



СЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ



Журнал публикует оригинальные статьи, обзоры, краткие сообщения и хронику по всем вопросам физиологии, морфологии, биофизики, психофизики сенсорных систем, сенсорной биологии, технических сенсорных систем и биосенсоров



СОДЕРЖАНИЕ

Том 38, Номер 1, 2024

Обзор

Проблемы диагностики дисфункций обонятельного анализатора лабораторных животных на основе поведенческих и электрофизиологических методов исследования

А. В. Горская, Д. С. Васильев

3

Зрительная система

Изменения в зрительных зонах коры головного мозга у детей при левосторонней анизометропической амблиопии по данным структурной МРТ и функциональной МРТ покоя

В. В. Горев, А. В. Горбунов, Я. Р. Паникратова, А. С. Томышев, И. Е. Хаценко, Н. Н. Кулешов, Ж. М. Салмаси, К. А. Хасанова, Л. М. Балашова, Е. И. Лобанова, И. С. Лебедева

30

В поисках молекулярных механизмов адаптационной памяти палочек: базовая активность фосфодиэстеразы

Д. А. Николаева, М. Л. Фирсов, Л. А. Астахова

45

Неинвазивная регистрация электроретинограммы от обоих сложных глаз у таракана *Periplaneta americana* L. в ответ на световые стимулы

Е. С. Новикова, М. Л. Астахова, А. Ю. Ротов, М. И. Жуковская

52

Сенсорные особенности операторов в задачах управления эргатическими системами при отсутствии зрительной обратной связи

Я. А. Туровский, В. Ю. Алексеев, Р. А. Токарев

66

Слуховая система

Различение гребенчатых спектров с разной шириной гребней в норме и при тугоухости

Д. И. Нечаев, О. Н. Милехина, М. С. Томозова, А. Я. Супин

79

CONTENTS

Vol. 38, No. 1, 2024

Review

- Problems of diagnostics of dysfunctions of the olfactory analyzer of laboratory animals on the basis of behavioral and electrophysiological methods of research
A. V. Gorskaya, D. S. Vasilev 3

Visual system

- Changes in the visual areas of the cerebral cortex in children with left-sided anisometropic amblyopia according to structural MRI and resting-state fMRI
V. V. Gorev, A. V. Gorbunov, Ya. R. Panikratova, A. S. Tomyshev, I. E. Hatsenko, N. N. Kuleshov, J. M. Salmasi, K. A. Hasanova, L. M. Balashova, E. I. Lobanova, I. S. Lebedeva 30
- In search of the molecular mechanisms of adaptation memory in rods: basic activity of phosphodiesterase
D. A. Nikolaeva, M. L. Firsov, L. A. Astakhova 45
- Non-invasive recording of electroretinogram from both compound eyes in the cockroach *Periplaneta americana* L. in response to light stimuli
E. S. Novikova, L. A. Astakhova, A. Yu. Rotov, M. I. Zhukovskaya 52
- Individual and typological features of motor memory in problems of control of ergacy systems in the absence of visual feedback
Ya. A. Turovky, V. Yu. Alekseev, R. A. Tokarev 66

Auditory system

- Discrimination of rippled spectra with various ripple widths in listeners with normal and impaired hearing
D. I. Nechaev, O. N. Milekhina, M. S. Tomozova, A. Ya. Supin 79
-
-

ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ ДИСФУНКЦИЙ ОБОНЯТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ НА ОСНОВЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ И ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

© 2024 г. А. В. Горская¹, Д. С. Васильев^{1,*}

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова РАН 194223, Санкт-Петербург, ул. Тореза 44, Россия

*E-mail: dvasilyev@bk.ru

Поступила в редакцию 24.11.2023 г.

После доработки 15.12.2023 г.

Принята к публикации 22.12.2023 г.

Нарушение обоняния (снижение остроты, нарушение адекватной идентификации запахов) снижает качество жизни пациентов и может быть симптомом широкого спектра патологий организма, в частности нейродегенеративных процессов в отделах головного мозга. Количественное измерение остроты обоняния необходимо для диагностики обонятельных дисфункций, отслеживания динамики обоняния после лечения или хирургического вмешательства.

Особенно актуальной в настоящий момент видится проблема поиска оптимальных методов анализа обонятельных порогов на животных моделях заболеваний человека, сопровождающихся anosmией, и сопоставление их с таковыми. Это необходимо для подбора валидной животной модели с целью разработки новых лекарственных средств и методов терапии широкого спектра патологий.

В обзоре проведен анализ публикаций, посвященных исследованию заболеваний, сопровождающихся anosmией или гипосмией, их животным моделям, методам оценки обонятельной функции. Разобраны модели для коронавирусной инфекции COVID-19, болезней Альцгеймера, Паркинсона, диабета 1 и 2 типов, синдрома Кальмана и Синдрома Барде–Бидля, для которых отмечены нарушения обонятельной функции и/или дефекты отделов обонятельной системы.

В обзоре отмечается недостаточность данных об измерении обонятельных порогов у модельных животных.

Ключевые слова: anosmia, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, диабет, COVID-19

DOI: 10.31857/S0235009224010017

ВЕДЕНИЕ

Обоняние — одна из пяти основных сенсорных способностей человека. Нарушение обонятельной функции может быть одним из ключевых признаков широкого спектра нарушений, включая как проблемы с носовой полостью и/или пазухами, так и опасные для здоровья патологии в отделах головного мозга.

Обонятельную дисфункцию рассматривают в качестве клинического признака многих нейродегенеративных расстройств, включая болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Гентингтона (БГ), болезнь Паркинсона (БП), боковой амиотрофический склероз и многое другое. В некоторых случаях она может служить доклиническим признаком развития нейродегенеративных заболеваний (Dutta

et al., 2023; Mathis et al., 2021; Murphy, 2019; Zou et al., 2016).

Количественное измерение обонятельной функции, в первую очередь остроты обоняния, необходимо для определения обоснованности жалоб пациента, характеристики течения заболевания, отслеживания динамики остроты обоняния после фармакологического, иммунологического лечения или хирургического вмешательства, выявления симуляции, постановки инвалидности и установления размера компенсации за нее (Doty, 2007). Без возможности такого измерения сложно оценить эффективность назначаемых методов лечения в плане восстановления качества жизни пациента.

За несколько десятилетий разработаны методы количественного измерения порогов чувствительности обоняния у человека, основанные на вербальной обратной связи, среди которых наиболее

широко используемым является тест Sniffin' Sticks (Doorduijn et al., 2020; Hummel et al., 2023; Rasmussen et al., 2023; Zhao et al., 2020). В силу отсутствия такой обратной связи применение подобных тестов на животных встречается реже (Abrams et al., 2023), обычно используют поведенческие тесты с одорантами, которые обладают рядом существенных недостатков (Gheusi, 2008; Machado et al., 2018; Slotnick, Coppola, 2015), описанных далее.

Подбор оптимального метода измерения обонятельных порогов на животных моделях заболеваний, сопровождающихся снижением обонятельной функции, позволяет проводить корректное сопоставление этих моделей с нарушениями обоняния (аносмиями) у пациентов, и с целью разработки, и для оценки эффективности лекарственных средств и методов терапии широкого спектра патологий.

Цель данного обзора — выяснить, каким из наиболее распространенных заболеваний сопутствуют нарушения обоняния, существуют ли для этих заболеваний животные модели, характеризующиеся проявлением anosмии и проводилось ли для этих моделей измерение обонятельных порогов. В обзоре также проводится оценка достоинств и недостатков, существующих в текущий момент методологических подходов к оценке остроты обоняния, пригодных для применения на лабораторных животных (прежде всего грызунах — крысах и мышах).

1. ОБОНЯТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗАТОР У НАЗЕМНЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ

В обонятельном анализаторе большинства млекопитающих выделяют два основных отдела: основную обонятельную систему (main olfactory system) и добавочную обонятельную систему (accessory olfactory system). В первую систему входят чувствительные нейроны обонятельного эпителия. Они принимают сигналы запахов — одорантов и передают информацию в первичный обонятельный центр — основную обонятельную луковицу (МОВ — main olfactory bulb), откуда сигнал идет далее к вторичным сенсорным центрам первичной обонятельной коры. Во вторую систему входит сошниково-носовая (вомероназальный) орган и связанные с ним пути, проводящие стимулы в лежащие выше отделы обработки информации. Традиционно считалось, что сошниково-носовой орган добавочной обонятельной системы отвечает за восприятие феромонов. Эксперименты показали, что активность основной обонятельной системы необходима для некоторых видов полового и социального поведения, контролируемого феромонами. Точно так же было обнаружено, что при нефункционирующей основной обонятельной системе некоторые вещества, не являющиеся феромонами, активируют дополнительную обонятельную систему,

влияя на поведение животного (Baum, 2012; Su et al., 2009). Большая часть работ, описываемых в данном обзоре, посвящена исследованиям основной обонятельной системы, поскольку нарушения в добавочной обонятельной системе при anosмии практически не исследованы.

2. ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ТЕСТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ГИПОСМИИ И АНОСМИИ

При разработке модели заболевания, связанного с гипосмией и anosмией, необходима оценка обонятельной способности животного. Относительно легко и быстро провести оценку позволяют поведенческие тесты, наиболее часто используемыми из которых являются тест на поиск зарытой пищи (Jamain et al., 2008; Luo et al., 2002; Yang, Crawley, 2009; Дубровская и др., 2021) и тест на обонятельное привыкание (Arbuckle et al., 2015; Coronas-Samano et al., 2016; Slotnick, Coppola, 2015; Zou et al., 2015).

Тест на поиск зарытой пищи измеряет, как быстро животное (обычно крыса или мышь), прошедшее 1—2-суточную пищевую депривацию, сможет найти небольшой кусочек знакомой и привлекательной для него пищи, спрятанной под слоем подстилки примерно в 0.5—1 см. Считается, что животное с обонятельной дисфункцией не сможет найти спрятанную пищу за отведенные ему 10—15 мин (Li et al.; 2013; Yang, Crawley, 2009; Дубровская и др., 2021).

Тест на обонятельное привыкание/отвыкание основан на склонности животных (обычно используются крысы и мыши) к исследованию новых обонятельных стимулов и позволяет оценить, способно ли животное чувствовать и различать запахи. В этом тесте животному последовательно предъявляют несколько одорантов (газовоздушные смеси содержащие молекулы одорантов, предъявление объектов, пропитанных эфирными маслами и др.), каждый по три раза подряд с небольшим временным интервалом. Данная экспериментальная парадигма не предполагает количественного контроля интенсивности предъявляемого запаха и не подходит для количественной оценки порога остроты обоняния. Привыкание можно определить по снижению интереса к исследованию: животное перестает обнюхивать предъявляемый ему одорант, в то время как новый обонятельный раздражитель вызывает у него любопытство. Животные с нормальным обонянием демонстрируют сокращение времени обнюхивания при повторном предъявлении знакомого запаха и интерес при появлении нового (Yang, Crawley, 2009). В этом тесте можно использовать и индифферентные (эфирные масла из растений, не являющихся пищевыми объектами), и социально значимые одоранты (моча,

перхоть других животных) (Zou et al., 2015; Zheng et al., 2021).

Тестирование на предпочтение опилок из своей и чужой клетки. Еще один способ тестирования обоняния был использован в эксперименте с моделированием БП на мышах (Prediger et al., 2010). Для проведения теста каждое животное помещали на 5 мин в клетку с двумя отсеками, в одном из которых были свежие опилки, а в другом — опилки из клетки, в которой животное просидело 72 ч. Оценка обонятельной способности основана на том, что грызунам свойственно предпочитать свой собственный запах его отсутствию. Тест на предпочтение опилок из своей и чужой клетки проводили на самках мышей K18-hACE2. Самцы этой же линии выбирали между образцами с перхотью самцов и самок. Эти тесты основывались на том, что самцы грызунов предпочитают запах самок, в то время как самки, не отдающие предпочтение запаху самцов, предпочитают проводить время, исследуя запах новых опилок (Zheng et al., 2021).

В тесте на обонятельную дискриминацию мотивацией животного так же, как в тесте на поиск зарытой пищи, является голод. Предварительно животное обучается тому, что конкретный запах связан с пищевым вознаграждением. Для оценки обонятельной способности грызуну предоставляют выбор между двумя ёмкостями с ароматизированным песком. В песок, ароматизированный одорантом, который ассоциируется у животного с пищей, закопаны кусочки лакомства. Грызуны с нормальным обонянием способны отличить, в какой из двух мисок находится еда (Zou et al., 2015).

Оценка обонятельной чувствительности позволяет выявить не только способность животного распознать аромат, но и выявить порог чувствительности к нему. Для этого можно использовать несколько разведений одоранта и зарегистрировать время, затраченное животным на его исследование (Witt et al., 2009). Это тестирование позволяет отслеживать развитие обонятельной дисфункции при диагностике заболеваний, связанных с anosmией, или улучшения при лечении таких заболеваний.

Поведенческие тесты разнообразны и требуют небольших материальных затрат, однако вместе с тем они обладают и рядом недостатков. Так, на результаты поведенческого теста могут оказывать влияние температуры и уровень шума в помещении, где проводится тест. Также важно учитывать циркадный ритм животного, что приводит к необходимости проводить эксперименты в одно время суток, в тихом, достаточно теплом помещении, куда ограничен вход людей во время проведения теста. Животным требуется акклиматизация в специальном помещении, похожем на комнату, в которой будет проводиться поведенческий тест, что требует дополнительных затрат времени перед началом работы. Кроме того, для уменьшения

вариативности теста эксперимент должен проводить один экспериментатор, что также может замедлить работу (Machado et al., 2018). Каждый отдельный тест также обладает собственными дополнительными недостатками. Так, в тесте на обонятельное привыкание/отвыкание привыкание может проходить незначительно или вообще не проходить при достаточно длинных интервалах между предъявлениями одоранта. Скорость привыкания также варьирует в зависимости от силы стимула: оно происходит быстро при слабых стимулах, что ограничивает использование привыкания как меры памяти и может вообще не возникать при сильных стимулах (Slotnick, Coppola, 2015).

Обоснованность использования времени обнюхивания или ориентации на объект запаха как меры обоняния также спорна, поскольку грызуны с тяжелыми нарушениями обоняния или перенесшие бульбоэктомию могут продолжать активно обнюхивать пробу с одорантом. Существует также и проблема с интерпретацией нулевых результатов (т.е. неспособностью получить привыкание или отвыкание к одоранту) (Slotnick, Coppola, 2015). Отсутствие дифференцированной реакции у животных на знакомые и новые стимулы не всегда означает отсутствие дискриминации (Gheusi, 2008).

В тестах на поиск зарытой пищи многое зависит от мотивации животного, предполагающей соблюдение графика ограниченного потребления пищи и воды. Обучение животного требует времени для его ознакомления с процессом тестирования и установления связи между вознаграждением и стимулом, кроме того, эксперимент предполагает использование только приятных для животного запахов, связанных с лакомствами; неприятный запах будет вызывать тревогу и мешать проведению исследования (Slotnick, Coppola, 2015). Также тесты на поиск зарытой пищи часто проводят в достаточно большом открытом пространстве, что увеличивает стресс у животного (Weber, Olsson, 2008).

В отличие от оценки восприятия звуковых или зрительных стимулов, не существует стандартных, широко признанных методов оценки порога восприятия обонятельных стимулов, кроме электрофизиологических (Yang, Pinto, 2016).

3. АНАЛИЗ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК ОБОНЯТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА

Электрофизиологический подход к изучению обонятельного анализатора применялся многими авторами. Значительная часть таких работ посвящена исследованию обонятельного эпителия первичноводных животных: представителей элазмобранхий и костистых рыб (Schmachtenberg, 2006). Чаще всего животное закрепляют в резервуаре, через который идет проточная вода. Через ноздрю проходит вода, в которую добавляют

водорастворимый одорант заданной концентрации, обеспечивая поток порядка 2 мл/с (Tricas et al., 2009).

В качестве активного регистрирующего электрода используют неполяризующийся хлорсеребряный электрод в стеклянной капиллярной трубке, наполненной смесью морской воды и агара, располагаемый в стимулируемой ноздре, и регистрируют изменение суммарной электрической активности обонятельного эпителия на запаховые раздражители. Электрод сравнения располагают в воде рядом с кожей или в другой ноздре, не стимулируемой запахом. В качестве альтернативы для крупных первичноводных позвоночных, например акул, применяют иной тип протокола: вскрывается носовая полость, записывающий электрод располагают на обонятельном эпителии, при этом раствор одоранта заданной концентрации наносят пипеткой прямо на поверхность обонятельного эпителия (Meredith et al., 2012). В качестве одного из наиболее сильнодействующих одорантов в работе с рыбами применяют коммерчески доступные соли желчных кислот, которые, как известно, оказывают сильное стимулирующее воздействие на обонятельную систему костистых рыб (Rolen, Caprio, 2008; Zhang, Nara, 2009). В качестве адаптирующих стимулов используют различные аминокислоты с нейтральными (аланин), кислыми (глутаминовая кислота), основными (аргинин) и ароматическими (фенилаланин) группами в зависимости от химической природы одоранта. Для оценки концентрации одорантов в проточной воде раствор одоранта заменяют на раствор красителя "Fast green", исследуя динамику окрашивания методом колориметрии (Rolen, Caprio, 2008). Использование рыб в качестве модельного объекта удобно с точки зрения применения водных растворов одорантов вместо их воздушных смесей и более легкого доступа к поверхности обонятельного эпителия для отведения сигнала. Однако существующие модели патологий, сопровождающихся гипо- или аносмией, в большинстве своем основаны на наземных позвоночных, чаще всего на грызунах, работа с которыми требует использования других одорантов и методов математической обработки данных.

У наземных позвоночных, особенно млекопитающих, малоинвазивное внедрение электродов на поверхность обонятельного эпителия затруднено наличием сети выростов решетчатой кости — турбинат. В таких случаях становится целесообразно отводить электрическую активность с обонятельного нерва (Nakazava et al., 2000) или проекционных клеток лежащих выше отделов обонятельного анализатора (Martin et al., 2004). Например, в работе с японской жабой проводили регистрацию электрической активности обонятельного нерва: на него накладывали вольфрамовый электрод, а на кожу головы — электрод сравнения (Nakazava et al., 2000). Также возможно отводить полевые

потенциалы из обонятельной луковицы, поскольку внедрение электродов в эту структуру менее инвазивно и значительно проще, чем попытки достичь других лежащих выше отделов обонятельного анализатора. В таких случаях обычно проводят хроническую имплантацию электродов (для взрослой крысы 8.3 мм спереди от брегмы, 1.5 мм латеральнее и 4.3 мм в глубину) рядом с релейными нейронами — митральными клетками (Beshel et al., 2007; Martin et al., 2004; Кирой et al., 2023). Заземляющий и референтный электроды, как правило, крепят к черепу животного. Однако следует признать, что работы на лабораторных грызунах с применением данного метода (Martin et al., 2004, Kosenko et al., 2020) единичны в мировой практике в связи с методическими и техническими трудностями как при проведении электрофизиологического эксперимента, так и при подаче воздушного потока с одорантом заданной концентрации с постоянным контролем оптимальной скорости, влажности и температуры воздушного потока. Отдельную сложность представляют исследования свободно перемещающихся грызунов, выполняющих задачу обонятельной дискриминации.

4. МАЛОИНВАЗИВНАЯ ИЛИ НЕИНВАЗИВНАЯ ОЛЬФАКТOMETРИЯ В УСЛОВИЯХ КЛИНИКИ

В клинической практике электроольфактограмма является полезным инструментом для исследования работы обонятельной системы в сочетании с назальной эндоскопией, клиническими тестами на идентификацию и определением порога распознавания одоранта. Они сложны с точки зрения логистики и техники и не подходят для популяционных исследований (Yang, 2016).

5. АНОСМИЯ

Обоняние может функционировать в диапазоне от нормальной (нормосмической) до сниженной (гипосмической) и отсутствующей (аносмической) способности обнаруживать запахи. Качественное обонятельное нарушение называется дизосмией и может быть разделено на паросмию и фантосмию. Паросмия определяется искаженным восприятием запаха. Фантосмия определяется фантомным обонятельным ощущением без явного обонятельного стимула (обонятельные галлюцинации) (Boesveldt et al., 2017).

Причиной аносмии могут быть различные патологии, такие как COVID-19, нейродегенеративные заболевания, риносинусит (грипп и аллергический ринит), лекарственные препараты, старение, инсульт, вирус иммунодефицита человека, травма головы, курение, вдыхание загрязненного воздуха и многое другое (Manan et al., 2022). Необратимая

потеря обоняния может быть вызвана гибелью нейронов обонятельных рецепторов в носу или при черепно-мозговой травме, когда происходит повреждение волокон обонятельного нерва или областей мозга, обрабатывающих информацию от обонятельных рецепторов (Davidson et al., 1995). Отсутствие обоняния при рождении обычно обусловлено генетическими факторами, нарушениями в строении обонятельных луковиц и обонятельных борозд, или отсутствием обонятельного эпителия, или мутациями в генах хемосенсорных рецепторов (Waguespack 1992, Jimenez et al., 2021).

Генетически-обусловленные патологии, сопровождающиеся anosmией

Аносмия при БП. Обонятельный тракт поражается на ранних стадиях БП, приводя к потере обоняния, немоторному симптому болезни, часто предшествующему моторным (Dutta et al., 2023; Tarakad, Jankovic, 2017; Torres-Pasillas et al., 2023). Посмертные исследования материала пациентов демонстрируют наличие в обонятельной луковице телец Леви, которые могут влиять на функционирование клеток посредством таких процессов, как нарушение аксонального транспорта, синаптическая дисфункция, митохондриальная дисфункция, окислительный стресс, стресс эндоплазматического ретикулума или дисрегуляция аутофагико-лизосомального пути (Dutta et al., 2023; Torres-Pasillas et al., 2023). Все эти предполагаемые механизмы обсуждаются скорее на основании признания достаточно очевидного разрушительного влияния отложения телец Леви на окружающие клетки, нежели на результатах прямого исследования. Так, синаптопатия и деградация системы дендритных отростков нейронов признаны одними из наиболее значимых последствий накопления и агрегации чужеродных белков как при БП (Dutta et al., 2023), так и при БА (Christen-Zaech et al., 2003). На первой стадии заболевания в переднем обонятельном ядре обнаруживаются включения α -синуклеина, а на четвертой стадии в ткани обонятельной луковицы проходит накопление телец Леви и обнаруживаются серьезные повреждения мозга (Braak et al., 2003; Flores-Cuadrado et al., 2021; Hubbard et al., 2007). Так, у пациентов с БП в сочетании с гипосмией были выявлены заметные различия в черве, мозжечке и островковой доле мозга относительно здоровых пациентов, кроме того, у пациентов с тяжелой гипосмией изменения отмечаются также в лобной, теменной и височной извилинах (Yu et al., 2021). Согласно исследованию 2022 г., патология, связанная с тельцами Леви, может начаться в обонятельной луковице, или в ткани голубого пятна (Voghammer et al., 2022). Тельца Леви, имеющие шаровидную форму, и нейриты Леви, имеющие нитевидную форму, обнаруживаются в обонятельных луковицах, переднем обонятельном ядре

и обонятельном тракте. На поздних стадиях заболевания они присутствуют в черной субстанции (Del Tredici et al., 2002; Torres-Pasillas et al., 2023). БП сопровождается снижением объема обонятельной луковицы и уменьшением плотности нейронов и клубочков, расположенных в ней (Cave et al., 2016; Li et al., 2016; Pearce et al., 1995; Zapiec et al., 2017). Уменьшается и объем самого обонятельного тракта (Nigro et al., 2021; Torres-Pasillas et al., 2023). При этом, согласно результатам некоторых исследований, в обонятельной луковице проходит увеличение количества дофаминергических нейронов (Huisman et al., 2004; 2008; Mundinano et al., 2011; Nigro et al., 2021).

Аносмия при БА. Болезнь Альцгеймера — распространенное нейродегенеративное заболевание с ранними клиническими проявлениями обонятельной дисфункции, которые могут использоваться как клинический маркер тяжести и прогрессирования (Zou et al., 2016). Точный патофизиологический механизм обонятельной дисфункции при БА до конца не изучен, однако текущие исследования показывают, что она связана с нарушениями фолдинга тау-белка в обонятельной луковице и области обонятельной проекции (Macknin et al., 2004). Исследование 2003 г. дало возможность предположить, что ранние патологические изменения происходят в обонятельной луковице и обонятельном тракте. Анализ информации о вскрытии 110 пациентов с БА показал, что дегенеративные изменения, наличие амилоидных бляшек межклеточном пространстве, нейрофибриллярных клубочков и извитых филаментов (“curly fibers”) в цитоплазме клеток сопровождается обонятельной дисфункцией (Christen-Zaech et al., 2003).

Патоморфологические исследования дают прямые и убедительные доказательства патологических изменений в энторинальной коре на ранней стадии БА. Нейрофибриллярные клубки и нейритные бляшки на I—II стадиях БА в основном распределены в трансэнторинальной коре (Braak, Braak, 1991). Нейропатологические изменения, связанные с гибелью проекционных нейронов и деградацией белого вещества в структурах мезиальной височной доли, особенно в энторинальной коре, могут нарушать связи между гиппокампом и неокортексом, которые необходимы для формирования памяти, в то время как дегенерация энторинальной коры влияет на активность гиппокампа, необходимую для решения задач, связанных с запахами (Braak, Braak, 1992; 1997; Claire et al., 2003). Основным фактором, влияющим на обонятельную функцию в энторинальной коре, основании и области CA1 гиппокампа, согласно исследованиям, является плотность нейрофибриллярных клубков (Wilson et al., 2007).

Аносмия очень распространена при деменции с тельцами Леви, второй по частоте заболеваемости

нейродегенеративной деменцией после БА (Fujita et al., 2020; Olichney et al., 2005). Некоторые авторы сообщают, что пациенты с тельцами Леви более склонны к anosмии, чем пациенты с БА (McShane et al., 2001).

