятельность одичавших собак, волка и его гибридов с собакой, обратил внимание на определенные особенности не только бродячих и одичавших собак, но и волко-собачьих гибридов. Так, при скрещивании волка-самца с собакой внешность гибридов варьировала в равной степени в сторону как одного, так и другого родителя. Внешне они не отличались от дворовых собак по размеру, коротконогости и окрасу. Часто отсутствовала зонарность волоса, на когтях были белые

пятна, на задних ногах присутствовал первый (прибылой) палец, клещеобразный прикус резцов, отмечались также не характерные для волка постановка ушей, форма и окрас хвоста, т.е. даже при общем облике волка встречаются отдельные признаки собаки.

Гибриды, рожденные в природе от волчицы и собаки, были больше похожи на волков по окрасу, форме тела и поведению. При повторном скрещивании гибридов с волками они утратили признаки собаки и приобрели волчий облик и способность охотиться на диких копытных. Несмотря на то что они использовали охотничьи приемы волков, наблюдались и различия, характерные для одичавших и безнадзорных собак. В Италии гибридный потомок ведет образ жизни волка: присутствие в стае, овладение территорией, взаимоотношения с другими волками, как и у любого волка (Boitani, 1983).

Гибриды волка и собаки в научной литературе называют волко-собачьи, что не совсем точно. Анализируя характеристики экологии, поведения и особенно семейной стратегии волка (Кочетков, 2023), автор пришел к заключению, что в природе обитает два вида гибридов: волко-собачьи (родженные волчицей) и собако-волчьяи (родженные собакой). Предстоит дальнейшее исследование особенностей экологии, поведения и образа жизни волко-собачьих и собако-волчьях гибридов.

Известно, что, согласно правилу сигнальной наследственности, происходит передача поведенческих навыков потомству через условный рефлекс подражания. В зависимости от того, какие навыки будут передаваться от родителей или группы, будет формироваться и дальнейшее поведение семей или групп гибридов волка и собаки. Например, в Воронежской обл. обитали две экологические группы бродячих и одичавших собак: охотники за дикими копытными и обитатели свалок с пищевыми отходами (Рябов, 1993). В первом варианте гибриды от волка и собаки станут охотниками, а во втором — падальщиками.

Собако-волчьяи гибриды не придерживаются жизненной стратегии волка на семейном уровне и живут по законам собачьей стаи. Конфликтуют с соседями и могут занимать их участок обитания. Даже в летний период продолжают жить в стае. Расселяются с семейной территории особи разных возрастов и в разное время года. Дисперсанты могут присоединиться к другой стае (Mech et al., 1998). Склонны к нападениям на более мелкую жертву, на домашних животных.

Если сравнивать экологическую нишу волка и одичавших собак, собако-волчьих гибридов, то основное отличие в функциональных особенностях в биоценозе. Несмотря на то что гибриды и собаки часто использовали приемы охоты волков, возле туши убитого ими оленя держались, как правило, до полного ее использования (Рябов, 1993). В ЦЛБЗ после того, как волки оставляли место успешной охоты, от убоя оставался желудок, шкура, незначительные остатки мяса на конечностях, ребрах, позвоночнике лося, подкармливая таким образом других животных биоценоза (Кочетков, 2012). Характерно, что гибриды и собаки начинали поедать еще живую жертву, а волки — нет (рис. 4).

С начала первой хватки и до последней жертвы пробежала 250 м. После этого лось прошел еще 160 м, 14 раз падал (при осмотре были обнаружены раны на груди, голове, плече, задних ногах, но все решила одна хватка, в результате которой у лося была порвана подключичная артерия). Волки вели себя возбужденно (13 лежек), но только наблюдали за агонией животного.

Волко-собачьи гибриды наследуют жизненные правила и стратегию семьи волков, отличающуюся от собак.

А.Д. Поярков (Поярков, 1986) и А.Г. Васильев (Васильев, 1986, 1989), изучая социальную орга-

низацию и экологию бродячих собак в Москве и одичавших собак в Молдавии, выявили следующие их особенности. Собаки живут в стаях, состоящих из семейной пары со щенками прошлого и предыдущего приплодов. К стае могут присоединяться взрослые неразмножающиеся особи, занимающие по отношению к паре подчиненное положение. В этом случае, помимо основной социальной организации первого уровня (семья, стая или отдельная особь), наблюдалась социальная организация и второго уровня — популяционная парцелла, состоящая из 5–6 групп. Характерная особенность парцеллы — на участке обитания одной доминирующей группы живут остальные группы, занимающие гораздо меньшие участки и положение, соподчиненное доминирующей взрослой паре, представляющей основное ядро.

Стай состояли из 3–12 особей, изредка 14–18 особей, а в одном из районов г. Кишинев обитало даже 27 собак: 8 самцов и 6 самок, остальные — молодые особи (в Денали (см. табл. 3) в четырех семьях приплод дали две самки). В Украине размер стай одичавших собак достигал 12–18 особей (Гурский, 1986). В Италии образовывали группы до 20–30 животных (Boitani, 1983).

В Саяно-Шушенском заповеднике в 1979–1984 гг. зимой большинство стай волка состояли

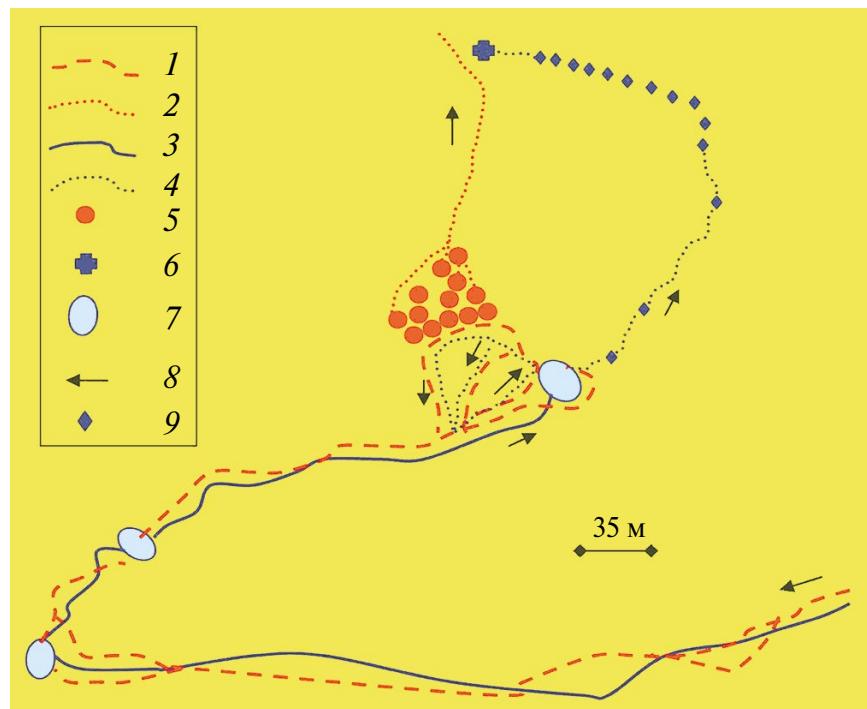


Рис. 4. Успешная охота семьи волка (7 особей) на лося (по: Кочетков, 2012). Условные обозначения: 1 — ход волков на махах, 2 — ход волков шагом; 3 — ход лося рысью и на махах; 4 — ход лося шагом; 5 — лежки волков; 6 — место гибели лося; 7 — утоптанные площадки; 8 — направление движения; 9 — места падения лося.

из 3–5 особей, лишь две стаи по 10 особей и одна — из 18 волков. Но в 1960-х гг. была зарегистрирована стая из 24 особей (Завацкий, 1986). Автор полагает, что это результат временного объединения 2–3 близких групп. Если социальная организация волка построена по семейному признаку и семьи придерживаются своих участков обитания, то объединяться могут только одичавшие собаки или гибриды волка с собакой.

По наблюдениям А. Данилкина (Данилкин, 1979), на Южном Урале гибридная семья (родители волк-самец и беспородная собака) летом образовывала стаю до 18 особей. При охотах на косуль стремились приблизится к жертве как можно ближе, в отдельных случаях до 15 м. Часть косуль были задавлены на лежках или рядом с ними. Преследовали жертву не далее 300–400 м, лишь в четырех случаях из про слеженных 34 преследование составило от 1 до 4 км. В березовых колках, прочесывая лес цепью, обнаруживший косуль гибрид подавал голос, а остальные с лаем устремлялись к нему, окружая мечущихся в панике животных; при коллективных охотах часть гибридов преследуют косуль также с голосом.

А.О. Соломатин (Соломатин, 1979) отмечает, что после истребления волка в Воронежском заповеднике его экологическую нишу заняли одичавшие собаки, а после их истребления — кабан. Собаки и кабаны нападали на ослабленных оленей и их телят: собаки хватали животное за ноги и круп, длительное время преследовали, а кабаны, хватали за ноги и били головой по ногам. Автор, указывая на отсутствие у собак и кабанов приемов быстрого умерщвления жертвы, приходит к заключению, что эти виды не могут качественно заменить волка в экологической нише. По мнению других специалистов, экологическую нишу волка могут заполнить бродячие и одичавшие собаки, а также их гибриды (Данилкин, 1979; Бибиков, Бибикова, 1985; Васильев, 1989; Суворов, 1989; Рябов, 1993; Юдин, 2013).

Но насколько правомерно это утверждение без доказательной базы и сравнительного анализа? Попробуем разобраться в этом вопросе, применяя новый подход к определению реализованной и фундаментальной ниш животных. В качестве примера рассмотрим реализованные ниши волка и лося.

Особенности реализованной трофической ниши волка по географическим зонам охарактеризуем по данным копрологического анализа или содержимого желудков погибших волков. Заметим, что ширина ниши будет неполной, так как исследователи или не ставили перед собой задачи максимально детализировать потребляемые вол-

ком корма до видового уровня, или же это было вызвано отсутствием репрезентативной методики при определении видовой принадлежности.

В пустыне Бетпак-Дала (Казахстан) ширина трофической ниши волка состояла из 36 видов животных и растений: архар, сайгак, джейран, коза, овца, лошадь, степная пищуха, заяц-толай, или песчаник, суслик желтый, суслик средний, суслик, тушканчик, серый хомячок, большая песчанка, гребенниковая песчанка, краснохвостая песчанка, полуденная песчанка, песчанка, слепушонка, общественная полевка, полевка, мелкие грызуны, степной хорь, лисица, корсак, еж ушастый, насекомоядные, крупные птицы, мелкие птицы, жаворонок, ящерицы, черепаха, змеи, жуки; костянки, злаки (Слудский, 1962).

В юго-западном чинке плато Устюрт (Туркменистан, Казахстан) — 21 вид: муфлон, сайгак, джейран, овца, коза, заяц-толай, желтый суслик, большая песчанка, краснохвостая песчанка, тушканчики, грызуны, лисица, корсак, перевязка, светлый хорь, птицы, пустынная черепаха, насекомые: чернотелки, саранчовые, жуки; злаки. Также отмечали в других регионах Казахстана в рационе волка каспийского тюленя, байбака, гуся серого, лысуху, сазана, моллюсков, красного сурка (Слудский и др., 1981).

В Северном Тянь-Шане (Казахстан) и Джунгарском Алатау (Кыргызстан, Казахстан, Узбекистан) — 32 вида: марал, косуля, сибирский горный козел, кабан, барсук, серый сурок, заяц-беляк, полевка-экономка, обыкновенная полевка, домовая мышь, полевая мышь, слепушонок, белка-телеутка, длиннохвостый суслик, лисица, каменная куница, бурый медведь, крупный рогатый скот, лошадь, овца, коза, собака, птицы, насекомые, растения, боярышник, красная пищуха, арктическая буровзубка, улар; шиповник, яблочки, дикий абрикос (Федосенко и др., 1978).

В Киргизии (Чаткальский хребет, Терской Ала-Тоо, центральный Тянь-Шань) — 68 видов: кабан, архар, центрально-азиатский горный козел, косуля, заяц-толай, пищуха большеголовая, белка, лисица, волк, медведь, барсук, дикобраз, собака, корова, як, осел, овца, коза, лошадь, суслик реликтовый, серый сурок, длиннохвостый сурок, сурок Мензбира, лесная соня, туркестанская крыса, гребенниковая песчанка, серый хомячок, мышь лесная, обыкновенная слепушонка, тянь-шаньская полевка, серебристая полевка, арчовая полевка, узкочерепная полевка, обыкновенная полевка, землеройка, еж, уж водяной, полоз, желтопузик, разноцветная ящерица, улар, кеклик, врановые, мелкие воробьиные, жестокрылые, саранчовые, цикадовые, уховертки, а также гнезда ос и яйца птиц;

из 68 — 16 видов: растительные корма, в том числе осоки, злаки (Вырыпаев, Воробьев, 1983).

В юго-западных и южных районах Приморья — 12 видов: пятнистый олень, кабан, косуля, кабарга, барсук, енотовидная собака, лисица, колонок, заяц маньчжурский, изюбрь, дальневосточный кот, фазан (Юдин, 2013).

На Онежском п-ове — 14 видов: лось, заяц-беляк, ондатра, бобр речной, полевки, медведь, глухарь, рябчик, водоплавающие птицы, кукша, рыба, насекомые (жуки); семена, зеленые части растений (Руковский, Куприянов, 1972).

В Псковской обл. — 15 видов: лось, кабан, заяц-беляк, ондатра, мышевидные грызуны, енотовидная собака, лисица, куница, барсук, собака, овца, коза, тетерев, рыбы; осока (Данилов и др., 1979).

В заповедниках ширина и состав ниш по опубликованным данным выглядели следующим образом. В Дарвинском заповеднике — 18 видов: лось, заяц-беляк, полевки, птицы, земноводные, овца, теленок, жеребенок, корова, лошадь, собака, лисица, енотовидная собака, рыбы; злаки, осоки, черника, брусника (Калецкая, 1973). В Беловежской Пуще — 15 видов: кабан, косуля, олень, лось, лошадь, овца, крупный рогатый скот, заяц-русак, мышевидные, белка, хищные звери, птицы; осоки, злаки, черника (Гаврин, Донауров, 1954). В Саяно-Шушенском заповеднике — 8 видов: марал, горный козел, косуля, кабан, кабарга, мышевидные грызуны; кедровый орех, растения (Завацкий, 1986). В Кавказском заповеднике — 13 видов: олень, тур, серна, кабан, мышевидные грызуны, зубр, медведь, птицы, насекомые; хвоя, трава, ягоды, плоды (Кудактин, 1986).

В ЦЛБЗ ширина трофической ниши популяционной группировки волка по результатам копрологического анализа за период 1975–2022 гг. ($n = 1228$) отражена 39 компонентами: лось, кабан, заяц-беляк, бобр, полевки, белка, куница, норка (европейская и американская), лисица,

енотовидная собака, барсук, мышевидные грызуны, крот, собака, теленок, овца, свинья, коза, корова, лошадь, кошка, крыса, глухарь, тетерев, рябчик, курица, птицы, лягушка, гадюка; малина, овес, рябина, яблоки, черника, осока, злаки, трава, мох сфагнум, скорлупа яиц, обертка от колбасы (рис. 5).

Зарегистрированы также случаи успешной охоты на молодого медведя, выдру, бурозубку, рыбу, домашних гусей, выявлено наличие остатков жуков в экскрементах, следовательно, ширина трофической ниши включает, как минимум, 45 компонентов.

Наблюдаются различия в ширине реализованной трофической ниши и в семьях волка. Так, в ЦЛБЗ она варьировала от 12 до 24 объектов (Кочетков, 2014). На рисунках 6 и 7 показаны результаты копрологического анализа двух семей — Белейкинской ($n = 76$) и Соловатской ($n = 319$).

Ниши семей различались не только по ширине, но и по величине нагрузки на базовые виды — лося, кабана и зайца-беляка. Аналогичная ситуация наблюдалась и в других регионах, например, в Кавказском заповеднике ширина трофической ниши в трех семьях: Уруштен, Алоус и Умпрыр — составила 8, 9 и 8 компонентов. В первой семье базовые виды — олень и тур, во второй — олень и кабан, в третьей — олень, кабан и мышевидные грызуны. Доля оленя в этих семьях варьировала от 40 до 61% (Кудактин, 1978).

При определении фундаментальной ниши, кроме указанных выше компонентов реализованных ниш, автором добавлены и другие виды, указанные в опубликованных материалах исследований (Волк: происхождение..., 1985).

Следовательно, ширину фундаментальной трофической ниши биологического вида *Canis lupus* в пределах ареала обитания в бывшем СССР составили 208 компонентов: агама, алыча, арбуз, арктическая бурозубка, архар,



Рис. 5. Ширина реализованной трофической ниши популяционной группировки волка в ЦЛБЗ ($n = 39$).

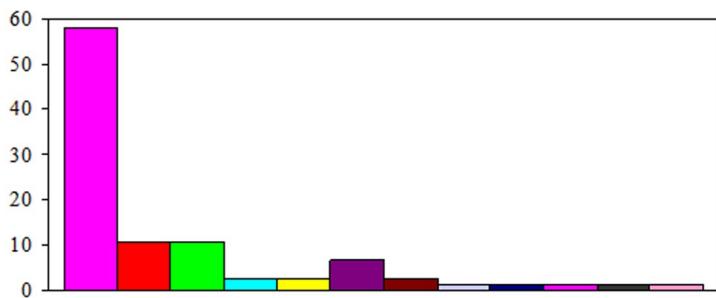


Рис. 6. Ширина реализованной трофической ниши Белейкинской семьи волка в ЦЛБЗ ($n = 12$). Обозначения, как на рис. 5.

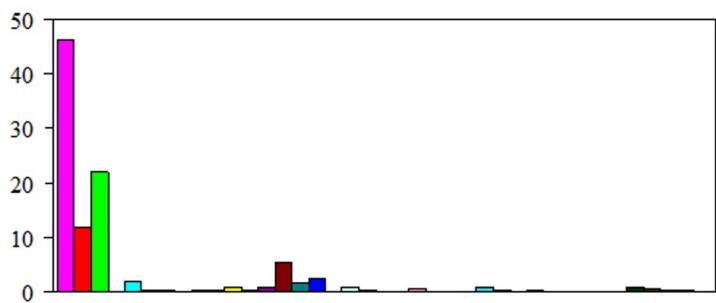


Рис. 7. Ширина реализованной трофической ниши Столоватской семьи волка в ЦЛБЗ ($n = 24$). Обозначения, как на рис. 5.

арчовая полевка, байбак, барсук, барханская кошка, белая куропатка, белка, белка-телеутка, бобр речной, большая песчанка, боярышник, брусника, бук, буровзубка, бурундук, бухарский олень, водоплавающие птицы, водяная крыса, врановые птицы, выдра, гадюка, глухарь, гнезда ос, горный козел, гребенщиковая песчанка, груша, гусь домашний, гусь серый, гюрза, дальневосточный кот, джейран, дикий абрикос, дикобраз, длиннохвостый сурок, домовая мышь, дыня, еж, еж ушастый, енотовидная собака, жаворонок, желтопузик, жеребенок, жестокрылые, жуки, заяц беляк, заяц маньчжурский, заяц песчаник, заяц русак, землеройка, земноводные, злаки, змеи, зубр, изюбрь, кабан, кабарга, калина, каменная куница, каспийская нерпа, каспийский тюлень, кедровый орех, кеклик, колонок, коза, корова, корсак, костянки, косуля, кошка, красная пищуха, красный сурок, краснохвостая песчанка, крот, крупные птицы, крушина, крыса, кукша, кукуруза, лесная куница, курица, ланьши, лемминг, лесная соня, лисица, лось, лошадь, лох, лягушка, лысуха, малина, марал, майский жук, медведь, мелкие воробышные, мелкие грызуны, мелкие птицы, моллюски, мох сфагнум, мышевидные грызуны, мышь лесная, норка

европейская, норка американская, нутрия, обертка от колбасы, общественная полевка, обыкновенная нерпа, обыкновенная полевка, обыкновенная слепушонка, овес, овца, олень, ондатра, осел, осоки, Палласов щитомордник, перевязка, песец, песчанка, пищуха большешухая, подсолнечник, полевая мышь, полевка-экономка, полевка, полуденная песчанка, полоз, прямокрылые, птицы, пятнистая кошка, пятнистый олень, разноцветная ящерица, растения, 16 видов растений, рыба, рябина, рысь, рябчик, сазан, сайгак, саранча, свинья, северный олень, семена, серна, серая полевка, серебристая полевка, серый сурок, серый хомячок, сибирский горный козел, слепушонок, снежный баран, собака, сурок Мензбира, степная пищуха, степной хорек, суслик желтый, суслик реликтовый, суслик средний, суслик, таймень, тарбаган, теленок, тетерев, тундровая куропатка, тур, туркестанская крыса, тушканчики, тянь-шанская полевка, хаус, хищные звери, хомяк, хорек степной, шакал, шелковица, шиповник, фазан, черепаха, черника, чернотелки, черный паслен, центрально-азиатский горный козел, цикадовые, уж водяной, узкочерепная полевка, улар, уховертки, яблоки, яйца птиц, як, ящерицы.

Для сравнения рассмотрим особенности трофической ниши лося. На уровне популяционных группировок на примере исследований в заповедниках в состав реализованной ниши в Печоро-Илычском заповеднике вошли более 70 видов растений, в Дарвинском — 75–80, в Беловежской Пуще, Березинском и Припятском — не менее 31, в Приокско-Террасном — 62, в Окском — 46, в Мордовском — 133, в Сихотэ-Алинском заповеднике — не менее 43 (Филонов, 1983). Как и у волка, варьирование ширины реализованной трофической ниши у лося связано с региональными особенностями.

Согласно данным (Калецкий, 1978), фундаментальную трофическую нишу лося составляют 12 наименований хвойных деревьев, 33 — лиственных, 60 — кустарников, 240 — трав и кустарничков и 8 — грибов, водорослей, мхов, лишайников, т.е. 353 компонента. Но это неполный список, так как, например, 167 видов ив, встречающихся в бывшем Советском Союзе, большинство исследователей фиксируют как ивы вообще. Аналогично и с березами, рябинами, крушинами, осоками, грибами и частью других растений. Следовательно, если полностью идентифицировать потребляемые лосем корма до видового уровня, то ширина фундаментальной ниши может быть существенно больше.

Разделив всю территорию СССР на восемь условных географических районов, автор отмечает, что каждому из них свойствен свой набор кормов. Поедание лосями липы установлено в пяти, а ольхи — в шести районах. Из всего количества известных кормов лишь 50 видов отмечены в четырех. Из 50: 11 видов учтены в восьми районах, 3 — в семи, 8 — в шести, 11 — в пяти и 17 — в четырех районах. Если даже между географическими районами, которые населяет не одна популяция лося, различия существенны, то вариабельность ширины реализованных ниш популяций или популяционных группировок лося может быть выше.

Следовательно, для волка и лося характерны одинаковые особенности в динамике ширины реализованных трофических ниш. Это связано с адаптацией видов к региональным особенностям биогеоценозов без нарушения функциональной связи с базовыми видами.

Вероятно, для каждого вида животных и растений характерна своя функциональная связь в биогеоценозе, проявления которой намного глубже, чем мы воспринимаем на современном уровне наших знаний. Для волка — это копытные животные, для лося — хвойные и лиственные деревья. Волк адаптирован к добыче региональных видов копытных, а лось приспособлен

выдерживать большое количество терпентинов, содержащихся в хвое сосны и можжевельника, а также дубильных веществ в коре ивы, осины и рябины — без последних животное погибает (Верещагин, 1967). Отсутствие в корме эфирных масел, алкалоидов и других соединений ведет к гипофункции эндокринной системы.

Кроме того, волку и лосю присущи и другие особенности пищевого поведения: при заметном снижении численности лося увеличивается настороженность последнего, в результате чего процент успешных охот хищника заметно снижается.

В любом биоценозе для вида характерна сезонно-временная динамика экологической ниши. Л.М. Баскин (Баскин, 1984) на основании литературных источников проанализировал биотическое размещение лося в разных регионах, отличающихся кормностью и защитностью угодий, глубиной снежного покрова и микроклиматом. В Карелии при глубокоснежье лоси держатся в ельниках; на Печоре — в хвойных молодняках на террасах рек; в Ленинградской обл. — в сосновых молодняках и борах с можжевеловым подлеском; в Псковской и Новгородской обл. — в наиболее кормных и мозаичных местообитаниях: закустаренных сенокосах, зарастающих вырубках, сосновых молодняках, приручьевых ивняках; в Дарвинском заповеднике — на вырубках, гарях, лесных полянах, молодых сосняках и реже в березняках и осинниках.

При этом, вероятно, если меняется характер распределения популяционной группировки лося, то вслед за этим происходят изменения не только в пространственной, но и в трофической нишах волка.

Как уже указывалось выше, есть мнение, что освободившуюся нишу волка могут занимать одичавшие собаки и их гибриды с волком. Если экологическая ниша многомерна, то только при совпадении всех ее показателей между волком и гибридами правомерно это утверждение. Рассмотрим это вкратце на примере социальной, пространственной и поведенческой экологических ниш.

Социальная ниша

Основу популяций волка составляют семьи, пары и одиночные особи. Размер семьи ограничен размерами выводка и в ЦЛБЗ не превышает 12 особей (по опубликованным данным других авторов — до 15–18 особей, но они предполагают состав семьи из пары взрослых, молодых и полузврелых особей). Каждой социальной единице изначально предопределено свое функциональное значение не только в популя-

ции, но и в биоценозе. Семья пополняет популяцию подготовленными к самостоятельной жизни молодыми особями, которые, оставляя родительский участок обитания, не входят в состав других семей (стай), а создают брачную пару. Пара объединяет особей с определенными навыками и правилами, приобретенными при жизни с родителями, закладывая основу будущей семьи. Одиночные особи являются определенным резервом популяции. Эти популяционные ячейки оказывают разный хищнический пресс на видовой и количественный состав жертв.

Основу же стай (семей) гибридов составляют разновозрастные самцы, самки и молодые особи от одной или нескольких самок. В Воронежской обл., по наблюдениям Л.С. Рябова (Рябов, 1993), в состав 14 зарегистрированных в разное время года стай входили волки и их гибриды. Размер стай — от 2 до 12 особей. Количество волков и гибридов в стаях составляло 1:1; 2:1; 2:2; 4:1; 3:2; 3:6; 2:10 и 1:6. В основном это были родственные стаи и вместе с волчицей сюда входили полувзрослые волки, молодые гибриды и иногда взрослые самцы волков. Размеры таких стай могут достигать 29 и даже более особей. Расселяющиеся особи из таких стай могут войти в состав другой стаи; покинуть стаю могут особи разного возраста и в любое время года.

Пространственная ниша

Ширина пространственной экологической ниши волка вариабельна, как на семейном, так и на популяционном уровнях. Для волка характерно постепенное освоение семейного участка обитания по мере взросления волчат. В ЦЛБЗ в весенне-летний период ширина ниши незначительна, увеличивается в летне-осенний сезон и достигает максимума в зимнее время. Такая динамика характерна для всех семей, различия только в темпе расширения, обусловленного степенью обеспечения кормовыми ресурсами семьи. В период низкой численности волка ширина пространственной ниши популяции была больше — 1100–1200 км² (размер участка обитания семьи), чем при высокой численности этого хищника — 135–500 км² (Кочетков, 2015). В национальном парке Денали ширина ниши составила 500–2500 км². Существенны были колебания ширины ниши среди 33 стай в много-летнем аспекте — 88–4335 км² (Mech et al., 1998, p. 45, table 2.5). Среди радиомеченных особей 83% были серого цвета, 9% — черного и 5% — другого окраса. Можно предположить, что такие отклонения указывают на присутствие гибридных особей в популяции.

Следует учитывать не только пространственное размещение особей (семей), но и степень нагрузки на виды животных в трофической цепи волка. Если в летне-осенний период добывают пищу у волков пара особей, то у собако-волчьих гибридов и одичавших собак — стая разного количественного и возрастного состава, поэтому эффективность использования кормового потенциала участка обитания у волков выше, чем у гибридов. На первом месте у них интересы семьи (вырастить, воспитать и обучить волчат), а у гибридов — интересы стаи.

В ЦЛБЗ семейный участок обитания родительской пары волков подготовленные к самостоятельной жизни особи покидают в возрасте 11–13 месяцев в апреле–первой половине мая, таким образом способствуя снижению давления на кормовые ресурсы.

У гибридов особенности дисперсии иные. На ниже приведенных примерах среди семей волков, предполагаем, были и стаи с гибридными особями.

В Миннесоте (Gese, Mech, 1991) из 316 радиомеченных волков 75 особей (24%) были идентифицированы как расселившиеся (среди них взрослые, полувзрослые и молодые составили соответственно 8, 75 и 16%). Пик дисперсии отмечен в марте–апреле и октябре–ноябре, а наибольшее количество особей, покинувших семью, было в возрасте 11–12 и 17–19 месяцев.

На Аляске среди радиомеченных особей расселилось 28% волков: в группе взрослых — 26% от помеченных особей, полувзрослых — 22%, молодых — 30% (Ballard et al., 1987). Пик дисперсии отмечен в апреле–июне и октябре–ноябре.

В национальном парке Глейшер (Монтана) из 58 помеченных волков 31 особь (54%) покинула территорию семьи. Пик дисперсии наблюдался в январе–феврале и мае–июне, а средний возраст мигрантов — 28.7 (самцы) и 38.4 (самки) месяцев (Boyd, Pletscher, 1999).

В национальном парке Денали среди радиомеченных волков 56 особей (28%) покинули территории своих стай, а 41 особь (21%) — район исследования (Mech et al., 1998). Пик расселения наблюдался в апреле–мае, а возраст основной части дисперсантов — 1–3 года.

В приведенных выше примерах указаны пики дисперсии, но особи разных возрастных групп покидали территорию стаи (семьи?) в любое время года. Часть меченых особей покидала территорию семьи в возрасте 11–12 месяцев в марте–апреле, апреле–мае, что характерно для семей волка. Другие особи разного возраста рас-

селились из участка обитания в другие месяцы, что характерно для стай гибридов.

Расселившиеся особи волков создают новые пары, а затем формируют семьи. Согласно данным радиомеченья, расселившиеся (гибридные?) особи могут входить в состав других стай, вести одинокий образ жизни или же возвращаться к своей стае (Fritts, 1983; Mech et al., 1998).

Поведенческая ниша

Каждый вид животного не только занимает определенное место в трофической структуре экосистемы, но и выполняет характерные для него функции. Основные объекты охот волка — копытные животные, взаимоотношения с которыми строятся на паритетных условиях. В основе охот лежит интеллектуальный аспект как хищника, так и жертвы. При снижении численности жертвы растет ее настороженность, меняется поведение и это затрудняет возможность волка приблизиться на расстояние успешной атаки. В свою очередь хищник не меняет приемы охот, для него нехарактерно длительное преследование (Kochetkov, 2024).

Собаки и гибриды используют не только приемы охот волка, но и вносят изменения, нарушающие паритет взаимоотношений между хищником и жертвой. Могут преследовать жертву длительное время до успешного завершения, часто с голосом, что облегчает участникам охоты определить нужную позицию для атаки. При таком варианте повышенная настороженность жертвы не является защитным барьером от хищника.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно многолетним исследованиям в Центрально-Лесном биосфера заповеднике, основу популяционной группировки волка составляли семьи, состоящие из родителей и только молодых особей. К такому же выводу привел анализ зарубежных исследований в этом направлении (Mech, 1999). Но высказанные причины появления стай волков с иной социальной структурой у нас разные: появление гибридных стай, с одной стороны, и изменения в семьях волков под влиянием антропогенного пресса, вызвавшего нарушения в популяционной структуре, — с другой.

Волко-собачьи гибриды генетически наследуют особенности жизненной стратегии волка, а собако-волчья — смешанный вариант: частично от волка и большей частью от собаки. Для изъятия из экосистем собако-волчьих гибридов

можно использовать в диагностических целях следующие особенности: живут разновозрастной стаей (парцеллой) в течение года; дисперсия разновозрастных особей из стаи наблюдается не только в апреле—мае, но и в другие месяцы; могут входить в состав других стай или вновь возвращаться в стаю; в охотах на копытных животных используют способы, не характерные для волка; не имеют барьеров, сдерживающих от полного истребления жертвы и не соблюдают паритет взаимоотношений между хищником и жертвой.

Ширина реализованных трофических ниш популяций волка и лося отражает региональные особенности обитания, а фундаментальная ниша — генетически закрепленное место вида в биогеоценозе. Ширина реализованных ниш волка весьма лабильна не только на уровне популяций, популяционных группировок, но и на уровне семей.

Предложенный новый подход в исследованиях фундаментальной и реализованной ниш на примере популяций волка и лося может быть применим и к другим видам. Полученные результаты исследований всех подниш мы сможем вводить в программы для построения моделей фундаментальной и реализованной ниш.

Сравнительный анализ социальной, пространственной и поведенческой ниш семей волка, одичавших собак и гибридных стай показал, что они занимают разные экологические ниши. Следовательно, заменить функционально семьи волка в природных экосистемах гибридные стаи не могут.

БЛАГОДАРНОСТИ

Благодарю авторов публикаций из списка литературных источников в данной статье. Особенно признателен авторам книги “The Wolves of Denali” L. David Mech, Layne G. Adams, Thomas J. Meier, John W. Burch and Bruce W. Dale за разносторонние исследования экологии и поведения семей волка и **Льву Серафимовичу Рябову** за глубокие исследования экологии и поведения одичавших собак и гибридов волка с собакой, так актуальные сегодня. Без их исследований не было бы и этой публикации. Автор признателен редакции журнала “Успехи современной биологии” за добросовестное исполнение своих обязанностей, тактичность и понимание важности публикации этой статьи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета учреждения и в рамках государ-

ственного задания по теме “Динамика явлений и процессов в южнотаёжном комплексе Центрально-Лесного государственного природного биосферного заповедника” (1-22-87-1). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор данной работы заявляет, что у него нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют экспериментальные исследования животных или человека.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Баранов П.В. О численности и биологии волка в Читинской области // Экология, поведение и управление популяциями волка / Ред. Д.И. Бибиков. М.: Всесоюз. териол. общ-во, 1989. С. 13–16.

Бараташвили Т.К. Волк в Грузии (экологические основы регулирования численности). Автореф. дис... канд. биол. наук. М.: ВНИИ охраны природы и заповедного дела, 1983. 27 с.

Баскин Л.М. Лось // Животный мир южной тайги. Проблемы и методы исследования / Ред. В.Е. Соколов. М.: Наука, 1984. С. 45–73.

Бибиков Д.И., Бибикова Л.А. Волки и собаки в заповедниках // Социально-экономические и экологические аспекты совершенствования деятельности заповедников / Ред. А.М. Амирханов, В.В. Дежкин. М.: ЦНИЛ Главохоты РСФСР, 1985. С. 106–109.

Бибиков Д.И., Кудактин А.Н., Филимонов А.Н. Использование территории, перемещения // Волк: происхождение, систематика, морфология, экология / Ред. Д.И. Бибиков. М.: Наука, 1985. С. 415–431.

Бондарев А.Я. Волк юга Западной Сибири и Алтая. Барнаул: БГПУ, 2002. 175 с.

Буневич А.Н. Стационарное размещение и структура популяции волков Беловежской пущи // Экология, поведение и управление популяциями волка / Ред. Д.И. Бибиков. М.: Всесоюз. териол. общ., 1989. С. 34–40.

Васильев А.Г. Пространственно-этологическая структура группировок одичавших собак // Тез. докл. IV съезда Всесоюз. териол. общ. (Москва, 27–31 января 1986 г.). М.: АН СССР, 1986. Т. 2. С. 126–127.

Васильев А.Г. Социальная структура одичавших собак в Молдавии // Экология, поведение и управление популяциями волка / Ред. Д.И. Бибиков. М.: Всесоюз. териол. общ-во, 1989. С. 41–45.

Верещагин Н.К. Геологическая история лося и его освоение первобытным человеком // Биология и промысел лося / Ред. В.Е. Соколов. М.: РОССельхозиздат, 1967. С. 3–37.

Волк: происхождение, систематика, морфология, экология / Ред. Д.И. Бибиков. М.: Наука, 1985. 606 с.

Вырыпаев В.А., Воробьев Г.Г. Волк в Киргизии. Эколо-го-географический очерк. Фрунзе: Илим, 1983. 91 с.

Гаврин В.Ф., Донауров С.С. Волк в Беловежской пуще // Зоол. журн. 1954. Т. 33 (4). С. 909–924.

Гурский И.Г. Определение возраста волка (*Canis lupus*) по черепу // Вестн. зоол. 1973. Т. 3. С. 55–59.

Гурский И.Г. Гибридизация волка с собакой в природе // Бюл. МОИП. 1975. Т. 80. С. 131–136.

Гурский И.Г. Бродячие собаки, волк и волко-собачьи гибриды // Тез. докл. IV съезда Всесоюз. териол. общ. (Москва, 27–31 января 1986 г.). М.: АН СССР, 1986. Т. 3. С. 43–44.

Данилкин А. Охота волчье-собачьих гибридов на косуль // Охота охот. хоз. 1979. Т. 3. С. 18–19.

Данилов П.И., Русаков О.С., Туманов И.Л. Хищные звери Северо-Запада СССР. Л.: Наука, 1979. 163 с.

Завацкий Б.П. Роль волка в биоценозах Саяно-Шушенского заповедника // Роль крупных хищников и копытных в биоценозах заповедников / Ред. А.М. Амирханов, А.К. Федосенко. М.: ЦНИЛ Главохоты РСФСР, 1986. С. 35–54.

Зворыкин Н.А. Повадки животных. М.: Медгиз, 1939. 171 с.

Одум Ю.П. Экология. Т. 2. М.: Мир, 1986. 376 с.

Калецкий А.А. Лось // Крупные хищники и копытные звери. М.: Лесн. промышл., 1978. С. 87–129.

Калецкая М.Л. Волк и его роль как хищника в Дарвинском заповеднике // Тр. Дарвин. гос. заповед. Вып. 11. Вологда: СЗКН, 1973. С. 175–246.

Калецкая М.Л., Филонов К.П. Стойность волка (*Canis lupus*) в Дарвинском заповеднике // Зоол. журн. 1987. Т. 66. С. 1230–1238.

Каспарсон А.А., Литвинова Е.М., Эрнандес-Бланко Х.А. Всплеск акустической активности в молчаливой семейной группе волков // Териофауна России и сопредельных территорий / Мат. междунар. совещ. (Москва, 31 января — 2 февраля 2007 г.). М.: КМК, 2007. С. 189.

Клевезаль Г.А., Клейненберг С.Е. Определение возраста млекопитающих по слоистым структурам зубов и кости. М.: Наука, 1967. 144 с.

Козлов В.В. Методика количественного учета волка // Методы учета численности и географического распределения наземных позвоночных / Ред. А.Н. Формозов. М.: АН СССР, 1952. С. 105–124.

Кочетков В.В. Волк (*Canis lupus*) и лось (*Alces alces*): умерщвление жертвы // Успехи соврем. биол. 2012. Т. 132 (3). С. 259–267. [Kochetkov V.V. Wolf

- (*Canis Lupus*) and Elk (*Alces alces*): the killing of prey // Biol. Bull. Rev. 2012. V. 2 (6). P. 479–486.]
- Кочетков В.В.** Особенности питания семей волка (*Canis lupus* L.) в Центрально-Лесном заповеднике // Современные тенденции развития особы охраняемых природных территорий / Мат. науч.-практ. конф., посвященной 20-летию Государственного природного заповедника “Полистовский” (Бежаницы, Псковская область, 9–11 октября 2014 г.). Великие Луки: Великолукская городская типография, 2014. С. 92–98.
- Кочетков В.В.** Филопатрия и дисперсия в популяции волка // Сиб. экол. журн. 2015. Т. 3. С. 388–397. [Kochetkov V.V. Philopatry and dispersal in the wolf population (*Canis lupus* L.) // Cont. Probl. Ecol. 2015. V. 8 (3). P. 317–325.]
- Кочетков В.В.** Волк (*Canis lupus* L.) как модель в исследованиях структурно-функциональной иерархии жизненной стратегии вида // Успехи соврем. биол. 2023. Т. 143 (6). С. 587–594. <https://doi.org/10.31857/S0042132423060054>
- EDN: CPPRSK. [Kochetkov V.V. The wolf (*Canis lupus* L.) as a model in studies of the structural and functional hierarchy of the species life strategy // Biol. Bull. Rev. 2023. V. 13 (3). P. 313–320. [https://doi.org/10.1134/S2079086423090062\].\]](https://doi.org/10.1134/S2079086423090062)
- Кудактин А.Н.** Об избирательности охоты волка на копытных в Кавказском заповеднике // Бюл. МОИП. 1978. Т. 83. Вып. 3. С. 19–28.
- Кудактин А.Н.** Территориальное размещение и структура популяции волка в Кавказском заповеднике // Бюл. МОИП. 1979. Т. 84. Вып. 2. С. 56–65.
- Кудактин А.Н.** Взаимоотношения волка и копытных в Кавказском заповеднике // Экология, охрана и использование хищных млекопитающих в РСФСР / Ред. В.А. Забродин, К.П. Филонов. М.: ЦНИЛ Главохоты РСФСР, 1982. С. 65–70.
- Кудактин А.Н.** Влияние волка на копытных в Кавказском заповеднике // Роль крупных хищников и копытных в биоценозах заповедников / Ред. А.М. Амирханов, А.К. Федосенко. М.: ЦНИЛ Главохоты РСФСР, 1986. С. 21–35.
- Павлов М.П.** Волк. М.: Лесн. промышл., 1982. 208 с.
- Поярков А.Д.** Парцеллярная организация у бродячих собак // Тез. докл. IV съезда Всесоюз. териол. общ-ва (Москва, 27–31 января 1986 г.). М.: АН СССР, 1986. С. 157–158.
- Пузанский В.Н.** Борьба с волком в Читинской области // Экология, поведение и управление популяциями волка / Ред. Д.И. Бибиков. М.: Всесоюз. териол. общ-во, 1989. С. 143–146.
- Руковский Н.Н., Куприянов А.Г.** Некоторые особенности распространения и питания волка на Онежском полуострове // Зоол. журн. 1972. Т. 51 (10). С. 1593–1596.
- Рябов Л.С.** Волко-собачьи гибриды в Воронежской области // Бюл. МОИП. 1973. Т. 78. С. 25–39.
- Рябов Л.С.** Последствия нарушения структуры популяций волка // Волк: происхождение, систематика, морфология, экология / Ред. Д.И. Бибиков. М.: Наука, 1985. С. 431–446.
- Рябов Л.С.** Волки Черноземья. Воронеж: ВГУ, 1993. 167 с.
- Сабанеев Л.П.** Волк. М.: А. Торлецкий и Ко, 1877. 331 с.
- Слудский А.А.** Взаимоотношения хищников и добычи (на примере антилоп и других животных и их врагов) // Тр. Инст. Зоол. АН КазССР (Алма-Ата). 1962. Т. 17. С. 24–143.
- Слудский А.А., Фадеев В.А., Федосенко А.К.** Волк — *Canis lupus* Linnaeus, 1758 // Млекопитающие Казахстана / Ред. Е.В. Гвоздева, Е.И. Страутман. Алма-Ата: Наука, 1981. Т. 3. Ч. 1. С. 8–57.
- Соколов А.А.** Волк. М.: Заготиздат, 1951. 88 с.
- Соловьев А.М.** Волк и его истребление. М.: Охотник, 1925. 93 с.
- Соломатин А.О.** Экологическая ниша волка в Усманском бору // Экологические основы охраны и рационального использования хищных млекопитающих / Ред. В.Е. Соколов. М.: Наука, 1979. С. 140–142.
- Суворов А.П.** Волк в Красноярском крае // Экология, поведение и управление популяциями волка / Ред. Д.И. Бибиков. М.: Всесоюз. териол. общ-во, 1989. С. 159–165.
- Федосенко А.К., Жиряков В.А., Грачев Ю.А.** Материалы по экологии и поведению волка в Северном Тянь-Шане и Джунгарском Алатау // Бюл. МОИП. 1978. Т. 83 (3). С. 5–18.
- Филонов К.П.** Лось. М.: Лесн. промышл., 1983. 248 с.
- Чувашов Г.И.** Воздействие авиаотстрела на популяцию волка Гыданского полуострова // Экология, поведение и управление популяциями волка / Ред. Д.И. Бибиков. М.: Всесоюз. териол. общ-во, 1989. С. 174–179.
- Юдин В.Г.** Волк Дальнего Востока России. Владивосток: Дальнаука, 2013. 412 с.
- Ballard W.B., Whitman J.S., Gardner C.G.** Ecology of an exploited wolf population in south-central Alaska // Wildlife Monogr. 1987. V. 98. P. 3–54.
- Boitani L.** Wolf and dog competition in Italy // Acta Zool. Fennica. 1983. V. 174. P. 259–264.
- Boitani L., Ciucci P.** Comparative social ecology of feral dogs and wolves // Ethol. Ecol. Evol. 1995. V. 7. P. 49–72.
- Boyd D.K., Pletscher D.H.** Characteristics of dispersal in a colonizing wolf population in the Central Rocky Mountains // Wildlife Manag. 1999. V. 63 (4). P. 1094–1108.
- Elton C.** Animal ecology. L.: Sidgwick & Jackson, 1927. 207 p.
- Fritts S.H.** Record dispersal by a wolf from Minnesota // J. Mammal. 1983. V. 64. P. 166–167.