Аносмия при сахарном диабете (СД). Аносмия может быть макро- или микрососудистым осложнением, или дисфункцией центральной нервной системы при СД (Gouveri et al., 2014; Várkonyi et al., 2014). Исследование, включающее 120 пациентов с сахарным диабетом первого типа (СД1) и 22 здоровых испытуемых, показало, что гипосмия была более распространенной среди диабетических пациентов по сравнению с недиабетическими (70.0% против 45.5%) (Falkowski et al., 2017). Предполагается многофакторный патогенез нарушений, и высказано несколько гипотез, связывающих этот феномен как с микрососудистыми (Le Floch et al., 1993; Gascon et al., 2013), так и с макрососудистыми (Weinstock et al., 1993) изменениями, с центральной диабетической невропатией (Varkonyi et al., 2014), прямым повреждением обонятельного нерва (Gouveri et al., 2014) и/или с нарушениями проводимости стимул-индуцированных нервных импульсов, включая нарушение восходящих подкорковых путей (Varkonyi et al., 2014), которые могут возникнуть при СД1. Кроме того, резистентность к инсулину и нарушения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси также могут играть роль в регуляции ольфакторных путей (Zaghloul et al., 2018).

Снижение остроты обоняния более характерно для СД2, чем для СД1 (King, 2012; Weinstock et al., 1993). При СД2 (например, в линии Goto–Kakizaki) происходит снижение темпов нейрогенеза в основной обонятельной луковице, нарушается дифференцировка даблкортин (DCX)+ незрелых нейронов в пириформной коре, и изменяется экспрессия белка ГАМКергических интернейронов в этих областях. А с помощью вестерн-блоттинга было выявлено 17% снижения экспрессии PV (парвальбумина) в пириформной коре больных СД2 крыс по сравнению с здоровыми животными (Lietzau et al., 2018).

Другие заболевания. Многие другие заболевания также сопровождаются снижением или отсутствием обоняния, но информации и механизмах развития обонятельной дисфункции при этих заболеваниях не так много. Аносмия является одним из ранних признаков шизофрении, рассеянного склероза и других нейродегенеративных заболеваний.

Причиной снижения способности к идентификации запахов и повышения порогов их восприятия у больных *шизофренией* может быть нарушение механизмов анализа обонятельной информации, сопровождающееся снижением объема и структуры обонятельной луковицы, что подтверждается с помощью метода магнитно-резонансной

томографии (Носуля, 2013). В случае тяжелого заболевания у больных может наблюдаться обонятельный галлюциноз Гобека, для которого характерно ощущение неприятного запаха собственного тела, не вызванное какими-либо обонятельными стимулами (Тиганов et al., 1999).

На ранних стадиях *рассеянного склероза* для 40–44% пациентов также характерна гипосмия, более поздние стадии заболевания характеризуются нарушением идентификации запахов. Методы магнитно-резонансной томографии показывают, что степень выраженности этого явления коррелирует с количеством и размерами очагов демиелинизации в белом веществе мозга, его лобных и височных долях (Морозова и др., 2014).

Легкие нарушения обоняния, такие как снижение способности идентификации запахов, предшествующие двигательным и когнитивным расстройствам, встречаются также у пациентов с *БГ*. Исследования на животных моделях показали, что увеличение количества белка гентингина в обонятельных отделах головного мозга предшествовало его накоплению в других отделах. Изучение модели заболевания на мышах показало нарушение созревания нейронов ОЛ (Морозова и др., 2014).

Гипосмия также встречается на ранних стадиях *болезни Крейтцфельда–Якоба*. В качестве более позднего симптома нарушения обонятельной функции свойственны для таких нейродегенеративных заболеваний, как атаксия Фридрейха и спиноцеребеллярная атаксия 2- и 3-го типов (Le Pichon et al., 2009). Причинами anosмии могут быть *черепно-мозговые травмы*, опухоли лобной доли мозга или редкая опухоль — эстеziонейробластома (Fiani et al., 2019; Ishimaru et al., 1999), вирусные инфекции, риносинуситы и полипозы носа.

Посттравматическая обонятельная дисфункция может быть связана с разрывом обонятельных нервов или ушибом головного мозга. В случае вирусных инфекций причинным фактором считается повреждение рецепторных нейронов. Причины синоназальной обонятельной дисфункции охватывают воспалительные или механические факторы, такие как нарушение доступа к обонятельному эпителию (Hüttenbrink et al., 2013).

Патологии, приобретенные в ходе постнатального онтогенеза.

Коронавирус SARS-CoV-2. Аносмия — один из характерных симптомов COVID-19 как у детей, так и у взрослых (Howe de la Torre et al., 2023). В связи с продолжающейся эпидемией COVID-19 появилось большое количество исследований, нацеленных на то, чтобы выяснить механизмы, с помощью которых SARS-CoV-2 вызывает anosмию, но в данный момент они остаются невыясненными (Andrea et al., 2023; Butowt et al., 2023; David, Malkova, 2023).

Предложено большое количество теорий, которые могли бы объяснить это явление. К возможным причинам развития обонятельной дисфункции относят закупорку путей для вдыхаемого воздуха, вследствие местного воспаления и отека слизистой оболочки; воспаление и повреждение обонятельного эпителия; инфицирование и гибель нейронов обонятельных рецепторов, обонятельной луковицы, коры головного мозга; изменение в работе нейронов из-за высвобождения цитокинов и воспаления или вследствие повреждений сосудов обонятельной луковицы; вирусная нейроинвазия по ходу обонятельного нерва; инфицирование и гибель боуменовых желез (Aragao et al., 2021). Деграция боуменовых желез может играть основную роль в развитии anosмии, поскольку при anosмии часто отмечаются сухость и/или истончение слизистой оболочки носовой полости (Butowt et al., 2023), что сопровождается гибелью как рецепторных нейронов, так и вспомогательных клеток обонятельного эпителия (Ziuzia-Januszewska, Januszewski, 2022). Существует также предположение, что в развитии anosмии задействована аутоиммунная реакция (Dotan et al., 2021; Patt et al., 2023), когда иммунный ответ на SARS-CoV-2 может спровоцировать аутоиммунный ответ, приводящий к воспалительному процессу в ЦНС, сопровождающемуся стойкой anosмией (David, Malkova, 2023). Одним из наиболее убедительных объяснений anosмии при COVID-19 является теория, связывающая потерю обоняния с инфицированием и гибелью поддерживающих клеток. SARS-CoV-2 инфицирует поддерживающие клетки, которые необходимы для нормального функционирования эпителиальных клеток, что может привести к повреждению обонятельного эпителия и потере обонятельных ресничек. Однако реснички могут начать расти заново, что может объяснить быструю потерю обоняния и его восстановление после регенерации поддерживающих клеток. Иммунные же реакции возникают слишком поздно, чтобы привести к потере обоняния, но могут продлить ее (Butowt et al., 2023; Cooper et al., 2020; Howe de la Torre et al., 2023).

6. МОДЕЛИ ПАТОЛОГИЙ НА ЖИВОТНЫХ И ПРОЯВЛЕНИЕ АНОСМИИ

Модели заболеваний на животных незаменимы для понимания патогенеза и имеют решающее значение для разработки новых методов лечения. Поскольку anosмия является частью клинического спектра многих заболеваний, в данный момент существует значительное количество моделей болезней на животных, одним из проявлений которых является обонятельная дисфункция.

Модель БП. Текущие модели БП на животных фокусируются на дегенерации дофаминергических нейронов nigrostriарного пути и/или образования агрегатов α -синуклеина. Действие нейротоксинов (MPTP и 6-OHDA) на грызунов и приматов

(non-human primates), а также дефицит факторов транскрипции — Nurr1, Pitx3 и других у мышей приводят к обширной потере дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции и явному двигательному дефициту, но без агрегации α -синуклеина. Напротив, модели трансгенных мышей с мутировавшим α -синуклеином индуцируют его агрегацию без нейродегенерации. Для получения моделей, сочетающих агрегацию α -синуклеина и дегенерацию нейронов nigrostriарного пути, используется введение MPTP и пара-фторфенилаланина мышам и приматам, а также введение пестицидов и гербицидов лабораторным грызунам. Существуют также модели БП на мышах с нокаутом c-Rel и гиперэкспрессией PRKN-Q311X, модели трансфекции AAV- α -синуклеина грызунам и обезьянам, а также трансфекции HSV-LRRK2 G2019S мышам (Konnova, Swanberg, 2018).

Anosмия встречается у α -синуклеин A53T трансгенных мышей с бактериальной искусственной хромосомой A53T SNCA. Такие животные характеризуются накоплением α -синуклеина в определенных популяциях нейронов среднего мозга, мозжечка, стволовых отделов и спинного мозга без специфической гибели дофаминергических нейронов в черной субстанции, при этом мыши демонстрируют обонятельную дисфункцию, начиная с 9-месячного возраста (Taguchi et al., 2020). Anosмия у этой модели выявлена с помощью поведенческих методов, но прямое измерение порога чувствительности не проводилось. Отсутствие адекватных методических подходов для оценки остроты обоняния у модельных животных может быть одной из причин скудности и фрагментарности данных о нарушении обоняния на животных моделях БП.

Модель БА. Модель БА на животных можно получить двумя способами: стереотаксическим (инъекционным) методом и с помощью редактирования генома (трансгенные модели) (Иптышев и др., 2016). Стереотаксическая модель БА может быть создана путем введения бета-амилоида 1–42 (A β 42), основного компонента амилоидных бляшек. Бета-амилоид вводят в гиппокамп — структуру мозга, которая страдает одной из первых при заболевании БА (Hardy, Selkoe, 2002).

Для получения трансгенной модели в зиготу животного вводят вектор с модифицированными генетическими последовательностями, создаваемый на основе вирусов (Иптышев и др., 2016). Наиболее часто для создания трансгенных моделей БА используются мыши C57BL/6 линии мышей дикого типа: линии Tg2576, 3xTg-AD, 5XFAD и др. Все эти модели основаны на сверхэкспрессии одного или нескольких амилоидогенных мутантных генов человека (Masurkar, Devanand, 2014) и поддерживаются на генетическом фоне C57BL/6 линии, удобной в работе, разведении и изученности генотипа.

Так, трансгенная линия Tg2576 характеризуется заменами KM670/671NL в гене *APP* в гемизиготном состоянии, приводящим к оверэкспрессии *APP* человека и амилоидозу в ткани отделов головного мозга без выраженной гибели нейронов. У таких животных отмечена синаптопатия, нарушение долговременной потенциации и развитие когнитивных дисфункций к возрасту 5 мес., однако в литературе встречаются противоречивые данные на эту тему, и обонятельная функция практически не изучена (Jacobsen et al., 2006). У мышей линии 3xTg-AD внесены изменения в гены предшественника амилоидного пептида, пресинилина 1, и тау-протеина, воспроизводящие мутации нескольких наследственных форм БА у человека (*APP* Swedish, MAPP P301L и PSEN1 M146V). У таких мышей развивается возрастная прогрессирующая нейропатология, включая появление бета-амилоидных бляшек и нейрофибрилярных клубков. Тест на поиск зарытой пищи (см. описание в разделе о поведенческих методах исследования обоняния) показывает, что мышам этой линии необходимо значительно больше времени, чтобы найти закопанную пищу, чем мышам контрольной линии (Mitrano et al., 2021; Oddo et al., 2003). Мыши широко используемой линии 5xFAD экспрессируют человеческие трансгены *APP* и *PSEN1* с пятью мутациями: K670N/M671L, I716V и V717I мутациями в *APP*, а также мутациями M146L и L286V в *PSEN1* (Oakley, 2006). Мутации в *APP* и *PSEN1* увеличивают выработку бета-амилоидов ($A\beta_{1-42}$), приводящую к потере нейронов и деменции. Окончания аксонов обонятельных нейронов, входящих в гломерулы обонятельных луковиц у мышей этой линии, уязвимы для дегенерации, что объясняется повышенной экспрессией амилоидогенных белков до появления бляшек. Кроме того, у 5xFAD мышей уменьшена площадь гломерул в обонятельных луковицах (Franks et al., 2015; Neuner et al., 2019), также имеются данные, указывающие на возможность нарушения экспрессии генов обонятельных рецепторов *Olfr110/111* и *Olfr544* в коре и гиппокампе (Gaudel et al., 2018). Еще одна линия мышей получена путем скрещивания трансгенных мышей JNPL3, экспрессирующих мутантный тау-белок, с мышами трансгенной линии Tg2576, воспроизводящих мутации *APP* K670_M671delinsNL (Swedish) одной из наследственных форм БА человека. Результатом скрещивания является линия TAPP с двойными мутациями (tau/*APP*). У этих мышей отложения β -амилоида замечены в том же возрасте, что и у родительской линии Tg2576, кроме того, для них характерна патология нейрофибрилярных клубков, как у линии JNPL3, значительно усиленная в лимбической системе и обонятельной коре (Lewis et al., 2001; Franks et al., 2015).

Результаты прямых измерений обонятельного порога на животных моделях БА электрофизиологическими методами в настоящий момент

в литературе отсутствуют. Все выводы о возможных нарушениях обоняния получены на основании косвенных данных о структурных изменениях ткани обонятельных луковиц и обонятельной коры, а также на основании поведенческих экспериментов с одорантами, которые в лучшем случае способны выявить сильную anosмию, но не слабо выраженную гипосмию, развивающуюся на ранних этапах патологии обонятельной системы.

Сахарный диабет. Для СД1 характерно аутоиммунное разрушение бета-клеток поджелудочной железы, следствием которого является недостаточная выработка инсулина. Существуют модели спонтанно развивающегося СД1 (мыши NOD, крысы BB и LEW.1AR1/-iddm), химическая (введение стрептозотоцина, аллоксана), генетическая (мыши AKITA) и вирусно-индуцированная (вирус Коксаки В, крысиный вирус Килхэма и др.) модели СД1 (King, 2012). При СД1 ингибируется пролиферация нервных стволовых клеток в субвентрикулярной зоне, что приводит к снижению структурной пластичности обонятельной луковицы и обонятельным нарушениям у крыс с этим заболеванием (Jing et al., 2017). Исследования на модели СД1, полученной введением стрептозотоцина (СТЗ), также показали снижение нейрогенеза в ОЛ, приводящего к обонятельной дисфункции (Wakabayashi et al., 2016).

Для СД2 характерна резистентность к инсулину и неспособность бета-клеток обеспечить достаточную компенсацию. У животных при моделировании СД2 по этой причине обычно формируют резистентность к инсулину и/или недостаточность бета-клеток. Для многих моделей также характерно ожирение (мыши Lerob/ob, крысы ZDF Rats, OLETF и др.), связанное с этим типом СД (King, 2012). Для получения модели СД2 иногда прибегают к использованию диет с высоким содержанием жиров, углеводов, сахарозы и фруктозы (Aydin et al., 2014; Deeg et al., 2015;). Среди моделей без ожирения известной является линия крыс Гото–Какидзакки, полученная путем многократного скрещивания крыс линии Вистар с наихудшей толерантностью к глюкозе (Гвазава и др., 2022; King et al., 2012). Исследования показали, что СД2 снижает нейрогенез в основной обонятельной луковице, нарушает дифференцировку DCX+ незрелых нейронов в ПК в пириформной коре и изменяет экспрессию белка ГАМКергических интернейронов в этих обонятельных областях, приводя к ухудшению обоняния и памяти в тестах с использованием одорантов в качестве обонятельных стимулов (Lietzau et al., 2018). Структурные изменения в ОЛ и нарушения обоняния также демонстрировала модель СД2, полученная введением стрептозотоцина в дозе 20 мг/кг взрослым крысам линии Вистар в течение пяти дней (Yahyaoui et al., 2023). Крысы, которым вводили СТЗ во время неонатального периода, показали увеличенное время поиска

в тесте на поиск зарытой пищи и снижение интереса к исследованию в тесте социального распознавания. Исследования показали, что обонятельная дисфункция у этих крыс связана с воспалением, опосредованным IL-1 β , и сверхэкспрессией микроРНК miR-146a. Авторы предполагают, что высокие уровни IL-1 β могут запускать активацию miR-146a как отрицательную обратную связь воспалительной реакции в ОЛ у крыс с СД 2-го типа (Jiménez et al., 2020). Как и в случае моделей БА и БП, результаты количественного измерения порога обонятельной чувствительности у животных моделей СД1 и СД2 в литературе отсутствуют. Из-за невозможности проводить количественную оценку остроты обоняния развитие всего направления исследований возможных механизмов нарушения обоняния при СД находится в зачаточном состоянии.

COVID-19. Наиболее часто встречаются работы, где в качестве модельных животных для заражения COVID-19 используются мыши (Zheng et al., 2021; Fan et al., 2022) и сирийские хомячки (Bryche, 2020; Gruber, 2022). На первоначальных этапах исследования для постановки моделей использовали также хорьки, домашний скот (свиньи и овцы), домашние птицы (куры и утки), кошки, собаки и приматы (Chu et al., 2022). Однако основными инструментами для воспроизведения клинических признаков и прогрессирования заболевания COVID-19 в настоящее время являются мыши. Эти животные, по сравнению с другими видами, легче поддаются генетической модификации, что упрощает создание сложных мультигенных моделей (Fan et al., 2022). Крысы, часто используемые для изучения различных заболеваний, в этом случае оказались неподходящими модельными животными из-за низкого связывания домена S1 SARS-CoV и поддерживают менее эффективную инфекцию, опосредованную S-белком вируса. У крыс развиваются два родственных COVID-19 заболевания — крысиный коронавирус Паркера (PRCV) и вирус сиалодакриоаденита (SDAV). Коронавирусы крыс могут вызывать как бессимптомные инфекции, так и транзиторные клинические инфекции, связанные с поражением слюнных, слезных и гардеровых желез, а также респираторного эпителия (Kohn, Clifford, 2002). Исследования молекулярно-клеточных механизмов этой патологии затруднены отсутствием результатов количественной оценки порога обонятельной чувствительности. Использование электрофизиологических методов может восполнить этот пробел.

Болезнь Гентингтона (БГ). БГ связана с умеренной гипосмией (Patino et al., 2021). В число органов, используемых для получения модели БГ, входят нематода *Caenorhabditis elegans*, плодовая мушка *Drosophila melanogaster*, мыши, крысы, овцы, свиньи и обезьяны, однако наиболее часто в качестве модельных животных используются грызуны

(Pouladi et al., 2013). Например, линия мышей с нокаутом Q175, содержащая человеческий аллель mHTT со спонтанной экспансией копий CAG в мышинном гене гентингтина (Piipponniemi et al., 2018). Еще одна модель БГ — трансгенные мыши R6/2, которые содержат укороченный с N-конца мутантный HTT (mHTT) с экспансией повторов CAG в экзоне 1 гена гентингтина (Ellgrichmann et al., 2017). Одна из наиболее часто используемых моделей — мыши YAC128 — трансгенные мыши, экспрессирующие человеческий мутантный ген YACC. Модельные животные были созданы с 46, 72 и 120 повторами CAG (YAC46, YAC72 и YAC128), экспансия которых в кодирующей области гена вызывает БГ. Мыши YAC72 и YAC46 демонстрируют умеренные поведенческие аномалии или не имеют их вовсе, в то время как для мышей YAC128 характерны моторные и когнитивные нарушения, аналогичные нарушениям при БГ у человека (Van Raamsdonk et al., 2007). У мышей YAC128 была выявлена значительная атрофия стриатума, коры и бледного шара по сравнению с диким типом, в то время как объем гиппокампа и мозжечка у линии YAC128 и мышей дикого типа не различался. Таким образом, эта модель демонстрирует избирательную дегенерацию, аналогичную наблюдаемой при БГ человека. Характер экспрессии мутантного htt у мышей YAC128 также сходен с таковым у человека при БГ (Van Raamsdonk et al., 2007). По этой модели в литературе есть только поведенческие данные, не подкрепленные объективной оценкой остроты обоняния.

Синдром Кальмана (СК) — довольно редкое наследственное заболевание, проявляющееся в снижении функций гонад. Развитие заболевания связано с нарушением миграции нейробластов из обонятельного эпителия в гипоталамус с дальнейшим нарушением регуляции гипоталамо-гонадной оси. Наиболее часто используются два модельных объекта с СК: нематода *C. elegans* и плодовая мушка *D. melanogaster*, имеющие принципиальные отличия от позвоночных животных как в устройстве обонятельного анализатора, так и в наборе обонятельных рецепторов. Зато у этих беспозвоночных обнаружены ортологи аносмина-1, ответственного за X-сцепленную форму СК (Murcia-Belmonte et al., 2022; Rugarli et al., 2002).

У дрозофилы ген ANOS1, также известный как KAL1, демонстрирует сложный паттерн экспрессии во второй половине эмбриогенеза, его транскрипты обнаруживаются в клетках, связанных с органами чувств, включая антенно-челюстной орган, осуществляющий обонятельную и вкусовую функции у личинок (Di Schiavi, Andrenacci, 2013).

Ген KAL1 у *C. elegans* влияет на морфогенез эпидермиса, развитие сенсилл хвоста самцов и ветвление аксонов (Hudson et al., 2006). Функциональный консерватизм между белками человека и нематод

делает *C. elegans* подходящим модельным животным для исследования функции гена *ANOS1 in vivo* (Rugarli et al., 2002).

Помимо беспозвоночных существуют модели мышей с нокаутированными генами, повторяющие фенотип заболевания. К появлению фенотипа, подобного СК, у SEMA3A-нокаутных мышей приводит очевидный недостаток экспрессии данного гена (Shu et al., 2022). У PROKR2-нокаутных мышей обнаруживаются выраженные дефекты развития обонятельных лукович, значительное снижение количества нейронов, продуцирующих гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) в медиальной преоптической области гипоталамуса и уменьшение волокон ГнРГ-нейронов в срединном возвышении (Cisneros-Larios, Elias, 2023).

Данные о возможном снижении порога обонятельной чувствительности у животных, использованных для моделирования СК, в литературе отсутствуют, поэтому объективно оценивать остроту обоняния на этих животных моделях в настоящий момент невозможно.

Синдром Барде–Бидля (СББ). Потеря обоняния является также одним из вторичных клинических признаков синдрома СББ (Manan et al., 2022; Melluso et al. 2023; Pak et al., 2021). Чаще всего в качестве модельных животных СББ используются мыши (Kretschmer et al., 2019; Mayer et al., 2022), например с нокаутом *Bbs6*: *Bbs6/Mkks*, *Bbs8*: *Bbs8/Ttc8*, *Bbs5*: *Bbs5*. Мыши с мутациями *BBS8* демонстрируют более выраженный фенотип синдрома (Kretschmer et al., 2019). Из генов, связанных с СББ, наиболее часто мутирует *BBS1*, а на одну миссенс-мутацию (*M390R*) приходится $\approx 80\%$ мутаций в *BBS1* (Davis et al., 2007). У мышей *Bbs1 M390R/M390R* проявляются кардинальные признаки человеческого фенотипа, включая дегенерацию сетчатки, мужское бесплодие, ожирение и дефицит обоняния (Davis et al., 2007; Pak et al., 2021). Нарушения обоняния упоминаются для мышей с нокаутом *Bbs2*, *Bbs4* и *Bbs8* (Eichers et al., 2006; Kulaga et al., 2004; Nishimura et al., 2004; Rödig et al., 2022). Обонятельная дисфункция в виде частичной или полной аносмии также наблюдается при нокауте *Bbs6/Mkks* (синдром МакКьюсика–Кауфмана) (Mariman et al., 2016). Естественной моделью заболевания являются макаки-резусы (Neff et al., 2020; Peterson et al., 2019). Информация об измерении порога обонятельной чувствительности у этой модели в литературе отсутствует.

Муковисцидоз. От 12 до 71% случаев муковисцидоза сопровождаются нарушением обоняния, оказывающим существенное влияние на питание и общее состояние здоровья. Аносмия может быть обусловлена риносинуситом и стужением слизи, препятствующей нормальной работе обонятельных рецепторов (Di Lullo et al., 2020). Для моделирования муковисцидоза используются различные виды животных, в том

числе мыши, крысы, хорьки, кролики, свиньи, овцы, рыбы *Danio rerio* и плодовые мушки (McCarron et al., 2021). Преимущества мышей, по сравнению с другими модельными животными, заключаются в более низкой стоимости и высокой скорости воспроизводства, а также возможности создания трансгенных или нокаутных мышей (Guilbault et al., 2007). Модели муковисцидоза на мышцах существуют трех типов: на основе нокаута гена трансмембранного белка *Cftr* (Gawenis et al., 2019); линии с мутациями, вызывающими МВ у человека, введенными в ген *Cftr* мыши (*Phe508del*, *Gly551Asp* и *G542X*), (McHugh et al., 2018); трансгенные модели, например экспрессирующие *CFTR* человека (Gawenis et al., 2019). Однако различия в строении и функционировании организма мыши и человека приводят к ограничениям в применимости результатов, полученных на таких моделях (Guilbault et al., 2007). Модели МВ на хорьках и свиньях, демонстрируют все симптомы муковисцидоза, наблюдаемого у людей, от воспалительного доинфекционного заболевания легких, мекониевого илеуса *in utero* и связанного с муковисцидозом диабета (CFRD). Содержание этих животных сложнее и требует больших денежных затрат, чем содержание мышей и крыс (Rosen et al., 2018).

Аспириновая бронхиальная астма (АБА). АБА — это особый фенотип тяжелой астмы, основными характеристиками которого является наличие хронического полипозного риносинусита (ХПРС) и реакция на аспирин или другие ингибиторы ЦОГ-1 (Rodríguez-Jiménez et al., 2018; Spielman et al., 2020; Wangberg et al., 2020). Около 80% пациентов с АБА страдают от ослабленного или отсутствующего обоняния (Spielman et al., 2020; Tchekmedyian et al., 2022).