- Fuller T.K., Mech L.D., Cochrane J.F. Wolf population dynamics // *Wolves: behavior, ecology and conservation* / Eds L.D. Mech, L. Boitani. Chicago, London: Univ. Chicago Press, 2003. P. 161–191.
- Gese E.M., Mech L.D. Dispersal of wolves (*Canis lupus*) in northeastern Minnesota, 1969–1989 // *Can. J. Zool.* 1991. V. 69. P. 2946–2955.
- Gipson P.S., Ballard W.B., Nowak R.M. et al. Accuracy and precision of estimating age of gray wolves by tooth wear // *Wildl. Manag.* 2000. V. 64. P. 752–758.
- Grinnell J. An account of the mammals and birds of the Lower Colorado Valley // *Univ. Calif. Publ. Zool.* 1914. V. 12. P. 51–294.
- Hutchinson G.E. Concluding remarks // *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1957. V. 22. P. 415–427.
- Hutchinson G.E. The niche: an abstractly inhabited hypervolume // *The ecological theatre and the evolutionary play*. New Haven: Yale Univ. Press, 1965. P. 26–78.
- Kochetkov V.V. Cognitive and intellectual behavior of a wolf (*Canis lupus* L.): barriers preventing consuming the elk (*Alces alces*) population by a predator // *Biol. Bull. Rev.* 2024. V. 14 (2). P. 177–189. <https://doi.org/10.1134/S207908642402004X>
- Mech L.D. The wolves of Isle Royale. *Natl. Park US*, 1966. 210 p.
- Mech L.D. Alpha status, dominance, and division of labor in wolf packs // *Canad. J. Zool.* 1999. V. 77. P. 1196–1203.
- Mech L.D., Adams L.G., Meier T.J. et al. The wolves of Denali. L.: Univ. Minnesota Press, 1998. 225 p. <http://www.npwrc.usgs.gov/resource/mammals/alstat/index.htm> (Version 16.05.2000)
- Nowak R. The red wolf in Louisiana // *Wildlife*. 1967. V. 42 (1). P. 73–79.
- Soldatovic B., Tolksdorf M., Reichstein H. Der Chromosomensatz bei verschiedenen Arten der Gattung *Canis* // *Zool. Anz.* 1970. Bd. 134. S. 155–167.
- van Ballenberghe V. Extraterritorial movements and dispersal of wolves in southcentral Alaska // *J. Mammal.* 1983. V. 64. P. 168–171.

Wolf (*Canis lupus* L.), Wolf-Dogs (*C. lupus* × *C. familiaris*), Dog-Wolf (*C. familiaris* × *C. lupus*) Hybrids and Ecological Niche

V. V. Kochetkov

Central Forest State Natural Biosphere Reserve, Tver region, Neliidovsky district, Russia

e-mail: kvaldai@mail.ru

Long-term studies (1975–2023) in the Central Laboratory of the Ecology of the wolf population group using original methods confirm that the family consists of parents and only young individuals (up to 1 year). A different social structure is typical for packs with wolf-dog hybrids. Based on publications about stray (feral) dogs and their hybrids with wolves, the author proposed to identify hybrid packs as wolf-dog (female — wolf) and dog-wolf (female — dog): the former inherit the life strategy and lifestyle of the wolf, and the latter — dogs, therefore they live in packs (parcels) of different ages all year round and can unite more than 18 individuals in a pack. Analysis of the social, spatial and behavioral niches (“sub-niches”) of feral dogs, the wolf and its hybrids showed that they occupy different ecological niches. The author not only proposed a new approach to studying the fundamental and realized niches of other animal species, but also demonstrated it using the example of studies of the width of the trophic niche of wolf and elk populations.

Keywords: wolf, family, hybrids, fundamental, realized and trophic niches, niche width, elk

УДК 591.5

ТЕЗАУРУС ПО ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ РЕПТИЛИЙ

© 2024 г. А. В. Коросов¹, В. А. Черлин^{2,*}, Н. Д. Ганюшина¹

¹Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия

²Дагестанский государственный университет, Махачкала, Республика Дагестан, Россия

*e-mail: cherlin51@mail.ru

Поступила в редакцию 11.03.2024 г.

После доработки 02.04.2024 г.

Принята к публикации 13.06.2024 г.

На основе собственных и литературных материалов составлен словарь терминов по терморегуляции рептилий как эктотермных животных. Теоретической основой для этого обобщения послужили представления о процессе физиологической регуляции посредством отрицательной обратной связи. Рассмотрены различные способы терморегуляции, многообразие форм терморегуляторного поведения, выполнена классификация показателей температуры тела животных. Термоэкологические показатели в основном отражают интенсивность воздействия на организм тепловых факторов среды, а термофизиологические параметры характеризуют состояние (температуру) особи в момент осуществления той или иной реакции на тепло. Обсуждаются методы конструирования параметров для отдельных актов терморегуляции. Намечены перспективные направления исследований терморегуляции рептилий.

Ключевые слова: термобиология, рептилии, терморегуляция, термоэкологические показатели, термофизиологические параметры

DOI: 10.31857/S0042132424060063, EDN: NRHSC

ВВЕДЕНИЕ

Термобиология рептилий — обширная область знаний. В той или иной степени она касается всех сторон биологии этой группы. Частью этой проблематики является терморегуляция — способность животных влиять на температуру своего тела. В отличие от аналогичных публикаций авторы сделали попытку собрать воедино термины, которые относятся к области только терморегуляции и только рептилий. При этом мы ориентировались как на источники литературы, так и на собственный опыт полевых, экспериментальных и аналитических исследований современных эктотермных рептилий.

Работа посвящена физиолого-этолого-экологическим аспектам терморегуляции. Авторы публикаций по термобиологии разных видов рептилий стремятся выявить критические границы выживания, оценивают диапазоны оптимальных для жизнедеятельности температур тела, суточные, сезонные и географические вариации температурных условий среды, устанавливают соотношения между тепловыми

условиями и потребностями животных, которые определяют пространственные границы их распространения и временные рамки их активности. Обычно очень широкая изменчивость температуры тела экзотермных животных затрудняет сравнение температурных характеристик особей, полученных в разные сезоны или в разных частях ареала. Для снижения варьирования используются, например, количественные методы: расчет уравнений зависимости температуры тела от условий среды с последующим сравнением этих параметров, расчет характеристик центральных тенденций объемных распределений. Другой путь — ужесточение методик измерений, когда наблюдение переносится в лабораторию с контролируемыми условиями. Наконец, было предложено при натурных наблюдениях обобщать данные по температуре тела для каждой из форм поведения отдельно. Эти меры позволяют существенно сузить оценки для интервалов оптимальных, преферентных, типичных температур тела и выполнить более обоснованные сравнения.

Одним из практических результатов настоящей работы выступает предложение о даль-

нейшем уточнении оценок терморегуляторных показателей: необходимо измерять температуры тела животных в момент начала осуществления актов терморегуляции. Этот подход использует знание о механизме физиологической регуляции посредством обратной связи — компенсаторная физиологическая реакция включается в тот момент, когда показатель внутреннего состояния организма значимо отклоняется от предзаданного нормального уровня. Как показали наши наблюдения, такие характеристики являются по сути видовой нормой, они схожи у разных особей рептилий одного вида, не зависят ни от статуса животного, ни от условий обитания и заметно отличаются у разных видов. К сожалению, этот путь организационно и методически существенно сложнее полевых натурных измерений температуры тела животных; он требует синхронной регистрации температуры тела (с помощью микродатчиков) и поведенческих актов терморегуляции (с помощью видеокамер) в условиях вольерного содержания.

Теория регуляции посредством обратной связи иногда упоминается в литературе, но практически никогда не используется при изучении терморегуляции рептилий. Предложения, сформулированные в данной статье, состоят в том, что кроме повышения эффективности методов исследований, эта теория должна изменить подход к поиску параметров разнообразных терморегуляторных реакций. Вместо фиксации феномена (варьирования значений температуры тела) предлагается косвенным образом оценивать физиологические константы терморегуляции. Фактически речь идет о существенной трансформации парадигмы в области исследования терморегуляции рептилий. Это обстоятельство потребовало изменения и уточнения формулировок некоторых устоявшихся термобиологических терминов.

Представленные материалы не следует воспринимать как претензию на последнюю унификацию понятийного аппарата теории и утверждение окончательного списка правильных дефиниций. Мы выбрали для данной статьи форму тезауруса лишь как прием изложения авторских идей и наработок. Преимущество такого формата состоит в том, что в тезаурусе каждое определение принимает максимально лаконичную форму и показывает связи с другими понятиями. Прийти к большей определенности нам позволили привлечение физиологической теории регуляции посредством отрицательной обратной связи и практика применения количественных методов. Мы попытались ограничить список только теми понятиями, которые непо-

средственно замыкаются друг на друге, т.е. входят в состав системы понятий по терморегуляции рептилий, используются в ключевых дефинициях. Чтобы добиться полноты и краткости, но избежать логического круга, кроме авторских, в тезаурус введен ряд общебиологических терминов. Термины снабжены определением, пояснением и предложениями актуальных направлений для разработки. Большое вниманиеделено методам количественной оценки терморегуляторных параметров и показателей.

Цель статьи — собрать в одну систему все понятия теории терморегуляции рептилий, как она видится авторам в настоящее время.

ОБЩИЕ ТЕРМИНЫ

Термобиология — научное направление, для которого объектом исследования является взаимосвязь между температурой и жизнедеятельностью организма, в нашем случае — современных рептилий (Черлин, 2010). Один комплекс аспектов термобиологии рептилий: зависимость эмбриогенеза, морфологического строения, физиологических реакций, биохимических процессов и поведения особей от температуры их тела. Другой комплекс аспектов: зависимость температуры тела от активности самой особи — собственно терморегуляция (предмет данного исследования).

Гомеостаз — сохранение постоянства внутренней среды организма для обеспечения нормальной жизнедеятельности (питание, рост, размножение...) (Ноздрачев и др., 2002); способность “поддерживать состояние своей внутренней среды в узких рамках” (Эккерт и др., 1991, с. 12).

Температурный гомеостаз у рептилий — способность животных поддерживать температуру тела на достаточно высоком уровне (30–40°C) хотя бы некоторое время в течение суток (Черлин, 2014, 2016).

Регуляция, или управление, — “процесс воздействия на объект управления в целях изменения его поведения нужным образом” (Востриков, Французова, 2003, с. 14). Здесь важна именно жесткая техническая дефиниция, обладающая отчетливым методологическим смыслом: регуляция — это отдельная единичная реакция системы. Распространенные определения регуляции как “нормализации каких-либо функций организма” (Словарь..., 1987, с. 695) или “стабилизация изменчивости” (Glossary..., 2003, р. 265) неудовлетворительны. В них заложен смысл множества поочередно проявляющихся реакций в стремлении системы ликвидировать уклонение ее состояния как в сторону больших (избыток),

так и меньших (дефицит) значений изучаемой характеристики, что является дефиницией гомеостаза. На наш взгляд, слово *регуляция* можно использовать в качестве синонима к гомеостазу, но только в форме *биологическая саморегуляция*.

Мотивация — нервное напряжение, заставляющее животное выбирать врожденные или приобретенные программы осуществления поведенческих актов для удовлетворения какой-либо потребности (Менninger, 1982; Судаков, 2006). Мотивация появляется, когда возникает потребность, когда характеристика внутренней среды организма отклоняется от заданного параметра гомеостаза, и исчезает, если потребность удовлетворена. Мотивация может быть подавлена (торможение) другой, более сильной. Мотивация к терморегуляции возникает, когда температура тела (или части тела) отличается от той или иной константы терморегуляции.

Физиологическая регуляция — “активное изменение функций организма или его поведения, направленное на обеспечение оптимальных условий жизнедеятельности, сохранение гомеостаза в меняющихся условиях окружающей среды” (Скопичев и др., 2004, с. 18); “...совокупность изменений, которые происходят в ответ на воздействие факторов..., приводят к ...полезному для организма результату” (Леках, 2002, с. 25). Авторы отчетливо выделили физиологическую регуляцию как отдельный акт активности организма, направленный на поддержание гомеостаза. Таким образом, гомеостаз обеспечивается многочисленными и разнообразными актами регуляции, исправляющими отклонения состояния организма от нормы.

Терморегуляция — направленное изменение особью температуры своего тела, “активный выбор определенных температур” (Коросов, 2015, с. 78). В физиологической литературе бытуют другие определения терморегуляции: “функция поддержания постоянной температуры тела” (Иванов, 1985, с. 36), “поддержание оптимальной... температуры тела” (Терморегуляция, 2016, с. 77) или “поддержание температуры тела в ограниченном диапазоне” (Glossary..., 2003, р. 97). Эти последние дефиниции в контексте нашего сообщения неприемлемы. Во-первых, они явно отрицают наличие терморегуляции у пойкилтермных рептилий. Во-вторых, не соответствуют техническому определению регуляции, приведенному выше, а являются синонимами понятию *температурный гомеостаз*. Термин *температурный гомеостаз* призван отразить феномен температурной устойчивости характеристик животного в меняющейся среде, тогда как термин *регуляция* относится к механизму

поддержания этого постоянства, к отдельному акту активности животного, к феномену сиюминутного изменения температуры тела за счет активности самого животного. Именно этот методологический принцип позволяет перейти к строгому количественному описанию регуляции посредством отрицательной обратной связи.

Терморегуляция рептилий — активный выбор температуры среды (Терморегуляция, 1985); активное управление потоками теплового баланса тела за счет изменения объемов тепловых потоков получаемых или отдаваемых телом (величина, соотношение и направленность тепловых потоков). Регуляция температуры тела рептилий (рис. 1) осуществляется в основном без термогенеза и реализуется посредством биохимических, физиологических и поведенческих реакций, а также за счет специальных морфологических приспособлений (см. ниже).

Обратная связь — влияние выхода процесса на его вход; кибернетическое понятие, позволяющее логически и математически описать механизм реализации гомеостаза (Винер, 1983).

Отрицательная обратная связь — механизм ликвидации отклонения характеристик системы от нормы (Шмидт-Ниельсен, 1982; Винер, 1983). Кибернетическая схема физиологической регуляции с помощью отрицательной обратной связи может быть одноконтурной, множественной и двухконтурной (Коросов, 2008а). Ниже мы рассматриваем в основном одноконтурные схемы, в которых ключевое значение имеет критерий нормы — тот или иной параметр терморегуляции. Какая-либо терморегуляторная реакция запускается только тогда, когда контролируемая (основная) характеристика состояния организма отклоняется от заданного значения параметра терморегуляции.

Терморегуляция рептилий посредством отрицательной обратной связи — кибернетическая (Коросов, 2008а; Коросов, Ганюшина, 2021а) (рис. 2, 3) и имитационная (Коросов, 2008б) модель восстановления измененных характеристик температуры тела животного в условиях меняющихся внешних тепловых потоков.

Например, *реакция избегания перегрева* в терминах обратной связи будет описана следующим образом (рис. 1): при нагревании текущая температура тела особи возрастает (на выходе), и, если сравнение с критерием (штатной температурой) выявляет отклонение (превышение), это побуждает животное к перемещению места (программа по изменению локации); если в новом укрытии (на входе) тепловые потоки сокращаются, это ведет за собой снижение температуры тела (на выходе); увеличение значений на выходе вле-

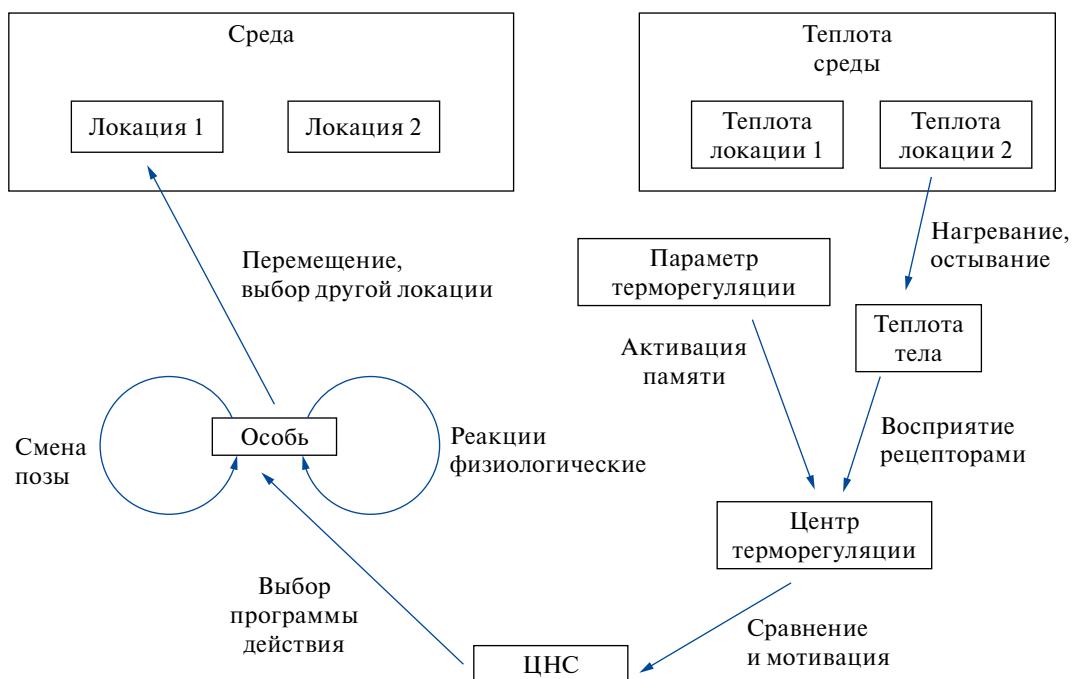


Рис. 1. Система понятий *терморегуляция рептилий* на примере *реакции избегания перегрева*; блоки соответствуют материальным объектам, стрелки обозначают процессы.



Рис. 2. Схема механизма терморегуляции посредством отрицательной обратной связи (в терминах *реакции избегания перегрева*).

чет за собой действия, уменьшающие значения на входе и, как следствие, уменьшение значений на выходе. Есть основания полагать, что три известных "принципа регулирования" (Агаджанян и др., 2003, с. 35) реализуются в процессе терморегуляции рептилий в разных ситуациях.

- Управление при рассогласовании штатного параметра и текущей температуры тела — только что описано.
- Управление по возмущению — на наш взгляд, оперативно реализуется при выборе новых укрытий (см. *Прекращение избегания перегрева*).

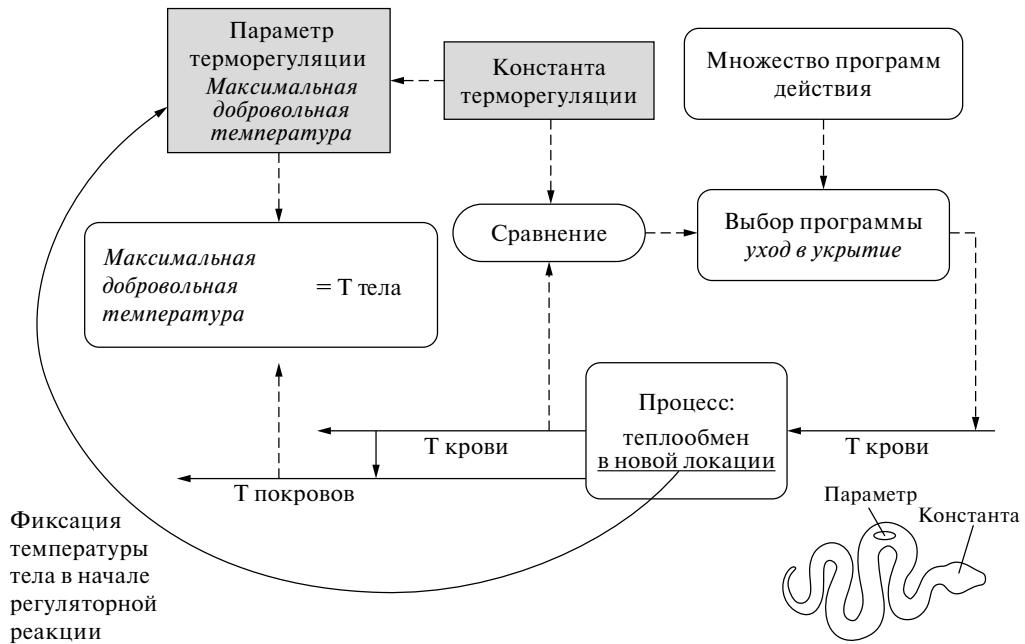


Рис. 3. Соотношение между пока неизвестными истинными константами терморегуляции и измеряемыми при наблюдениях параметрами терморегуляции (на примере поведения избегания перегрева).

– Управление по прогнозированию — на реальность реализации этого принципа указывают факты эндогенной цикличности в термальном поведении животных (см. Циркадный, сезонный и цирканный ритмы терморегуляции).

Ключевой задачей изучения терморегуляции рептилий становится выявление комплекса терморегуляторных параметров и их численная оценка.

Истинные физиологические константы терморегуляции — пороговые величины, запускающие процессы терморегуляции (Коросов, Ганюшина, 2021а); из-за ограниченности технических возможностей это пока еще не измеряемые нами характеристики внутренней среды организма (рис. 2). Предположительно (как и у млекопитающих), одним из таких параметров может быть предельная температура крови, омывающей гипоталамус, при восприятии которой запускается терморегуляторная *реакция избегания перегрева*. Возможен и другой механизм реагирования: пороговая константа хранится в некоем нервном центре, который запускает терморегуляторные реакции, когда в него поступают запредельные импульсы от температурных рецепторов, расположенных в разных частях тела. Таким образом, одной из перспективных задач исследования терморегуляции рептилий становится выяснение их тонких физиологических механизмов

и оценка истинных физиологических констант терморегуляции.

Параметры терморегуляции — наблюдаемые значения температуры в тех или иных участках тела, при которых запускаются те или иные терморегуляторные реакции (Коросов, Ганюшина, 2020, 2021а) (рис. 3). Такие параметры являются косвенными оценками истинных физиологических констант терморегуляции, значения которых хранятся в центре терморегуляции. Таких параметров может быть несколько, если их оценивать разными методиками и в разных частях тела.

СПЕЦИАЛЬНЫЕ ТЕРМИНЫ

Логгеры температуры (термодатчики) — микроприборы, имплантированные в тело животного для непрерывной регистрации температуры (Логгер..., 2024), буквально открыли новую эру в изучении термобиологии (Литвинов, Четанов, 2014). До сих пор подавляющая часть исследователей изучает термобиологию рептилий в полевых условиях, отлавливая животных и измеряя их температуру тела. Постоянное слежение за температурой тела с помощью логгеров показывает, что результаты наблюдений в полевых условиях требуют пересмотра (Коросов, Ганюшина, 2021а). Более или менее объективное определение показателей терморегуляции оказывается возможным только на обширных

выборках, полученных при непрерывном слежении за температурой тела.

Тепловой баланс — структура соотношения величин прихода и расхода теплоты в тепловых процессах (Розенгауз, 1976). На тепловой баланс влияет множество физических, климатических, физиологических и поведенческих, временных и пространственных факторов (Стрельников, 1934, 1935; Гейгер, 1960). Каждое локальное местообитание будет обладать своей уникальной пропорцией процессов нагревания и остывания. Гетерогенность земной поверхности создает широкий спектр вариантов теплового баланса в каждой локации, обеспечивая рептилиям богатые возможности выбора подходящих температурных условий. Тепловой баланс тела животного — совокупность процессов поступления и утраты теплоты телом животного (Шмидт-Ниельсен, 1982; Glossary..., 2003). Температура тела рептилии будет определяться, с одной стороны, количеством источников и интенсивностью поступления теплоты и, с другой стороны, количеством и эффективностью способов отведения теплоты. Терморегуляция рептилий сводится к изменению значимости разных путей обмена теплотой с внешней средой. Факты эндогенного термогенеза рептилий единичны (см. ниже). В литературе практически нет примеров полного количественного описания теплового баланса какого-либо вида рептилий.

Компоненты теплового баланса организма — пути поступления теплоты к телу животного и его отдачи, заданные следующей формулой (Шмидт-Ниельсен, 1982; Glossary..., 2003):

$$Q_{\text{текущая}} \text{ (теплота, Дж)} = Q_{\text{предыдущая}} \pm \\ \pm Q_{\text{излучения}} \pm Q_{\text{теплопередачи}} - Q_{\text{испарения}} \pm Q_{\text{конвекция}}.$$

Существенное для рептилий значение имеют следующие факторы: 1) прямое и рассеянное солнечное излучение, излучение от окружающих предметов, излучение с поверхности кожи; 2) теплопередача (нагревание и остывание) от субстрата (воды, других особей), воздуха; 3) испарение с покровов, дыхательных путей, клоаки; 4) конвекция, в том числе принудительная (ветер). Актуальной задачей видится построение модели поведенческой терморегуляции, в которой была бы выполнена количественная оценка объема тепловых потоков при тех или иных актах терморегуляции.

Эколого-физиологический смысл терморегуляции рептилий — поддержание в определенные периоды суток и сезонов (в условиях зависимости от внешних потоков теплоты) такой температуры тела, которая определяет жизнеобеспечение

особей (индивидуальная безопасность, терморегуляция, питание и пр.), активное включение их в жизнь популяций (поддержание социальной структуры, охрана, размножение и пр.) и биоценозов (пищевые цепи, межвидовые взаимодействия и пр.) (Черлин, 2015). Режим изменения температуры тела видоспецифичен и зависит от условий внешней среды. Следствием терморегуляции рептилий оказывается определенный объем метаболических реакций, обеспечивающих нормальную жизнедеятельность особей вида. Зная ежеминутную температуру тела особи, можно рассчитать общий метаболизм за год — годовой тепловой бюджет. Важной задачей становится количественное описание суточной и сезонной динамики температуры тела разных видов, измеряемой с высокой частотой (например, поминутно) автономными имплантированными датчиками (микрологгерами) или другими методами (использование пиromетров, тепловизоров и других приборов).

Предпочитаемые, добровольные, оптимальные температуры — широко распространенные понятия, в которые разные авторы вкладывают различный смысл в стремлении описать температурные предпочтения вида (Черлин, 2019а, 2019б). Непосредственные эпизодические замеры температуры тела рептилий в природе далеко не всегда попадают в эти диапазоны и *a priori* не могут быть названы предпочтаемыми (добровольными, оптимальными) температурами независимо от количества таких замеров. Эти понятия должны строиться на основе ясной теории (регуляции посредством отрицательной обратной связи) и строгой методики их оценки. Термин *предпочитаемая температура* имеет смысл только применительно к термофизиологическому показателю *диапазон предпочтаемых температур*, для оценки которого разработана корректная методика (см. ниже). Термин *добровольные температуры* еще более не определен и может использоваться, например, в форме точного показателя *максимальная добровольная температура* (см. ниже). Насущной проблемой в этом отношении является разработка и использование только корректных методов оценки показателей и параметров терморегуляции.

Оптимальные температуры — термин следует применять по отношению к биохимическим и физиологическим процессам, но не к организму в целом, для которого более уместно понятие *предпочитаемые температуры*, которые для рептилий чаще всего близки к уровню 30–40°C. Оптимальные температуры для работы многих ферментов выше этих значений на 10–50°C (Черлин, 2017). В некоторых случаях необходимы

мое повышение температуры осуществляется на микроуровне в непосредственной близости от места работы ферментов (Chrétien et al., 2018). Физиологический смысл терморегуляции состоит в том, чтобы поднять температуру всего организма на уровень, при котором наиболее эффективно и наименее энергозатратно может осуществляться работа ферментов, но еще не наступают процессы денатурации (Рюмин, 1940; Черлин, 1990, 2012, 2014).

Верхний температурный предел выживаемости — уровень температуры тела, при котором избыточный объем теплоты убивает особь (высокий метаболизм, асфиксия, судороги, тепловой шок) (Glossary..., 2003). Зависит от уровня температуры и продолжительности воздействия. Для многих теплолюбивых видов рептилий летальным является даже кратковременный нагрев тела до 48–49°C. Этот показатель непосредственно не характеризует терморегуляцию, однако параметры терморегуляции призваны предвосхищать достижение этого опасного для жизни уровня температуры тела.

Нижний температурный предел выживаемости — уровень температуры, при котором недостаточный поток теплоты убивает особь (кристаллизация воды, гибель клеток, холодовой шок) (Glossary..., 2003). Этот показатель также как и предыдущий, не относится к области терморегуляции, хотя животные при возможности явно избегают охлаждения (см. *максимизация температуры тела*).

Морфологические приспособления рептилий к терморегуляции. Здесь необходимо говорить о двух группах органов. Одни воспринимают тепловую обстановку в среде, другие реализуют регуляцию тепловых потоков. За восприятие теплового воздействия со стороны среды ответственны температурные рецепторы, расположенные под эпителием (Ананьева, Миккау, 1977; Ананьева и др., 1986) и воспринимающие одинаково как контакт с нагретой поверхностью, так и внешнее тепловое излучение, изменяющее температуру покровов. Кроме этого, имеются температурные рецепторы, воспринимающие температуру внутренних органов. Не вдаваясь в детали, можно полагать, что информация от рецепторов поступает в некий терморегуляторный центр, который и ответствен за осуществление терморегуляторного поведения. Конкретная организация работы этого центра в ЦНС лежит за пределами нашего рассмотрения. Вообще, все терморегуляторные реакции основаны на морфологии тела особи. Локомоторная система обеспечивает поведенческую терморегуляцию, строение внутренних органов в определен-

ной степени обеспечивает физиологические реакции. Однако все это — общие адаптации, обеспечивающие выполнение множества разнообразных процессов жизнедеятельности, в том числе и терморегуляцию. Среди них можно выделить либо специальные морфологические образования, выработанные (используемые животными) именно для терморегуляции (например, подкожные шунты, камеры под чешуйками, теплообменные паруса-радиаторы, покровы с разным альбедо), либо механизмы, которые используются и для других целей, но также применяются непосредственно для регуляции температуры тела (изменения цвета тела в связи с его температурой: при повышении температуры тела окраска тела некоторых групп ящериц светлеет вплоть до почти белой, что увеличивает отражательную способность покровов, а при понижении — темнеет (Черлин, 2014; Atsatt, 1939; Cole, 1943; Rice, Bradshaw, 1980; Walton, Bennett, 1993)). В целом тема оказалась малоизученной и должна быть определена как актуальная.

Терморегуляция за счет эндогенного термогенеза у рептилий отмечается крайне редко. Известны примеры сократительного термогенеза у кожистых морских черепах *Dermochelys coreacea* (Fair et al., 1972), зеленой морской черепахи *Chelonia mydas* (Standora et al., 1982) и насиживающих кладку самок питонов (Орлов, 1986; Valenciennes, 1841; Slip, Shine, 1988). Не исключен также несократительный термогенез у ящериц тегу *Salvator merianae* (Tattersall et al., 2016) и, возможно, у тех же самок питонов (Legendre, Davence, 2020). Механизмы этих процессов у рептилий практически не изучены.

Физиологическая терморегуляция рептилий — управление компонентами теплового баланса особи посредством физиологических механизмов:

— Изменение окраски покровов — осветление при необходимости ослабить поток тепла через инсоляцию, чтобы замедлить нагревание тела, и ее потемнение для усиления притока тепла, чтобы ускорить нагревание (Atsatt, 1939; Walton, Bennett, 1993); эта реакция может быть квалифицирована как физиологическая или как морфологическое терморегуляционное приспособление.

— Перераспределение тепла в теле посредством управления системой циркуляции нагретой или охлажденной крови — изменение частоты сердечных сокращений, использование подкожных сосудистых шунтов, стимуляция распределения нагретой крови с помощью специфических движений (зевание варанов,

пучеглазие игуан и агам) (Целлариус и др., 1991; Heath, 1964).

– Интенсификация испарения с поверхности разных органов (легких, ротовой полости, клоаки) (Olson, 1987; Waldschmidt, Porter, 1987).

Поведенческая терморегуляция рептилий — управление компонентами теплового баланса особи за счет смены форм поведения. Терморегуляторное поведение — это поведение особи, направленное на изменение температуры своего тела. Фактически в терморегуляторном поведении рептилий проявляются два основных направления: стремление повышать температуру тела при появлении любой возможности; стремление снижать ее при достижении пороговых значений. При этом траектория дневной температуры тела рептилии похожа на пилю — чередование пиков и провалов (Литвинов, Четанов, 2014; Ганюшина и др., 2022; Черлин и др., 2023). Важны и реакции выбора нового местоположения для баскинга (см. ниже), выбора позы сохранения тепла и реакции ухода вочные убежища. Отчетливо выделяются следующие формы поведенческой терморегуляции (и предполагаемые параметры) (Черлин, 2014):

- максимизация температуры тела (*порог тепловой аттракции*);
- перемещение внутри ночных и зимовочных укрытий;
- выход из укрытия (*порог тепловой аттракции*);
- нагревание (разность между температурой брюха и спины);
- избегание перегрева (*максимальная добровольная температура*);
- сохранение принятой позы или места расположения (разность между температурой кожи и органов);
- смена позы по сохранению тепла (разность между температурой спины и органов);
- уход в укрытие (разность между температурой спины и органов).

Максимизация температуры тела (теплолюбивость). Стремление к теплу — одна из важнейших мотиваций терморегуляторной активности рептилий (Коросов, 2010; Черлин, 2014, 2016). Животное чувствует, что температура предметов в непосредственном окружении стала выше, чем температура его тела, и это стимулирует его перемещение в более прогреваемое место. Здесь существенно увеличивается объем каналов поступления теплоты от окружающих объектов (солнце, воздух, вода, почва), и температура тела растет. Параметром этого акта терморегуляции оказывается *порог тепловой аттракции*, чувстви-

тельность особи к поступающему потоку тепла. Приблизительно оценить этот параметр можно как разность между температурой тела и температурой ближайших предметов внешней среды или как разность между температурой покровов, ориентированных к более прогретым предметам, и температурой глубже лежащих слоев тела. Примерные оценки для обыкновенной гадюки удалось получить с помощью дистанционного термометра: обыкновенная гадюка покидает укрытия, когда предметы на расстоянии 20 см становятся теплее, по сравнению с телом, на 5–8°C (Коросов, 2010).

Выход из укрытия — одна из поведенческих реакций, реализующих максимизацию температуры тела. Параметром этого акта терморегуляции также служит чувствительность к поступающему потоку тепла, *порог тепловой аттракции*. Животное чувствует, что температура снаружи стала выше, чем в укрытии, и выходит наружу или подставляет под лучи солнца только часть тела.

Нагревание — одна из поведенческих реакций, реализующих максимизацию температуры тела. Параметром этого акта терморегуляции служит разность между температурой внутри тела и температурой покровов (или брюха и спины). Животные меняют позу (уплощаются, располагают тело перпендикулярно солнечным лучам, прижимаются к грунту), окраску (темнеют) для скорейшего нагревания.

Избегание перегрева — множество форм терморегуляции, при которых животное существенно сокращает приток теплоты к телу от разных внешних источников. Ключевым параметром этого акта терморегуляции является максимальная добровольная температура. Когда животное достигает температуры критического уровня, включается та или иная терморегуляторная реакция, направленная на снижение температуры тела, в том числе округление тела, переход в тень, в нору, переход на прохладный субстрат, в воду, приподнимание над горячей почвой на лапах, уход на ветки, ориентация тела вдоль по направлению солнечных лучей (в тень от головы) и пр.

Прекращение избегания перегрева. Любой акт поведенческой терморегуляции начинается и заканчивается. Когда животное в стремлении предотвратить перегрев меняет позу или локацию, оно затем на какое-то время останавливается на достигнутом (на новом месте, в новой позе, положении на субстрате, ветвях). На базе какого же “конечного приспособительного результата” осуществляется “обратная афферентация” (Анохин, 1979, с. 97), свидетельствующая

о полезности предпринятого действия? Таким показателем не может быть разность между температурой покровов и внутренних органов, поскольку предпринятый акт поведения не ведет к моментальному снижению температуры ядра тела, которая при его осуществлении некоторое время даже немного подрастает (Коросов, Ганюшина, 2021а). Однако животное прекращает поведенческий акт. Видимо, в этом случае реализуется управление по возмущению (Агаджанян и др., 2003), безусловное внешнее торможение (Ноздрачев и др., 2002). Если тепловые рецепторы кожи фиксируют в более прохладной зоне снижение ожогового эффекта, т.е. сокращение потоков внешнего тепла, этого оказывается достаточным для животного, которое ожидает скорого снижения температуры тела. Если этого не происходит, выполняется следующий акт по избеганию перегрева. В этой схеме реализуются два контура обратной связи, основанных на разных системах организма и показателях его состояния (Коросов, 2008а): динамика температуры крови запускает поведенческий акт, а динамика температуры рецепторов кожи его прекращает.

Сохранение тепла (изменение позы, формы тела, переход на теплый субстрат). В условиях, когда теплообмен или отрицательная радиация начинает отбирать от тела больше теплоты, чем в него поступает от внешних источников, животное принимает позу или меняет форму тела, обеспечивая снижение потерь тепла (Коросов, 2006). Сначала остывают покровы, потом охлаждаются более глубокие слои. Поэтому характеристикой скорости остыивания может выступать разность между температурой покровов и ядра тела. Например, для гадюк: как только эта разность превысит некоторый порог (1.5°C), животное осуществляет реакцию, сберегающую тепло, сворачивается во все более и более плотный клубок, при этом площадь поверхности, с которой теряется тепло, становится меньше, чем у животного в свободной позе.

Уход в укрытие (уход в ночное укрытие, зарывание в теплую почву, рытье новых нор). Когда отрицательная радиация вечером или снижение температуры среды в непогоду начинает сильно охлаждать тело снаружи, животные меняют местоположение, например уходят в теплые норы (Черлин, Музыченко, 1983). Возможно, параметром служит разность между температурой спины и внутренних органов. Пока анализ наших данных не позволил выявить очевидный терморегуляторный фактор для этой реакции. Поэтому на данный момент задачей является построение количественных моделей терморегуляторного поведения и оценка вклада разных его форм в тепловой баланс.

ГИПОТЕТИЧЕСКИЕ ПОНЯТИЯ

Баскирод (*basking* + порождение) — некий гипотетический метаболит, который во время дневного баскинга накапливается (или тратится) в теле рептилии, пока животное поддерживает высокую температуру тела. При вынужденном остыании ночью или при плохой погоде баскирод тратится на активность. Баскирод — это фактор химической (гуморальной) терморегуляции. Избыток баскирода, накопленный в жаркое время, вынуждает животное искать прохладу, чтобы от него избавиться или позволяет продолжать активность при низких температурах. В этом состоит суть эндогенного циркадного, многодневного или даже цирканного ритма терморегуляции, отмеченного в литературе (Черномордиков, 1943, 1947; Regal, 1967; McGinnis, Voigt, 1971; Spellerberg, 1974; Johnson et al., 1976; Cowgell, Underwood, 1979; Naulleau, 1979; van Berkum, 1980). Эндогенные ритмы можно рассматривать как варианты управления по прогнозированию.

Понятие *баскирод* несколько созвучно с уже сильно устаревшим понятием теплород, которое восходит еще к концу XVIII в. Понятие и термин флогистон, или теплород, ввел французский естествоиспытатель Антуан Лавуазье (Antoine Lavoisier) в 1783 г. Оно обозначало некий невесомый флюид, который, по мнению Лавуазье, присутствует во всех телах и является причиной любых тепловых проявлений. Но уже в 1798–1799 гг. английские ученые Бенджамин Томпсон (Benjamin Thompson) и Гемфри Дэви (Humphry Davy) опровергли эту теорию. В частности, Гемфри Дэви показал, что теплота появляется только в результате движения. Предлагаемое нами понятие *баскирод* хоть пока и является исключительно гипотетическим, поскольку не имеет никаких экспериментальных подтверждений, но вполне удовлетворительно объясняет наблюдаемые явления в области терморегуляции рептилий, причины которых не имеют пока никаких других удовлетворительных объяснений. Известно, что инфракрасное излучение, воздействие которого на рептилий и является баскингом, вызывает множество различных физиологических реакций — нагревает поверхность и прилегающий к ней изнутри слой тулowiща глубиной до нескольких сантиметров, усиливает местный кровоток, активизирует обмен в тканях и органах, ускоряет окислительные процессы и общий обмен веществ, стимулирует эндокринные железы и неспецифический иммунитет, усиливает секреторную функцию желудка, поджелудочной и слюнных желез, влияет на энергетику организма и другие важные про-

цессы (Черлин, 2011). Кроме того, под воздействием инфракрасного излучения, проникающего в тело животных, там происходит синтез специфических, важных для жизнедеятельности биологически активных веществ — гистамина, холина и др., в крови повышается уровень фосфора и натрия (Певцов, 2010). На самом деле, процессы, происходящие в организме рептилий под воздействием инфракрасного излучения, изучены явно недостаточно, но совершенно очевидно, что они носят системный характер.