Моделей АБА на животных разработано немного. Некоторые авторы пишут, что таких моделей не существует (Taniguchi et al., 2019), но в 2015 г. учеными из Белоруссии была разработана модель на крысах, повторяющая клинические проявления АБА. Данная модель была получена путем сочетанного применения локальных инфекционно-аллергических раздражителей — эндотоксина кишечной палочки (липополисахарида) и ацетилсалициловой кислоты (Пашкевич и др., 2015). Изучение патоморфологической картины слизистой оболочки полости носа у крыс этой модели показало признаки хронического гиперпластического воспаления. Кроме того, для животных было характерно проявление таких признаков астмоидного состояния, как периодическое чихание и всхлипывание. Наблюдаемые результаты позволили авторам предположить, что данная модель отражает изменения, происходящие в тканях полости носа при АБА у человека (Пашкевич и др., 2015).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Снижение обонятельной функции сопровождаются многие нейродегенеративные заболевания. Оно встречается при БА, БП, БГ, Крейтцфельдта–Якоба и деменции с тельцами Леви (Dutta et al., 2023; Fujita et al., 2020; Le Pichon et al., 2009; Patino et al., 2021; Zou et al., 2016). Обонятельная дисфункция также встречается при СД2 и (реже) СД1, коронавирусной инфекции SARS-CoV-2, черепно-мозговых травмах и новообразованиях (Davidson et al., 1995; Fiani et al., 2019; King et al., 2012; Wakabayashi et al., 2016). Для коронавирусной инфекции (Zheng et al., 2021), БА (Franks et al., 2015; Neuner et al., 2019), БП (Taguchi et al., 2020), СД1 и СД2 (Yahyaiepour et al., 2023; Wakabayashi et al., 2016), синдрома Кальмана (Cisneros-Larios, Elias, 2023) и СББ разработаны модели на животных (Davis et al., 2007; Pak et al., 2021), у которых также наблюдается снижение обонятельной функции и/или дефекты обонятельных луковиц.

Информации об аносмии и/или гипосмии у животных моделей БГ не найдено. Данные о модели АБА на животных противоречивы. Некоторые авторы утверждают, что животных моделей этого заболевания пока нет (Taniguchi et al., 2019), однако другие исследователи сообщили, что смогли получить модель этого заболевания на крысах (Пашкевич и др., 2015). Необходимо более глубокое исследование этой темы.

Информация о количественном измерении порогов остроты обоняния у модельных животных, перечисленных заболеваний в настоящий момент в литературе отсутствует, что свидетельствует об острой необходимости проведения таких исследований. Для измерения остроты обоняния у человека часто используют психофизические тесты, такие как Sniffin' Sticks (Doorduijn et al., 2020; Hummel et al., 2023; Rasmussen et al., 2023; Zhao et al., 2020), в которых испытуемый должен сказать, ощущает ли и различает ли он запахи (Mai et al., 2023). Этот тест может быть адаптирован для собак (Abrams et al., 2023), но не для лабораторных грызунов, широко используемых в моделях патологий человека.

Для измерения порогов остроты обоняния у грызунов чаще используют такие поведенческие методы, как поиск зарытой пищи (Li et al., 2013; Yang et al., 2009; Дубровская и др., 2021), тест на обонятельное привыкание/отвыкание (Yang et al., 2009; Zheng et al., 2021) и тест на обонятельную дискриминацию (Witt et al., 2009; Zou et al., 2015), которые сопряжены с рядом трудностей (Gheusi, 2008; Machado et al., 2018; Slotnick, Coppola, 2015). Эти трудности можно преодолеть электрофизиологическими методами, которые не подразумевают необходимости мотивирования животных, затрат времени на привыкание животных к помещению, в котором будет проводиться исследование. Также электрофизиологический подход исключает необходимость интерпретировать

поведение животного, что может исключить ошибки и предвзятость исследователя.

В настоящий момент электрофизиологические методы рассматриваются как перспективные методы объективной оценки остроты обоняния.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках Госзадания (075-00967-23-00).

УЧАСТИЕ АВТОРОВ

Основной вклад в написание и редактирование работы выполнен А. В. Горской. Идея, планирование обзора, помощь в написании и редактировании статьи реализованы Д. С. Васильевым. Каждый из авторов прочел и одобрил направление рукописи для публикации.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гвазава И. Г., Каримова М. В., Васильев А. В., Воротеяк Е. А. Сахарный диабет 2 типа: особенности патогенеза и экспериментальные модели на грызунах. *Acta Naturae* (русскаяязычная версия). 2022. Т. 14(3). С. 57–68. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11751>
- Дубровская Н. М., Васильев Д. С., Туманова Н. Л., Алексеева О. С., Наливаева Н. Н. Пренатальная гипоксия нарушает обонятельную функцию в постнатальном онтогенезе крыс. *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*. 2021. Т. 71(3). С. 415–427. <https://doi.org/10.31857/S0044467721030035>
- Иптышев А. М., Горина Я. В., Лопатина О. Л., Комлева Ю. К., Салмина А. Б. Экспериментальные модели болезни Альцгеймера: преимущества и недостатки. *Сибирское медицинское обозрение*. 2016. Т. 4. С. 5–21.
- Морозова С. В., Савватеева Д. М., Петрова Е. И. Обонятельные расстройства у пациентов с нейродегенеративными заболеваниями. *Неврологический журнал*. 2014. Т. 19(1). С. 4–8.
- Кирой В. Н., Косенко П. О., Шапошников П. Д., Асланян Е. В., Саевский А. И. Изменение спектральных характеристик и уровня когерентности фокальной активности обонятельной луковицы крысы в динамике ксилазин-тилетамин-золазепамового наркоза. *Сенсорные системы*.

2023. Т. 37(1). С. 65–77. <https://doi.org/10.31857/S0235009223010043>
- Носуля Е. В., Ким И. А., Борисенко Г. Н., Черных Н. М., Шпакова Е. А. Обонятельная дисфункция в практике оториноларинголога: анализ симптомов при различных патологических состояниях и у беременных. *Вестник оториноларингологии*. 2013. Т. 78(4). С. 72–77.
- Пашкевич С. Г., Еременко Ю. Е., Миронова Г. П., Гладкова Ж. А., Андрианова Т. Д., Токальчик Д. П., Рябцева С. Н., Деревянко И. А., Стукач Ю. П., Кульчицкий В. А. Экспериментальная модель аспириновой триады. *Оториноларингология. Восточная Европа*. 2015. Т. 3(20). С. 58–62.
- Тиганов А. С., Снежневский А. В., Орловская Д. Д. Руководство по психиатрии Т. 1. М.: Медицина, 1999. 712 с.
- Abrams K. L., Ward D. A., Sabiniewicz A., Hummel T. Olfaction evaluation in dogs with sudden acquired retinal degeneration syndrome. *Veterinary Ophthalmology*. 2023. Epub ahead of print. PMID: 37399129. <https://doi.org/10.1111/vop.13121>
- Andrea X. P., Joceline L. M. Jose O. F. Jose P. O. Human Nasal Epithelium Damage as the Probable Mechanism Involved in the Development of Post-COVID-19 Parosmia. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. 2023. V. 75(1). P. 458–464. <https://doi.org/10.1007/s12070-023-03559-x>
- Aragao M. F.V.V., Leal M. C., Filho O. Q.C., Fonseca T. M., Aragao L. V., Leao M. R.V.C., Valenca M. A., Andrade P. H.P., Aragao J. P.V., Neto S. S.C., Valenca M. M. Comparative study — the impact and profile of COVID-19 patients who are indicated for neuroimaging: vascular phenomena are been found in the brain and olfactory bulbs. *Medrxiv*. 2021. P. 2020.12.28.20248957. <https://doi.org/10.1101/2020.12.28.20248957>
- Arbuckle E. P., Smith G. D., Gomez M. C., Lugo J. N. Testing for odor discrimination and habituation in mice. *Journal of Visualized Experiments*. 2015. No. 9. P. e52615. <https://doi.org/10.3791/52615>
- Aydin S., Aksoy A., Aydin S., Kalayci M., Yilmaz M., Kuloglu T., Citil C., Catak Z. Today's and yesterday's of pathophysiology: biochemistry of metabolic syndrome and animal models. *Nutrition*. 2014. V. 30(1). P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.05.013>
- Baum M. J. Contribution of pheromones processed by the main olfactory system to mate recognition in female mammals. *Frontiers in neuroanatomy*. 2012. V. 6. P. 20. <https://doi.org/10.3389/fnana.2012.00020>
- Beshel J., Kopell N., Kay L. M. Olfactory bulb gamma oscillations are enhanced with task demands. *Journal of Neuroscience*. 2007. V. 27(31). P. 8358–8365. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1199-07.2007>
- Boesveldt S., Postma E. M., Boak D., Welge-Luessen A., Schöpf V., Mainland J. D., Martens J., Ngai J., Duffy V. B. Anosmia — a clinical review. *Chemical senses*. 2017. V. 42(7). P. 513–523. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjx025>
- Borghammer P., Just M. K., Horsager J., Skjærbæk C., Raunio A., Kok E. H., Savola S., Murayama S., Saito Y., Myllykangas L., Van Den Berge N. A postmortem study suggests a revision of the dual-hit hypothesis of Parkinson's disease. *NPJ Parkinson's Disease*. 2022. V. 8(1). P. 166. <https://doi.org/10.1038/s41531-022-00436-2>
- Braak H., Del Tredici K., Rüb U., de Vos R. A., Jansen Steur E. N., Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of aging*. 2003. V. 24(2). P. 197–211. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(02\)00065-9](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(02)00065-9)
- Braak H., Braak E. Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiology of aging*. 1997. V. 18(4). P. 351–357. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(97\)00056-0](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(97)00056-0)
- Braak H., Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta neuropathologica*. 1991. V. 82(4). P. 239–259. <https://doi.org/10.1007/BF00308809>
- Braak H., Braak E. The human entorhinal cortex: normal morphology and lamina-specific pathology in various diseases. *Neuroscience research*. 1992. V. 15(1–2). P. 6–31. [https://doi.org/10.1016/0168-0102\(92\)90014-4](https://doi.org/10.1016/0168-0102(92)90014-4)
- Bryche B., St Albin A., Murri S., Lacôte S., Pulido C., Ar Gouilh M., Lesellier S., Servat A., Wasniewski M., Picard-Meyer E., Monchatre-Leroy E., Volmer R., Rampin O., Le Goffic R., Marianneau P., Meunier N. Massive transient damage of the olfactory epithelium associated with infection of sustentacular cells by SARS-CoV-2 in golden Syrian hamsters. *Brain, behavior, and immunity*. 2020. V. 89. P. 579–586. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.06.032>
- Butowt R., Bilinska K., von Bartheld C. S. Olfactory dysfunction in COVID-19: New insights into the underlying mechanisms. *Trends in Neurosciences*. 2023. V. 46(1). P. 75–90. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2022.11.003>
- Cave J. W., Fujiwara N., Weibman A. R., Baker H. Cytoarchitectural changes in the olfactory bulb of Parkinson's disease patients. *NPJ Parkinson's disease*. 2016. V. 2(1). P. 1–3. <https://doi.org/10.1038/nnpjparkd.2016.11>
- Christen-Zaech S., Kraftsik R., Pilleveit O., Kiraly M., Martins R., Khalili K., Miklossy J. Early olfactory involvement in Alzheimer's disease. *Canadian Journal of Neurological Sciences*. 2003. V. 30(1). P. 20–25. <https://doi.org/10.1017/s0317167100002389>
- Chu H., Chan J. F.W., Yuen K. Y. Animal models in SARS-CoV-2 research. *Nature Methods*. 2022. V. 19(4). P. 392–394. <https://doi.org/10.1038/s41592-022-01447-w>

- Cisneros-Larios B., Elias C. F. Sex differences in the coexpression of prokineticin receptor 2 and gonadal steroids receptors in mice. *Frontiers in Neuroanatomy*. 2023. V. 16. P. 1057727. <https://doi.org/10.3389/fnana.2022.1057727>
- Claire M., Christine, F. N., Terry L. J., Left hippocampal volume loss in Alzheimer's disease is reflected in performance on odor identification: a structural MRI study. *Journal of the International Neuropsychological Society*. 2003. V. 9(3). P. 459–471. <https://doi.org/10.1017/S1355617703930116>
- Cooper K. W., Brann D. H., Farruggia M. C., Bhutani S., Pellegrino R., Tsukahara T., Weinreb C., Joseph P. V., Larson E. D., Parma V., Albers M. W., Barlow L. A., Datta S. R., Di Pizio A. COVID-19 and the chemical senses: supporting players take center stage. *Neuron*. 2020. V. 107 (2). P. 219–233. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.06.032>
- Coronas-Samano G., Ivanova A. V., Verhagen J. V. The habituation/cross-habituation test revisited: guidance from sniffing and video tracking. *Neural plasticity*. 2016. V. 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9131284>
- David P., Malkova A. Anosmia in COVID-19 and post-COVID syndrome Autoimmunity, COVID-19, Post-COVID19 Syndrome and COVID-19 Vaccination. *Academic Press*. 2023. P. 487–494. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18566-3.00010-4>
- Davidson T. M., Murphy C., Jalowayski A. A. Smell impairment: can it be reversed? *Postgraduate medicine*. 1995. V. 98(1). P. 107–118. <https://doi.org/10.1080/0325481.1995.11946020>
- Davis R. E., Swiderski R. E., Rahmouni K., Nishimura D. Y., Mullins R. F., Agassandian K., Philp A. R., Searby C. C., Andrews M. P., Thompson S., Berry C. J., Thedens D. R., Yang B., Weiss R. M., Cassell M. D., Stone E. M., Sheffield V. C. A knockin mouse model of the Bardet–Biedl syndrome 1 M390R mutation has cilia defects, ventriculomegaly, retinopathy, and obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007. V. 104(49). P. 19422–19427. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708571104>
- Deer J., Koska J., Ozias M., Reaven P. Dietary models of insulin resistance. *Metabolism*. 2015. V. 64(2). P. 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.08.013>
- Del Tredici K., Rüb U., De Vos R. A., Bohl J. R., Braak H. Where does Parkinson disease pathology begin in the brain? *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2002. V. 61(5). P. 413–426. <https://doi.org/10.1093/jnen/61.5.413>
- Di Lullo A. M., Iacotucci P., Comegna M., Amato F., Dolce P., Castaldo G., Cantone E., Carnovale V., Iengo M. Cystic fibrosis: the sense of smell. *American Journal of Rhinology & Allergy*. 2020. V. 34(1). P. 35–42. <https://doi.org/10.1177/1945892419870450>
- Di Schiavi E., Andrenacci D. Invertebrate models of kallmann syndrome: molecular pathogenesis and new disease genes. *Current genomics*. 2013. V. 14(1). P. 2–10. <https://doi.org/10.2174/138920213804999174>
- Doorduyn A. S., de van der Schueren M. A.E., van de Rest O., de Leeuw F. A., Fieldhouse J. L.P., Kester M. I., Teunissen C. E., Scheltens P., van der Flier W. M., Visser M., Boesveldt S. Olfactory and gustatory functioning and food preferences of patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment compared to controls: the NUDAD project. *Journal of Neurology*. 2020. V. 267(1). P. 144–152. <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09561-0>
- Dotan A., Muller S., Kanduc D., David P., Halpert G., Shoenfeld Y. The SARS-CoV-2 as an instrumental trigger of autoimmunity. *Autoimmunity reviews*. 2021. V. 20(4). P. 102792. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2021.102792>
- Doty R. L. Office procedures for quantitative assessment of olfactory function. *American journal of rhinology*. 2007. V. 21(4). P. 460–473. <https://doi.org/10.2500/ajr.2007.21.3043>
- Dutta D., Karthik K., Holla V. V., Kamble N., Yadav R., Pal P. K., Mahale R. R. Olfactory bulb volume, olfactory sulcus depth in Parkinson's disease, atypical parkinsonism. *Movement Disorders Clinical Practice*. 2023. V. 10(5). P. 794–801. <https://doi.org/10.1002/mdc3.13733>
- Eichers E. R., Paylor R., Lewis R. A., Bi W., Lin X., Meehan T. P., Stockton D. W., Justice M. J., Lupski J. R. Phenotypic characterization of Bbs4 null mice reveals age-dependent penetrance and variable expressivity. *Human genetics*. 2006. V. 120. P. 211–226. <https://doi.org/10.1007/s00439-006-0197-y>
- Ellrichmann G., Blusch A., Fatoba O., Brunner J., Reick C., Hayardeny L., Hayden M., Sehr D., Winklhofer K. F., Saft C., Gold R. Laquinimod treatment in the R6/2 mouse model. *Scientific reports*. 2017. V. 7(1). P. 4947. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04990-1>
- Falkowski B., Chudziński M., Jakubowska E., Duda-Sobczak A. Association of olfactory function with the intensity of self-reported physical activity in adults with type 1 diabetes. *Pol Arch Intern Med*. 2017. V. 127(7–8). P. 476–480. <https://doi.org/10.20452/pamw.4073>
- Fan C., Wu Y., Rui X., Yang Y., Ling C., Liu S., Liu S., Wang Y. Animal models for COVID-19: advances, gaps and perspectives. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022. V. 7(1). P. 220. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01087-8>
- Fiani B., Quadri S. A., Cathel A., Farooqui M., Ramachandran A., Siddiqi I., Ghanchi H., Zafar A., Berman B. W., Siddiqi J. Esthesioneuroblastoma: a comprehensive review of diagnosis, management, and current treatment options. *World neurosurgery*. 2019. V. 126. P. 194–211. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.03.014>
- Flores-Cuadrado A., Saiz-Sanchez D., Mohedano-Moriano A., Lamas-Cenjor E., Leon-Olmo V.,

- Martinez-Marcos A., Ubeda-Bañon I. Astrogliosis and sexually dimorphic neurodegeneration and microgliosis in the olfactory bulb in Parkinson's disease. *NPJ Parkinson's Disease*. 2021. V. 7(1). P. 11. <https://doi.org/10.1038/s41531-020-00154-7>
- Franks K. H., Chuah M. I., King A. E., Vickers J. C. Connectivity of pathology: the olfactory system as a model for network-driven mechanisms of Alzheimer's disease pathogenesis. *Frontiers in aging neuroscience*. 2015. V. 7. P. 234. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00234>
- Fujita M., Ho G., Takamatsu Y., Wada R., Ikeda K., Hashimoto M. Possible Role of Amyloidogenic Evolvability in Dementia with Lewy Bodies: Insights from Transgenic Mice Expressing P123H β -Synuclein. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. V. 21(8). P. 2849. <https://doi.org/10.3390/ijms21082849>
- Gawenis L. R., Hodges C. A., McHugh D.R., Valerio D. M., Miron A., Cotton C. U., Liu J., Walker N. M., Strubberg A. M., Gillen A. E., Mutolo M. J., Kotzamanis G., Bosch J., Harris A., Drumm M. L., Clarke L. L. A BAC transgene expressing human CFTR under control of its regulatory elements rescues CFTR knockout mice. *Scientific Reports*. 2019. V. 9(1). P. 11828. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48105-4>
- Gascón C., Santaolalla F., Martínez A., Sánchez Del Rey A. Usefulness of the BAST-24 smell and taste test in the study of diabetic patients: a new approach to the determination of renal function. *Acta oto-laryngologica*. 2013. V. 133(4). P. 400–404. <https://doi.org/10.3109/00016489.2012.746471>
- Gaudel F., Stephan D., Landel V., Sicard G., Féron F., Guiraudie-Capraz G. Expression of the Cerebral Olfactory Receptors Olfr110/111 and Olfr544 Is Altered During Aging and in Alzheimer's Disease-Like Mice. *Mol Neurobiol*. 2018. V. 56. P. 2057–2072. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1196-4>
- Gheusi G. Behavioral Methods in Olfactory Research. *Encyclopedia of Neuroscience*. Berlin, Heidelberg. Springer, 2008. 4398 p. https://doi.org/10.1007/978-3-540-29678-2_590
- Gouveri E., Katotomichelakis M., Gouveris H., Danielides V., Maltezos E., Papanas N. Olfactory dysfunction in type 2 diabetes mellitus: an additional manifestation of microvascular disease? *Angiology*. 2014. V. 65(10). P. 869–876. <https://doi.org/10.1177/0003319714520956>
- Gruber A. D., Firsching T. C., Trimpert J., Dietert K. Hamster models of COVID-19 pneumonia reviewed: How human can they be? *Veterinary Pathology*. 2022. V. 59(4). P. 528–545. <https://doi.org/10.1177/03009858211057197>
- Guilbault C., Saeed Z., Downey G. P., Radzioch D. Cystic fibrosis mouse models. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2007. V. 36(1). P. 1–7. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2006-0184TR>
- Hardy J., Selkoe D. J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002. V. 297(5580). P. 353–356. <https://doi.org/10.1126/science.1072994>
- Howe de la Torre S., Parlatini V., Cortese S. Long-term central nervous system (CNS) consequences of COVID-19 in children. *Expert Review of Neurotherapeutics*. 2023. V. 23(8). P. 703–720. <https://doi.org/10.1080/14737175.2023.2239500>
- Hubbard P. S., Esiri M. M., Reading M., McShane R., Nagy Z. Alpha-synuclein pathology in the olfactory pathways of dementia patients. *Journal of anatomy*. 2007. V. 211(1). P. 117–124. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2007.00748.x>
- Hudson M. L., Kinnunen T., Cinar H. N., Chisholm A. D. C. elegans Kallmann syndrome protein KAL-1 interacts with syndecan and glypican to regulate neuronal cell migrations. *Developmental biology*. 2006. V. 294(2). P. 352–365. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2006.02.036>
- Huisman E., Uylings H. B.M., Hoogland P. V. A 100% increase of dopaminergic cells in the olfactory bulb may explain hyposmia in Parkinson's disease. *Movement disorders*. 2004. V. 19(6). P. 687–692. <https://doi.org/10.1002/mds.10713>
- Huisman E., Uylings H. B.M., Hoogland P. V. Gender-related changes in increase of dopaminergic neurons in the olfactory bulb of Parkinson's disease patients. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*. 2008. V. 23(10). P. 1407–1413. <https://doi.org/10.1002/mds.22009>
- Hummel T., Liu D. T., Müller C. A., Stuck B. A., Welge-Lüssen A., Hähner A. Olfactory Dysfunction: Etiology, Diagnosis, and Treatment. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2023. V. 120(9). P. 146. <https://doi.org/10.3238/arztebl.m2022.0411>
- Hüttenbrink K. B., Hummel T., Berg D., Gasser T., Hähner A. Olfactory dysfunction: common in later life and early warning of neurodegenerative disease. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2013. V. 110(1–2). P. 1. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2013.0001>
- Ishimaru T., Miwa T., Nomura M., Iwato M., Furukawa M. Reversible hyposmia caused by intracranial tumour. *The Journal of Laryngology & Otology*. 1999. V. 113(8). P. 750–753. <https://doi.org/10.1017/s0022215100145104>
- Jacobsen J. S., Wu C. C., Redwine J. M., Comery T. A., Arias R., Bowlby M., Martone R., Morrison J. H., Pangalos M. N., Reinhart P. H., Bloom F. E. Early-onset behavioral and synaptic deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103(13). P. 5161–5166. <https://doi.org/10.1073/pnas.0600948103>
- Jing Y., Qi C. C., Yuan L., Liu X. W., Gao L. P., Yin J. Adult neural stem cell dysfunction in the subventricular zone of the lateral ventricle leads to diabetic olfactory defects. *Neural Regeneration*

- Research*. 2017. V. 12(7). P. 1111–1118. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.211190>
- Jamain S., Radyushkin K., Hammerschmidt K., Granon S., Boretius S., Varoqueaux F., Ramanantsoa N., Gallego J., Ronnenberg A., Winter D., Frahm J., Fischer J., Bourgeron T., Ehrenreich H., Brose N. Reduced social interaction and ultrasonic communication in a mouse model of monogenic heritable autism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008. V. 105(5). P. 1710–1715. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711555105>
- Jimenez, R.C., Casajuana-Martin, N., García-Recio, A. Alcántara L., Pardo L., Campillo M., Gonzalez F. The mutational landscape of human olfactory G protein-coupled receptors. *BMC Biol*. 2021. V. 19. P. 21. <https://doi.org/10.1186/s12915-021-00962-0>
- Jiménez A., Organista-Juárez D., Torres-Castro A., Guzmán-Ruiz M.A, Estudillo E., Guevara-Guzmán R. Olfactory dysfunction in diabetic rats is associated with miR-146a overexpression and inflammation. *Neurochemical Research*. 2020. V. 45(8). P. 1781–1790. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03041-y>
- King A. J.F. The use of animal models in diabetes research. *British journal of pharmacology*. 2012. V. 166(3). P. 877–894. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.01911.x>
- Kohn D. F., Clifford C. B. Biology and diseases of rats. *Laboratory animal medicine*. 2002. P. 121–165. <https://doi.org/10.1016/B978-012263951-7/50007-7>
- Konnova E. A., Swanberg M. Animal models of Parkinson's disease. Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects. Brisbane. *Exon Publications*. 2018. P. 83–106. <https://doi.org/10.15586/codonpublications.parkinsonsdisease.2018.ch5>
- Kosenko P. O., Smolikov A. B., Voynov V. B., Shaposhnikov P. D., Saevskiy A. I., Kiroy V. N. Effect of Xylazine-Tiletamine-Zolazepam on the Local Field Potential of the Rat Olfactory Bulb. *Comp Med*. 2020 V. 70(6). P. 492–498. <https://doi.org/10.30802/AALAS-CM-20-990015>
- Kretschmer V., Patnaik S. R., Kretschmer F., Chawda M. M., Hernandez-Hernandez V., May-Simera H. L. Progressive characterization of visual phenotype in Bardet–Biedl syndrome mutant mice. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2019. V. 60(4). P. 1132–1143. <https://doi.org/10.1167/jovs.18-25210>
- Kulaga H. M., Patnaik S. R., Kretschmer F., Chawda M. M., Hernandez-Hernandez V., May-Simera H. L. Loss of BBS proteins causes anosmia in humans and defects in olfactory cilia structure and function in the mouse. *Nature genetics*. 2004. V. 36(9). P. 994–998. <https://doi.org/10.1038/ng1418>
- Le Floch J. P., Le Lièvre G., Labroue M., Paul M., Peynegre R., Perlemuter L. et al. Smell dysfunction and related factors in diabetic patients. *Diabetes care*. 1993. V. 16(6). P. 934–937. <https://doi.org/10.2337/diacare.16.6.934>
- Le Pichon C. E., Valley M.T, Polymenidou M., Chesler A. T., Sagdullaev B. T., Aguzzi A., Firestein S. Olfactory behavior and physiology are disrupted in prion protein knockout mice. *Nature neuroscience*. 2009. V. 12(1). P. 60–69. <https://doi.org/10.1038/nn.2238>
- Lewis J., Dickson D. W., Lin W. L., Chisholm L., Corral A., Jones G., Yen S. H., Sahara N., Skipper L., Yager D., Eckman C., Hardy J., Hutton M., McGowan E. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science*. 2001. V. 293(5534). P. 1487–1491. <https://doi.org/10.1126/science.1058189>
- Li F., Ponissery-Saidu S., Yee K. K., Wang H., Chen M. L., Iguchi N., Zhang G., Jiang P., Reisert J., Huang L. Heterotrimeric G protein subunit G γ 13 is critical to olfaction. *Journal of Neuroscience*. 2013. V. 33(18). P. 7975–7984. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5563-12.2013>
- Li J., Gu C. Z., Su J. B., Zhu L. H., Zhou Y., Huang H. Y., Liu C. F. Changes in olfactory bulb volume in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2016. V. 11(2). P. e0149286. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149286>
- Lietzau G., Davidsson W., Östenson C. G., Chiazza F., Nathanson D., Pintana H., Skogsberg J., Klein T., Nyström T., Darsalia V., Patrone C. Type 2 diabetes impairs odour detection, olfactory memory and olfactory neuroplasticity; effects partly reversed by the DPP-4 inhibitor Linagliptin. *Acta neuropathologica communications*. 2018. V. 6. P. 1–15. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0517-1>
- Luo A. H., Cannon E. H., Wekesa K. S., Lyman R. F., Vandenberg J. G., Anholt R. R. Impaired olfactory behavior in mice deficient in the α subunit of Go. *Brain research*. 2002. V. 941(1–2). P. 62–71. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(02\)02566-0](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(02)02566-0)
- Machado C. F., Reis-Silva T.M., Lyra C. S., Felicio L. F., Malnic B. Buried food-seeking test for the assessment of olfactory detection in mice. *Bio-protocol*. 2018. V. 8(12). P. e2897–e2897. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2897>
- Macknin J. B., Higuchi M., Lee V. M., Trojanowski J. Q., Doty R. L. Olfactory dysfunction occurs in transgenic mice overexpressing human τ protein. *Brain research*. 2004. V. 1000(1–2). P. 174–178. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.01.047>
- Mai Y., Klockow M., Haehner A., Hummel T. Self-assessment of olfactory function using the “Sniffin’Sticks”. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2023. V. 280(8). P. 1–13. <https://doi.org/10.1007/s00405-023-07872-7>
- Manan H. A., Yahya N., Han P., Hummel T. A. A systematic review of olfactory-related brain structural changes in patients with congenital or acquired anosmia. *Brain Structure and Function*.