Таким образом, нет никаких оснований отрицать возможность выработки под воздействием такого мощного физического фактора, как инфракрасное излучение, каких-либо еще неизвестных науке биологически активных метаболитов, влияющих на активность животных (в частности — гипотетического *баскирода*). В данном случае задачей является изучение биохимических и физиологических процессов, происходящих в организме рептилий под воздействием инфракрасного излучения и высокой температуры, и влияния этих процессов на энергетику и активность.

Циркадный, сезонный и цирканный ритмы терморегуляции — явления, выходящие за рамки собственно терморегуляции. Наблюдаемая динамика температуры тела, повышение ее днем и понижение ночью, имеет не только наведенный, но, видимо, и эндогенный генезис. В экспериментах показано, что при наличии свободного выбора температур в зоне активности и в убежищах в течение всего года у рептилий наблюдается изменение температурных предпочтений в течение суток, сезона и года (Замолодчиков, Колосова, 1995). Им необходимы периодическое остыивание и период зимовки (Naulleau, 1979). Эндогенные ритмы изменения терморегуляции, видимо, следует рассматривать как элементы управления по прогнозированию (Агаджанян и др., 2003). Однако в данной статье мы рассматриваем терморегуляцию как совокупность сиюминутных, краткосрочных реакций животных на температуру тела и тепловую обстановку. Когда же речь заходит о долгосрочных эффектах результатов той же терморегуляции, мы вторгаемся в область более обширного предмета термобиологии, лежащей вне рамок нашего рассмотрения.

ТЕРМИНЫ МЕТОДИКИ

Показатели, характеристики, замеры, переменные — это величины, которые могут принимать разные значения во время наблюдений.

Параметры, константы, критерии, коэффициенты — это неизменяемые величины, которые сохраняются постоянными на протяжении периода наблюдений (фазы жизни).

Температурные характеристики. Их значения получают при регистрации температуры тела животного в любое время суток, в любые сезоны, при любых жизненных отправлениях животных (Черлин, 2010). На них сказываются все компоненты теплового баланса и акты активности животных (в том числе терморегуляторные). Такова температура тела животного в течение периода наблюдений; например, летом у гадюки в Карелии она может в течение суток изменяться от 4 до 38°C.

Температура тела — значения температуры, полученные на любых участках тела рептилии любыми подходящими инструментами (Glossary..., 2003). Выбор точки измерения температуры текущего участка тела (перорально, ректально, поверхностно, инвазивно) диктуется предметом исследования (тепловой баланс, тепловая реактивность, пределы выживания, терморегуляция) и возможностями инструментальной базы (термометры ртутные, термопары, пиromетры, микрологгеры). В контексте размышлений о терморегуляции большой интерес представляет температура органа, предположительно гипоталамуса, непосредственно реагирующего на критические температуры. Однако современными логгерами замерить температуру гипоталамуса затруднительно. Следовательно, задачей термобиологии становится развитие технологий микрологгеров, которые благодаря микроскопическим размерам можно было бы устанавливать в любую часть тела без ущерба для самочувствия и функционирования организма животных, чтобы была возможность обеспечить непрерывное слежение за температурой их тела.

Средняя температура тела обычно определяется как сиюминутная средневзвешенная показаний всех датчиков (Glossary..., 2003) для отдельной особи. Однако у рептилий разные части и разные слои тела могут иметь различную температуру (Литвинов, Ганщук, 2010; Ганюшина и др., 2019). Так, весной на юге Туркмении нами отмечена среднеазиатская эфа *Echis multisquamatus*, которая лежала задней частью тела в норе, где ее температура была 12°C, а передняя часть змеи грелась на солнце, и ее температура была 32°C (Черлин, Целлариус, 1981). Таким образом, говорить о средней температуре тела рептилии почти бессмысленно. Также в литературе по рептилиям зачастую указывается *средняя температура* за более или менее длительные периоды (сутки, неделю, сезон, год)

не для одной, а для многих особей. При этом обычно не различаются периоды, когда животное регулирует и не регулирует температуру тела, т.е. не только смешивается работа различных терморегуляторных параметров, но нет дифференциации разных тепловых потоков (Черлин, 2013, 2019б). По этим причинам данный показатель не может использоваться в целях изучения терморегуляции.

Температура (внешней) среды — значения температуры любых объектов, характеризующих конкретную тепловую обстановку (Гейгер, 1960) местообитаний данного вида рептилий. При описании экологии вида рептилии необходимо точно указывать, к чему относятся температурные характеристики. Когда пишут “ящерица встречается при температуре 28°C”, остается совершенно непонятным, какой объект имеют в виду: температуру тела, поверхности почвы, воздуха? Даже когда указывают объект, не всегда достигается однозначность, например температура воздуха, замеренная на метеоплощадке (на высоте 2 м), совершенно не соответствует температуре приземного слоя воздуха, где, собственно, и обитает животное (Черлин, 2010).

Термоэкологические показатели — любые показатели температуры тела рептилий, которые характеризуют как терморегуляторные способности рептилий, так и термические характеристики среды их обитания (Черлин, 2014). Большинство таких значений будут зависеть не столько от терморегуляторных способностей рептилий, сколько от экологического фактора *теплота*, от окружающей тепловой обстановки, от величины потоков теплового баланса. Эти показатели не могут охарактеризовать тепловые предпочтения вида.

Термофизиологические показатели — статистические характеристики устойчивых температурных предпочтений рептилий, это любые показатели температуры тела рептилий, в той или иной степени характеризующие их терморегуляторные способности, которые задаются физиологическими константами терморегуляции (Черлин, 2014). *Термофизиологические показатели* — это некоторая часть из всего массива температурных показателей, выбранных по определенным внешним критериям, которые указывают на то, что животные в явной форме осуществляют терморегуляторное поведение. В качестве таких критериев могут выступать определенные формы поведенческих реакций или характеристики среды обитания. Например, если рассматривать состояние полной активности у степной агамы *Trapelus sanguinolentus*, то его проявления возможны только в диапа-

зоне температур тела 38–44°C (Черлин, 1988). Другой вариант внешних критериев — условия среды. Например, достаточно высокий уровень солнечной радиации, когда температура в траве поднимается выше 23°C, обыкновенная гадюка демонстрирует четкую терморегуляцию в достаточно узком диапазоне изменчивости температуры тела, что позволяет рассчитать термофизиологический показатель *средняя температура баскинга* (Коросов, Ганюшина, 2020).

Терморегуляторные параметры — значения температурных показателей, которые наблюдаются у особи в момент проявления терморегуляторной реакции (Коросов, 2015) (рис. 2). Температурный показатель становится *терморегуляторным параметром*, если он численно указывает на включение или выключение терморегуляторной реакции. Такова *добровольная максимальная температура* (для гадюк из Карелии — 34.1°C), которая является критерием начала перегрева особи и которая включает терморегуляторную реакцию перехода особи в более прохладное место. Для шести поведенческих актов терморегуляции (нагревание, переход, избегание, остановка, сохранение, уход) можно оценить шесть значений терморегуляторных параметров. Зачастую реальный физиологический механизм включения терморегуляторной реакции (работа рецепторов, работа центра анализа, работа эффекторов) для экологов остается неизвестным; мы только наблюдаем конкретную адаптивную реакцию на определенные значения температуры тела. По этой причине оцененные нами значения терморегуляторных параметров не равны *истинным физиологическим константам*. Получаемые нами значения параметров являются их индикаторами. Мы можем количественно оценивать эти параметры и тем самым изучать механизм терморегуляции.

На сегодня основной задачей становится определение параметров терморегуляции у разных видов и разных популяций отдельных видов.

Термофизиологические показатели

Диапазон предпочтаемых температур тела — этот термофизиологический показатель имеет множество толкований, которые порой сильно различаются по смыслу. И поэтому нам кажется необходимым придать ему унифицированный физиологический смысл, а сам термин “диапазон предпочтаемых температур тела”, как условный, т.е. хоть и часто используемый, при этом не имеющий ученых единого понимания, мы заключили в кавычки. Выделяемый исследователями диапазон предпочтаемых (добро-

вольных) температур имеет объективный смысл. Границы этого видоспецифичного диапазона формируются в первую очередь посредством проявления двух терморегуляторных реакций — *максимизация температуры тела и избегание перегрева*. Эти реакции контролируются двумя параметрами: *порогом тепловой аттракции* и *максимальной добровольной температурой*. Реакция максимизации поднимает температуру тела животного, реакция избегания перегрева ее понижает. Когда нет дефицита поступающей извне теплоты, в течение определенного времени температура тела рептилии будет варьировать в ограниченном диапазоне. Уровни названных параметров терморегуляции обеспечивают устойчивость видоспецифических границ диапазона *предпочитаемых температур*. Есть основания полагать, что для конкретного вида эти границы оказываются одинаковыми в разных климатических зонах. С методической точки зрения можно корректно определить *диапазон добровольных температур* при учете двух условий. Во-первых, измерения нужно проводить, когда отсутствует дефицит поступающей извне теплоты. Во-вторых, относить только к тем животным, которые явно осуществляют терморегуляторные реакции. Такое состояние животного можно охарактеризовать термином *состояние полной активности* (normal activity, routine activity), дневные животные его достигают днем, ночные — ночью (Либерман, Покровская, 1943; Черлин, 2014). В статистическом смысле границы диапазона *предпочитаемых* (добровольных) температур нужно назначать не по отдельным максимальным или минимальным значениям, а как границы 95%-ного доверительного интервала, рассчитанные с использованием всего массива имеющихся данных и поэтому обладающих высокой репрезентативностью. Подобного рода точный показатель *средняя температура баскинга* разработан при изучении терморегуляции обыкновенной гадюки (Коросов, Ганюшина, 2020). Определение *диапазона предпочтаемых температур* в разных частях ареала и для разных видов необходимо на данном этапе исследований.

Предпочитаемая температура тела — условный термин. Статистическая характеристика *диапазона предпочтаемых температур* выражена одним числом — средней, модой или медианой со своей ошибкой (Коросов, Ганюшина, 2020). Выбор нужного показателя следует делать после изучения характера распределения данных. В таком определении показатель *предпочитаемая температура тела* обретает физиологический смысл и позволяет выполнять статистические сравнения аналогичных показателей для других

видов или популяций. На наш взгляд, не существует механизма поддержания этого показателя на одном уровне, однако параметры терморегуляции обеспечивают поддержание диапазона добровольных температур, обобщенной статистической характеристикой которого является *предпочитаемая температура тела*. Разными авторами предлагались и другие термины и показатели для характеристики теплового предпочтения — оптимальные, преферентные температуры, *eccritic temperatures*. Такие температуры нельзя назвать оптимальными, поскольку с физиологической и биохимической точек зрения они не оптимальны. Такие показатели для рептилий нельзя называть и преферентными, поскольку традиционно преферентные температуры относятся к характеристикам внешней среды, которые выбирают животные, причем в данном случае речь идет только о теплокровных животных (Glossary..., 2003).

Преферентные (предпочтаемые) температуры среды (термопреферендум) — зафиксированные в эксперименте температуры субстрата (термотактический оптимум) или воздуха в том месте, где рептилия остановилась при свободном выборе размещения (Морев, 1980; Щербак, 1989; Hertel, 1941). К сожалению, в результате таких экспериментов остается непонятным, чем руководствуются животные при определении места остановки — то ли температурой субстрата (контактирующих с ним рецепторов), то ли температурой тела, измененной новым сочетанием тепловых потоков; температура тела в таких опытах практически никогда не изменяется. Возможно, выбор текущего положения тела диктуется компромиссом между почти ожоговым воздействием субстрата и дефицитом температуры тела из-за внешних теплопотерь или, напротив, между жесткой инсоляцией и высокими теплопотерями на холодной почве. Видимо, именно поэтому понятие *преферентные (предпочтаемые) температуры среды* для экзотермных (эквотермных) животных (и рептилий в том числе) неприемлемо (Glossary..., 2003). В настоящее время крайне необходима разработка корректной методики для определения *предпочитаемых температур тела*, в том числе во время дневного или ночных отдыха.

Годовой тепловой бюджет — распределение значений температуры тела животного, измеряемых микрологгерами, в течение круглого года. Если замеры выполнять через каждые две минуты, объем выборки составит 262800 значений температуры тела (Коросов, Ганюшина, 2021б). Гистограмма этого распределения дает возможность увидеть доступность тепла для

рептилий в течение года, рассчитать значения основного обмена за год в целом, оценить роль терморегуляторного поведения для обеспечения нормального метаболизма. По аналогии с показателем “сумма активных температур”, принятым в агроклиматологии (Лосев, 1994), видимо, можно построить показатели *сумма предпочтаемых температур* и *сумма доступных температур* в целях оценки географической и сезонной изменчивости тепловой обстановки для конкретного вида.

Параметры терморегуляции

Порог тепловой аттракции — интенсивность теплового потока, поступающего от окружающих предметов к телу животного, изменяющая температуру рецепторов покровов и вызывающая реакцию *максимизации температуры тела*, перемещение особи в более нагретое место (Коросов, 2010, 2015). Указанная реакция наблюдается при утреннем выходе из укрытий, при перемещении на участки, более прогретые солнцем в дневное время, и в более теплые части укрытий и пр. Хотя количественно *порог тепловой аттракции* можно определить как интенсивность излучения, вызывающую эту терморегуляторную реакцию, но практически такие замеры выполнить сложно, и косвенной характеристикой может послужить разность между температурой тела животного и температурой того нагретого участка (по соседству с ним), в сторону которого животное переместилось. Актуальной задачей является поиск точного инструментального метода оценки этого показателя.

Фактор (температура) ухода — терморегуляторный параметр, контролирующий вечерний уход в ночное убежище. Наши наблюдения не позволяют утверждать, что существует конкретное значение минимальной температуры тела, вынуждающей животное уходить в укрытие (Коросов, 2010). Возможно, контрольным параметром выступает разность между температурой покровов (остывающих за счет отрицательной радиации или понижающейся температуры воздуха) и более высокой температурой ядра тела. Выявление механизмов регуляции вечернего ухода животных вочные убежища — предмет дальнейших исследований.

Средняя температура баскинга — средняя арифметическая для всех значений температуры тела гадюки, которые зафиксированы за все моменты времени, когда температура окружающей среды (температура воздуха в траве) превышает 23°C, что является индикатором высокого уровня солнечной радиации (Коросов, Ганюшина, 2020). Показатель будет актуален для всех видов

змей, гекконов, некоторых других видов, но не очевидно, что для всех рептилий.

Максимальная добровольная температура — температура тела животного (в выбранной точке тела), вызывающая реакцию, направленную на снижение тепловой нагрузки, избегание дискомфорта от перегрева (Коросов, Ганюшина, 2020). Может быть точно измерена при непрерывной одновременной регистрации температуры тела и поведения особи (например, при использовании имплантированных микрологгеров и видеосъемки) именно в момент начала терморегуляторной реакции. Несмотря на трудоемкость оценки, этот параметр имеет низкую статистическую ошибку и высокую репрезентативность. По нашему мнению, эта величина достаточно четко соответствует *истинной физиологической константе*, запускающей данный механизм терморегуляции.

Максимальная высшая температура — единичное, самое высокое значение температуры тела, зафиксированное у отдельной особи при непрерывной регистрации температуры с помощью микрологгеров за все время наблюдений (Коросов, Ганюшина, 2020). Это единственное для особи значение имеет высокую репрезентативность, поскольку обычно бывает получено из выборки объемом 15–25 тыс. измерений. Оно имеет низкую изменчивость. Среднее значение можно рассматривать как примерную оценку предельной витальной температуры для данного вида. В разных участках тела этот показатель не будет одинаков, здесь важно только, чтобы показатели для разных сравниваемых выборок были получены методически единообразно.

Максимальная типичная температура — расчетный показатель, ориентированный на изучение частотного распределения значений температуры тела; это та точка на температурной кривой в правой части температурной оси, в которой частоты температур начинают резко снижаться, после чего становятся почти нулевыми (Коросов, Ганюшина, 2020). Этот параметр имеет низкую статистическую ошибку и высокую репрезентативность, гораздо менее трудоемок для определения, чем максимальная добровольная температура, жестко с ней коррелирует (для обыкновенной гадюки разность между ними составляет 4°C) и поэтому может быть использован для ее косвенной оценки.

Для трех представленных показателей максимальных температур разработаны методы точной количественной оценки, что позволяет развивать исследования их внутривидовой и межвидовой изменчивости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предлагаемый текст представляет собой попытку конкретизировать объект исследований по температуре тела рептилий и отойти от направления, доминирующего в настоящий момент. Современная экологическая, или статистическая, термобиология рассматривает температуру тела как еще один параметр оценки организма наряду с массой, длиной или окраской тела. При таком подходе кажется, что, располагая достаточно обширной базой исходных данных по температуре тела и факторам среды и применяя разнообразные методы статистики, можно выявить ведущие факторы и получить биологически значимые температурные характеристики особей и видов. Да, в рамках этого подхода определены важные критические значения, границы выживаемости, диапазоны типичных температур и пр. Однако для изучения терморегуляции этот подход не годится. Проблема заключается в том, что температура тела является характеристикой организма рептилии не круглые сутки, а лишь тогда, когда работают механизмы ее регуляции, когда сам организм начинает ее контролировать. Но эти реакции наблюдаются всего несколько часов в день, да и то только в теплые сезоны года. В остальное время температура тела рептилии — это свойство среды обитания. Экологи часто не берут во внимание, что длина тела или концентрация эритроцитов жестко и постоянно контролируется организмом особи. Именно по этой причине такие показатели устойчивы и видоспецифичны. Если цель наших исследований состоит в выявлении видоспецифичных температурных предпочтений, значит, изучать температуру тела рептилии также нужно в тот период, когда животное ее контролирует. Предложенный нами подход предусматривает наблюдение животных во время проявления поведенческих терморегуляторных реакций, т.е. в те периоды и моменты, когда температура тела становится характеристикой организма рептилии. Для строгой формулировки этого подхода потребовалось пересмотреть и унифицировать все термины по терморегуляции рептилий. Мы полагаем, что предложенная конкретная модель сделает более привлекательными исследования этой тематики.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы признательны С.В. Бугмырину и Р.А. Горелову, подарившим возможность жить, работать и вести дискуссии по терморегуляции рептилий на биологических стационарах в д. Гомсельга (Карелия) и в д. Бахилова Поляна (Самарская обл.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Инициативный проект за счет самофинансирования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В процессе подготовки статьи ни люди, ни животные не использовались в качестве объектов исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Агаджанян Н.А., Тель Л.З., Циркин В.И., Чеснокова С.А. Физиология человека. М.: Мед. книга; Н. Новгород: НГМА, 2003. 528 с.
- Ананьева Н.Б., Миккау Н.Е. Изучение кожных рецепторов ящериц методом растровой электронной микроскопии // Вопросы герпетологии / Докл. IV Всесоюз. герпетол. конф. (Ленинград, 1–3 февраля 1977 г.). Л.: Наука, 1977. С. 8–9.
- Ананьева Н.Б., Дильмухамедов М.Е., Матвеева Т.Н. Кожные рецепторы игуаноморфных ящериц // Тр. ЗИН АН СССР. 1986. Т. 157. С. 14–33.
- Анохин П.К. Системные механизмы высшей нервной деятельности. М.: Наука, 1979. 453 с.
- Винер Н. Кибернетика, или управление и связь в животном и машине. М.: Наука, 1983. 344 с.
- Востриков А.С., Французова Г.А. Теория автоматического регулирования. Новосибирск: НГТУ, 2003. 364 с.
- Ганюшина Н.Д., Коросов А.В., Литвинов Н.А., Четаев Н.А. Наружная и внутренняя температуры тела обыкновенной гадюки // Изв. вуз. Поволж. рег. 2019. № 2. С. 17–27.
- Ганюшина Н.Д., Коросов А.В., Литвинов Н.А., Четаев Н.А. Сравнение параметров терморегуляции обыкновенного ужа и обыкновенной гадюки // Принципы экологии. 2022. № 4. С. 34–43.
- Гейгер Р. Климат приземного слоя воздуха. М.: Иностр. лит., 1960. 487 с.
- Замолодчиков Д.Г., Колосова О.В. Динамика популяций рептилий: эмпирическая верификация биоэнергетической модели // Журн. общ. биол. 1995. Т. 56 (2). С. 165–171.
- Иванов К.П. Терморегуляция // Большая медицинская энциклопедия. В 30 тт. Т. 25. М.: Советская энциклопедия, 1985. С. 36–38.
- Коросов А.В. Нагревание и остывание живой крупной гадюки *Vipera berus* // Актуальные проблемы герпетологии и токсикологии. Вып. 9. Тольятти: ИЭВБ РАН, 2006. С. 88–108.
- Коросов А.В. Двухконтурная отрицательная обратная связь и модель терморегуляции гадюки // Уч. зап. ПетрГУ. Сер. ест. тех. науки. 2008а. № 1. С. 74–82.