2022. V. 227(1). P. 1–26. <https://doi.org/10.1007/s00429-021-02397-3>
- Mariman E. C., Vink R. G., Roumans N. J., Bouwman F. G., Stumpel C. T., Aller E. E., van Baak M. A., Wang P. The cilium: a cellular antenna with an influence on obesity risk. *British Journal of Nutrition*. 2016. V. 116(4). P. 576–592. <https://doi.org/10.1017/S0007114516002282>
- Martin C., Gervais R., Hugues E., Messaoudi B., Ravel N. Learning Modulation of Odor-Induced Oscillatory Responses in the Rat Olfactory Bulb: A Correlate of Odor Recognition? *J. Neurosci*. 2004. V. 24. P. 389–397. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3433-03.2004>
- Masurkar A. V., Devanand D. P. Olfactory dysfunction in the elderly: basic circuitry and alterations with normal aging and Alzheimer’s disease. *Current geriatrics reports*. 2014. V. 3. P. 91–100. <https://doi.org/10.1007/s13670-014-0080-y>
- Mathis S., Le Masson G., Soulages A., Duval F., Carla L., Vallat J. M., Solé G. Olfaction and anosmia: From ancient times to COVID-19. *Journal of the Neurological Sciences*. 2021. V. 425. P. 117433. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2021.117433>
- Mayer S. K., Thomas J., Helms M., Kothapalli A., Cherascu I., Salesevic A., Stalter E., Wang K., Datta P., Searby C., Seo S., Hsu Y., Bhattarai S., Sheffield V. C., Drack A. V. Progressive retinal degeneration of rods and cones in a Bardet-Biedl syndrome type 10 mouse model. *Disease Models & Mechanisms*. 2022. V. 15(9). P. dmm049473. <https://doi.org/10.1242/dmm.049473>
- McCarron A., Parsons D., Donnelley M. Animal and cell culture models for cystic fibrosis: which model is right for your application? *The American Journal of Pathology*. 2021. V. 191(2). P. 228–242. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2020.10.017>
- McHugh D.R., Steele M. S., Valerio D. M., Miron A., Mann R. J., LePage D.F., Conlon R. A., Cotton C. U., Drumm M. L., Hodges C. A. A G542X cystic fibrosis mouse model for examining nonsense mutation directed therapies. *PLoS One*. 2018. V. 13(6). P. e0199573. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199573>
- McShane R.H., Nagy Z., Esiri M. M., King E., Joachim C., Sullivan N., Smith A. D. Anosmia in dementia is associated with Lewy bodies rather than Alzheimer’s pathology. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2001. V. 70(6). P. 739–743. <https://doi.org/10.1136/jnnp.70.6.739>
- Melluso A., Secondulfo F., Capolongo G., Capasso G., Zacchia M. Bardet-Biedl Syndrome: Current Perspectives and Clinical Outlook. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2023. V. 19. P. 115–132. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S338653>
- Meredith T. L., Caprio J., Kajiura S. M. Sensitivity and specificity of the olfactory epithelia of two elasmobranch species to bile salts. *J. Exp. Biol*. 2012. V. 215. P. 2660–2667. <https://doi.org/10.1242/jeb.066241>
- Mitrano D. A., Houle S. E., Pearce P., Quintanilla R. M., Lockhart B. K., Genovese B. C., Schendzielos R. A., Croushore E. E., Dymond E. M., Bogenpohl J. W., Grau H. J., Webb L. S. Olfactory dysfunction in the 3xTg-AD model of Alzheimer’s disease. *IBRO Neuroscience Reports*. 2021. V. 10. P. 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2020.12.004>
- Mundiñano I. C., Caballero M. C., Ordóñez C., Hernandez M., DiCauldo C., Marcilla I., Erro M. E., Tuñon M. T., Luquin M. R. Increased dopaminergic cells and protein aggregates in the olfactory bulb of patients with neurodegenerative disorders. *Acta neuropathologica*. 2011. V. 122. P. 61–74. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0830-2>
- Murcia-Belmonte V., Tercero-Díaz M., Barrasa-Martín D., López de la Vieja S., Muñoz-López M., Esteban P. F. Anosmin 1 N-terminal domains modulate prokineticin receptor 2 activation by prokineticin 2. *Cellular Signalling*. 2022. V. 98. P. 110417. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2022.110417>
- Murphy C. Olfactory and other sensory impairments in Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*. 2019. V. 15(1). P. 11–24. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0097-5>
- Nakazawa A., Nakazawa H., Kaji S., Ishii S. Oscillatory Electric Potential on the Olfactory Epithelium Observed during the Breeding Migration Period in the Japanese Toad, *Bufo japonicus*. *Zoological Sciences*. 2000. V. 17. P. 293–300. <https://doi.org/10.2108/jzs.17.293>
- Neff E. P. A natural macaque model of Bardet-Biedl appears in Oregon. *Lab Animal*. 2020. V. 49(1). P. 17–17. <https://doi.org/10.1038/s41684-019-0449-9>
- Neuner S. M., Heuer S. E., Huentelman M. J., O’Connell K.M.S., Kaczorowski C. C. Harnessing genetic complexity to enhance translatability of Alzheimer’s disease mouse models: a path toward precision medicine. *Neuron*. 2019. V. 101(3). P. 399–411. e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.11.040>
- Nigro P., Chiappiniello A., Simoni S., Paolini Paoletti F., Cappelletti G., Chiarini P., Filidei M., Eusebi P., Guercini G., Santangelo V., Tarducci R., Calabresi P., Parnetti L., Tambasco N. Changes of olfactory tract in Parkinson’s disease: a DTI tractography study. *Neuroradiology*. 2021. V. 63. P. 235–242. <https://doi.org/10.1007/s00234-020-02551-4>
- Nishimura D. Y., Fath M., Mullins R. F., Searby C., Andrews M., Davis R., Andorf J. L., Mykytyn K., Swiderski R. E., Yang B., Carmi R., Stone E. M., Sheffield V. C. Bbs2-null mice have neurosensory deficits, a defect in social dominance, and retinopathy associated with mislocalization of rhodopsin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004. V. 101(47). P. 16588–16593. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408165101>

- Oakley H., Cole S. L., Logan S., Maus E., Shao P., Craft J., Guillozet-Bongaarts A., Ohno M., Disterhoft J., Van Eldik L., Berry R., Vassar R. Intraneuronal β -amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. *Journal of Neuroscience*. 2006. V. 26(40). P. 10129–10140. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1202-06.2006>
- Oddo S., Caccamo A., Shepherd J. D., Murphy M. P., Golde T. E., Kaye R., Metherate R., Mattson M. P., Akbari Y., LaFerla F. M. Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular A β and synaptic dysfunction. *Neuron*. 2003. V. 39(3). P. 409–421. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00434-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00434-3)
- Olichney J. M., Murphy C., Hofstetter C. R., Foster K., Hansen L. A., Thal L. J., Katzman R. Anosmia is very common in the Lewy body variant of Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2005. V. 76(10). P. 1342–1347. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2003.032003>
- Pak T. K., Carter C. S., Zhang Q., Huang S. C., Searby C., Hsu Y., Taugher R. J., Vogel T., Cychosz C. C., Genova R., Moreira N. N., Stevens H., Wemmie J. A., Pieper A. A., Wang K., Sheffield V. C. A mouse model of Bardet-Biedl Syndrome has impaired fear memory, which is rescued by lithium treatment. *PLoS genetics*. 2021. V. 17(4). P. e1009484. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009484>
- Patino J., Karagas N. E., Chandra S., Thakur N., Stimming E. F. Olfactory dysfunction in Huntington's disease. *Journal of Huntington's disease*. 2021. V. 10(4). P. 413–422. <https://doi.org/10.3233/JHD-210497>
- Patt Y. S., Fisher L., David P., Bergwerk M., Shoenfeld Y. Autoimmunity, COVID-19 Omicron Variant, and Olfactory Dysfunction: A Literature Review. *Diagnostics*. 2023. V. 13(4). P. 641. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13040641>
- Pearce R. K.B., Hawkes C. H., Daniel S. E. The anterior olfactory nucleus in Parkinson's disease. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*. 1995. V. 10(3). P. 283–287. <https://doi.org/10.1002/mds.870100309>
- Peterson S. M., McGill T.J., Puthussery T., Stoddard J., Renner L., Lewis A. D., Colgin L. M.A., Gayet J., Wang X., Prongay K., Cullin C., Dozier B. L., Ferguson B., Neuringer M. Bardet-Biedl Syndrome in rhesus macaques: A nonhuman primate model of retinitis pigmentosa. *Experimental eye research*. 2019. V. 189. P. 107825. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.107825>
- Piiponniemi T. O., Parkkari T., Heikkinen T., Puoliväli J., Park L. C., Cachope R., Kopanitsa M. V. Impaired performance of the Q175 mouse model of Huntington's disease in the touch screen paired associates learning task. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2018. V. 12. P. 226. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00226>
- Pouladi M. A., Morton A. J., Hayden M. R. Choosing an animal model for the study of Huntington's disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2013. V. 14(10). P. 708–721. <https://doi.org/10.1038/nrn3570>
- Prediger R. D., Aguiar A. S. Jr, Rojas-Mayorquin A.E., Figueiredo C. P., Matheus F. C., Ginestet L., Chevarin C., Bel E. D., Mongeau R., Hamon M., Lanfumey L., Raisman-Vozari R. Single intranasal administration of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine in C57BL/6 mice models early preclinical phase of Parkinson's disease. *Neurotoxicity research*. 2010. V. 17. P. 114–129. <https://doi.org/10.1007/s12640-009-9087-0>
- Rasmussen V. F., Rasmussen D., Thrysoe M., Karlsson P., Madsen M., Kristensen K., Nyengaard J. R., Terkelsen A. J., Vestergaard E. T., Ovesen T. Cranial Nerve Affection in Adolescents with Type 1 Diabetes Assessed by Corneal Confocal Microscopy, Smell and Taste Tests. *Pediatric Diabetes*. 2023. V. 2023. P. 2709361. <https://doi.org/10.1155/2023/2709361>
- Rödiger N., Sellmann K., Dos Santos Guilherme M., Nguyen V. T.T., Cleppien D., Stroh A., May-Simera H.L., Endres K. Behavioral Phenotyping of Bbs6 and Bbs8 Knockout Mice Reveals Major Alterations in Communication and Anxiety. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. V. 23(23). P. 14506. <https://doi.org/10.3390/ijms232314506>
- Rodríguez-Jiménez J.C., Moreno-Paz F.J., Terán L. M., Guaní-Guerra E. Aspirin exacerbated respiratory disease: current topics and trends. *Respiratory medicine*. 2018. V. 135. P. 62–75. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2018.01.002>
- Rolen S. H., Caprio J. Bile salts are effective taste stimuli in channel catfish. *J. Exp. Biol.* 2008. V. 211. P. 2786–2791. <https://doi.org/10.1242/jeb.018648>
- Rosen B. H., Chanson M., Gawenis L. R., Liu J., Sofoluwe A., Zoso A., Engelhardt J. F. Animal and model systems for studying cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2018. T. 17(2). P. S28–S34. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2017.09.001>
- Rugarli E. I., Di Schiavi E., Hilliard M. A., Arbucci S., Ghezzi C., Faccioli A., Coppola G., Ballabio A., Bazzicalupo P. The Kallmann syndrome gene homolog in *C. elegans* is involved in epidermal morphogenesis and neurite branching. *Development and Diseases*. 2002. V.129(5). P. 1283–1294. <https://doi.org/10.1242/dev.129.5.1283>
- Schmachtenberg O. Histological and electrophysiological properties of crypt cells from the olfactory epithelium of the marine teleost *Trachurus symmetricus*. *J Comp Neurol* 2006. V. 495(1). P. 113–121. <https://doi.org/10.1002/cne.20847>
- Shu M., Wu H., Wei S., Shi Y., Li Z., Cheng Y., Fang L., Xu C. Identification and Functional Characterization of a Novel Variant in the SEMA3A Gene in a Chinese Family with Kallmann Syndrome. *International*

- Journal of Endocrinology*. 2022. V. 2022. P. 2504660. <https://doi.org/10.1155/2022/2504660>
- Slotnick B., Coppola D. M. Odor-cued taste avoidance: a simple and robust test of mouse olfaction. *Chemical Senses*. 2015. V. 40(4). P. 269–278. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjv005>
- Spielman D. B., Overdevest J., Gudis D. A. Olfactory outcomes in the management of aspirin exacerbated respiratory disease related chronic rhinosinusitis. *World Journal of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2020. V. 6(4). P. 207–213. <https://doi.org/10.1016/j.wjorl.2020.07.001>
- Su C. Y., Menuz K., Carlson J. R. Olfactory perception: receptors, cells, and circuits. *Cell*. 2009. V. 139(1). P. 45–59. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.09.015>
- Taguchi T., Ikuno M., Hondo M., Parajuli L. K., Taguchi K., Ueda J., Sawamura M., Okuda S., Nakanishi E., Hara J., Uemura N., Hatanaka Y., Ayaki T., Matsuzawa S., Tanaka M., El-Agnaf O.M.A., Koike M., Yanagisawa M., Uemura M. T., Yamakado H., Takahashi R. β -Synuclein BAC transgenic mice exhibit RBD-like behaviour and hyposmia: a prodromal Parkinson's disease model. *Brain*. 2020. V. 143(1). P. 249–265. <https://doi.org/10.1093/brain/awz380>
- Taniguchi M., Mitsui C., Hayashi H., Ono E., Kajiura K., Mita H., Watai K., Kamide Y., Fukutomi Y., Sekiya K., Higashi N. Aspirin-exacerbated respiratory disease (AERD): Current understanding of AERD. *Allergy International*. 2019. V. 68(3). P. 289–295. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2019.05.001>
- Tarakad A., Jankovic J. Anosmia and ageusia in Parkinson's disease. *International review of neurobiology*. 2017. V. 133. P. 541–556. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2017.05.028>
- Tchekmedyan R., Lundberg M., Buchheit K. M., Maurer R., Gakpo D., Mullur J., Bensko J. C., Laidlaw T. M. Loss of smell in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease impacts mental health and quality of life. *Clinical & Experimental Allergy*. 2022. V. 52(12). P. 1414–1421. <https://doi.org/10.1111/cea.14157>
- Torres-Pasillas G., Chi-Castañeda D., Carrillo-Castilla P., Marín G., Hernández-Aguilar M.E., Aranda-Abreu G.E., Manzo J., García L. I. Olfactory Dysfunction in Parkinson's Disease, Its Functional and Neuroanatomical Correlates. *NeuroSci*. 2023. V. 4(2). P. 134–151. <https://doi.org/10.3390/neurosci4020013>
- Tricas T. C., Kajiura S. M., Summers A. P. Response of the hammerhead shark olfactory epithelium to amino acid stimuli. *J. Comp. Physiol.* 2009. V. 195. P. 947–954. <https://doi.org/10.1007/s00359-009-0470-3>
- Van Raamsdonk J. M., Warby S. C., Hayden M. R. Selective degeneration in YAC mouse models of Huntington disease. *Brain research bulletin*. 2007. V. 72(2–3). P. 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2006.10.018>
- Várkonyi T., Körei A., Putz Z., Kempler P. Olfactory dysfunction in diabetes: a further step in exploring central manifestations of neuropathy? *Angiology*. 2014. V. 65(10). P. 857–860. <https://doi.org/10.1177/0003319714526971>
- Waguespack R. W. Congenital Anosmia. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 1992. V. 118(1). P. 10. <https://doi.org/10.1001/archotol.1992.01880010012002>
- Wakabayashi T., Hidaka R., Fujimaki S., Asashima M., Kuwabara T. Diabetes impairs Wnt3 protein-induced neurogenesis in olfactory bulbs via glutamate transporter 1 inhibition. *Journal of Biological Chemistry*. 2016. V. 291(29). P. 15196–15211. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.672857>
- Wangberg H., White A. A. Aspirin-exacerbated respiratory disease. *Current opinion in immunology*. 2020. V. 66. P. 9–13. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2020.02.006>
- Weber E. M., Olsson I. A.S. Maternal behavior in *Mus musculus* sp.: an ethological review. *Applied Animal Behavior Science*. 2008. V. 114(1–2). P. 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2008.06.006>
- Weinstock R. S., Wright H. N., Smith D. U. Olfactory dysfunction in diabetes mellitus. *Physiology & behavior*. 1993. V. 53(1). P. 17–21. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(93\)90005-z](https://doi.org/10.1016/0031-9384(93)90005-z)
- Wilson R. S., Arnold S. E., Schneider J. A., Tang Y., Bennett D. A. The relationship between cerebral Alzheimer's disease pathology and odour identification in old age. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2007. V. 78(1). P. 30–35. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2006.099721>
- Witt R. M., Galligan M. M., Despinoy J. R., Segal R. Olfactory behavioral testing in the adult mouse. *Journal of Visualized Experiments*. 2009. V. 23. P. e949. <https://doi.org/10.3791/949>
- Yahyaiepour H., Ganji F., Sepehri H., Nazari Z. The effect of type 2 diabetes on the olfactory bulb structure of Wistar rats. *Nova Biologica Reperta*. 2023. V. 10(1). P. 11–16.
- Yang J., Pinto J. M. The epidemiology of olfactory disorders. *Current otorhinolaryngology reports*. 2016. V. 4(2). P. 130–141. <https://doi.org/10.1007/s40136-016-0120-6>
- Yang M., Crawley J. N. Simple behavioral assessment of mouse olfaction. *Current protocols in neuroscience*. 2009. V. 48(1). P. 8.24.1–8.24.12. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0824s48>
- Yu Q., Cai Z., Li C., Xiong Y., Yang Y., He S., Tang H., Zhang B., Du S., Yan H., Chang C., Wang N. A novel Spectrum contrast mapping method for functional magnetic resonance imaging data analysis. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2021. V. 15. P. 739668. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2021.739668>
- Zaghloul H., Pallayova M., Al-Nuaimi O., Hovis K. R., Taheri S. Association between diabetes mellitus and olfactory dysfunction: current perspectives and future

- directions. *Diabetic Medicine*. 2018. V. 35(1). P. 41–52. <https://doi.org/10.1111/dme.13542>
- Zapiec B., Dieriks B. V., Tan S., Faull R. L. M., Mombaerts P., Curtis M. A. A ventral glomerular deficit in Parkinson's disease revealed by whole olfactory bulb reconstruction. *Brain*. 2017. V. 140(10). P. 2722–2736. <https://doi.org/10.1093/brain/awx208>
- Zhang C., Hara T. J. Lake char (*Salvelinus namaycush*) olfactory neurons are highly sensitive and specific to bile acids. *J. Comp. Physiol.* 2009. A 195. P. 203–215. <https://doi.org/10.1007/s00359-008-0399-y>
- Zhao Y., He Y., He R., Zhou Y., Pan H., Zhou X., Zhu L., Zhou X., Liu Z., Xu Q., Sun Q., Tan J., Yan X., Tang B., Guo J. The discriminative power of different olfactory domains in Parkinson's disease. *Frontiers in neurology*. 2020. V. 11. P. 420. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00420>
- Zheng J., Wong L. R., Li K., Verma A. K., Ortiz M. E., Wohlford-Lenane C., Leidinger M. R., Knudson C. M., Meyerholz D. K., McCray P. B. Jr, Perlman S. COVID-19 treatments and pathogenesis including anosmia in K18-hACE2 mice. *Nature*. 2021. V. 589(7843). P. 603–607. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2943-z>
- Ziuzia-Januszevska L., Januszevski M. Pathogenesis of olfactory disorders in COVID-19. *Brain Sciences*. 2022. V. 12(4). P. 449. <https://doi.org/10.3390/brainsci12040449>
- Zou J., Wang W., Pan Y. W., Lu S., Xia Z. Methods to measure olfactory behavior in mice. *Current protocols in toxicology*. 2015. V. 63(1). P. 11.18. 1–11.18.21. <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx1118s63>
- Zou Y. M., Lu D., Liu L. P., Zhang H. H., Zhou Y. Y. Olfactory dysfunction in Alzheimer's disease. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2016. V.12. P. 869–875. <https://doi.org/10.2147/NDT.S104886>

Problems of diagnostics of dysfunctions of the olfactory analyzer of laboratory animals on the basis of behavioral and electrophysiological methods of research

A. V. Gorskaya^a, D. S. Vasilev^{a,#}

^a*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the RAS
194223, Saint Petersburg, Thorez, 44, Russia*

[#]*E-mail: dvasilyev@bk.ru*

Olfactory impairment (decreased acuity, impaired adequate identification of odorants) reduces the quality of life of patients and can be a symptom of a wide range of pathologies of the organism, in particular neurodegenerative processes in the brain. Quantitative measurement of olfactory acuity is necessary for diagnostics of olfactory dysfunctions, monitoring the dynamics of olfaction after pharmacological or surgical treatment. The searching for optimal methods of analyzing olfactory thresholds on animal models of human diseases accompanied by anosmia and comparing them with those in humans seems to be especially urgent problem at the moment. This is necessary for the selection of a valid animal model for the evaluation of new drugs and development the therapy for a wide range of pathologies.

The review analyzes publications devoted to the study of diseases accompanied by anosmia or hyposmia, their zootropic models, and methods of olfactory function assessment. Models for COVID19, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, diabetes types (1 and 2 type), Kalman syndrome, and Bardet-Biedl syndrome, for which olfactory dysfunction and/or defects of olfactory system are present, were analyzed. The review notes the paucity of data on the measurement of olfactory thresholds in model animals.