- Коросов А.В.** Простая модель баскинга обыкновенной гадюки (*Vipera berus* L.) // Совр. герпетол. 2008б. Т. 8 (2). С. 118–136.
- Коросов А.В.** Экология обыкновенной гадюки (*Vipera berus* L.) на Севере (факты и модели). Петрозаводск: ПетрГУ, 2010. 264 с.
- Коросов А.В.** Новое слово в термобиологии рептилий? // Принципы экологии. 2015. № 1. С. 77–85.
- Коросов А.В., Ганюшина Н.Д.** Методы оценки параметров терморегуляции рептилий (на примере обыкновенной гадюки, *Vipera berus* L.) // Принципы экологии. 2020. № 4. С. 88–103.
- Коросов А.В., Ганюшина Н.Д.** Максимальная температура тела как параметр терморегуляции рептилий: опыт статистической оценки на примере обыкновенной гадюки (*Vipera berus*) // Зоол. журн. 2021а. Т. 100 (3). С. 307–316.
- Коросов А.В., Ганюшина Н.Д.** Тепловой бюджет обыкновенной гадюки (*Vipera berus*) в Карелии за год // Вопросы герпетологии / Мат. VIII съезда Герпетол. общ. им. А.М. Никольского “Современные герпетологические исследования Евразии” (Звенигородская биологическая станция МГУ, 3–9 октября 2021 г.). М.: КМК, 2021б. С. 136–137.
- Леках В.А.** Ключ к пониманию физиологии. М.: Едиториал УРСС, 2002. 360 с.
- Либерман С.С., Покровская И.В.** Материалы по экологии прыткой ящерицы // Зоол. журн. 1943. Т. 22 (2). С. 247–256.
- Литвинов Н.А., Ганщук С.В.** Термоадаптации рептилий Волжского бассейна // Изв. СамНЦ РАН. 2010. Т. 12 (1). С. 133–137.
- Литвинов Н.А., Четанов Н.А.** Непрерывная регистрация температуры тела обыкновенной гадюки летом // Изв. СамНЦ РАН. 2014. Т. 16 (5). С. 430–435.
- Логгер температуры DS1921G-F5 Термохрон, 2024. НПО “Спектр”. <https://ptk-kip.ru/publics/item/8335> (дата обращения 02.03.2024)
- Лосев А.П.** Практикум по агрометеорологическому обеспечению растениеводства. СПб.: Гидрометеоиздат, 1994. 245 с.
- Меннинг О.** Поведение животных. Вводный курс. М.: Мир, 1982. 360 с.
- Морев Б.Ю.** Предпочитаемые температуры среды и поведение ящериц в пустыне // Температурная компенсация и поведенческий гомеостазис / Ред. К.П. Иванов, А.Д. Слоним. Л.: Наука, 1980. С. 101–105.
- Ноздрачев А.Д., Баженов Ю.И., Баранникова И.А. и др.** Начала физиологии. СПб.: Лань, 2002. 1088 с.
- Орлов Н.Л.** Факультативная эндогенная терморегуляция питонов (Boidae, Pythoninae) и корреляция между эндотермными реакциями и поведенческой терморегуляцией // Зоол. журн. 1986. Т. 65 (4). С. 551–559.
- Певцов Б.Г.** Безопасность жизнедеятельности. М.: Станкин, 2010. 153 с.
- Розенгауз И.Н.** Тепловой баланс // Большая советская энциклопедия. В 30 тт. Т. 25. М.: Советская энциклопедия, 1976. С. 446.
- Рюмин А.В.** Значение температуры в онтогенезе и филогенезе животных // Успехи соврем. биол. 1940. Т. 12 (3). С. 504–515.
- Скопичев В.Г., Эйсмонт Т.А., Алексеев Н.П. и др.** Физиология животных и этология. М.: КолосС, 2004. 720 с.
- Словарь русского языка. Т. 3. М.: Инст-т русского языка, 1987. 749 с.
- Стрельников И.Д.** Свет как фактор в экологии животных. Статья первая. Действие солнечной радиации на температуру тела некоторых пойкилотермных животных (к экологии животных пустыни Кара-Кумы) // Изв. Науч. ин-та им. П.Ф. Лесгафта. 1934. Т. 17–18. С. 313–372.
- Стрельников И.Д.** Действие солнечной радиации и микроклимата на температуру тела и поведение личинок азиатской саранчи *Locusta migratoria* L. // Тр. ЗИН АН СССР. 1935. Т. 2 (4). С. 637–734.
- Судаков К.В.** Нормальная физиология. М.: Мед. инф. агентство, 2006. 920 с.
- Терморегуляция // Большая Российская энциклопедия. Т. 32. М.: Большая Российская энциклопедия, 2016. С. 77–79.
- Целлариус А.Ю., Черлин В.А., Меньшиков Ю.Г.** Предварительное сообщение о работах по изучению биологии *Varanus griseus* (Reptilia, Varanidae) в Средней Азии // Герпетологические исследования / Ред. В.А. Черлин, А.Ю. Целлариус. Л.: ЛИСС, 1991. С. 61–103.
- Черлин В.А.** К термобиологии серого геккона (*Cyrtopodion russowii*), полосатой ящурки (*Eremias scripta*) и степной агамы (*Trapelus sanguinolentus*) в Восточных Каракумах // Изв. АН Туркменской ССР. Сер. биол. наук. 1988. № 5. С. 36–43.
- Черлин В.А.** Стабилизация высокой температуры тела в эволюции позвоночных животных // Успехи совр. биол. 1990. Т. 109 (3). С. 440–452.
- Черлин В.А.** Термобиология рептилий. Общие сведения и методы исследований. СПб.: Русско-Балтийский информационный центр “БЛИЦ”, 2010. 124 с.
- Черлин В.А.** Биологические основы содержания пресмыкающихся в неволе: тепловой фактор. СПб.: Русско-Балтийский информационный центр “БЛИЦ”, 2011. 178 с.
- Черлин В.А.** Организация процесса жизни как системы. СПб.: Русско-Балтийский информационный центр “БЛИЦ”, 2012. 124 с.
- Черлин В.А.** Сложности и возможные ошибки при полевых исследованиях по термобиологии рептилий // Современная герпетология: проблемы и пути их решения / Мат. I междунар. молод. конф. герпетологов России и сопредельных стран (Санкт-Петербург, 25 октября – 7 ноября 2013 г.). СПб.: ЗИН РАН, 2013. С. 32–39.

- Черлин В.А. Рептилии: температура и экология. Saarbrücken: Lambert Academic Publishing, 2014. 442 с.
- Черлин В.А. Тепловые адаптации рептилий и механизмы их формирования // Принципы экологии. 2015. № 1. С. 17–76.
- Черлин В.А. Современный взгляд на термобиологию с позиции изучения рептилий // Биосфера. 2016. Т. 8 (1). С. 47–67.
- Черлин В.А. Значение изменений интенсивности со-пряженного и несопряженного дыхания митохондрий в эволюции позвоночных животных // Успехи соврем. биол. 2017. Т. 137 (5). С. 479–497.
- Черлин В.А. Изучение термобиологии рептилий в мире и в СССР/РФ. 1. Изучение термобиологии рептилий в зарубежных странах // Принципы экологии. 2019а. № 3. С. 163–179.
- Черлин В.А. Изучение термобиологии рептилий в мире и в СССР/РФ. 2. Изучение термобиологии рептилий в СССР/РФ // Принципы экологии. 2019б. № 4. С. 96–132.
- Черлин В.А., Целлариус А.Ю. Зависимость поведения песчаной эфи, *Echis multisquamatus* Cherlin 1981 от температурных условий в Южной Туркмении // Фауна и экология амфибий и рептилий палеарктической Азии / Ред. Н.Б. Ананьев, Л.Я. Боркин. Л.: ЗИН АН СССР, 1981. С. 96–108.
- Черлин В.А., Музыченко И.В. Использование нор в терморегуляции рептилий // Прикладная этология Т. 3 / Мат. III Всесоюз. конф. по поведению животных (Москва, 21–23 апреля 1983 г.). М.: Наука, 1983. С. 172–174.
- Черлин В.А., Окштейн И.Л., Алигаджиев Э. Термобиологические характеристики ушастых круглоголовок (*Phrynocephalus mystaceus*) (Reptilia, Agamidae) на бархане Сарыкум (Дагестан, Россия), полученные с помощью логгеров температуры // Соврем. герпетол. 2023. Т. 23 (3/4). С. 160–163.
- Черномордиков В.В. О температурных реакциях пресмыкающихся // Зоол. журн. 1943. Т. 22 (5). С. 274–279.
- Черномордиков В.В. Суточный цикл активности некоторых пресмыкающихся // ДАН СССР. 1947. Т. 67 (5). Стр. 505–508.
- Шмидт-Ниельсен К. Физиология животных. Приспособление и среда. В 2 тт. М.: Мир, 1982. 800 с.
- Щербак Н.Н. Изучение отношения пресмыкающихся к температуре // Руководство по изучению земноводных и пресмыкающихся / Ред. Н.Н. Щербак. Киев, 1989. С. 124–128.
- Эккерт Р., Рэндалл Д., Огастин Д.М. Физиология животных: механизмы и адаптация. Т. 1. М.: Мир, 1991. 424 с.
- Atsatt S.R. Color changes as controlled by temperature and light in the lizards of the desert regions of southern California // Univ. Calif. Los Angeles Publ. Biol. Sci. 1939. V. 1. P. 237–276.
- Chréatien D., Béanit P., Ha H.-H. et al. Mitochondria are physiologically maintained at close to 50°C // PLoS Biol. 2018. V. 16 (1). P. e2003992. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003992>
- Cole L.C. Experiments on toleration of high temperatures in lizards with reference to adaptive coloration // Ecology. 1943. V. 24. P. 94–108.
- Cowgell J., Underwood H. Behavioral thermoregulation in lizards: a circadian rhythm // J. Exp. Zool. 1979. V. 210 (11). P. 189–194.
- Fair W., Ackman R.G., Mrosovsky N. Body temperature of *Dermochelys coracea*: warm turtle from cold water // Science. 1972. V. 177. P. 791–793.
- Glossary of terms for thermal physiology // J. Thermal Biol. 2003. V. 28. P. 75–106.
- Heath J.E. Head-body temperature differences in horned lizards // Physiol. Zool. 1964. V. 37 (3). P. 273–279.
- Herter K. Die Vorzungstemperaturen bei Landtieren // Naturwissenschaften. 1941. B. 29. S. 155–164.
- Johnson C.R., Webb G.J.W., Tanner C. Thermoregulation in crocodiles. II. A telemetric study of body temperature in the Australian crocodiles *Crocodylus johnsoni* and *Crocodylus porosus* // Comp. Biochem. Physiol. 1976. V. 53. P. 143–146.
- Legendre L.J., Davesne D. The evolution of mechanisms involved in vertebrate endothermy // Phil. Trans. R. Soc. B. 2020. V. 375. P. e20190136.
- McGinnis S.M., Voig W.G. Thermoregulation in the desert tortoise, *Gopherus agassizii* // Comp. Biochem. Physiol. 1971. V. 40 (1). P. 119–126.
- Naulleau G. Etude biotelemétrique de la thermoregulation chez *Vipera aspis* (L.) élevée en conditions artificielles // J. Herpetol. 1979. V. 13 (2). P. 203–208.
- Olson R.E. Evaporative water loss in the tortoise *Gopherus berlandieri* in ambient temperature regimes // Bull. Maryland Herpetol. Soc. 1987. V. 23. P. 93–100.
- Regal P.J. Voluntary hypothermia in reptiles // Science. 1967. V. 155. P. 1551–1553.
- Rice G.E., Bradshaw S.D. Changes in dermal reflectance and vascularity and their effects on thermoregulation in *Amphibolurus nuchalis* (Reptilia: Agamidae) // J. Comp. Physiol. 1980. V. 135 (2). P. 139–146.
- Slip D.J., Shine R. Reptilian endothermy: a field study of thermoregulation by brooding diamond pythons // J. Zool. 1988. V. 216 (2). P. 367–378.
- Spellerberg L.F. Influence of photo-period and light intensity on lizard voluntary temperatures // Br. J. Herp. 1974. V. 5. P. 412–420.
- Standora E.A., Spotila J.R., Foley R.E. Regional endothermy in the sea turtle, *Chelonia mydas* // J. Therm. Biol. 1982. V. 7 (3). P. 159–165.
- Tattersall G.J., Leite C.A., Sanders C.E. et al. Seasonal reproductive endothermy in tegu lizards // Sci. Adv. 2016. V. 2. P. e1500951.
- Valenciennes A. Observations faites pendant l'incubation d'une femelle du python a deux raies (*Python*

- bivittatus*, Kuhl.) pendant les mois de mai et de juin 1841 // Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences. 1841. V. 13. P. 126–133.
- van Berkum F.H.* The significance of preferred body temperatures of lizards // Amer. Zool. 1980. V. 2. P. 734.
- Waldschmidt S.R., Porter W.P.* A model and experimental test of the effect of body temperature and wind speed on ocular water loss in the lizard *Uta stansburiana* // Physiol. Zool. 1987. V. 60 (6). P. 678–686.
- Walton B.M., Bennett A.F.* Temperature-dependent color change in Kenyan chameleons // Physiol. Zool. 1993. V. 66 (2). P. 270–287.

Thesaurus on Thermoregulation in Reptiles

A. V. Korosov^a, V. A. Cherlin^{b,*}, N. D. Ganyushina^a

^a*Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Republic of Karelia, Russia*

^b*Dagestan State University, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia*

*e-mail: cherlin51@mail.ru

On the basis of our own and published materials, a glossary of terms on thermoregulation of reptiles as ectothermic animals has been compiled. The theoretical basis for this generalization was the idea of the process of physiological regulation through negative feedback. Various methods of thermoregulation and a variety of forms of thermoregulatory behavior are considered. Classification of indicators of body temperature of animals is carried out. Thermoecological indicators mainly reflects the intensity of the impact of environmental thermal factors on the body. Thermophysiological parameters characterize the state (body temperature) of an individual at the moment of the implementation of a particular reaction to heat. Methods for constructing parameters for individual acts of thermoregulation are discussed. Promising ways of research on thermoregulation of reptiles are outlined.

Keywords: thermal biology, reptiles, thermoregulation, thermoecological characteristics, thermophysiological parameters

УДК 639.3.045.3

ФИЗИОЛОГО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЫРАЩИВАНИЯ АФРИКАНСКОГО КЛАРИЕВОГО СОМА *Clarias gariepinus*

© 2024 г. А. А. Климук^{1,*}, С. В. Бекетов¹, Т. Л. Калита¹

¹Московский государственный университет технологий и управления им. К.Г. Разумовского (Первый казачий университет), Москва, Россия

*e-mail: ord@mgutm.ru

Поступила в редакцию 19.07.2024 г.

После доработки 21.07.2024 г.

Принята к публикации 21.07.2024 г.

Рассматриваются физиолого-экологические особенности выращивания африканского клариевого сома *Clarias gariepinus*, в частности влияние температуры водной среды на этапы онтогенеза (икра, личинка, малек) и на получение товарной продукции. Дополнительно обобщены экспериментальные данные по определению современного ареала обитания *C. gariepinus*, его кормового поведения и некоторых физиологических реакций желудочно-кишечного тракта. Показано, что оптимальный термальный диапазон для выращивания *C. gariepinus* составляет 25–32°C. На ранних этапах развития (икра, личинка) клариевый сом наиболее чувствителен к температуре, а уже начиная с малькового этапа лучше адаптируется к неблагоприятным температурным условиям. Кроме того, характер питания и активность ферментов поджелудочной железы африканского клариевого сома также тесно связаны с температурой водной среды. В заключении приводятся практические рекомендации по индустриальному разведению *Clarias gariepinus* в установках замкнутого водоснабжения.

Ключевые слова: африканский клариевый сом, термальный режим, развитие, размножение, питание, температурный оптимум

DOI: 10.31857/S0042132424060075, **EDN:** NRETMV

ВВЕДЕНИЕ

Температура водной среды — это показатель, воздействующий на все жизненные стадии пой-килотермных животных, включая рыб. Однако многие эколого-физиологические и поведенческие аспекты температурных адаптаций у рыб изучены недостаточно. Один из популярных товарных объектов аквакультуры в мире — африканский клариевый сом *Clarias gariepinus*, Burchell, 1822 — теплолюбивый пресноводный вид рыб многочисленного семейства Clariidae (Adewolu et al., 2008).

Однако, несмотря на то что первые сообщения о возможностях индустриального разведения *C. gariepinus* появились в научных публикациях еще в 1970-е гг. (Seebens et al., 2017), в настоящее время особенности термальных оптимумов, а также уровень верхней и нижней летальной температуры проанализированы лишь для

отдельных стадий индивидуального развития или коротких этапов онтогенеза африканских клариевых сомов (Olaniyi, Omitogun, 2014), и до сих пор данные имеют разрозненный характер.

Если говорить в целом, то термальный оптимум жизнедеятельности рыб в общем виде можно представить как видоспецифичный температурный диапазон, в котором происходит протекание всех жизненных процессов в организме в норме (Голованов, 1996). В границах оптимума для каждого из процессов существуют точки, в которых достигается максимальный эффект того или иного процесса (роста, набора живой массы, потребления корма и т.д.). Эти точки называют окончательно избираемыми температурами (ОИТ) или температурными преферендумами (Голованов, 2013а), и они специфичны для разных видов рыб (Голованов, 2013б). При этом границы толерантности определяют согласно

прекращению (остановке) какого-либо из процессов под действием критических температур. Так, наиболее информативный показатель толерантности у рыб — их выживаемость (или смертность). Соответственно, по достижению 100% смертности можно сделать вывод об определении верхней/нижней границ температурной толерантности организма. Субоптимальная зона (зона пессимума) — это приграничный к критическим показателям диапазон температур, в которых происходит угнетение процессов жизнедеятельности, не приводящее к летальному исходу.

При изучении термальных диапазонов жизнедеятельности необходимо учитывать то, что на каждом этапе индивидуального развития у рыб формируются отдельные физиологические нормы, в том числе наблюдается различная чувствительность к абиотическим факторам среды, среди которых определяющую роль играет температура. В настоящем обзоре обобщены экспериментальные данные по определению оптимума, окончательно избираемой температуры, нижней и верхней границ толерантности для икры, личинок, молоди и взрослых особей *C. gariepinus*, а также по воздействию температуры на кормовое поведение, размножение и распространение африканского клариевого сома.

АДАПТАЦИОННАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ АФРИКАНСКОГО СОМА

Вследствие ограниченного успеха широкомасштабного разведения тиляпии *Oreochromis niloticus* (L.) в Африке в конце 1950-х — начале 1960-х гг. (Haylor, 1989) учеными и рыбоводами были организованы совместные работы по поиску альтернативного вида рыб, пригодного для индустриального разведения. Им стал африканский клариевый сом, который обитает во внутренних водоемах большей части Африки. Выбор *C. gariepinus* в качестве перспективного объекта товарного рыбоводства обусловлен его высокой толерантностью к окружающей среде и возможностью контролируемого размножения (De Kimpe, Micha, 1974; Viveen et al., 1985; Bovendeur et al., 1987). Первые успешные опыты полуискусственного и искусственного разведения африканского клариевого сома в прудах и бассейнах проведены в Центральноафриканской Республике, Кот-д'Ивуаре, некоторых странах Южной Африки и Нигерии в конце 1970-х — начале 1980-х гг. (Hogendoorn, 1979, 1980, 1981; De Graaf, Janssen, 1996). В этот период установлены оптимальные термальные диапазоны содержания африканского сома — 25–30°C (Hogendoorn et al., 1983), что сделало

возможным его успешное круглогодичное выращивание в естественной среде во всех странах экваториального, субэкваториального и тропического поясов.

На сегодня африканский клариевый сом — основной культивируемый вид рыб на африканском континенте, где в коммерческих целях его выращивают в 15 странах. Помимо Африки, *C. gariepinus* является эндемиком в странах Ближнего Востока и Малой Азии, в частности в Израиле, Сирии, Турции. Примечательно, что в отличие от других представителей семейства Clariidae, *C. gariepinus* за счет высокой плодовитости, быстрого роста, широких предпочтений в среде обитания и питания, а также толерантности к неблагоприятным гидрохимическим условиям считается агрессивным инвазивным видом (Bruton, 1996). Именно из-за этих его особенностей в Индии в свое время ввели запрет на интродукцию и товарное разведение *C. gariepinus* (Dhawan, Kaur, 2010). В Южной и Юго-Восточной Азии разводят в аквакультуре другие виды сомов: *Clarias macrocephalus*, *Clarias batrachus* и *Pangassius sutshi*. Незаконный ввоз *C. gariepinus* в страны этих регионов чреват потенциальными экологическими проблемами — потерей биоразнообразия в естественных внутренних водах или существенным снижением численности популяций отдельных видов, как это произошло в Бангладеш с *C. batrachus* (Islam et al., 2007). Помимо этого, в Таиланде зарегистрирована спонтанная генетическая интрагрессивная гибридизация аборигенного дикого сома *C. macrocephalus* с *C. gariepinus*, попавшим в естественные пруды с рыбоводческих ферм (Senanan et al., 2004). И все же в начале 1980-х гг. *C. gariepinus* был завезен в Юго-Восточную Азию. С тех пор его аквакультура быстро распространилась, однако на тот период внедрение африканского клариевого сома не увенчалось успехом, поскольку были упущены из виду некоторые социально-экономические факторы. Например, во Вьетнаме потребители отказывались покупать *C. gariepinus* из-за его непривычного вкуса и большого размера головы, которую невозможно употреблять в пищу (Nguyen et al., 2021).

Если говорить о Европейском континенте, то сюда, а именно в Нидерланды, *C. gariepinus* впервые завезен в 1977 г. для исследовательских целей. Результаты испытаний показали, что массовое разведение африканского сома приносит прибыль при выращивании его в установках замкнутого водоснабжения (УЗВ). Благодаря этому в Голландии открыто много рыбхозяйственных комплексов с УЗВ для

товарного производства африканского клариевого сома (Dijkema, 1995; Eding, Kamstra, 2002). Начиная с 1985 г., в связи с получением высокопродуктивного гибрида *C. gariepinus* и *Heterobranchus bidorsalis* гибридный рыбопосадочный материал из научно-исследовательских подразделений в Нидерландах передан в рыбоводческие хозяйства Бельгии, Германии, Чехии, Польши и Венгрии. Однако крупномасштабное разведение африканского клариевого сома и его гибрида с *H. bidorsalis* получило распространение только в Венгрии, где с 1990 г. для этих целей начали использовать проточные системы, снабжаемые геотермальной водой. В свою очередь в июне 1988 г. сотрудники Департамента рыболовства Таиланда провели искусственное скрещивание самки *C. macrocephalus* с самцом *C. gariepinus*. Полученный гибрид обладал повышенной скоростью роста, устойчивостью к болезням и вскоре заменил местные нативные виды клариевых сомов *C. macrocephalus* и *C. batrachus* на рыбных рынках Таиланда и Вьетнама (Tonguthai et al., 1993). Также были проведены успешные испытания по гибридизации *C. gariepinus* и *Heterobranchus fossilis* в Африке (Legendre et al., 1992).

По данным литературных источников, в Россию африканский клариевый сом завозился из Нидерландов дважды: в 1994 г. (Александрова, 2014) и 1996 г. (Власов, 2012). Предполагаемый путь интродукции *C. gariepinus* в рыбоводческие хозяйства России представлен на рис. 1.

В дальнейшем благодаря успешным рыбоводческим мероприятиям для стран с умеренным климатом были разработаны методы выращивания африканского сома с применением проточной и геотермальной систем, а также повторного использования воды. Эти методы разведения африканского сома получили особенно широкое распространение в Восточной Европе. Например, рыба содержится в прудах или в специальных резервуарах, изготовленных из бетона или пластика. Для питания резервуаров используется вода температурой 23–35°C. Интенсивное выращивание африканского сома также практикуется в небольших земляных прудах, где сомы весом 500–800 г, выпущенные в июне при плотности 1–1.5 особей/м³, могут достичь живой массы 1.5–2.0 кг за 3–3.5 мес. В таких прудах рыбопродуктивность составляет до 30 т/га.

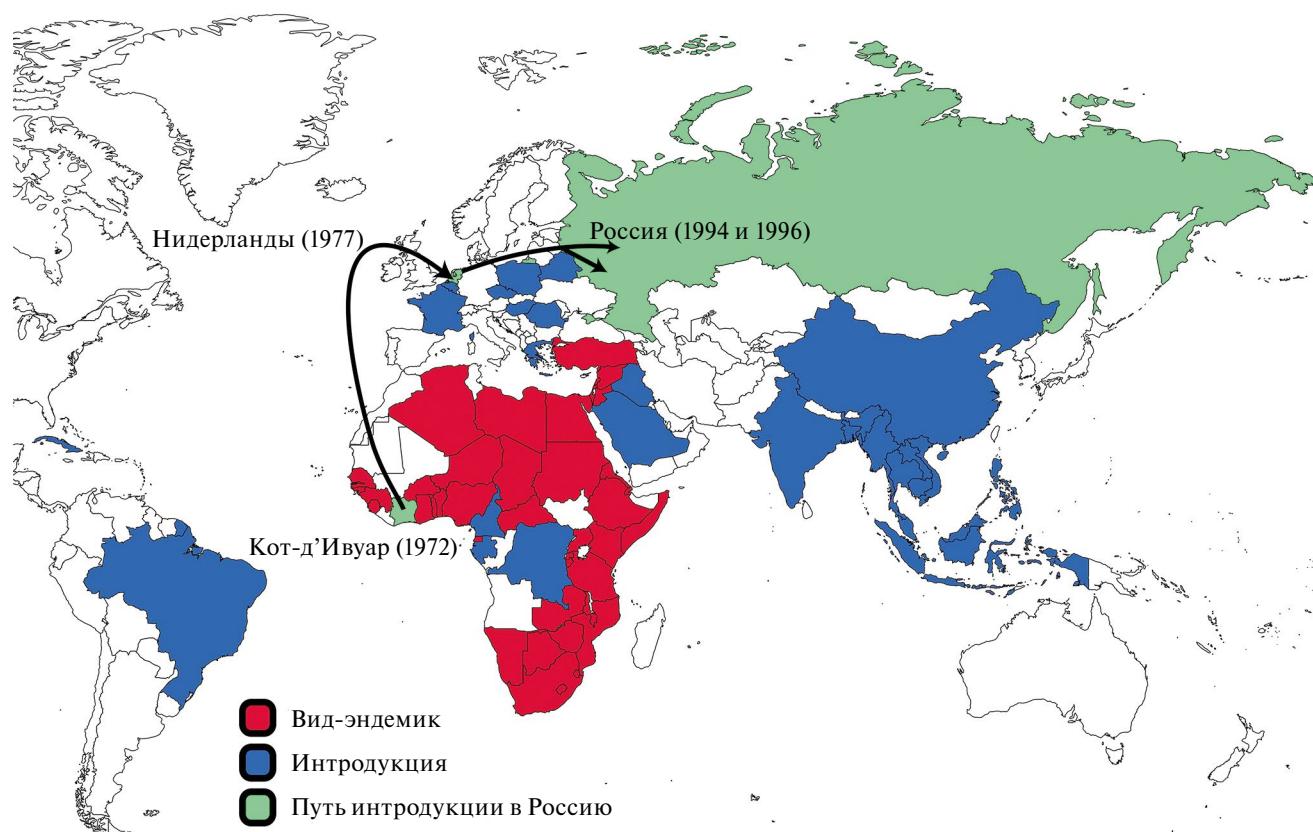


Рис. 1. Предполагаемый путь интродукции африканского сома в Россию.

Так, пастьбщная аквакультура африканского клариевого сома в последние десятилетия демонстрирует успешные результаты на юге России, в V и VI рыбоводных зонах (рис. 2) (Климук и др., 2024а). Африканских клариевых сомов массой 200–300 г зарыбляют в обширные карповые пруды при низкой плотности посадки (100–300 особей/га), затем в течение 3–3.5 мес. их содержат без дополнительного кормления. Потребляя в этих условиях только естественные кормовые организмы — зоопланктон, насекомых, головастиков, лягушек и некоторых диких рыб, разводимые сомы к окончанию сезона выращивания могут достигать живой массы 1.5–2 кг. Вылов товарной рыбы производится, когда температура воды снижается до 20–16°C.

Также при культивировании африканского клариевого сома в России распространение получили УЗВ, применяемые в основном в регионах с холодным климатом, начиная с IV рыбоводной зоны: Белгородская, Воронежская, Саратовская и Оренбургская обл. (рис. 2).

В южных регионах РФ (VI рыбоводная зона — Астраханская обл. и Краснодарский край) *C. gariepinus* успешно выращивается в прудовых и садковых хозяйствах при средних температурных режимах 25–28.7°C за нагульный период (Денисенко, 2013; Булавин и др., 2021).

Таким образом, благодаря развитию рыбохозяйственной практики искусственного выра-

щивания, африканский клариевый сом имеет широкий ареал разведения, а за счет высокой приспособленности товарная аквакультура *C. gariepinus* считается одним из популярных и выгодных направлений для бизнеса.

ГРАНИЦЫ ТЕРМАЛЬНОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ *C. gariepinus*

Термальные диапазоны для икры

Эмбриональное развитие — критический этап в жизненном цикле рыб, что обусловлено высокой чувствительностью икры к внешним условиям окружающей среды, которая проявляется в высокой смертности эмбрионов на ранних стадиях онтогенеза. Изучены и описаны (Olaniyi, Omitogun, 2014) ранние, постэмбриональные и личиночные стадии развития *C. gariepinus*. Развитие икры в этом эксперименте наблюдали при температуре воды $28.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$, выживаемость составила 85% за 17 ч после оплодотворения икры, что позволило принять соответствующую температуру за физиологический оптимум для икры данного вида (табл. 1).

Исследовано влияние (Haylor, Mollah, 1995) константных температурных режимов (15, 20, 25, 30 и 35°C) на эмбриогенез *C. gariepinus*. Икру от оплодотворения до вылупления содержали в постоянных термальных режимах. Выявлено, что скорость вылупления личинок значительно

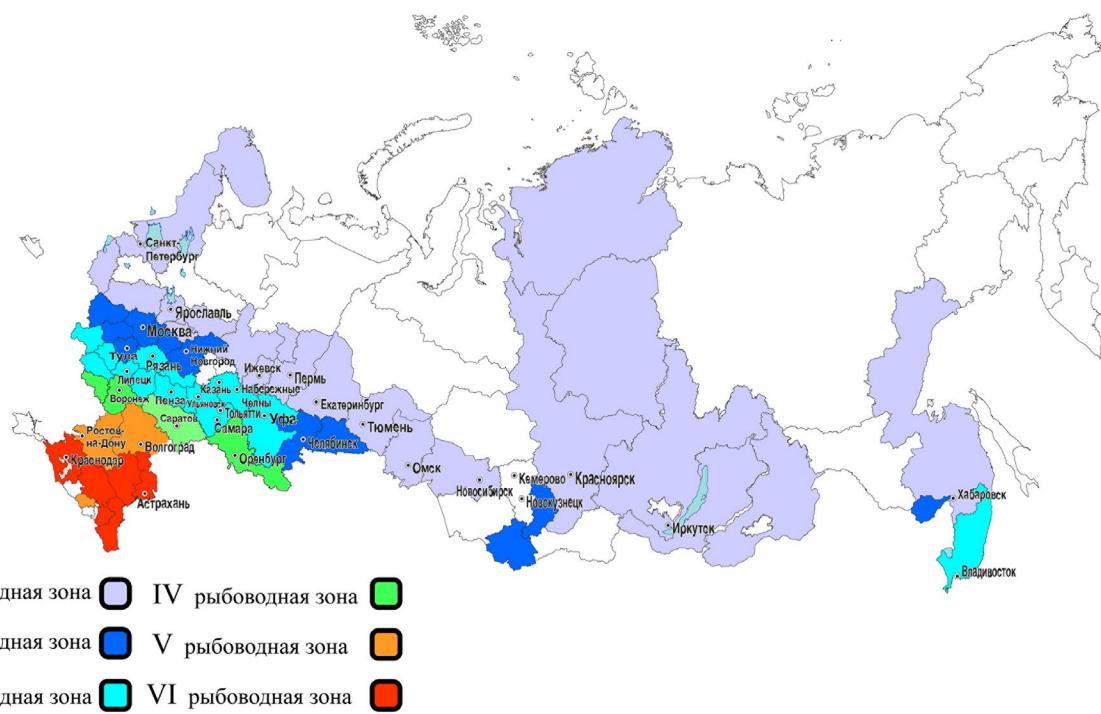


Рис. 2. Рыбоводные зоны России (по: Привезенцев, 2000).

Таблица 1. Температурные показатели и выживаемость икры *C. gariepinus*

Объект исследования	Термальный оптимум, °C	V, %	ОИТ, °C	V, %	Порог жизнедеятельности, °C		T, ч	Источник
					max	min		
Икра <i>C. gariepinus</i>	—	—	28.5	85	—	—	17	Olaniyi, Omitogun, 2014
	20–35	—	30	—	—	15	62	Haylor, Mollah, 1995
	22.9–30.3	25–94	24.1	94	33.7	17.4	50	Prokešová et al., 2015

Примечание: ОИТ — окончательно избираемые температуры, V — выживаемость, T — продолжительность эксперимента. Здесь и в табл. 3 и 4.

увеличивается при 30°C, что свидетельствует об определении ОИТ для икры, а нижняя граница жизнедеятельности — 15°C.

Изучено воздействие 33 температур в диапазоне 17.4–35.6°C на ранние этапы развития африканских клариевых сомов. Показано, что онтогенез зародышей останавливается при температуре 17.4°C, что по результатам сопоставимо с работой (Haylor, Mollah, 1995). Также подтверждена строгая зависимость между ключевыми показателями выращивания (выживаемость, скорость вылупления, размер личинок) и температурой водной среды.

В целом, согласно полученным данным (Prokešová et al., 2015), пессимальная зона для икры лежит в диапазоне 18.9–33.7°C при термальном оптимуме от 22.9 до 30.3°C, что характерно для теплолюбивых видов рыб. Ориентируясь на результаты экспериментов, можно предположить, что верхний порог жизнедеятельности, т.е. летальная температура, — выше 35°C, а нижний — менее 17°C.

Схематичное представление полученных из литературных источников данных о температурных диапазонах для икры представлено на рис. 3.

Таким образом, икру *C. gariepinus* можно успешно культивировать при термальном режиме 23–30.3°C с вероятностью вылупления, согласно нашим экспериментальным данным, до 85%, что соответствует зоне оптимума. Диапазоны температур 17–23°C и 30.3–35°C являются субоптимальными зонами, с вероятностью вылупления личинок до 60%, с учетом снижения процента выживаемости в зависимости от длительности нахождения икры в неблагоприятных термальных условиях.

Термальные диапазоны для личинок

Переход от эндогенного (желточное) к экзогенному (внешнее) питанию личинок объясняет

их высокую чувствительность к внешним абиотическим условиям вследствие критической перестройки физиологических механизмов в организме (Озернюк, 2011). Как и на этапе эмбриогенеза, температурный фактор также оказывает на личинок рыб сильное воздействие, что сопровождается ответной реакцией в виде колебаний показателя выживаемости, большой вариабельностью в скорости развития и различной скоростью перехода от внутреннего к внешнему питанию.

По аналогии с икрой выживаемость личинок африканских клариевых сомов изучена в эксперименте (Prokešová et al., 2015) в термальном диапазоне 17.4–35.6°C. Оптимальный диапазон для выращивания личинок сомов оказался абсолютно идентичен термальному оптимуму для икры (табл. 2). Однако ОИТ личинок отличалась и составила 25.2°C (выживаемость — 57%) и 30.2°C (выживаемость — 52%). Интервал между нижним и верхним порогами температур-

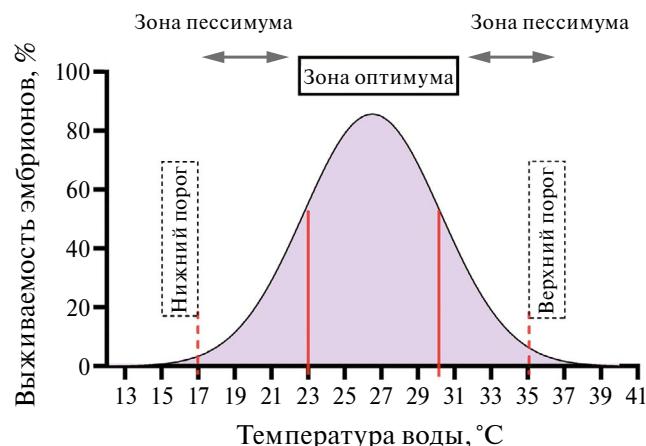


Рис. 3. Оптимальный и пессимальный термальные диапазоны для икры *C. gariepinus* (Haylor, Mollah, 1995; Olaniyi, Omitogun, 2014; Prokešová et al., 2015).

Таблица 2. Температурные показатели и выживаемость личинок *C. gariepinus*

Объект исследования	Термальный оптимум, °C	V, %	ОИТ, °C	V, %	Порог жизнедеятельности, °C		T, ч	Источник
					max	min		
Личинки <i>C. gariepinus</i>	22.9–30.3	34–57	25.2	57	33.2	20.6	50	Prokešová et al., 2015
	—	—	25	—	—	—	—	Hoffman et al., 1991

ной чувствительности для личинок *C. gariepinus* меньше, по сравнению с икрой, — от 20.6 до 33.2°C.

Также изучалось (Hoffman et al., 1991) воздействие только пониженных температур на пятисуточных африканских клариевых сомов. Показано, что адаптация играет важную роль в повышении сопротивляемости личинок рыб к нехарактерным термальным режимам. Так, при скорости снижения температуры с 25 до 5°C, равной 1.67°C/ч, нижняя граница жизнедеятельности — 5°C, при которой начинает происходить массовая гибель личинок. А при понижении температуры с 25 до 10°C со скоростью 1°C/ч, личинки способны выживать при 10°C, но не более 4 сут.

Таким образом, термальный оптимум для выращивания личинок *C. gariepinus* с учетом их адаптационных возможностей — 23–30°C при выживаемости личинок до 60%, с субоптимальными зонами 19–23°C и 30–33.2°C (выживаемость менее 30%), а интервал между летальными температурами — от 33.2 до 19°C (рис. 4).

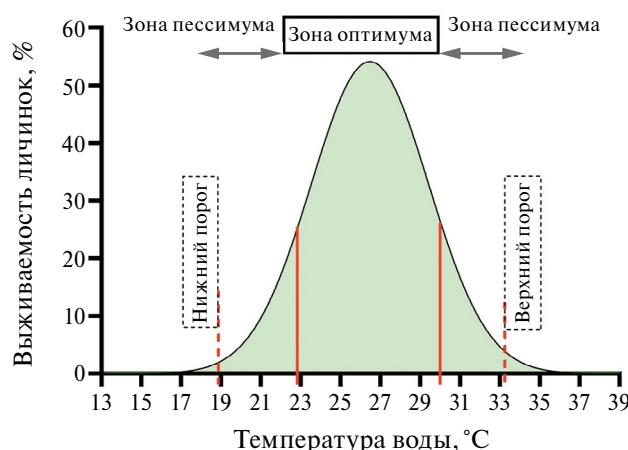


Рис. 4. Оптимальный и пессимальный термальные диапазоны для личинок *C. gariepinus* (Hoffman et al., 1991; Prokešová et al., 2015).

Как и в случае инкубации икры, при содержании личинок в диапазонах неблагоприятных температур необходимо учитывать время воздействия и скорость снижения/повышения температуры. Как показано выше, при постепенном снижении температуры наблюдается эффект акклиматации личинок, сопровождающийся повышением их сопротивляемости в сублетальных температурах, что может быть полезно при их транспортировке и/или пересадке.

Термальные диапазоны для молоди

Анализ экологических критерииев выращивания молоди (зоны оптимума, субоптимальные зоны и критические пороги жизнедеятельности) показывает, что по мере развития рыбы, ее резистентность к нехарактерным температурным диапазонам возрастает. Так, можно видеть, что у мальков африканского клариевого сома наблюдается сдвиг зон температурной толерантности в стороны повышенных и пониженных температур (табл. 3, рис. 5).

В сравнительном исследовании (Ogunji, Awoke, 2017) молодь африканских клариевых сомов содержали в лаборатории при температуре воды 26.53°C, в уличном садке — при 26.06°C и в теплице — при 31.52°C. Для сеголеток *C. gariepinus* ОИТ составила 26°C, что сопровождалось увеличением скорости их роста. При повышении температуры воды до 40°C в условиях теплицы сеголетки не выживали.

В 75-суточном опыте (Любомирова и др., 2019) ОИТ для сеголеток зафиксирована на уровне 28°C, что также определялось максимальным среднесуточным приростом рыб, по сравнению с термальными режимами 22 и 32°C.

Выживаемость сеголеток в индустриальной садковой аквакультуре исследована (Денисенко, 2013) в условиях русловых водоемов. В 97-суточном опыте молодь африканского клариевого сома выращивали при среднемесячных температурах воды в летне-осенний сезон при 21, 25 и 17°C. По окончанию нагульного периода вы-

Таблица 3. Температурные показатели и выживаемость молоди *C. gariepinus*

Объект исследования	Термальный оптимум, °C	V, %	ОИТ, °C	V, %	Порог жизнедеятельности, °C		T, сут	Источник
					max	min		
Молодь <i>C. gariepinus</i>	26.06–31.52	—	26	—	40.0	—	56	Ogunji, Awoke, 2017
	22–32	—	28	—	—	12	75	Любомирова и др., 2019
	17–25	87–97	—	—	—	14	97	Денисенко, 2013
	—	—	25	96.8	—	—	11	Hoffman et al., 1991

живаемость рыб при облове составила 87–97%. Завершение культивирования сома прекратили при достижении температуры воды 14°C.

Исследовано воздействие пониженных температур на сеголеток (Hoffman et al., 1991) на 21-суточных *C. gariepinus*. При этом ОИТ 25°C характеризовалась выживаемостью особей 96.8%. В условиях постепенного снижения температуры с 25 до 15°C (скорость – 0.21°C/ч) выживаемость молоди составила 98.2% за 11 сут. По достижении 10°C с той же скоростью снижения выживаемость молоди на 10-е сут составила 14.3%, а на 11-е сут все сеголетки погибли, т.е. нижняя граница толерантности при адаптации составила 10°C. Соответствующее расширение границ толерантности молоди африканских клариевых сомов, по сравнению с ранними стадиями развития (икра, личинка), схематично представлено на рис. 5.

Как видно на графике, у молоди *C. gariepinus* зоны термальной толерантности расширяются.

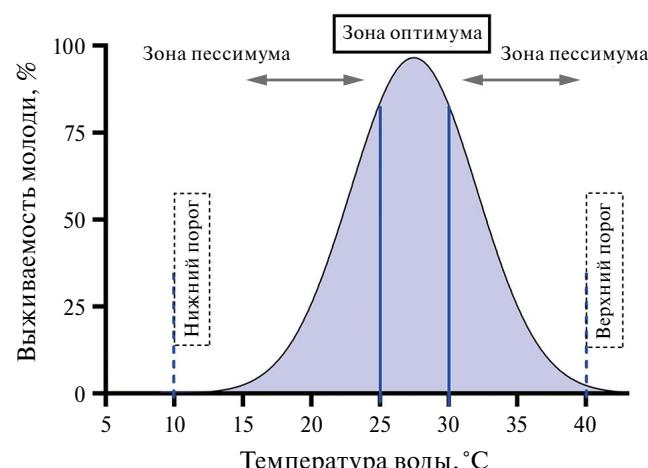


Рис. 5. Оптимальный и пессимальный термальные диапазоны у молоди *C. gariepinus* (Денисенко, 2013; Любомирова и др., 2019; Hoffman et al., 1991; Ogunji, Awoke, 2017).