Key words: anosmia, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, diabetes, COVID-19

REFERENCES

- Abrams K. L., Ward D. A., Sabiniewicz A., Hummel T. Olfaction evaluation in dogs with sudden acquired retinal degeneration syndrome. *Veterinary Ophthalmology*. 2023. Epub ahead of print. PMID: 37399129. <https://doi.org/10.1111/vop.13121>
- Andrea X. P., Joceline L. M. Jose O. F. Jose P. O. Human Nasal Epithelium Damage as the Probable Mechanism Involved in the Development of Post-COVID-19 Parosmia. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. 2023. V. 75(1). P. 458–464. <https://doi.org/10.1007/s12070-023-03559-x>
- Aragao M. F. V.V., Leal M. C., Filho O. Q.C., Fonseca T. M., Aragao L. V., Leao M. R.V.C., Valenca M. A., Andrade P. H.P., Aragao J. P.V., Neto S. S.C., Valenca M. M. Comparative study—the impact and profile of COVID-19 patients who are indicated for neuroimaging: vascular phenomena are been found in the brain and olfactory bulbs. *Medrxiv*. 2021. P. 2020.12.28.20248957. <https://doi.org/10.1101/2020.12.28.20248957>
- Arbuckle E. P., Smith G. D., Gomez M. C., Lugo J. N. Testing for odor discrimination and habituation in mice. *Journal of Visualized Experiments*. 2015. V. 99. P. e52615. <https://doi.org/10.3791/52615>
- Aydin S., Aksoy A., Aydin S., Kalayci M., Yilmaz M., Kuloglu T., Citil C., Catak Z. Today's and yesterday's of pathophysiology: biochemistry of metabolic syndrome and animal models. *Nutrition*. 2014. V. 30(1). P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.05.013>
- Baum M. J. Contribution of pheromones processed by the main olfactory system to mate recognition in female mammals. *Frontiers in neuroanatomy*. 2012. V. 6. P. 20. <https://doi.org/10.3389/fnana.2012.00020>
- Beshel J., Kopell N., Kay L. M. Olfactory bulb gamma oscillations are enhanced with task demands. *Journal of Neuroscience*. 2007. V. 27(31). P. 8358–8365. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1199-07.2007>
- Boesveldt S., Postma E. M., Boak D., Welge-Luessen A., Schöpf V., Mainland J. D., Martens J., Ngai J., Duffy V. B. Anosmia — a clinical review. *Chemical senses*. 2017. V. 42(7). P. 513–523. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjx025>
- Borghammer P., Just M. K., Horsager J., Skjærbaek C., Raunio A., Kok E. H., Savola S., Murayama S., Saito Y., Myllykangas L., Van Den Berge N. A postmortem study suggests a revision of the dual-hit hypothesis of Parkinson's disease. *NPJ Parkinson's Disease*. 2022. V. 8(1). P. 166. <https://doi.org/10.1038/s41531-022-00436-2>
- Braak H., Braak E. Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiology of aging*. 1997. V. 18(4). P. 351–357. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(97\)00056-0](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(97)00056-0)
- Braak H., Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta neuropathologica*. 1991. V. 82(4). P. 239–259. <https://doi.org/10.1007/BF00308809>
- Braak H., Braak E. The human entorhinal cortex: normal morphology and lamina-specific pathology in various diseases. *Neuroscience research*. 1992. V. 15(1–2). P. 6–31. [https://doi.org/10.1016/0168-0102\(92\)90014-4](https://doi.org/10.1016/0168-0102(92)90014-4)
- Braak H., Del Tredici K., Rüb U., de Vos R. A., Jansen Steur E. N., Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of aging*. 2003. V. 24(2). P. 197–211. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(02\)00065-9](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(02)00065-9)
- Bryce B., St Albin A., Murri S., Lacôte S., Pulido C., Ar Gouilh M., Lesellier S., Servat A., Wasniewski M., Picard-Meyer E., Monchatre-Leroy E., Volmer R., Rampin O., Le Goffic R., Marianneau P., Meunier N. Massive transient damage of the olfactory epithelium associated with infection of sustentacular cells by SARS-CoV-2 in golden Syrian hamsters. *Brain, behavior, and immunity*. 2020. V. 89. P. 579–586. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.06.032>
- Butowt R., Bilinska K., von Bartheld C. S. Olfactory dysfunction in COVID-19: New insights into the underlying mechanisms. *Trends in Neurosciences*. 2023. V. 46(1). P. 75–90. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2022.11.003>
- Cave J. W., Fujiwara N., Weibman A. R., Baker H. Cytoarchitectural changes in the olfactory bulb of Parkinson's disease patients. *NPJ Parkinson's disease*. 2016. V. 2(1). P. 1–3. <https://doi.org/10.1038/npjparkd.2016.11>
- Christen-Zaech S., Kraftsik R., Pillevuit O., Kiraly M., Martins R., Khalili K., Miklossy J. Early olfactory involvement in Alzheimer's disease. *Canadian Journal of Neurological Sciences*. 2003. V. 30(1). P. 20–25. <https://doi.org/10.1017/s0317167100002389>
- Chu H., Chan J. F.W., Yuen K. Y. Animal models in SARS-CoV-2 research. *Nature Methods*. 2022. V. 19(4). P. 392–394. <https://doi.org/10.1038/s41592-022-01447-w>
- Cisneros-Larios B., Elias C. F. Sex differences in the coexpression of prokineticin receptor 2 and gonadal steroids receptors in mice. *Frontiers in Neuroanatomy*. 2023. V. 16. P. 1057727. <https://doi.org/10.3389/fnana.2022.1057727>
- Claire M., Christine, F.N., Terry L. J. Left hippocampal volume loss in Alzheimer's disease is reflected in performance on odor identification: a structural MRI study. *Journal of the International Neuropsychological Society*. 2003. V. 9(3). P. 459–471. <https://doi.org/10.1017/S1355617703930116>
- Cooper K. W., Brann D. H., Farruggia M. C., Bhutani S., Pellegrino R., Tsukahara T., Weinreb C., Joseph P. V., Larson E. D., Parma V., Albers M. W., Barlow L. A., Datta S. R., Di Pizio A. COVID-19 and the chemical senses: supporting players take center stage. *Neuron*. 2020. V. 107(2). P. 219–233. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.06.032>

- Coronas-Samano G., Ivanova A. V., Verhagen J. V. The habituation/cross-habituation test revisited: guidance from sniffing and video tracking. *Neural plasticity*. 2016. V. 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9131284>
- David P., Malkova A. Anosmia in COVID-19 and post-COVID syndrome. *Autoimmunity, COVID-19, Post-COVID19 Syndrome and COVID-19 Vaccination*. Academic Press. 2023. P. 487–494. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18566-3.00010-4>
- Davidson T. M., Murphy C., Jalowayski A. A. Smell impairment: can it be reversed? *Postgraduate medicine*. 1995. V. 98(1). P. 107–118. <https://doi.org/10.1080/0325481.1995.11946020>
- Davis R. E., Swiderski R. E., Rahmouni K., Nishimura D. Y., Mullins R. F., Agassandian K., Philp A. R., Searby C. C., Andrews M. P., Thompson S., Berry C. J., Thedens D. R., Yang B., Weiss R. M., Cassell M. D., Stone E. M., Sheffield V. C. A knockin mouse model of the Bardet–Biedl syndrome 1 M390R mutation has cilia defects, ventriculomegaly, retinopathy, and obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007. V. 104(49). P. 19422–19427. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708571104>
- Deer J., Koska J., Ozias M., Reaven P. Dietary models of insulin resistance. *Metabolism*. 2015. V. 64(2). P. 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.08.013>
- Del Tredici K., Rüb U., De Vos R. A., Bohl J. R., Braak H. Where does Parkinson disease pathology begin in the brain? *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2002. V. 61(5). P. 413–426. <https://doi.org/10.1093/jnen/61.5.413>
- Di Lullo A. M., Iacotucci P., Comegna M., Amato F., Dolce P., Castaldo G., Cantone E., Carnovale V., Iengo M. Cystic fibrosis: the sense of smell. *American Journal of Rhinology & Allergy*. 2020. V. 34(1). P. 35–42. <https://doi.org/10.1177/1945892419870450>
- Di Schiavi E., Andrenacci D. Invertebrate models of Kallmann syndrome: molecular pathogenesis and new disease genes. *Current genomics*. 2013. V. 14(1). P. 2–10. <https://doi.org/10.2174/138920213804999174>
- Doorduyn A. S., de van der Schueren M. A.E., van de Rest O., de Leeuw F. A., Fieldhouse J. L.P., Kester M. I., Teunissen C. E., Scheltens P., van der Flier W. M., Visser M., Boesveldt S. Olfactory and gustatory functioning and food preferences of patients with Alzheimer’s disease and mild cognitive impairment compared to controls: the NUDAD project. *Journal of Neurology*. 2020. V. 267(1). P. 144–152. <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09561-0>
- Dotan A., Muller S., Kanduc D., David P., Halpert G., Shoenfeld Y. The SARS-CoV-2 as an instrumental trigger of autoimmunity. *Autoimmunity reviews*. 2021. V. 20(4). P. 102792. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2021.102792>
- Doty R. L. Office procedures for quantitative assessment of olfactory function *American journal of rhinology*. 2007. V. 21(4). P. 460–473. <https://doi.org/10.2500/ajr.2007.21.3043>
- Dubrovskaja N. M., Vasil’ev D.S., Tumanova N. L., Alekseeva O. S., Nalivaeva N. N. *Prenatal’naya gipoksiya narushaet obonyatel’nyuyu funkciyu v postnatal’nom ontogeneze krysa* [Prenatal hypoxia disturbs olfactory function in postnatal ontogenesis of rats]. *Zhurnal vysshej nervnoj dejatel’nosti im. I. P. Pavlova* [I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity]. 2021. V. 71(3). P. 415–427 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0044467721030035>
- Dutta D., Karthik K., Holla V. V., Kamble N., Yadav R., Pal P. K., Mahale R. R. Olfactory bulb volume, olfactory sulcus depth in Parkinson’s disease, atypical parkinsonism. *Movement Disorders Clinical Practice*. 2023. V. 10(5). P. 794–801. <https://doi.org/10.1002/mdc3.13733>
- Eichers E. R., Paylor R., Lewis R. A., Bi W., Lin X., Meehan T. P., Stockton D. W., Justice M. J., Lupski J. R. Phenotypic characterization of Bbs4 null mice reveals age-dependent penetrance and variable expressivity. *Human genetics*. 2006. V. 120. P. 211–226. <https://doi.org/10.1007/s00439-006-0197-y>
- Ellrichmann G., Blusch A., Fatoba O., Brunner J., Reick C., Hayardeny L., Hayden M., Sehr D., Winklhofer K. F., Saft C., Gold R. Laquinimod treatment in the R6/2 mouse model. *Scientific reports*. 2017. V. 7(1). P. 4947. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04990-1>
- Falkowski B., Chudziński M., Jakubowska E., Duda-Sobczak A. Association of olfactory function with the intensity of self-reported physical activity in adults with type 1 diabetes. *Pol Arch Intern Med*. 2017. V. 127(7–8). P. 476–80. <https://doi.org/10.20452/pamw.4073>
- Fan C., Wu Y., Rui X., Yang Y., Ling C., Liu S., Liu S., Wang Y. Animal models for COVID-19: advances, gaps and perspectives. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022. V. 7(1). P. 220. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01087-8>
- Fiani B., Quadri S. A., Cathel A., Farooqui M., Ramachandran A., Siddiqi I., Ghanchi H., Zafar A., Berman B. W., Siddiqi J. Esthesioneuroblastoma: a comprehensive review of diagnosis, management, and current treatment options. *World neurosurgery*. 2019. V. 126. P. 194–211. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.03.014>
- Flores-Cuadrado A., Saiz-Sanchez D., Mohedano-Moriano A., Lamas-Cenjor E., Leon-Olmo V., Martinez-Marcos A., Ubeda-Bañon I. Astroglial and sexually dimorphic neurodegeneration and microglial in the olfactory bulb in Parkinson’s disease. *NPJ Parkinson’s Disease*. 2021. V. 7(1). P. 11. <https://doi.org/10.1038/s41531-020-00154-7>
- Franks K. H., Chuah M. I., King A. E., Vickers J. C. Connectivity of pathology: the olfactory system as a model for network-driven mechanisms of Alzheimer’s disease pathogenesis. *Frontiers in aging neuroscience*.

2015. V. 7. P. 234. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00234>
- Fujita M., Ho G., Takamatsu Y., Wada R., Ikeda K., Hashimoto M. Possible Role of Amyloidogenic Evolvability in Dementia with Lewy Bodies: Insights from Transgenic Mice Expressing P123H β -Synuclein. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. V. 21(8). P. 2849. <https://doi.org/10.3390/ijms21082849>
- Gascón C., Santaolalla F., Martínez A., Sánchez Del Rey A. Usefulness of the BAST-24 smell and taste test in the study of diabetic patients: a new approach to the determination of renal function. *Acta oto-laryngologica*. 2013. V. 133(4). P. 400–404. <https://doi.org/10.3109/00016489.2012.746471>
- Gaudel F., Stephan D., Landel V., Sicard G., Féron F., Guiraudie-Capraz G. Expression of the Cerebral Olfactory Receptors Olfr110/111 and Olfr544 Is Altered During Aging and in Alzheimer's Disease-Like Mice. *Mol Neurobiol* 2018. V. 56. P. 2057–2072. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1196-4>
- Gawenis L. R., Hodges C. A., McHugh D.R., Valerio D. M., Miron A., Cotton C. U., Liu J., Walker N. M., Strubberg A. M., Gillen A. E., Mutolo M. J., Kotzamanis G., Bosch J., Harris A., Drumm M. L., Clarke L. L. A BAC transgene expressing human CFTR under control of its regulatory elements rescues CFTR knockout mice. *Scientific Reports*. 2019. V. 9(1). P. 11828. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48105-4>
- Gheusi G. Behavioral Methods in Olfactory Research. *Encyclopedia of Neuroscience*. Berlin, Heidelberg. Springer, 2008. 4398 p. https://doi.org/10.1007/978-3-540-29678-2_590
- Gouveri E., Katotomichelakis M., Gouveris H., Danielides V., Maltezos E., Papanas N. Olfactory dysfunction in type 2 diabetes mellitus: an additional manifestation of microvascular disease? *Angiology*. 2014. V. 65(10). P. 869–876. <https://doi.org/10.1177/0003319714520956>
- Gruber A. D., Firsching T. C., Trimpert J., Dietert K. Hamster models of COVID-19 pneumonia reviewed: How human can they be? *Veterinary Pathology*. 2022. V. 59(4). P. 528–545. <https://doi.org/10.1177/03009858211057197>
- Guilbault C., Saeed Z., Downey G. P., Radzioch D. Cystic fibrosis mouse models. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2007. V. 36(1). P. 1–7. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2006-0184TR>
- Gvazava I. G., Karimova M. V., Vasil'ev A.V., Voroteljak E. A. *Saharnyj diabet 2 tipa: osobennosti patogeneza i jeksperimental'nye modeli na gryzunah* [Type 2 diabetes mellitus: pathogenic features and experimental models in rodents]. *Acta Naturae* [Acta Naturae]. 2022. V. 14(3). P. 57–68 (in Russian). <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11751>
- Hardy J., Selkoe D. J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002. V. 297. P. 353–356. <https://doi.org/10.1126/science.1072994>
- Howe de la Torre S., Parlatini V., Cortese S. Long-term central nervous system (CNS) consequences of COVID-19 in children. *Expert Review of Neurotherapeutics*. 2023. V. 23(8). P. 703–720. <https://doi.org/10.1080/14737175.2023.2239500>
- Hubbard P. S., Esiri M. M., Reading M., McShane R., Nagy Z. Alpha-synuclein pathology in the olfactory pathways of dementia patients. *Journal of anatomy*. 2007. V. 211(1). P. 117–124. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2007.00748.x>
- Hudson M. L., Kinnunen T., Cinar H. N., Chisholm A. D. C. elegans Kallmann syndrome protein KAL-1 interacts with syndecan and glypican to regulate neuronal cell migrations. *Developmental biology*. 2006. V. 294(2). P. 352–365. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2006.02.036>
- Huisman E., Uylings H. B.M., Hoogland P. V. A 100% increase of dopaminergic cells in the olfactory bulb may explain hyposmia in Parkinson's disease. *Movement disorders*. 2004. V. 19(6). P. 687–692. <https://doi.org/10.1002/mds.10713>
- Huisman E., Uylings H. B.M., Hoogland P. V. Gender-related changes in increase of dopaminergic neurons in the olfactory bulb of Parkinson's disease patients. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*. 2008. V. 23(10). P. 1407–1413. <https://doi.org/10.1002/mds.22009>
- Hummel T., Liu D. T., Müller C. A., Stuck B. A., Welge-Lüssen A., Hähner A. Olfactory Dysfunction: Etiology, Diagnosis, and Treatment. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2023. V. 120(9). P. 146. <https://doi.org/10.3238/arztebl.m2022.0411>
- Hüttenbrink K. B., Hummel T., Berg D., Gasser T., Hähner A. Olfactory dysfunction: common in later life and early warning of neurodegenerative disease. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2013. V. 110(1–2). P. 1. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2013.0001>
- Iptyshev A. M., Gorina Ja.V., Lopatina O. L., Komleva Ju.K., Salmina A. B. *Jeksperimental'nye modeli bolezni Al'cgejmera: preimushhestva i nedostatki* [Experimental models of Alzheimer's disease: advantages and disadvantages]. *Sibirskoe medicinskoe obozrenie* [Siberian Medical Review]. 2016. V. 4(100). P. 5–21 (in Russian).
- Ishimaru T., Miwa T., Nomura M., Iwato M., Furukawa M. Reversible hyposmia caused by intracranial tumour. *The Journal of Laryngology & Otology*. 1999. V. 113(8). P. 750–753. <https://doi.org/10.1017/s0022215100145104>
- Jacobsen J. S., Wu C. C., Redwine J. M., Comery T. A., Arias R., Bowlby M., Martone R., Morrison J. H., Pangalos M. N., Reinhart P. H., Bloom F. E. Early-onset behavioral and synaptic deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006. V.103(13). P. 5161–6. doi: 10.1073/pnas.0600948103.

- Jamain S., Radyushkin K., Hammerschmidt K., Granon S., Boretius S., Varoqueaux F., Ramanantsoa N., Gallego J., Ronnenberg A., Winter D., Frahm J., Fischer J., Bourgeron T., Ehrenreich H., Brose N. Reduced social interaction and ultrasonic communication in a mouse model of monogenic heritable autism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008. V. 105(5). P. 1710–1715. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711555105>
- Jimenez, R.C., Casajuana-Martin, N., García-Recio, A. Alcántara L., Pardo L., Campillo M., Gonzalez F. The mutational landscape of human olfactory G protein-coupled receptors. *BMC Biol*. 2021. V. 19. P. 21. doi: 10.1186/s12915–021–00962–0
- Jiménez A., Organista-Juárez D., Torres-Castro A., Guzmán-Ruiz M.A., Estudillo E., Guevara-Guzmán R. Olfactory dysfunction in diabetic rats is associated with miR-146a overexpression and inflammation. *Neurochemical Research*. 2020. V. 45(8). P. 1781–1790. <https://doi.org/10.1007/s11064–020–03041-y>
- Jing Y., Qi C. C., Yuan L., Liu X. W., Gao L. P., Yin J. Adult neural stem cell dysfunction in the subventricular zone of the lateral ventricle leads to diabetic olfactory defects. *Neural Regeneration Research*. 2017. V. 12(7). P. 1111–1118. <https://doi.org/10.4103/1673–5374.211190>
- King A. J.F. The use of animal models in diabetes research. *British Journal of Pharmacology*. 2012. V. 166(3). P. 877–894. <https://doi.org/10.1111/j.1476–5381.2012.01911.x>
- Kiroj V. N., Kosenko P. O., SHaposhnikov P.D., Aslanyan E. V., Saevskij A. I. *Izmenenie spektral'nykh karakteristik i urovnya kogerentnosti fokal'noj aktivnosti obonyatel'noj lukovicy krysy v dinamike ksilazin-tiletaminzolazepamovogo narkoza* [Changes in the spectral characteristics and level of coherence of the focal activity of the rat olfactory bulb in the dynamics of xylazine-tiletaminzolazepam anesthesia] *Sensornye Sistemy* [Sensory systems]. 2023. V. 37(1). P. 65–77 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0235009223010043>
- Kohn D. F., Clifford C. B. Biology and diseases of rats. *Laboratory animal medicine*. 2002. P. 121–165. <https://doi.org/10.1016/B978–012263951–7/50007–7>
- Konnova E. A., Swanberg M. Animal models of Parkinson's disease. *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*. Brisbane. *Exon Publications*. 2018. P. 83–106. <https://doi.org/10.15586/codonpublications.parkinsonsdisease.2018.ch5>
- Kosenko P. O., Smolikov A. B., Voynov V. B., Shaposhnikov P. D., Saevskiy A. I., Kiroj V. N. Effect of Xylazine-Tiletamine-Zolazepam on the Local Field Potential of the Rat Olfactory Bulb. *Comp Med*. 2020. V. 70(6). P. 492–498. <https://doi.org/10.30802/AALAS-CM-20–990015>
- Kretschmer V., Patnaik S. R., Kretschmer F., Chawda M. M., Hernandez-Hernandez V., May-Simera H. L. Progressive characterization of visual phenotype in Bardet-Biedl syndrome mutant mice. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2019. V. 60(4). P. 1132–1143. <https://doi.org/10.1167/iovs.18–25210>
- Kulaga H. M., Patnaik S. R., Kretschmer F., Chawda M. M., Hernandez-Hernandez V., May-Simera H. L. Loss of BBS proteins causes anosmia in humans and defects in olfactory cilia structure and function in the mouse. *Nature genetics*. 2004. V. 36(9). P. 994–998. <https://doi.org/10.1038/ng1418>
- Le Floch J. P., Le Lièvre G., Labroue M., Paul M., Peynegre R., Perlemuter L. et al. Smell dysfunction and related factors in diabetic patients. *Diabetes care*. 1993. V. 16.(6). P. 934–937. <https://doi.org/10.2337/diacare.16.6.934>
- Le Pichon C. E., Valley M.T, Polymenidou M., Chesler A. T., Sagdullaev B. T., Aguzzi A., Firestein S. Olfactory behavior and physiology are disrupted in prion protein knockout mice. *Nature neuroscience*. 2009. V. 12(1). P. 60–69. <https://doi.org/10.1038/nn.2238>
- Lewis J., Dickson D. W., Lin W. L., Chisholm L., Corral A., Jones G., Yen S. H., Sahara N., Skipper L., Yager D., Eckman C., Hardy J., Hutton M., McGowan E. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science*. 2001. V. 293. P. 1487–1491. <https://doi.org/10.1126/science.1058189>
- Li F., Ponissery-Saidu S., Yee K. K., Wang H., Chen M. L., Iguchi N., Zhang G., Jiang P., Reisert J., Huang L. Heterotrimeric G protein subunit G γ 13 is critical to olfaction. *Journal of Neuroscience*. 2013. V. 33(18). P. 7975–7984. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5563–12.2013>
- Li J., Gu C. Z., Su J. B., Zhu L. H., Zhou Y., Huang H. Y., Liu C. F. Changes in olfactory bulb volume in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2016. V. 11. (2). P. e0149286. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149286>
- Lietzau G., Davidsson W., Östenson C. G., Chiazza F., Nathanson D., Pintana H., Skogsberg J., Klein T., Nyström T., Darsalia V., Patrone C. Type 2 diabetes impairs odour detection, olfactory memory and olfactory neuroplasticity; effects partly reversed by the DPP-4 inhibitor Linagliptin. *Acta neuropathologica communications*. 2018. V. 6. P. 1–15. <https://doi.org/10.1186/s40478–018–0517–1>
- Luo A. H., Cannon E. H., Wekesa K. S., Lyman R. F., Vandenberg J. G., Anholt R. R. Impaired olfactory behavior in mice deficient in the α subunit of Go. *Brain research*. 2002. V. 941(1–2). P. 62–71. [https://doi.org/10.1016/s0006–8993\(02\)02566–0](https://doi.org/10.1016/s0006–8993(02)02566–0)
- Machado C. F., Reis-Silva T.M., Lyra C. S., Felicio L. F., Malnic B. Buried food-seeking test for the assessment of olfactory detection in mice. *Bio-protocol*. 2018. V. 8(12). P. e2897–e2897. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2897>

- Macknin J. B., Higuchi M., Lee V. M., Trojanowski J. Q., Doty R. L. Olfactory dysfunction occurs in transgenic mice overexpressing human τ protein. *Brain research*. 2004. V. 1000(1–2). P. 174–178. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.01.047>
- Mai Y., Klockow M., Haehner A., Hummel T. Self-assessment of olfactory function using the “Sniffin’Sticks”. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2023. V. 280(8). P. 1–13. <https://doi.org/10.1007/s00405-023-07872-7>
- Manan H. A., Yahya N., Han P., Hummel T. A. A systematic review of olfactory-related brain structural changes in patients with congenital or acquired anosmia. *Brain Structure and Function*. 2022. V. 227(1). P. 1–26. <https://doi.org/10.1007/s00429-021-02397-3>
- Mariman E. C., Vink R. G., Roumans N. J., Bouwman F. G., Stumpel C. T., Aller E. E., van Baak M. A., Wang P. The cilium: a cellular antenna with an influence on obesity risk. *British Journal of Nutrition*. 2016. V. 116(4). P. 576–592. <https://doi.org/10.1017/S0007114516002282>
- Martin C., Gervais R., Hugues E., Messaoudi B., Ravel N. Learning Modulation of Odor-Induced Oscillatory Responses in the Rat Olfactory Bulb: A Correlate of Odor Recognition. *J. Neurosci*. 2004. V. 24. P. 389–397. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3433-03.2004>
- Masurkar A. V., Devanand D. P. Olfactory dysfunction in the elderly: basic circuitry and alterations with normal aging and Alzheimer’s disease. *Current geriatrics reports*. 2014. V. 3. P. 91–100. <https://doi.org/10.1007/s13670-014-0080-y>
- Mathis S., Le Masson G., Soulages A., Duval F., Carla L., Vallat J. M., Solé G. Olfaction and anosmia: From ancient times to COVID-19. *Journal of the Neurological Sciences*. 2021. V. 425. P. 117433. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2021.117433>
- Mayer S. K., Thomas J., Helms M., Kothapalli A., Cherascu I., Salesevic A., Stalter E., Wang K., Datta P., Searby C., Seo S., Hsu Y., Bhattarai S., Sheffield V. C., Drack A. V. Progressive retinal degeneration of rods and cones in a Bardet-Biedl syndrome type 10 mouse model. *Disease Models & Mechanisms*. 2022. V. 15(9). P. dmm049473. <https://doi.org/10.1242/dmm.049473>
- McCarron A., Parsons D., Donnelley M. Animal and cell culture models for cystic fibrosis: which model is right for your application? *The American Journal of Pathology*. 2021. V. 191(2). P. 228–242. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2020.10.017>
- McHugh D.R., Steele M. S., Valerio D. M., Miron A., Mann R. J., LePage D.F., Conlon R. A., Cotton C. U., Drumm M. L., Hodges C. A. A G542X cystic fibrosis mouse model for examining nonsense mutation directed therapies. *PLoS One*. 2018. V. 13(6). P. e0199573. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199573>
- McShane R.H., Nagy Z., Esiri M. M., King E., Joachim C., Sullivan N., Smith A. D. Anosmia in dementia is associated with Lewy bodies rather than Alzheimer’s pathology. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2001. V. 70(6). P. 739–743. <https://doi.org/10.1136/jnnp.70.6.739>
- Melluso A., Secondulfo F., Capolongo G., Capasso G., Zacchia M. Bardet-Biedl Syndrome: Current Perspectives and Clinical Outlook. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2023. V. 19. P. 115–132. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S338653>
- Meredith T. L., Caprio J., Kajiura S. M. Sensitivity and specificity of the olfactory epithelia of two elasmobranch species to bile salts. *J. Exp. Biol*. 2012. V. 215. P. 2660–2667. <https://doi.org/10.1242/jeb.066241>
- Mitrano D. A., Houle S. E., Pearce P., Quintanilla R. M., Lockhart B. K., Genovese B. C., Schendzielos R. A., Croushore E. E., Dymond E. M., Bogenpohl J. W., Grau H. J., Webb L. S. Olfactory dysfunction in the 3xTg-AD model of Alzheimer’s disease. *IBRO Neuroscience Reports*. 2021. V. 10. P. 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2020.12.004>
- Morozova S. V., Savvateeva D. M., Petrova E. I. *Obonjatel’nye rasstrojstva u pacientov s nejrodegenerativnymi zabolevanijami* [Olfactory disorders in patients with neurodegenerative diseases]. *Neurologicheskij zhurnal* [Neurological journal]. 2014. V. 19(1). P. 4–8 (in Russian).
- Mundiñano I.C, Caballero M. C., Ordóñez C., Hernandez M., DiCaudo C., Marcilla I., Erro M. E., Tuñon M. T., Luquin M. R. Increased dopaminergic cells and protein aggregates in the olfactory bulb of patients with neurodegenerative disorders. *Acta neuropathologica*. 2011. V. 122. P. 61–74. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0830-2>
- Murcia-Belmonte V., Tercero-Díaz M., Barrasa-Martín D., López de la Vieja S., Muñoz-López M., Esteban P. F. Anosmin 1 N-terminal domains modulate prokineticin receptor 2 activation by prokineticin 2. *Cellular Signalling*. 2022. V. 98. P. 110417. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2022.110417>
- Murphy C. Olfactory and other sensory impairments in Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*. 2019. V. 15(1). P. 11–24. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0097-5>
- Nakazawa A., Nakazawa H., Kaji S., Ishii S. Oscillatory Electric Potential on the Olfactory Epithelium Observed during the Breeding Migration Period in the Japanese Toad, *Bufo japonicus*. *Zoological Sciences*. 2000. V. 17. P. 293–300. <https://doi.org/10.2108/jsz.17.293>
- Neff E. P. A natural macaque model of Bardet-Biedl appears in Oregon. *Lab. Animal*. 2020. V. 49(1). P. 17–17. <https://doi.org/10.1038/s41684-019-0449-9>

- Neuner S. M., Heuer S. E., Huentelman M. J., O'Connell K.M.S., Kaczorowski C. C. Harnessing genetic complexity to enhance translatability of Alzheimer's disease mouse models: a path toward precision medicine. *Neuron*. 2019. V. 101(3). P. 399–411. e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.11.040>
- Nigro P., Chiappiniello A., Simoni S., Paolini Paoletti F., Cappelletti G., Chiarini P., Filidei M., Eusebi P., Guercini G., Santangelo V., Tarducci R., Calabresi P., Parnetti L., Tambasco N. Changes of olfactory tract in Parkinson's disease: a DTI tractography study. *Neuroradiology*. 2021. V. 63. P. 235–242. <https://doi.org/10.1007/s00234-020-02551-4>
- Nishimura D. Y., Fath M., Mullins R. F., Searby C., Andrews M., Davis R., Andorf J. L., Mykytyn K., Swiderski R. E., Yang B., Carmi R., Stone E. M., Sheffield V. C. Bbs2-null mice have neurosensory deficits, a defect in social dominance, and retinopathy associated with mislocalization of rhodopsin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004. V. 101(47). P. 16588–16593. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407165101>
- Nosulia E. V., Kim I. A., Borisenko G. N., Chernykh N. M., Shpakova E. A. *Obonyatel'naya disfunkciya v praktike otorinolaringologa: analiz simptomov pri razlichnyh patologicheskikh sostoyaniyah i u beremennyh* [Olfactory dysfunction encountered in the practical work of the otorhinolaryngologist: the analysis of symptoms of different pathological conditions and in the pregnant women]. *Vestnik Otorino-Laringologii* [Bulletin of Otorhinolaryngology]. 2013. V. 78(4). P. 72–77 (in Russian).
- Oakley H., Cole S. L., Logan S., Maus E., Shao P., Craft J., Guillozet-Bongaarts A., Ohno M., Disterhoft J., Van Eldik L., Berry R., Vassar R. Intraneuronal β -amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. *Journal of Neuroscience*. 2006. V. 26(40). P. 10129–10140. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1202-06.2006>
- Oddo S., Caccamo A., Shepherd J. D., Murphy M. P., Golde T. E., Kaye R., Metherate R., Mattson M. P., Akbari Y., LaFerla F. M. Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular A β and synaptic dysfunction. *Neuron*. 2003. V. 39(3). P. 409–421. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00434-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00434-3)
- Olichney J. M., Murphy C., Hofstetter C. R., Foster K., Hansen L. A., Thal L. J., Katzman R. Anosmia is very common in the Lewy body variant of Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2005. V. 76(10). P. 1342–1347. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2003.032003>
- Pak T. K., Carter C. S., Zhang Q., Huang S. C., Searby C., Hsu Y., Taugher R. J., Vogel T., Cychosz C. C., Genova R., Moreira N. N., Stevens H., Wemmie J. A., Pieper A. A., Wang K., Sheffield V. C. A mouse model of Bardet-Biedl Syndrome has impaired fear memory, which is rescued by lithium treatment. *PLoS genetics*. 2021. V. 17(4). P. e1009484. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009484>
- Pashkevich S. G., Eremenko Ju.E., Mironova G. P., Gladkova Zh.A., Andrianova T. D., Tokal'chik D.P., Rjabceva S. N., Derevjanko I. A., Stukach Ju.P., Kul'chickij V. A. *Jeksperimental'naja model' aspirinovej triady* [Experimental model of the Samter's triad]. *Otorinolaringologija. Vostochnaja Evropa* [Otorhinolaryngology. Eastern Europe]. 2015. V. 3. P. 58–62 (in Russian).
- Patino J., Karagas N. E., Chandra S., Thakur N., Stimming E. F. Olfactory dysfunction in Huntington's disease. *Journal of Huntington's disease*. 2021. V. 10(4). P. 413–422. <https://doi.org/10.3233/JHD-210497>
- Patt Y. S., Fisher L., David P., Bergwerk M., Shoenfeld Y. Autoimmunity, COVID-19 Omicron Variant, and Olfactory Dysfunction: A Literature Review. *Diagnostics*. 2023. V. 13(4). P. 641. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13040641>
- Pearce R. K.B., Hawkes C. H., Daniel S. E. The anterior olfactory nucleus in Parkinson's disease. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*. 1995. V. 10(3). P. 283–287. <https://doi.org/10.1002/mds.870100309>
- Peterson S. M., McGill T.J., Puthussery T., Stoddard J., Renner L., Lewis A. D., Colgin L. M.A., Gayet J., Wang X., Prongay K., Cullin C., Dozier B. L., Ferguson B., Neuringer M. Bardet-Biedl Syndrome in rhesus macaques: A nonhuman primate model of retinitis pigmentosa. *Experimental eye research*. 2019. V. 189. P. 107825. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.107825>
- Piipponiemi T. O., Parkkari T., Heikkinen T., Puoliväli J., Park L. C., Cachope R., Kopanitsa M. V. Impaired performance of the Q175 mouse model of Huntington's disease in the touch screen paired associates learning task. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2018. V. 12. P. 226. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00226>
- Pouladi M. A., Morton A. J., Hayden M. R. Choosing an animal model for the study of Huntington's disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2013. V. 14(10). P. 708–721. <https://doi.org/10.1038/nrn3570>
- Prediger R. D., Aguiar A. S. Jr, Rojas-Mayorquin A.E., Figueiredo C. P., Matheus F. C., Ginestet L., Chevarin C., Bel E. D., Mongeau R., Hamon M., Lanfumey L., Raisman-Vozari R. Single intranasal administration of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine in C57BL/6 mice models early preclinical phase of Parkinson's disease. *Neurotoxicity research*. 2010. V. 17. P. 114–129. <https://doi.org/10.1007/s12640-009-9087-0>
- Rasmussen V. F., Rasmussen D., Thrysoe M., Karlsson P., Madsen M., Kristensen K., Nyengaard J. R., Terkelsen A. J., Vestergaard E. T., Ovesen T. Cranial Nerve Affection in Adolescents with Type 1 Diabetes

- Assessed by Corneal Confocal Microscopy, Smell and Taste Tests. *Pediatric Diabetes*. 2023. V. 2023. P. 2709361. <https://doi.org/10.1155/2023/2709361>
- Rödiger N., Sellmann K., Dos Santos Guilherme M., Nguyen V. T. T., Cleppien D., Stroh A., May-Simera H. L., Endres K. Behavioral Phenotyping of Bbs6 and Bbs8 Knockout Mice Reveals Major Alterations in Communication and Anxiety. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. V. 23. P. 14506. <https://doi.org/10.3390/ijms232314506>
- Rodríguez-Jiménez J.C., Moreno-Paz F.J., Terán L. M., Guaní-Guerra E. Aspirin exacerbated respiratory disease: current topics and trends. *Respiratory medicine*. 2018. V. 135. P. 62—75. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2018.01.002>
- Rolen, S.H., Caprio, J. Bile salts are effective taste stimuli in channel catfish. *J. Exp. Biol.* 2008. V. 211. P. 2786—2791. <https://doi.org/10.1242/jeb.018648>
- Rosen B. H., Chanson M., Gawenis L. R., Liu J., Sofoluwe A., Zoso A., Engelhardt J. F. Animal and model systems for studying cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2018. V. 17(2). P. S28—S34. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2017.09.001>
- Rugarli E. I., Di Schiavi E., Hilliard M. A., Arbucci S., Ghezzi C., Faccioli A., Coppola G., Ballabio A., Bazzicalupo P. The Kallmann syndrome gene homolog in *C. elegans* is involved in epidermal morphogenesis and neurite branching. *Development and Diseases* 2002. V.129(5). P. 1283—1294. <https://doi.org/10.1242/dev.129.5.1283>
- Schmachtenberg O. Histological and electrophysiological properties of crypt cells from the olfactory epithelium of the marine teleost *Trachurus symmetricus*. *J Comp Neurol* 2006. V. 495(1). P. 113—121. <https://doi.org/10.1002/cne.20847>
- Shu M., Wu H., Wei S., Shi Y., Li Z., Cheng Y., Fang L., Xu C. Identification and Functional Characterization of a Novel Variant in the SEMA3A Gene in a Chinese Family with Kallmann Syndrome. *International Journal of Endocrinology*. 2022. V. 2022. P. 2504660. <https://doi.org/10.1155/2022/2504660>
- Slotnick B., Coppola D. M. Odor-cued taste avoidance: a simple and robust test of mouse olfaction. *Chemical Senses*. 2015. V. 40(4). P. 269—278. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjv005>
- Spielman D. B., Overdevest J., Gudis D. A. Olfactory outcomes in the management of aspirin exacerbated respiratory disease related chronic rhinosinusitis. *World Journal of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2020. V. 6(4). P. 207—213. <https://doi.org/10.1016/j.wjorl.2020.07.001>
- Su C. Y., Menuz K., Carlson J. R. Olfactory perception: receptors, cells, and circuits. *Cell*. 2009. V. 139(1). P. 45—59. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.09.015>
- Taguchi T., Ikuno M., Hondo M., Parajuli L. K., Taguchi K., Ueda J., Sawamura M., Okuda S., Nakanishi E., Hara J., Uemura N., Hatanaka Y., Ayaki T., Matsuzawa S., Tanaka M., El-Agnaf O.M.A., Koike M., Yanagisawa M., Uemura M. T., Yamakado H., Takahashi R. α -Synuclein BAC transgenic mice exhibit RBD-like behaviour and hyposmia: a prodromal Parkinson's disease model. *Brain*. 2020. V. 143(1). P. 249—265. <https://doi.org/10.1093/brain/awz380>
- Taniguchi M., Mitsui C., Hayashi H., Ono E., Kajiwara K., Mita H., Watai K., Kamide Y., Fukutomi Y., Sekiya K., Higashi N. Aspirin-exacerbated respiratory disease (AERD): Current understanding of AERD. *Allergology International*. 2019. V. 68(3). P. 289—295. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2019.05.001>
- Tarakad A., Jankovic J. Anosmia and ageusia in Parkinson's disease. *International review of neurobiology*. 2017. V. 133. P. 541—556. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2017.05.028>
- Tchekmedyan R., Lundberg M., Buchheit K. M., Maurer R., Gakpo D., Mullur J., Bensko J. C., Laidlaw T. M. Loss of smell in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease impacts mental health and quality of life. *Clinical & Experimental Allergy*. 2022. V. 52(12). P. 1414—1421. <https://doi.org/10.1111/cea.14157>
- Tiganov A. S., Snezhnevskij A. V., Orlovskaja D. D. i dr. *Rukovodstvo po psihiatrii* T. 1 [Guide to Psychiatry V. 1] Moscow. *Medicina*, 1999. 712 p. (in Russian).
- Torres-Pasillas G., Chi-Castañeda D., Carrillo-Castilla P., Marín G., Hernández-Aguilar M.E., Aranda-Abreu G.E., Manzo J., García L. I. Olfactory Dysfunction in Parkinson's Disease, Its Functional and Neuroanatomical Correlates. *NeuroSci*. 2023. V. 4(2). P. 134—151. <https://doi.org/10.3390/neurosci4020013>
- Tricas, T.C., Kajiura, S.M., Summers, A. P. Response of the hammerhead shark olfactory epithelium to amino acid stimuli. *J. Comp. Physiol.* 2009. V 195. P. 947—954. <https://doi.org/10.1007/s00359-009-0470-3>
- Van Raamsdonk J. M., Warby S. C., Hayden M. R. Selective degeneration in YAC mouse models of Huntington disease. *Brain research bulletin*. 2007. V. 72(2—3). P. 124—131. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2006.10.018>
- Várkonyi T., Körei A., Putz Z., Kempler P. Olfactory dysfunction in diabetes: a further step in exploring central manifestations of neuropathy? *Angiology*. 2014. V. 65(10). P. 857—860. <https://doi.org/10.1177/0003319714526971>
- Waguespack R. W. Congenital Anosmia. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. 1992. V. 118(1). P. 10. <https://doi.org/10.1001/archotol.1992.01880010012002>
- Wakabayashi T., Hidaka R., Fujimaki S., Asashima M., Kuwabara T. Diabetes impairs Wnt3 protein-induced neurogenesis in olfactory bulbs via glutamate transporter 1 inhibition. *Journal of Biological Chemistry*. 2016. V. 291(29). P. 15196—15211. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.672857>

- Wangberg H., White A. A. Aspirin-exacerbated respiratory disease. *Current opinion in immunology*. 2020. V. 66. P. 9–13. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2020.02.006>
- Weber E. M., Olsson I. A.S. Maternal behaviour in *Mus musculus* sp.: an ethological review. *Applied Animal Behaviour Science*. 2008. V. 114(1–2). P. 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2008.06.006>
- Weinstock R. S., Wright H. N., Smith D. U. Olfactory dysfunction in diabetes mellitus. *Physiology & behavior*. 1993. V. 53(1). P. 17–21. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(93\)90005-z](https://doi.org/10.1016/0031-9384(93)90005-z)
- Wilson R. S., Arnold S. E., Schneider J. A., Tang Y., Bennett D. A. The relationship between cerebral Alzheimer's disease pathology and odour identification in old age. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2007. V. 78(1). P. 30–35. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2006.099721>
- Witt R. M., Galligan M. M., Despinoy J. R., Segal R. Olfactory behavioral testing in the adult mouse. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. 2009. V. 23. P. e949. <https://doi.org/10.3791/949>
- Yahyaepour H., Ganji F., Sepehri H., Nazari Z. The effect of type 2 diabetes on the olfactory bulb structure of Wistar rats. *Nova Biologica Reperta*. 2023. V. 10(1). P. 11–16.
- Yang J., Pinto J. M. The epidemiology of olfactory disorders. *Current otorhinolaryngology reports*. 2016. V. 4(2). P. 130–141. <https://doi.org/10.1007/s40136-016-0120-6>
- Yang M., Crawley J. N. Simple behavioral assessment of mouse olfaction. *Current protocols in neuroscience*. 2009. V. 48(1). P. 8.24.1–8.24.12. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0824s48>
- Yu Q., Cai Z., Li C., Xiong Y., Yang Y., He S., Tang H., Zhang B., Du S., Yan H., Chang C., Wang N. A novel Spectrum contrast mapping method for functional magnetic resonance imaging data analysis. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2021. V. 15. P. 739668. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2021.739668>
- Zaghloul H., Pallayova M., Al-Nuaimi O., Hovis K. R., Taheri S. Association between diabetes mellitus and olfactory dysfunction: current perspectives and future directions. *Diabetic Medicine*. 2018. V. 35(1). P. 41–52. <https://doi.org/10.1111/dme.13542>
- Zapiec B., Dieriks B. V., Tan S., Faull R. L. M., Mombaerts P., Curtis M. A. A ventral glomerular deficit in Parkinson's disease revealed by whole olfactory bulb reconstruction. *Brain*. 2017. V. 140(10). P. 2722–2736. <https://doi.org/10.1093/brain/awx208>
- Zhang, C., Hara, T. J. Lake char (*Salvelinus namaycush*) olfactory neurons are highly sensitive and specific to bile acids. *J. Comp. Physiol.* 2009. A 195. P. 203–215. <https://doi.org/10.1007/s00359-008-0399-y>
- Zhao Y., He Y., He R., Zhou Y., Pan H., Zhou X., Zhu L., Zhou X., Liu Z., Xu Q., Sun Q., Tan J., Yan X., Tang B., Guo J. The discriminative power of different olfactory domains in Parkinson's disease. *Frontiers in neurology*. 2020. V. 11. P. 420. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00420>
- Zheng J., Wong L. R., Li K., Verma A. K., Ortiz M. E., Wohlford-Lenane C., Leidinger M. R., Knudson C. M., Meyerholz D. K., McCray P. B. Jr, Perlman S. COVID-19 treatments and pathogenesis including anosmia in K18-hACE2 mice. *Nature*. 2021. V. 589. P. 603–607. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2943-z>
- Ziuzia-Januszewska L., Januszewski M. Pathogenesis of olfactory disorders in COVID-19. *Brain Sciences*. 2022. V. 12(4). P. 449. <https://doi.org/10.3390/brainsci12040449>
- Zou J., Wang W., Pan Y. W., Lu S., Xia Z. Methods to measure olfactory behavior in mice. *Current protocols in toxicology*. 2015. V. 63(1). P. 11.18.1–11.18.21. <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx1118s63>
- Zou Y. M., Lu D., Liu L. P., Zhang H. H., Zhou Y. Y. Olfactory dysfunction in Alzheimer's disease. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2016. V. 12. P. 869–875. <https://doi.org/10.2147/NDT.S104886>

ИЗМЕНЕНИЯ В ЗРИТЕЛЬНЫХ ЗОНАХ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ДЕТЕЙ ПРИ ЛЕВОСТОРОННЕЙ АНИЗОМЕТРОПИЧЕСКОЙ АМБЛИОПИИ ПО ДАННЫМ СТРУКТУРНОЙ МРТ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МРТ ПОКОЯ

© 2024 г. В. В. Горев¹, А. В. Горбунов¹, Я. Р. Паникратова², А. С. Томишев², И. Е. Хаценко^{1,*},
Н. Н. Кулешов¹, Ж. М. Салмаси³, К. А. Хасанова¹, Л. М. Балашова⁴, Е. И. Лобанова³,
И. С. Лебедева²

¹Морозовская детская городская клиническая больница
119049, Москва, 4-й Добрынинский переулок, д. 1/9, Россия

²Научный центр психического здоровья
115522, Москва, Каширское ш., д. 34, Россия

³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова
117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, Россия

⁴Международный научно-практический центр пролиферации тканей России
119034, Москва, ул. Пречистенка, д. 29/14, Россия

*E-mail: 14-06-60@mail.ru

Поступила в редакцию 11.08.2023 г.

После доработки 12.11.2023 г.

Принята к публикации 22.11.2023 г.

Благодаря развитию методов структурной и функциональной магнитно-резонансной томографии (МРТ) за десятилетия появилось много исследований, направленных на выявление аномалий мозга при амблиопии. В случае этого распространенного зрительного расстройства причину сниженной остроты зрения и других зрительных характеристик не удается установить при стандартном офтальмологическом обследовании. Поскольку имеется несколько принципиально различающихся по этиологии типов этого заболевания, естественно предполагать и наличие разных типов соответствующих мозговых аномалий. В связи с этим до получения общей картины патогенеза амблиопии очень важны исследования, проведенные на группах специально отобранных однотипных пациентов. В настоящей работе приведены результаты исследования детей школьного возраста с левосторонней анизометропической амблиопией. По данным структурной МРТ, у этих пациентов выявлены межполушарные различия в толщине латеральной затылочной коры, а методом функциональной МРТ покоя обнаружены межполушарные различия по локальной согласованности гемодинамического сигнала в 17-м поле Бродмана и по функциональной связанности 17-го поля с зоной 18-го и 19-го полей. Полученные результаты вносят вклад в создание общей базы МРТ-данных по патофизиологии амблиопии, позволяют прояснить некоторые спорные моменты и указывают на целесообразность использования функциональной МРТ покоя в офтальмологии.

Ключевые слова: зрительная система, анизометропическая амблиопия, МРТ, фМРТ покоя, межполушарные различия

DOI: 10.31857/S0235009224010027

ВВЕДЕНИЕ

Несколько десятилетий идет активный процесс уточнения представлений об амблиопии — распространенной зрительной патологии, встречающейся преимущественно у детей и выражающейся в сниженной некорректируемой остроте зрения и дефиците других зрительных способностей без установленной при стандартном обследовании причины (Матросова, 2012; Нероев

и др., 2015; Кононова, Сомов, 2018; Сомов, Кононова, 2021; Хаценко и др., 2023a, b; Hess et al., 2009; Birch, 2013; Levi, 2020). Впечатляющий прогресс в исследовании патогенеза амблиопии связан с развитием методов структурной и функциональной МРТ (Mendola et al., 2005; Muckli et al., 2006; Lin et al., 2012; Joly, Franko, 2014; Brown et al., 2016; Dai et al., 2019; Wang et al., 2022; Wang, Liu, 2023).

В плане структурных изменений головного мозга при амблиопии исследования выявили у пациентов меньшую толщину и плотность серого вещества коры в верхней височной извилине, фузиформной (веретенообразной) коре, шпорной борозде и ряде других областей (Mendola et al., 2005; Du et al., 2009; Xiao et al., 2007). В исследовании (Mendola et al., 2005) были выявлены схожие изменения в группах детей (7–12 лет) с анизометропической амблиопией и дисбинокулярной амблиопией, обусловленной косоглазием: редукция серого вещества в шпорной борозде и области рядом с ней, в зоне медиального теменно-затылочного сопряжения и вентральной височной коре. У взрослых больных (18–35 лет) аномалии оказались более топографически локальными: объем серого вещества был снижен только в шпорной борозде (в значительно большей степени у пациентов с анизометропической амблиопией).

В работе (Liang et al., 2019) у 20 взрослых пациентов с анизометропической амблиопией (смешанная группа, но с преобладанием левосторонней амблиопии) методом поверхностно базированной морфометрии были выявлены (по сравнению с контролем) сниженная толщина коры в V1 билатерально, а в V2–V4 и V5/MT — в левом полушарии.

В то же время в других работах не было выявлено изменений серого вещества коры (Lv et al., 2008; Barnes et al., 2010), хотя в последней работе были отмечены аномалии в латеральном коленчатом теле.

В нашем более раннем исследовании при обследовании детей с левосторонней амблиопией мы не выявили межполушарной асимметрии по толщине коры, хотя обнаруживались прямые корреляции между остротой зрения амблиопичного глаза и толщиной коры в области зоны V1 левого полушария (Лебедева и др., 2018).

Следует отметить значительный объем литературных данных об амблиопии, полученных методом функциональной МРТ (фМРТ) с использованием различных типов зрительных стимулов (синусоидальных решеток, шахматных паттернов, движущихся объектов, изображений лица и других). В публикуемых результатах представлены изменения функциональных характеристик нейронной активности в различных подкорковых структурах и областях коры на пути от глаз к зонам, обеспечивающим высшие зрительные функции. Эти изменения зарегистрированы уже на уровне латерального коленчатого тела (LGN), т.е. в промежуточном отделе между сетчаткой глаза и корой мозга (Miki et al., 2003; Hess et al., 2009), и далее — в первичной, вторичной и высших зонах зрительной коры: V1, V2, V3a/VP, V4/V8, V5/MT, LOC, FEF, IPS (Barnes et al., 2001; Muckli et al., 2006; Spiegel et al., 2013; Wang et al., 2017; Mendola et al., 2018; Wang, Liu, 2023).