При этом оптимальный диапазон для выращивания молоди несколько сужается — 25–30°C, по сравнению с температурными требованиями для икры и личинок. Однако с расширением адаптационных возможностей нижняя субоптимальная зона становится шире и находится в границах 10–25°C, а верхняя — в диапазоне 30–40°C. Летальные температуры: до 10 и выше 40°C.

РОЛЬ ТЕМПЕРАТУРЫ В РАЗМОЖЕНИИ *C. gariepinus*

Естественное воспроизводство африканских клариевых сомов осуществляется под воздействием ряда абиотических факторов: температуры водной среды, фотопериода, уровня воды в местах нерестилища (Mylonas et al., 2010). При этом термальным регуляциям подвержены в первую очередь самки, развитие ооцитов у которых начинает замедляться, как только температура опускается ниже 22°C. В отличие от овогенеза самок сперматогенез самцов не зависит от температурных условий, и семенники полностью развиваются в возрасте от 8 до 12 мес., когда рыбы достигают живой массы примерно 200 г. Соответственно, наиважнейший физиологический критерий при содержании половозрелых африканских клариевых сомов в индустриальных хозяйствах — развитие гонад. Установлено, что оптимальная температура для содержания маточного стада — 25–27°C.

С учетом трудностей в моделировании естественных условий для нереста сомов в индустриальной аквакультуре субтропических и умеренных зон, а также в рыбопитомниках и на фермах УЗВ традиционно применяют препараты, стимулирующие овогенез и сперматогенез. Например, для индуцирования созревания икры у самок африканского сома чаще всего используют инъекции половых гормонов или гипофиза (El-Hawary et al., 2016).

При этом для развития гонад у самок необходима температура не менее 22–24°C (De Graaf, Janssen, 1996), и, чем ниже температура воды, тем более продолжителен временной промежуток от начала овогенеза до окончательного созревания и метания икры. Для получения половых продуктов у самцов за 5 ч до проведения гипофизарных инъекций температуру воды повышают с 25 до 28°C и в дальнейшем содержат производителей при 28°C и выше (Tkacheva et al., 2020). Процессы развития оплодотворенной икры также демонстрируют термальную зависимость (рис. 6).

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПИТАНИЕ И КОРМОВОЕ ПОВЕДЕНИЕ *C. gariepinus*

Температура водной среды имеет решающее значение для обеспечения адекватной метаболической активности рыб. Главным физиологическим критерием при индустриальном выращивании рыб считается потребление ими корма, от которого зависит как здоровье гидробионтов, так и выход конечной товарной продукции (Климук и др., 2024б).

В среде естественного обитания рыб температура изменяется в зависимости от ряда внешних и прежде всего климатических факторов (Озернюк, 2011). Поэтому не удивительно, что колебания температуры при выращивании *C. gariepinus* оказывают различное влияние на потребление корма и ферментную активность поджелудочной железы молоди африканских клариевых сомов. На настоящий момент оптимальная температура для пищеварения молоди

C. gariepinus не установлена, но, согласно некоторым экспериментальным работам, в которых с помощью рентгеновской радиографии учитывалась скорость опорожнения желудка, выявлено, что температура водной среды оказывает непосредственное воздействие на эффективность переваривания корма и кормовое поведение рыб. Так, самое короткое время опорожнения (10 ч) наблюдали у особей, выращиваемых при 32°C, а самое продолжительное (16 ч) — при 26°C, также при повышении температуры с 26 до 32°C (1°C/сут) время переваривания корма у африканских клариевых сомов сокращалось с интервалом в 2 ч (табл. 4).

Напротив, при уменьшении температуры воды с 25 до 10°C со скоростью 2°C/сут кормовая активность у рыб понижалась на 46.67%, по сравнению с постоянным термальным режимом в контроле (25°C). При этом не было зарегистрировано каких-либо изменений при повышенных температурах содержания (30 и 35°C).

Активность пищеварительных ферментов в желудке молоди рыб также подвергалась значительным изменениям при воздействии повышенных и пониженных температур. Низкая активность протеазы, трипсина и липазы наблюдалась при 10°C, что, как известно, приводит к затруднению и многократному замедлению процессов гидролиза белков и расщепления жиров, в том числе за счет нарушения функции поджелудочной железы — гепатопанкреаса (German, Bittong, 2009). Оптимальной температурой для пищеварения можно считать 25°C для протеазы и трипсина и 30°C для липазы. Температура воды ниже 25°C вызывает термальную стресс-реакцию и отрицательно влияет на потребление корма и активность пищеварительных ферментов (Ahmad et al., 2014). Синтез печеночных ферментов аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) также подвержен изменениям в зависимости от температуры водной среды. Активность АСТ в крови достигает максимальных значений при 32°C, АЛТ — при 28°C, а наиболее благоприятной для работы этих ферментов оказалась температура 24°C (Al-Deghayem, Suliman, 2019).

Нормальное развитие молоди — залог успешного товарного производства рыбы (Климук и др., 2023). Линейный рост и набор живой массы рыб тесно связаны с температурным режимом. В ходе исследования по определению оптимальной температуры для молоди *C. gariepinus* установлено, что окончательно избираемой температурой для роста является 28°C. При этой температуре конечная биомасса

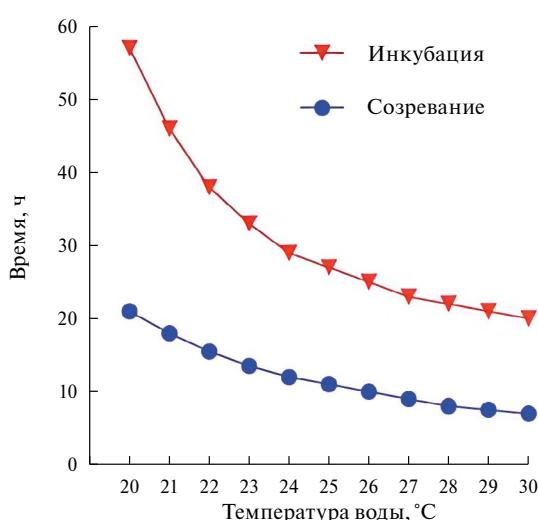


Рис. 6. Продолжительность созревания и инкубации икры *C. gariepinus* в зависимости от температуры водной среды.

Таблица 4. Влияние температурных показателей на кормовое поведение, ферментативную активность и скорость переваривания у *C. gariepinus*

Жизненная стадия <i>C. gariepinus</i>	Физиологический критерий	ОИТ, °C	Термальный режим, °C		T, сут	Источник
			max	min		
Молодь	Потребление корма	25	—	13	7	Ahmad et al., 2014
	Скорость переваривания корма	32	—	26	70	Kasihmuddin et al., 2021
	ФА протеазы	25	—	20	7	Ahmad et al., 2014
	ФА трипсина	25	35	20		
	ФА липазы	30	35	15		
	ФА печени (АСТ и АЛТ)	28	32	24	112	Al-Deghayem, Suliman, 2019
Взрослая особь	Потребление корма	28	—	17	—	Власов, 2012

Примечание: ФА — ферментативная активность, АСТ — аспартатаминотрасфераза, АЛТ — аланинаминотрансфераза.

особей и поедаемость кормов оказались максимальными при 75-суточном выращивании сомов (Денисенко, 2013).

Что касается взрослых половозрелых особей африканских клариевых сомов, считается, что температура 17–18°C оказывает отрицательное влияние на кормовую активность рыб, что выражается в их полном отказе от корма (Власов, 2012).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди множества абиотических факторов, тесно связанных с водной средой и гидробионтами, температура играет определяющую роль в цикле жизнедеятельности пойкилотермных организмов. Разнообразные физиологические процессы у рыб, а также индивидуальное развитие, размножение, кормовое поведение, распределение в пространстве напрямую зависят от температуры водной среды и времени ее воздействия, поэтому для поддержания оптимума роста на каждом из этапов развития рыб следует строго контролировать температуру воды, избегая термальных стресс-реакций. В первую очередь, это касается универсальных искусственных систем, применяемых для выращивания африканских клариевых сомов.

Подводя общий итог всему вышесказанному, можно отметить, что:

1. Благодаря высокой приспособляемости к различным условиям среды, быстрой скорости роста и неприхотливости в кормлении африканский клариевый сом является в настоящее время одним из популярных товарных аквакультурных видов рыб.

2. Выживаемость *C. gariepinus* на ранних этапах развития зависит от длительности нахождения икры, личинок и молоди в неблагоприятных термальных диапазонах. Термальные оптимумы *C. gariepinus* составляют для икры — 28–30°C, личинок — 23–31°C и молоди — 25–28°C.

3. Минимизация воздействия субоптимальных температур прямо пропорциональна проценту выживаемости африканских клариевых сомов на всех этапах развития. Величина, продолжительность и частота изменения температуры, а также начальная температура акклиматации особей влияют на степень последствий термального стресса у рыб.

4. Размножение женских особей *C. gariepinus* находится в зависимости от температуры воды, в частности, формирование и созревание гонад у самок наблюдается при 25–27°C. У самцов подобная зависимость выражена в меньшей степени.

5. Скорость пищеварения, синтез поджелудочных ферментов и кормовое поведение африканского клариевого сома демонстрируют термальную зависимость. Несмотря на то, что для каждой физиологической реакции существуют собственные термальные оптимумы, динамическое изменение температуры водной среды в пределах совокупного оптимума (25–30°C) оказывает благоприятное воздействие на каждый из этапов пищеварения африканского клариевого сома *C. gariepinus*.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования проводились с использованием информационных ресурсов уникальной науч-

ной установки (УНУ) НТИ РФ рег. № 3662433 “Научно-исследовательский комплекс передовых технологий аквакультуры и гидроэкологии” и “Экспериментальной лаборатории фитоэкологических аквабиотехнологий” факультета биотехнологий и рыбного хозяйства ФГБОУ ВО “МГУТУ им. К.Г. Разумовского (ПКУ)”.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета ФГБОУ ВО “МГУТУ им. К.Г. Разумовского”. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликтов интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Александрова У.С. Экспериментальные исследования по адаптации клариевого сома к изменениям температуры выращивания // Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России / Мат. междунар. науч. конф. (Ростов-на-Дону, 1–3 октября 2014 г.). РнД: ЮНЦ РАН, 2014. С. 155–157.

Булавин Е.Ф., Асылбекова С.Ж., Булавина Н.Б. Опыт выращивания клариевого сома (*Clarias gariepinus*) комбинированным методом в условиях Алматинской области // Каспий в цифровую эпоху / Мат. нац. науч.-практ. конф. с междунар. уч. в рамках Междунар. науч. форума “Каспий 2021: пути устойчивого развития” (Астрахань, 27 мая 2021 г.). Астрахань: Астраханский университет, 2021. С. 224–229.

Власов В.А. Воспроизводство и выращивание клариевого сома (*Clarias gariepinus*) в установках с замкнутым водообеспечением (УЗВ) // Рыбовод. рыб. хоз. 2012. Т. 7. С. 26.

Голованов В.К. Эколого-физиологические аспекты терморегуляционного поведения пресноводных рыб // Поведение и распределение рыб. Т. 2 / Докл. II Всерос. совещ. “Поведение рыб” (Борок, 1996 г.). Борок: ИБВВ, 1996. С. 16–40.

Голованов В.К. Температурные критерии жизнедеятельности пресноводных рыб. М.: Полиграф-Плюс, 2013а. 300 с.

Голованов В.К. Эколого-физиологические закономерности распределения и поведения пресноводных рыб в термоградиентных условиях // Вопр. ихтиол. 2013б. Т. 53 (3). С. 286–314.

Денисенко О.С. Первый опыт выращивания африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*) садковым способом в условиях русловых водоемов Краснодарского края // Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков / Мат. IV междунар. науч.-практ. конф. (Новосибирск, 20 декабря 2013 г.). Новосибирск: ЦРНС, 2013. С. 133–135.

Климук А.А., Калита Т.Л., Брежнев Л.Л. Действие водного экстракта *Laminariocolax aecidiooides* на биохимические показатели крови африканского клариевого сома *Clarias gariepinus* // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси. 2023. № 39. С. 418–433.

Климук А.А., Пономарев А.К., Калита Т.Л., Никифоров-Никишин А.Л. Опыт выращивания гибридов первого поколения африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*) при пониженных температурных режимах // Вестн. КГМТУ. 2024а. № 1. С. 20–28.

Климук А.А., Жандалгарова А.Д., Калита Т.Л. и др. Оценка токсичности водного экстракта буровой водоросли *Laminariocolax aecidiooides* с помощью lux-биосенсоров и микроядерного теста при его использовании в индустриальной аквакультуре // Вестн. АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2024б. № 1. С. 62–71.

Любомирова В.Н., Романова Е.М., Шадыева Л.А., Спиринова Е.В. Оптимизация температурного режима при выращивании клариевого сома в индустриальной аквакультуре // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. В 2 тт. Т. 1 / Мат. нац. науч.-практ. конф. (Ульяновск, 20–21 июня 2019 г.). Ульяновск: УлГАУ, 2019. С. 179–183.

Озернюк Н.Д. Адаптационные особенности энергетического метаболизма в онтогенезе рыб // Онтогенез. 2011. Т. 42 (3). С. 235–240.

Привезенцев Ю.А. Выращивание рыб в малых водоемах. М.: Колос, 2000. С. 5–62.

Adewolu M.A., Ogunsanmi A.O., Yunusa A. Studies on growth performance and feed utilization of two clariid catfish and their hybrid reared under different culture systems // Eur. J. Sci. Res. 2008. V. 23 (2). P. 252–260.

Ahmad T., Singh S.P., Khangembam B.K. et al. Food consumption and digestive enzyme activity of *Clarias batrachus* exposed to various temperatures // Aqua. Nutr. 2014. V. 20 (3). P. 265–272.

Al-Deghayem W.A., Suliman E.A. The effects of diet and temperature on enzymes, hormones, and fecundity of the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) // J. Appl. Biol. Biotechnol. 2019. V. 7 (2). P. 71–77.

Bovendeur J., Eding E.H., Henken A.M. Design and performance of water recirculation system for

- high-density culture of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) // Aquaculture. 1987. V. 63 (1–4). P. 329–353.
- Bruton M.N.* Alternative life-history strategies of catfishes // *Aqua. Liv. Res.* 1996. V. 9. P. 35–41.
- De Graaf G., Janssen H.* Artificial reproduction and pond rearing of the African catfish *Clarias gariepinus* in Sub-Saharan Africa. Roma: FAO, 1996. 73 p.
- De Kimpe P., Micha J.C.* First guideline for culture of *Clarias lazera* in Central Africa // *Aquaculture*. 1974. V. 4 (3). P. 227–248.
- Dhawan A., Kaur V.I.* Effect of feeding rate and feeding frequency on the growth performance of Indian Magur, *Clarias batrachus* // *Ind. J. Animal Nutr.* 2010. V. 27 (2). P. 182–186.
- Dijkema R.* Aquaculture in the Netherlands: an overview. RIVO report 95.013. Yerseke: NIFR, 1995. 17 p.
- Eding E., Kamstra A.* Netherlands farms tune recirculation systems to production of varied species // *Glob. Aqua. Advocate*. 2002. V. 5 (3). P. 52–55.
- El-Hawarry W.N., El-Rahman S.H., Shourbela R.M.* Breeding response and larval quality of African catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) using different hormones/hormonal analogues with dopamine antagonist // *Egypt. J. Aqua. Res.* 2016. V. 42 (2). P. 231–239.
- German D.P., Bittong R.A.* Digestive enzyme activities and gastrointestinal fermentation in wood-eating catfishes // *J. Comp. Physiol. B*. 2009. V. 179. P. 1025–1042.
- Haylor G.S.* The case for the African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell, 1822, Clariidae: a comparison of the relative merits of Tilapiine fishes, especially *Oreochromis niloticus* (L.) and *C. gariepinus* Burchell, for African aquaculture // *Aqua. Fish. Man.* V. 20. P. 279–285.
- Haylor G.S., Mollah M.F.A.* Controlled hatchery production of African catfish, *Clarias gariepinus*: the influence of temperature on early development // *Aqua. Liv. Res.* 1995. V. 8 (4). P. 431–438.
- Hoffman L.C., Prinsloo J.F., Pretorius D.M., Theron J.* Observations on the effects of decreasing water temperatures on survival of *Clarias gariepinus* juveniles // *South Afr. J. Wildl. Res.* 1991. V. 21 (2). P. 54–58.
- Hogendoorn H.* Controlled propagation of the African catfish *Clarias lazera* (C&V). I. Reproductive biology and field experiments // *Aquaculture*. 1979. V. 17. P. 323–333.
- Hogendoorn H.* Controlled propagation of the African catfish *Clarias lazera* (C&V). III. Feeding and growth of fry // *Aquaculture*. 1980. V. 21 (3). P. 233–241.
- Hogendoorn H.* Controlled propagation of the African catfish *Clarias lazera* (C&V). IV. Effect of feeding regime in fingerling culture // *Aquaculture*. 1981. V. 24. P. 123–131.
- Hogendoorn H., Jansen J.A.J., Koops W.J. et al.* Growth and production of African catfish *Clarias lazera* (C&V) II. Effect of body weight, temperature and feeding level in intensive tank culture // *Aquaculture*. 1983. V. 34. P. 265–285.
- Islam M.N., Islam M.S., Alam M.S.* Genetic structure of different populations of walking catfish (*Clarias batrachus* L.) in Bangladesh // *Biochem. Genet.* 2007. V. 45. P. 647–662.
- Kasihmuddin S.M., Ghaffar M.A., Das S.K.* Rising temperature effects on growth and gastric emptying time of freshwater African catfish (*Clarias gariepinus*) fingerlings // *Animals*. 2021. V. 11 (12). P. 3497.
- Legendre M., Teugels G.G., Cauty C., Jalabert B.* A comparative study on morphology, growth rate and reproduction of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), *Heterobranchus longifilis* Valenciennes, 1840, and their reciprocal hybrids (Pisces, Clariidae) // *J. Fish Biol.* 1992. V. 40 (1). P. 59–79.
- Mylonas C.C., Fostier A., Zanuy S.* Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2010. V. 165 (3). P. 516–534.
- Nguyen D.H.M., Panthum T., Ponjarat J. et al.* An investigation of ZZ/ZW and XX/XY sex determination systems in North African catfish (*Clarias gariepinus*) // *Front. Genet.* 2021. V. 11. P. 562856.
- Ogunji J.O., Awoke J.* Effect of environmental regulated water temperature variations on survival, growth performance and haematology of African catfish, *Clarias gariepinus* // *Our Nature*. 2017. V. 15. P. 26.
- Olaniyi W.A., Omitogun O.G.* Stages in the early and larval development of the African catfish *Clarias gariepinus* (Teleostei, Clariidae) // *Zygote*. 2014. V. 22 (3). P. 314–330.
- Prokešová M., Drozd B., Kouril J. et al.* Effect of water temperature on early life history of African sharp-tooth catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) // *J. Appl. Ichthyol.* 2015. V. 31. P. 18–29.
- Seebens H., Blackburn T., Dyer E. et al.* No saturation in the accumulation of alien species worldwide // *Nat. Commun.* 2017. V. 8 (1). P. 14435.
- Senanan W., Kapuscinski A.R., Na-Nakorn U., Miller L.M.* Genetic impacts of hybrid catfish farming (*Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*) on native catfish populations in central Thailand // *Aquaculture*. 2004. V. 235 (1–4). P. 167–184.
- Tkacheva I., Kuzov A., Polienko S., Polyakov V.* Intravital method for the obtaining genital products from the male African catfish // *E3S Web of Conferences*. 2020. V. 210. P. 07011.
- Tonguthai K., Chinabut S., Limsuwan C. et al.* Handbook of hybrid catfish: husbandry and health. Jatujak: Aquatic Animal Health Research Institute, Department of fisheries, 1993. P. 70.
- Viveen W.J.A.R., Richter C.J.J., van Oordt P.G.W.J. et al.* Practical manual for the culture of the African catfish (*Clarias gariepinus*) // *Food Nutr. Sci.* 1985. V. 2 (1). P. 121.

Physiological and Ecological Features of Cultivation African Catfish *Clarias gariepinus*

© 2024 г. A. A. Klimuk^{a,*}, S. V. Beketov^a, T. L. Kalita^a

^aRazumovsky Moscow State University of Technologies and Management (First Cossack University), Moscow, Russia

*e-mail: ord@mgutm.ru

The article considers physiological and ecological features of cultivation of African catfish *Clarias gariepinus*, in particular the effect of water temperature on the stages of ontogenesis (egg, larvae, juveniles) and on obtaining commercial fish. Additionally, experimental data on determining the modern habitat of *C. gariepinus*, its feeding behavior and some physiological reactions of the gastrointestinal tract are summarized. It is shown that the optimal thermal range for cultivating *C. gariepinus* is 25–32°C. At the early stages of development (egg, larvae), the clariid catfish is most sensitive to temperature, and starting from the juvenile stage, it adapts better to unfavorable temperature conditions. In addition, the nature of the diet and the activity of pancreatic enzymes of the African clariid catfish are also closely related to the temperature of the aquatic environment. In conclusion, practical recommendations for industrial cultivation of *Clarias gariepinus* in recirculating aquaculture systems are given.

Keywords: African catfish, temperature regime, development, reproduction, diet, temperature optimum