Однако метод фМРТ с применением специфической зрительной стимуляции имеет существенные ограничения с точки зрения использования его в клинической практике и в популяционных исследованиях: он подходит далеко не всем пациентам, так как подразумевает строгое следование инструкциям.

В связи с этим внимание привлекает так называемая фМРТ покоя, когда регистрация спонтанных колебаний гемодинамических показателей головного мозга проводится у пациента в условиях спокойного бодрствования, при отсутствии внешней задачи.

В данном случае отсутствует оценка активации выбранной зоны в ответ на специфичные применительно к изучаемой патологии задачи, но имеется возможность получить широкий спектр информативных показателей, характеризующих функциональную связанность между областями в пределах различных нейронных сетей и внутри отдельных областей. Примечательно, что обследование в условиях покоя может быть более адекватным подходом для отдельных популяций пациентов (например, педиатрических или геронтологических больных), которые с большим трудом могут выполнить поставленные задачи. Подобного рода исследования, проведенные при амблиопии (Peng et al., 2021; Dai et al., 2019; Liang et al., 2016; Mendola et al., 2018), выявили более высокие значения амплитуды низкочастотных флуктуаций (ALFF — amplitude of low-frequency fluctuations) в левой средней затылочной извилине, в шпорной борозде билатерально и в левой постцентральной извилине, а также изменения межполушарной функциональной связанности (FC — functional connectivity) для целого ряда регионов головного мозга. Методом фМРТ покоя были обнаружены изменения функциональной связанности между первичной зрительной корой и нижней теменной долькой, а также снижение связанности (intrinsic connectivity) зрительных сетей, повышение амплитуды низкочастотных флуктуаций BOLD^{1*}-сигнала билатерально в шпорной борозде, левой средней затылочной извилине, левой постцентральной извилине при снижении этого показателя билатерально в области предклинья.

Общий анализ имеющихся в литературе данных об исследовании изменений зрительных зон мозга при амблиопии затрудняется тем обстоятельством, что публикации относятся к разным формам амблиопии и к разным категориям пациентов. Как известно, к амблиопии могут приводить нарушения развития зрительной системы, связанные с аномальным зрительным опытом разного рода, так что естественно предполагать и наличие разных типов мозговых нарушений, соответствующих разным формам заболевания.

^{1*} BOLD — blood-oxygenation-level-dependent signal.

Причинами амблиопии могут быть анизометропия, косоглазие, значительные аномалии рефракции, птоз, временное снижение прозрачности глазных сред и др. При амблиопии могут снижаться острота зрения, контрастная чувствительность, зрительная работоспособность, фузионные способности, определяющие стереопсис и бинокулярную интеграцию; нарушаться механизмы внимания и взаимодействие систем аккомодации и конвергенции. Логично предполагать, что разным комплексам функциональных нарушений должны соответствовать разные паттерны изменений в областях головного мозга, обеспечивающих нормальный процесс зрения.

Более полное представление о разноречивости данных, опубликованных разными авторами, использовавшими разные методы и разные группы пациентов для оценки изменений в зрительных зонах мозга при амблиопии, можно получить, сравнивая материалы прицельно проведенного анализа и обзоров недавних лет (Нероев и др., 2015; Hess, 2010; Joly, Franko, 2014; Brown et al., 2016).

Обращает на себя внимание тот факт, что не во всех проанализированных публикациях присутствовала контрольная группа (КГ). Это объясняется тем, что в случаях исследования односторонней амблиопии наличие определенных изменений мозга можно обнаружить и без КГ, поскольку есть вероятность их заметить, сравнивая симметричные участки мозга двух полушарий каждого пациента между собой вместо сравнения соответствующих участков мозга у пациентов с амблиопией и у здоровых лиц. Конечно, межполушарные сравнения не заменяют сравнения данных пациентов с патологией и КГ с нормальным зрением, но все же в частных случаях позволяют получить ценную специфическую информацию. Хотя в норме сетчатки обоих глаз симметрично проецируются в оба полушария головного мозга, в случае односторонней амблиопии могут выявиться различия между характеристиками зрительных зон левого и правого полушарий, поскольку зрительные пути, идущие от каждого глаза в контралатеральное и ипсилатеральное полушарие мозга, различаются по скорости развития и степени уязвимости.

Подытоживая данные литературы, можно отметить ограниченное количество исследований, несовпадение ряда результатов, а также недостаточно широкий спектр оцениваемых в данный момент показателей. Так, в исследованиях фМРТ покоя не было найдено данных, полученных с использованием методики регистрации локальных корреляций (LCOR — local correlation), позволяющей провести анализ локальной согласованности гемодинамического сигнала в каждом вокселе с областью соседних вокселей.

В связи с наличием в литературе противоречий и неопределенностей, которые могут объясняться

различием исследованных выборок пациентов, естественно возникает задача проанализировать структурные и функциональные особенности головного мозга (по данным структурной МРТ и фМРТ покоя) у детей с односторонними формами амблиопии. Наиболее простыми с этой точки зрения представляются случаи односторонней амблиопии, позволяющие выявить определенные аномалии (асимметрии) без сравнения с контрольной группой испытуемых.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Участники

Отбор участников в экспериментальную группу был осуществлен одним из авторов статьи (к.м.н. И. Е. Хаценко) согласно следующим критериям: анизометропия, отсутствие косоглазия, левосторонняя амблиопия высокой и средней степени с длительным (более года) неэффективным лечением в анамнезе, отсутствие перинатальной и врожденной патологии. В группу для проведения МРТ были включены 20 пациентов с левосторонней амблиопией, но поскольку контроль качества МРТ прошли не все испытуемые, итоговые выборки оказались меньшими по объему. Данные офтальмологического обследования этих детей представлены в табл. 1.

Острота зрения лучшего глаза (visus OD) у детей этой группы была в пределах возрастной нормы; значения остроты зрения амблиопичного глаза были в диапазоне 0.02—0.3.

МРТ-обследование

МРТ-исследование проводилось на томографе 3Т Philips Ingenia (Голландия) в ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ». Т1-взвешенные изображения были получены с использованием последовательности TFE (TR = 8 мс; TE = 4 мс; FA = 8°; размер вокселя 0.6×1.0×1.0 мм, 250 срезов, межсрезовое расстояние 0).

Функциональные T2*-взвешенные изображения получали с помощью последовательности EPI (TR = 2 с; TE = 35 мс; FA = 90°; 300 объемов; 34 среза; матрица 64×64; размер вокселя 3.12×3.12×3.12 мм; межсрезовое расстояние 0.31 мм, примерное время сканирования 10 мин).

Структурная МРТ

Обследовано 14 детей, из которых по критерию качества изображений отобраны данные 10 детей в возрасте 6—13 лет (средний возраст 9.0±2.3 года, четыре мальчика и шесть девочек).

Т1-взвешенные изображения были обработаны в пакете FreeSurfer (версия 6.0.0, <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>), который позволяет получить

Таблица 1. Данные офтальмологического обследования пациентов — участников исследования

№	Возраст (лет)	Фиксация	Visus OS	Visus OD	Рефракция OS	Рефракция OD	Начало лечения (возраст)
1	6.21	ННФ	0.05	0.9	+1.25 +1.5	+1.0 +1.5	—
2	7.02	ПЦФ	0.3	1.0	+1.25 +1.25	+1.0 +1.0	—
3	7.22		0.2	0.6	+2.0 +2.5	+1.25 +1.50	4
4	7.50		0.3	1.0	+5.5 +7.0	+2.5 +3.25	3
5	7.88	ННФ	0.08	1.0	+5.0 +6.5	+5.0 +5.0	5
6	8.06	ПЦФ	0.07	0.8	+5.5 +6.0	+3.25 +3.25	6
7	8.11		0.1	0.7	+7.0 +5.75	+6.25 +6.25	2
8	10.14		0.02	1.0	+10.25 +10.5	+6.5 +6.75	3
9	10.63	ННФ	0.02	1.25	+6.75 +7.25	0.0 +0.5	—
10	10.44	ПЦФ	0.3	1.0	+2.25—0.0	+0.25 —0.75	9
11	11.41	ННФ	0.08	1.0	+6.25 +6.25	+4.0 +4.0	2
12	11.32		0.15	0.9	—2.0 +1.0	—4.25 —2.75	3
13	12.20		0.1	1.0	+5.5 +4.75	+3.75 +3.0	2
14	15.11		0.09	1.0	+3.75 +4.0	+2.0 +2.0	4

Сокращения: ПЦФ — правильная центральная фиксация; ННФ — неустойчивая нецентральная фиксация. Для трех испытуемых информацию о начале лечения получить не удалось, в связи с чем в соответствующей графе поставлен знак прочерка.

детальные анатомические реконструкции головного мозга для испытуемых старше пяти лет. Использованные алгоритмы FreeSurfer включали в том числе устранение интенсивности поля подмагничивания, удаление немозговой ткани из изображений, присваивание анатомических меток (например, таламус, гиппокамп, желудочки) каждому вокселу (Fischl et al., 2002, Segonne et al., 2004). Далее были реконструированы модели кортикальных поверхностей и определены показатели толщины, площади и объема коры с использованием алгоритмов, описанных в работах (Dale et al., 1999, Fischl et al., 1999). В результате для каждого испытуемого были получены показатели толщины (в мм) для 34 сегментов коры в каждом полушарии, согласно атласу (Desikan et al., 2006). Для последующего анализа были выбраны следующие области: латеральная затылочная (*Lateral occipital*), клин (*Cuneus*), область шпорной борозды (*Pericalcarine*), область язычной извилины (*Lingual*) в левом и правом полушариях.

В качестве отдельных зон интереса были дополнительно выделены три участка коры: зона VI

(поле Бродмана 17) — первичная зрительная кора; зона V2 (поле Бродмана 18) — вторичная зрительная кора; V5/MT — среднее височное поле, в соответствии с атласами (Fischl et al., 2008; Hinds et al., 2008).

Статистические расчеты проводили в системе статистических вычислений R версия 4.2.1. Межполушарные различия в толщине коры для отдельных зон интереса проводились с использованием парного критерия Стьюдента. Результаты корректировались на множественность сравнений (количество тестируемых зон интереса) по методу FDR ($q = 0.05$). Корреляционный анализ между показателями толщины коры в зонах интереса и остротой зрения в левом глазу проводили с использованием коэффициента корреляции Пирсона (показатели, участвующие в анализе, были проверены на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка). Полученные уровни значимости коэффициентов корреляции корректировались на множественные сравнения (по количеству анализируемых корреляций) по методу FDR ($q = 0.05$).

Функциональная МРТ покоя

Обследовано 20 детей. По критерию качества изображений отобраны данные 14 детей с амблиопией левого глаза (шесть девочек и восемь мальчиков, возраст 6.21—15.11 лет, средний возраст 9.52 ± 2.50 лет).

Предварительную обработку проводили с использованием пакета SPM12 (<https://www.fil.ion.ucl.ac.uk>). Изображения ориентировали параллельно плоскости, проходящей через переднюю и заднюю комиссуры. Производили корректировку смещения во времени измерений в рамках одного объема головного мозга. Затем корректировали артефакты движения в функциональных изображениях. Далее проводили совмещение функциональных изображений с анатомическими, сегментацию анатомических изображений на объемах серого, белого вещества и спинномозговой жидкости, приведение всех изображений к координатам пространства MNI, пространственное сглаживание функциональных изображений с использованием фильтра Гаусса (8 мм). Дальнейшую обработку данных фМРТ покоя проводили с помощью CONN-fMRI toolbox 19.c (www.nitrc.org/projects/conn). Сначала корректировали артефакты, связанные с движением головы испытуемых, и физиологические артефакты (ART-based identification of outlier scans for scrubbing, aCompCor, частотный фильтр 0.008—0.09 Гц; включение индивидуальных параметров движения в модель в качестве ковариат первого уровня).

В качестве зон интереса для анализа межполушарных различий по данным фМРТ покоя выступали поля Бродмана 17 (V1) и 18+19 в каждом из полушарий головного мозга. Маски для анализа созданы с использованием пакета marsbar (<https://github.com/marsbar-toolbox/marsbar/>) на основе атласа полей Бродмана (<https://people.cas.sc.edu/>

rorden/mricro/lesion.html); разделение масок по полушариям выполнено с использованием атласа AAL (Tzourio-Mazoyer et al., 2002). Оба атласа включены в пакет MRICron v1.0.20190902 (<https://www.nitrc.org/projects/mricron/>). Размер вокселя приведен в соответствие с функциональными данными. Зоны интереса показаны на рис. 1.

Анализировались межполушарные различия по следующим показателям.

1. Функциональная связанность полей Бродмана 17 (V1) и 18+19 одного полушария, т.е. степень их совместного функционирования, взаимодействия. Функциональная связанность по данным фМРТ покоя определяется как мера статистической взаимосвязи спонтанных низкочастотных (< 0.1 Гц) колебаний гемодинамического сигнала в различных областях мозга и подкорковых структурах (в нашем случае использовались коэффициенты корреляции с трансформацией Фишера).

2. Локальная согласованность гемодинамического сигнала (local correlation, LCOR) внутри полей Бродмана 17 (V1) и 18+19 по отдельности. LCOR, в отличие от функциональной связанности, отражает, насколько согласованно функционирует локальная область головного мозга, и определяется как среднее значение коэффициентов корреляции между данным вокселем и областью соседних вокселей (в нашем анализе FWHM = 25 мм). Для каждой из четырех зон интереса извлекали средние показатели LCOR, которые затем сопоставлялись между анализируемыми гомологичными зонами правого и левого полушарий.

3. Амплитуда низкочастотных флуктуаций (amplitude of low-frequency fluctuations, ALFF) гемодинамического сигнала внутри полей Бродмана

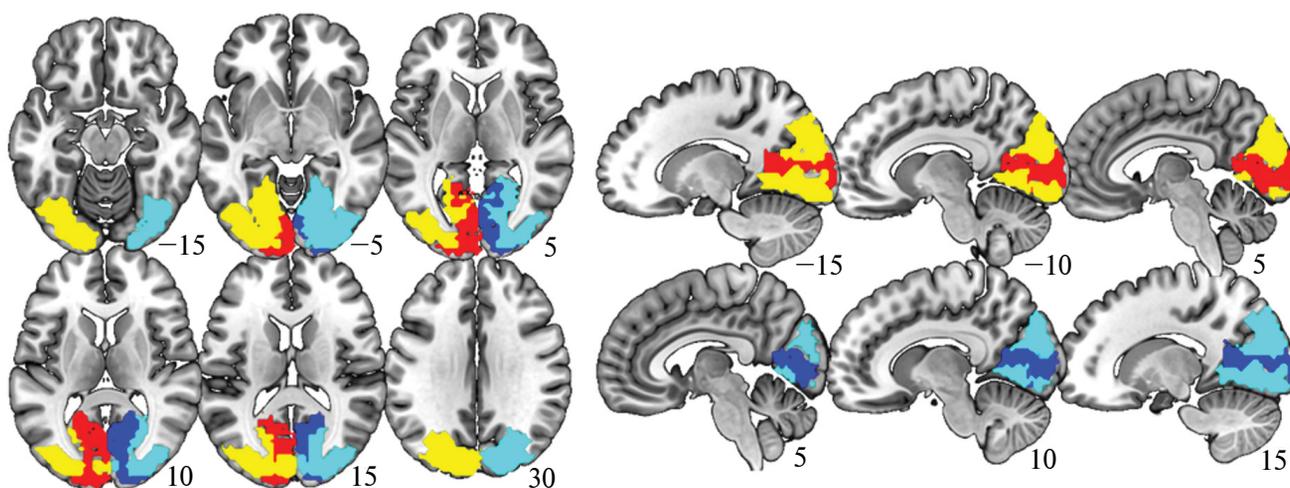


Рис. 1. Зоны интереса для анализа данных фМРТ покоя.

Примечание. Красным цветом обозначено поле Бродмана 17 левого полушария, синим — правого; желтым — поля Бродмана 18+19 левого полушария, голубым — правого. Маски наложены на стандартный шаблон головного мозга в пространстве MNI.

17 (V1) и 18+19 по отдельности. Показатель ALFF в свою очередь не оценивает согласованность функционирования различных областей или одной области головного мозга, но отражает спонтанные флуктуации сами по себе через мощность сигнала в определенном частотном диапазоне (в нашем случае 0.008—0.09 Гц) и определяется как среднее квадратичное значение сигнала в каждом вокселе после применения частотного фильтра. Аналогично анализу LCOR, средние показатели ALFF извлекались для каждой из четырех зон интереса и затем сравнивались между анализируемыми гомологичными зонами правого и левого полушарий.

Наконец, проводился анализ корреляций остроты зрения в амблиопичном левом глазу с нейровизуализационными параметрами, по которым на предыдущем этапе были получены межполушарные различия.

Все анализы выполняли с применением общей линейной модели со случайными эффектами, подсчитывали T-контрасты. Возраст пациента и количество искаженных из-за движения изображений были включены во все модели в качестве ковариат второго уровня.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Структурная МРТ

Показатели толщины коры для всех зон интереса представлены в табл. 2. Кроме того, на рис. 2 представлены бокс-плоты показателей толщины затылочной коры для левого и правого полушарий.

Статистически значимые межполушарные различия по этому показателю были выявлены в латеральной затылочной коре (толщина в левом полушарии

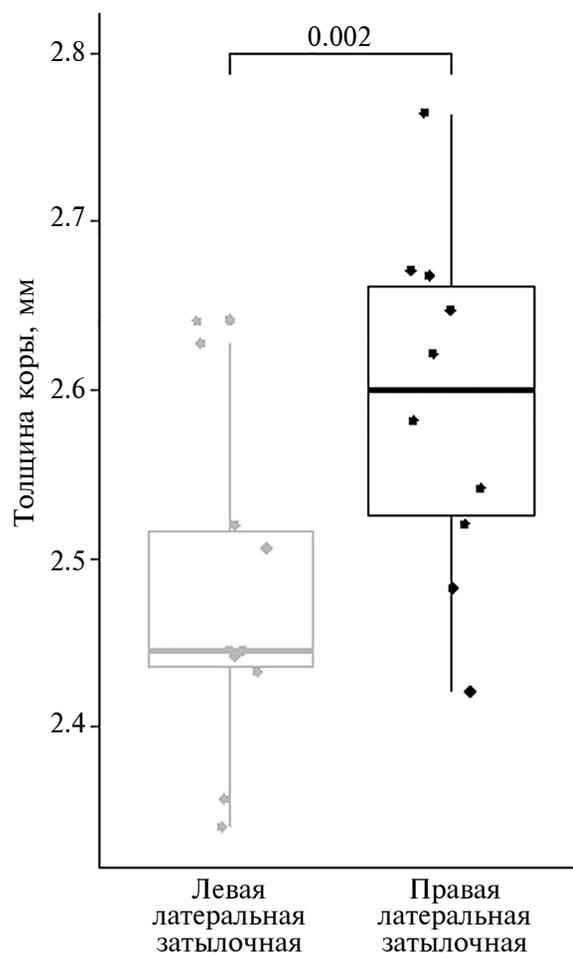


Рис. 2. Бокс-плоты показателей толщины коры в левой и правой латеральной затылочной коре (атлас Desikan et al., 2006).

Таблица 2. Толщина коры (мм) во всех анализируемых зонах интереса и результаты статистического анализа межполушарных различий

Зоны интереса	Левое полушарие	Правое полушарие	p-value	T	Cohen d	Cohen d ДИ 95%
Латеральная затылочная кора	2.48±0.10	2.59±0.10	0.002**	-4.3	-1.1	-2.2; -0.1
Шпорная борозда	2.07±0.28	2.00±0.22	0.157	1.5	0.3	-0.7; 1.2
Язычная извилина	2.52±0.19	2.45±0.16	0.204	1.4	0.4	-0.5; 1.4
Клин	2.31±0.17	2.25±0.17	0.345	1.0	0.4	-0.6; 1.3
Первичная зрительная кора (V1)	2.09±0.29	2.09±0.20	0.901	0.1	0.0	-0.9; 1
Вторичная зрительная кора (V2)	2.43±0.11	2.4±0.13	0.376	0.9	0.3	-0.7; 1.2
Среднее височное поле (V5/MT)	2.7±0.22	2.85±0.26	0.028*	-2.6	-0.6	-1.6; 0.3

* Результат на уровне значимости < 0.05, не прошедший коррекцию на множественность сравнений.

** Результат, прошедший коррекцию на множественность сравнений.

Таблица 3. Индивидуальные показатели локальной согласованности (LCOR) в зоне V1 (17-е поле Бродмана) и функциональной связанности (FC, 17-е поле Бродмана) с зоной 18+19-го полей Бродмана

Возраст (лет)	Рефракция OD/OS	Степень амблиопии	LCOR V1 Левое полушарие	LCOR V1 Правое полушарие	FC17—18+19 Левое полушарие	FC17—18+19 Правое полушарие
6.21	+1.25/+3.0	B	0.157	0.113	1.233	1.161
7.02	+1.0/+2.25	C	0.155	0.114	0.981	1.129
7.22	+1.5/+3.25		0.140	0.107	1.182	1.077
7.50	+2.75/+6.25		0.131	0.100	0.996	1.277
7.88	+5.0/+5.75	B	0.131	0.099	0.890	0.908
8.06	+3.0/+5.75		0.125	0.101	0.974	1.218
8.11	+4.75/+6.37		0.134	0.114	1.257	1.191
10.14	+6.5/+10.25	OB	0.129	0.097	0.925	0.832
10.63	+0.25/+7.0		0.148	0.111	1.149	1.241
10.44	-0.25/+1.12	C	0.153	0.116	1.325	1.404
11.41	+4.0/+6.25	B	0.152	0.113	1.171	1.441
11.32	-3.5/-0.5		0.104723	0.084	0.612	0.648
12.20	+3.37/+5.12		0.106	0.095	0.478	0.913
15.11	+2.0/+3.87		0.133	0.106	0.859	1.227

Сокращения: ЛЗК — латеральная затылочная кора; LCOR — локальная согласованность; FC — функциональная связанность; OB — очень высокая, B — высокая, C — средняя степень амблиопии (по клинической классификации Э. С. Авестисова). Соответствующие диапазоны остроты зрения амблиопичного глаза с коррекцией: 0,04 и ниже (OB); 0,1—0,05 (B); 0,3—0,2 (C).

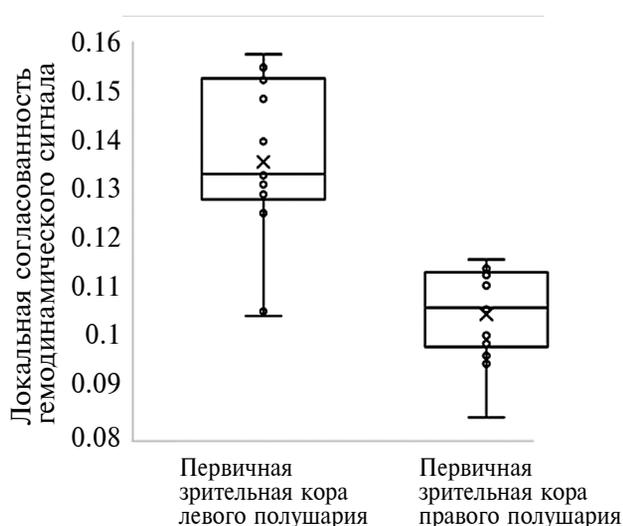


Рис. 3. Бокс-плоты показателей локальной согласованности гемодинамического сигнала в первичной зрительной коре (17-е поле Бродмана) левого и правого полушарий.

оказалась достоверно меньше, чем в правом). Межполушарные различия в области среднего височного поля (V5/MT) не проходили коррекцию на множественные сравнения (см. табл. 2).

По результатам корреляционного анализа статистически значимых корреляций между показателями толщины коры и остротой зрения в левом глазу не обнаружено.

Функциональная МРТ покоя

Проведенный анализ выявил статистически значимые межполушарные различия для величины локальной согласованности сигнала в 17 поле Бродмана (V1), которая оказалась выше в левом полушарии ($T(11) = 4.20$; $p = 0.0015$) (рис. 3).

Значения, полученные для функциональной связанности между 17-м и 18+19-ми полями Бродмана, были выше в левом полушарии ($T(11) = 2.40$; $p = 0.035$) с учетом включенных в модель ковариат.

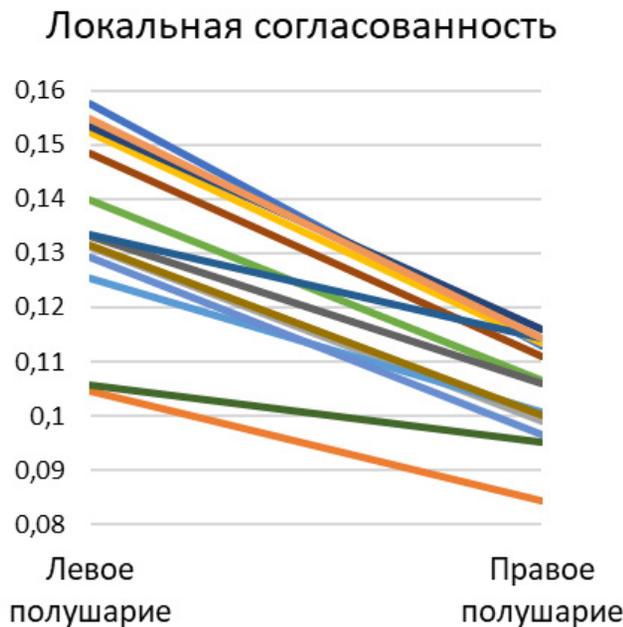


Рис. 4. Диаграмма индивидуальных показателей LCOR в левом и правом полушарии у всех обследованных детей с левосторонней анизотропической амблиопией.

Следует отметить, что показатель локальной согласованности в V1 (17-е поле Бродмана) левого полушария был выше по сравнению с данными для правого полушария не только в среднем, но и у всех без исключения пациентов (табл. 3, рис. 4)

Вместе с тем корреляций остроты зрения амблиопичного левого глаза с данными показателями обнаружено не было.

ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящее первое подобное исследование в России выявило у больных с левосторонней амблиопией межполушарные различия по ряду структурных и функциональных показателей.

Для объяснения полученных данных важно принять во внимание особенности анатомической структуры и развития зрительных путей. Как известно, волокна зрительных нервов, выходящих из левого и правого глаза, направляются к хиазме, где перераспределяются таким образом, что каждая сетчатка посылает информацию в оба полушария латеральной коры мозга. Нервные волокна, идущие от назальных половин сетчаток левого и правого глаз, в хиазме перекрещиваются и направляются в контралатеральные полушария, а идущие от темпоральных половин не перекрещиваются и направляются в ипсилатеральные полушария. Исключение составляют волокна узкой полосы вдоль вертикального меридиана сетчатки,

проецирующиеся в оба полушария. Волокна, идущие из корреспондирующих точек обоих глаз, т.е. точек, имеющих одинаковые сетчаточные координаты, сходятся в первичных зонах зрительной коры обоих полушарий мозга (V1), образуя «карты» с четкой ретинотопической организацией. Далее по ходу зрительных путей имеется целый ряд других зрительных зон (V2, V3, V4, V5 и др.), выполняющих разные операции по анализу сетчаточных изображений и синтезу видимых образов, определяющих зрительно управляемое поведение. В высших зрительных зонах ретинотопическая организация уже плохо прослеживается из-за усложнения внутренних и внешних связей, необходимых для обеспечения все более сложной работы по формированию видимой картины окружения, оптимально отображающей важные для поведения характеристики наблюдаемых объектов (форму, размер, цвет, положение в пространстве и многое другое).

Предваряя обсуждение результатов, следует отметить, что в возрастном периоде, к которому относились обследованные нами дети, активно продолжаются онтогенетические процессы. Ключевыми закономерностями здесь являются два хорошо известных свойства развития зрительной системы: разные зрительные пути, в том числе и параллельно осуществляющие общие функции, развиваются гетерохронно, достигая зрелости в разные сроки; пластичность и уязвимость различных путей одного назначения тоже может быть различной.

При этом не исключена возможность того, что пластичность головного мозга ребенка приводит к ряду изменений структурных и функциональных паттернов, которые, однако, не обеспечивают компенсации свойственных амблиопии нарушений остроты зрения. Подобный феномен и мог стать причиной отмеченного в настоящем исследовании отсутствия корреляций между этим клиническим показателем и МРТ-данными.

Отсутствие группы контроля (что является ограничением настоящей работы и будет изменено в дальнейших исследованиях) не позволяет дать однозначную трактовку найденных результатов в плане оценки степени нормальности/аномальности выявленных асимметрий.

Как следствие, на данном этапе работы мы опирались на описанные в литературе закономерности.

Если обратиться к исследованиям в группах больных с амблиопией, то здесь Лианг с соавт. (Liang et al., 2019), изучая анизотропическую амблиопию в смешанной группе взрослых больных (из 20 пациентов 12 имели амблиопичный левый глаз, а восемь — правый), описали меньшие значения толщины коры, чем для контрольной группы, в зонах V1 (билатерально), V2 (левой), V3 (левой вентральной), V4 (левой) и V5/MT+ и не обнаружили влияния на результаты латеральности амблиопии.

В смешанной группе (шесть детей с левосторонней, десять — с правосторонней амблиопией) Мендола с соавт. (Mendola et al., 2005) регистрировали меньший объем серого вещества в ряде областей затылочной коры обоих полушарий, в том числе в зоне локализации первичной зрительной коры (зоны V1). Однако прицельный анализ не выявил межполушарной асимметрии по сравнению с данными в группе контроля. Такие же «отрицательные» результаты были найдены и в нашей более ранней работе у детей с левосторонней амблиопией (Лебедева и др., 2018).

В целом наши данные могут указывать на более значительные нарушения в полушарии, получающей информацию из амблиопичного глаза по перекрестным волокнам, которые образуют более пластичные и эволюционно более молодые зрительные пути. Эти ипсилатеральные пути развиваются медленнее, чем контралатеральные, и более уязвимы, поэтому на сенситивном периоде развития зрительной системы они поражаются сильнее. Со временем эти различия могут нивелироваться и у взрослых пациентов исчезнуть совсем. Это подтверждают экспериментальные работы, проводимые на животных, и данные обследования взрослых пациентов. В частности, полученные результаты согласуются с данными исследования активности в глазоспецифических слоях наружного колленчатого тела у кошек с односторонней монокулярной депривацией и искусственно вызванным косоглазием (Алексеев, Шкорбатова, 2015; 2016).

Исследуя связанные с возрастом особенности головного мозга, ряд авторов описывают у здоровых людей (в том числе и в детском возрасте) правополушарную асимметрию по толщине ряда областей затылочной коры (Shaw et al., 2009; Plessen et al., 2014), что, пока не собрана группа контроля, не позволяет полностью исключить и относительную сохранность изученных структурных показателей.

Если обратиться к данным, полученным методом фМРТ, то в работе (Liang et al., 2016) в смешанной группе детей (девять детей с левосторонней, шестеро с правосторонней амблиопией) выявили, по сравнению с контролем, повышенный показатель амплитуды низкочастотных флуктуаций (ALFF) в шпорной коре билатерально, левой средней затылочной извилине и левой постцентральной извилине (однако в нашем исследовании этот показатель не был изменен, что предполагает сходство магнитуды спонтанных гемодинамических флуктуаций по полушариям).

Локальная согласованность гемодинамического сигнала (LCOR) в 17-м поле Бродмана (V1) левого (ипсилатерального к амблиопичному глазу) полушария была повышена по сравнению с гомологичной областью в правом полушарии. Известно, что активация в зрительной коре, контралатеральной к глазу, куда подавалась монокулярная стимуляция,

выше (Тоуси et al., 2001). Возможно, длительное ограничение объема поступающей зрительной информации со стороны левого глаза и привело к компенсаторному изменению когерентности активности нейронных популяций в первичной зрительной коре левого полушария.

В литературе не найдены работы, где анализировали LCOR при амблиопии; в одной из статей авторы изучали схожую (но не тождественную) характеристику так называемой региональной гомогенности (ReHo), и обнаружили в отдельных областях (хотя и иных, чем в нашей работе) повышение данного показателя, оценивая их как результат компенсационного повышения активации соответствующих зон коры (Lin et al., 2012).

Найденная нами более высокая функциональная связанность между 17-м полем Бродмана и зоной, объединяющей 18+19-е поля, в левом полушарии может быть также ассоциирована с компенсаторными процессами.

Большинство недостатков нашего исследования отмечены. Тем не менее, несмотря на все указанные ограничения, представленные результаты позволяют сделать определенные выводы и рекомендации по планированию экспериментальных и клинических МРТ-исследований амблиопии и анализу результатов.

ВЫВОДЫ

Полученные в нашей работе данные о межполушарных различиях при односторонней амблиопии относительно ряда структурных и функциональных показателей зрительной коры (толщина коры в латеральной зрительной коре, локальная согласованность в 17-м поле Бродмана, функциональная связанность между 17-м и 18+19-м полями Бродмана) свидетельствуют о перспективности сравнительного анализа результатов, получаемых для зрительных зон мозга, ипсилатеральных и контралатеральных амблиопичному глазу.

В создание общей базы МРТ-данных по патофизиологии амблиопии значительный вклад могут вносить результаты, полученные методом фМРТ-покоя, использование которого в качестве метода обследования позволит получить большие массивы данных благодаря его относительной простоте, кратковременности процедуры, экономичности и применимости для более широкого круга пациентов, чем классический фМРТ-метод со зрительной стимуляцией.

С учетом значительной индивидуальной вариабельности созревания зрительной системы у детей одного возраста целесообразно более полно представлять и индивидуальные данные исследуемых пациентов.

Для успешных исследований амблиопии при планировании работ желательнее формировать как можно более однородные группы, уменьшая число факторов, осложняющих анализ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеев С. В., Шкорбатова П. Ю. Депривационная и дисбинокулярная амблиопия: нарушения в генукуло-корковых зрительных путях. Альманах клинической медицины. 2015. № 36. С. 97—100.
- Алексеев С. В., Шкорбатова П. Ю. Динамика развития аномалий в подкорковом зрительном центре головного мозга при раннем нарушении бинокулярного опыта. Альманах клинической медицины. 2016. Т. 44. № 3. С. 351—357.
- Кононова Н. Е., Сомов Е. Е. Амблиопия и связанные с ней проблемы. Педиатр. 2018. Т. 9. № 1. С. 29—36.
- Лебедева И. С., Хаценко И. Е., Стуров Н. В., Гусева М. Р., Лобанова И. В., Выхристюк О. Ф., Кюн Ю. А., Томышев А. С. Структурные особенности головного мозга ребенка при односторонней амблиопии: МРТ-исследование. Журнал неврологии и психиатрии им С. С. Корсакова. 2018. № 2. С. 69—74. <https://doi.org/10.17116/jnevro20181185269>
- Матросова Ю. В. Этиопатогенез, клиника и методы лечения больных с амблиопией. Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. 2012. Т. 10. № 3. С. 193—202.
- Нероев В. В., Зуева М. В., Маглакелидзе Н. М. Патология амблиопии: латеральное коленчатое тело и зрительная кора. Российский Офтальмологический журнал. 2015. № 1. С. 81—89.
- Сомов Е. Е., Кононова Н. Е. К вопросу об амблиопии, ее закономерностях и лечении. Российская детская офтальмология. 2021. № 2. С. 15—21.
- Хаценко И. Е., Рожкова Г. И., Грачева М. А. Патогенез и описания амблиопии. Часть 1. Причины эволюции представлений. Российская детская офтальмология. 2023а. № 3. С. 37—47. <https://doi.org/10.25276/2307-6658-2023-3-37-47>
- Хаценко И. Е., Рожкова Г. И., Грачёва М. А. Патогенез и описания амблиопии. Часть 2. Анализ определений. Российская детская офтальмология. 2023б. № 3. С. 48—54. <https://doi.org/10.25276/2307-6658-2023-3-48-54>
- Barnes G. R., Hess R. F., Dumoulin S. O., Achtman R. L., Pike G. B. The cortical deficit in humans with strabismic amblyopia. *J. Physiol (Lond.)*. 2001. V. 533. P. 281—297.
- Barnes G. R., Li X., Thompson B., Singh K. D., Dumoulin S. O., Hess R. F. Decreased gray matter concentration in the lateral geniculate nuclei in human amblyopes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010. V. 51(3). P. 1432—1438. <https://doi.org/10.1167/iovs.09-3931>
- Birch E. E. Amblyopia and binocular vision. *Prog. Retin. Eye Res*. 2013. No. 33. P. 67—84. doi: 10.1016/j.preteyeres.2012.11.001. Epub. 2012. Nov 29. PMID: 23201436; PMCID: PMC3577063
- Brown H. D.H., Woodall R. E., Ritching R. E., Baseler H. F., Morland A. B. Using magnetic resonance imaging to assess visual deficits: a review. *Ophthalmic and Physiological Optics*. 2016. V. 36. P. 240—265. <https://doi.org/10.1111/opo.12293>
- Dale A. M., Fischl B., Sereno M. I. Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage*. 1999. V. 9(2). P. 179—194. <https://doi.org/10.1006/nimg.1998.0395>
- Dai P., Zhang J., Wu J., Chen Z., Zou B., Wu Y., Wei X., Xiao M. Altered spontaneous brain activity of children with unilateral amblyopia: A resting state fMRI study. *Neural Plasticity*. 2019. V. 2019. P. 1—10. <https://doi.org/10.1155/2019/3681430>
- Desikan R. S., Segonne F., Fischl B., Quinn B. T., Dickerson B. C., Blacker D., Buckner R. L., Dale A. M., Maguire R. P., Hyman B. T., Albert M. S., Killiany R. J. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage*. 2006. V. 31(3). P. 968—980. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.01.021>
- Du H., Xie B., Yu Q., Wang J. Occipital lobe's cortical thinning in ametropic amblyopia. *Magn Reson Imaging*. 2009. V. 27(5). P. 637—640.
- Fischl B., Sereno M. I., Dale A. M. Cortical surface-based analysis. II: Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage*. 1999. V. 9(2). P. 195—207. <https://doi.org/10.1006/nimg.1998.0396>
- Fischl B., Salat D. H., Busa E., Albert M., Dieterich M., Haselgrove C., van der Kouwe A., Killiany R., Kennedy D., Klaveness S., Montillo A., Makris N., Rosen B., Dale A. M. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron*. 2002. V. 33(3). P. 341—355. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(02\)00569-x](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(02)00569-x)
- Fischl B., Rajendran N., Busa E., Augustinack J., Hinds O., Yeo B. T., Mohlberg H., Amunts K., Zilles K. Cortical folding patterns and predicting cytoarchitecture. *Cereb. Cortex*. 2008. V. 18(8). P. 1973—1980. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhm225>
- Hess R. F., Thompson B., Gole G., Mullen K. T. Deficient response from the lateral geniculate nucleus in humans with amblyopia. *The European Journal of Neuroscience*. 2009. V. 29(5). P. 1064—1070. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06650.x>
- Hess R. F. The contrast dependence of the cortical fMRI deficit in amblyopia: a selective loss at higher contrasts. *Hum. Brain Mapp*. 2010. V. 31(8). P. 1233—1248. <https://doi.org/doi:10.1002/hbm.20931>

- Hinds O. P., Rajendran N., Polimeni J. R., Augustinack J. C., Wiggins G., Wald L. L., Diana Rosas H., Potthast A., Schwartz E. L., Fischl B. Accurate prediction of V1 location from cortical folds in a surface coordinate system. *Neuroimage*. 2008. V. 15. No. 39(4). P. 1585—1599. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.10.033>
- Joly O., Franko E. Neuroimaging of amblyopia and binocular vision: a review. *Frontiers in Integrative Neuroscience*. 2014. V. 8. P. 1—10. <https://doi.org/10.3389/fnint.2014.00062>
- Levi D. M. Rethinking amblyopia 2020. *Vision Res*. 2020. V. 176. P. 118—129. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2020.07.014>
- Liang M., Xiao H., Xie B., Yin X., Wang J., Yang H. Morphologic changes in the visual cortex of patients with anisometropic amblyopia: a surface-based morphometry study. *BMC Neurosci*. 2019. V. 20. P. 1—7. <https://doi.org/10.1186/s12868-019-0524-6>
- Lin X., Ding K., Liu Y., Yan X., Song S., Jiang T. Altered spontaneous activity in anisometropic amblyopia subjects revealed by resting-state fMRI. *PLoS One*. 2012. V. 7. Article e43373. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043373>
- Liang M., Xie B., Yang H. Distinct patterns of spontaneous brain activity between children and adults with anisometropic amblyopia: a resting-state fMRI study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016. V. 254. P. 569—576 <https://doi.org/10.1007/s00417-015-3117-9>
- Lv B., He H., Li X., Zhang Z., Huang W., Li M., Lu G. Structural and functional deficits in human amblyopia. *Neurosci Lett*. 2008. V. 437(1). P. 5—9.
- Mendola J. D., Ian P. Conner I. P., Roy A., Chan S. — T., Schwartz T. L., Odom J. V., Kenneth K., Kwong K. K. Voxel-Based analysis of MRI detects abnormal visual cortex in children and adults with amblyopia. *Human Brain Mapping*. 2005. V. 25(2). P. 222—236. <https://doi.org/10.1002/hbm.20109>
- Mendola J. D., Lam J., Rosenstein M., Lewis L. B., Shmuel A. Partial correlation analysis reveals abnormal retinotopically organized functional connectivity of visual areas in amblyopia. *Neuroimage Clin*. 2018. V. 18. P. 192—201. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2018.01.022>
- Miki A., Liu G. T., Goldsmith Z. G., Liu C. — S.J., Haselgrove J. C. Decreased activation of the lateral geniculate nucleus in a patient with anisometric amblyopia demonstrated by magnetic resonance imaging. *Ophthalmologia*. 2003. V. 217(5). P. 365—369. <https://doi.org/10.1159/000071353>
- Muckli I., Kiess S., Tonhausen W., Singer W., Goebel R., Sireteanu R. Cerebral correlates of impaired grating perception in individual, psychophysically assessed human amblyopes. *Vision Res*. 2006. V. 46(4). P. 506—526. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2005.10.014>
- Plessen K. J., Hugdahl K., Bansal R., Hao X., Peterson B. S. Sex, age, and cognitive correlates of asymmetries in thickness of the cortical mantle across the life span. *J. Neurosci*. 2014. V. 30; 34(18). P. 6294—6302. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3692-13.2014>
- Peng J., Yao F., Li Q., Ge Q., Shi W., Su T., Tang L., Pan Y., Liang R., Zhang L., Shao Y. Alternations of interhemispheric functional connectivity in children with strabismus and amblyopia: a resting-state fMRI study. *Scientific Reports*. 2021. V. 11. P. 15059. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92281-1>
- Ségonne F., Dale A. M., Busa E., Glessner M., Salat D., Hahn H. K., Fischl B. A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. *Neuroimage*. 2004. V. 22(3). P. 1060—1075. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.03.032>. PMID: 15219578
- Shaw P., Lalonde F., Lepage C., Rabin C., Eckstrand K., Sharp W., Greenstein D., Evans A., Giedd J. N., Rapoport J. Development of cortical asymmetry in typically developing children and its disruption in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2009. V. 66(8). P. 888—896. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2009.103>
- Spiegel D. P., Byblow W. D., Hess R. F., Thompson B. Anodal transcranial direct current stimulation transiently improves contrast sensitivity and normalizes visual cortex activity in individuals with amblyopia. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 2013. V. 27(8). P. 760—769. <https://doi.org/10.1177/1545968313491006>
- Toosy A. T., Werring D. J., Plant G. T., Bullmore E. T., Miller D. H., Thompson A. J. Asymmetrical activation of human visual cortex demonstrated by functional MRI with monocular stimulation. *Neuroimage*. 2001. V. 14(3). P. 632—641. <https://doi.org/10.1006/nimg.2001.0851>
- Tzourio-Mazoyer N., Landeau B., Papathanassiou D., Crivello F., Etard O., Delcroix N., Mazoyer B., Joliot M. Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *Neuroimage*. 2002. V. 15(1). P. 273—289. <https://doi.org/10.1006/nimg.2001.0978>
- Wang G., Liu L. Amblyopia: progress and promise of functional magnetic resonance imaging. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2023. V. 261(5). P. 1229—1246. <https://doi.org/10.1007/s00417-022-05826-z>
- Wang H., Crewther S. G., Liang M., Laycock R., Yu T., Alexander B. Impaired activation of visual attention network for motion salience is accompanied by reduced functional connectivity between frontal eye fields and visual cortex in strabismic amblyopes. *Front. Hum. Neurosci*. 2017. V. 11. P. 1—13. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2017.00195>
- Wang H., Liang M., Crewther S. G., Yin Z., Wang J., Crewther D. P., Yu T. Functional deficits and

structural changes associated with visual attention network during resting state in adult strabismic and anisotropic amblyopes. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2022. V. 16. P. 862703. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2022.862703>

Xiao J. X., Xie S., Ye J. T., Liu H. H., Gan X. L., Gong G. L., Jiang X. X. Detection of abnormal visual cortex in children with amblyopia by voxel-based morphometry. *Am J. Ophthalmol.* 2007. V. 143(3). P. 489—493. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2006.11.039>

Changes in the visual areas of the cerebral cortex in children with left-sided anisometropic amblyopia according to structural MRI and resting-state fMRI

V. V. Gorev¹, A. V. Gorbunov¹, Ya. R. Panikratova², A. S. Tomyshev², I. E. Hatsenko^{1,*}, N. N. Kuleshov¹, J. M. Salmasi³, K. A. Hasanova¹, L. M. Balashova⁴, E. I. Lobanova³, I. S. Lebedeva²

¹Morozov Children Clinical Hospital,
119049, Moscow, 4-i Dobryninsky lane, 1/9, Russia;

²Mental Health Research Center,
115522, Moscow, Kashirskoe highway, 34, Russia;

³Pirogov Russian National Research Medical University,
117997, Moscow, Ostrovityanova street, 1, Russia;

⁴Noncommercial partnership «International scientific and practical center for tissue proliferation»,
119034, Moscow, Prechistenka street, 29/14, Russia

*E-mail: 14—06—60@mail.ru

Thanks to the development of structural and functional magnetic resonance imaging (MRI) methods, in recent decades there has been a lot of research aimed at elucidating brain abnormalities caused by amblyopia. In the cases of this prevalent visual disorder, the anomalies causing decreased visual acuity and other visual disabilities cannot be determined by standard ophthalmologic examination. Since there are several types of this disorder that are fundamentally different in etiology, it is natural to suggest the presence of different types of corresponding brain abnormalities. In this regard, before obtaining a general picture of the pathogenesis of amblyopia, studies conducted on groups of specially selected similar patients are very important. This paper presents the results of a study of school-age children with left-sided anisometropic amblyopia. In the patients investigated, MRI data revealed interhemispheric differences in the thickness of the lateral occipital cortex, and resting-state fMRI revealed interhemispheric differences in the local coherence of the hemodynamic signal within 17 Brodmann area and in the functional connectivity between 17 and 18+19 Brodmann areas. The data obtained contribute to the creation of a general MRI database on the pathophysiology of amblyopia, help clarify some controversial issues and indicate the advisability of using resting-state fMRI in ophthalmology.

Key words: visual system, anisometropic amblyopia, MRI, resting-state fMRI, interhemispheric differences

REFERENCES

- Alekseenko S. V., Shkorbatova P. Yu. *Deprivacionnaya I disbinokulyarnaya ambliopiya: narusheniya v genikulo-korkovyh zritel'nyh putyah* [Deprivation and dysbinocular amblyopia: disorders in the geniculocortical visual pathways]. *Al'manah klinicheskoy mediciny* [Almanac of Clinical Medicine], 2015. № 36. P. 97–100 (in Russian).
- Alekseenko S. V., Shkorbatova P. Yu. *Dinamika razvitiya anomalij v podkorkovom zritel'nom centre golovnogogo mozga pri rannem narushenii binokulyarnogo opyta* [The time course of abnormalities in the brain subcortical visual centre following early impairment of binocular experience] *Al'manah klinicheskoy mediciny* [Almanac of Clinical Medicine]. 2016. V. 44. № 3. P. 351–357 (in Russian).
- Kononova N. E., Somov E. E. *Ambliopiya I svyazannye s nej problem.* [Amblyopia and related problems] *Pediatrician*. 2018. V. 9. № 1. P. 29–36.
- Lebedeva I. S., Hacenko I. E., Sturov N. V., Guseva M. R., Lobanova I. V., Vyhrystyuk O. F., Kyun Yu.A., Tomyshev A. S. *Strukturnye osobennosti golovnogogo mozga rebenka pri odnostoronnej ambliopii: MRT-issledovanie* [Structural features of the child's brain with unilateral amblyopia: a MRI study]. *Zhurnal nevrologii I psichiatrii im S. S. Korsakova* [S. S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry]. 2018. № 2. P. 69–74 (in Russian). <https://doi.org/10.17116/jnevro20181185269>
- Matrosova Yu. V. *Etiopatogenez, klinikai metody lecheniya ambliopii* [Etiopathogenesis, clinical picture and methods of treatment of patients with amblyopia]. *Bulletin of the Novosibirsk State University. Series: Biology.* Vestnik NGU. Seriya: Biologiya, klinicheskaya medicina. 2012. V. 10. № 3. P. 193–202 (in Russian).
- Neroev V. V., Zueva M. V., Maglakelidze N. M. *Patofiziologiya ambliopii: lateral'noe kolenchatoe telo I zritel'naya kora* [Pathophysiology of amblyopia: lateral geniculate body and visual cortex]. *Russian Ophthalmological Journal*. 2015. № 1. P. 81–89 (in Russian).
- Somov E. E., Kononova N. E. *K voprosu ob ambliopii, eyo zakonomernostyah I lechenii* [On the issue of amblyopia, its patterns and treatment]. *Russian ophthalmology of children*. 2021. № 2. P. 15–21 (in Russian).
- Hacenko I. E., Rozhkova G. I., Gracheva M. A. *Patogenez I opisaniya ambliopii. Chast' 1. Prichiny evolyucii predstavlenij* [Pathogenesis and descriptions of amblyopia. Part 1. Reasons for evolution of concepts]. *Russian ophthalmology of children*. 2023a. № 3. P. 37–47 (in Russian). <https://doi.org/10.25276/2307-6658-2023-3-37-47>
- Hacenko I. E., Rozhkova G. I., Gracheva M. A. *Patogenez I opisaniya ambliopii. Chast' 2. Analiz opredelenij* [Pathogenesis and descriptions of amblyopia. Part 2. Analysis of definitions]. *Russian ophthalmology of children*. 2023b. № 3. P. 48–54 (in Russian). <https://doi.org/10.25276/2307-6658-2023-3-48-54>
- Barnes G. R., Hess R. F., Dumoulin S. O., Achtman R. L., Pike G. B. The cortical deficit in humans with strabismic amblyopia. *J. Physiol (Lond.)*. 2001. V. 533. P. 281–297.
- Barnes G. R., Li X., Thompson B., Singh K. D., Dumoulin S. O., Hess R. F. Decreased gray matter concentration in the lateral geniculate nuclei in human amblyopes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010. V. 51(3). P. 1432–1438. <https://doi.org/10.1167/iov.09-3931>
- Birch E. E. Amblyopia and binocular vision. *Prog Retin Eye Res*. 2013. 33. P. 67–84. doi: 10.1016/j.preteyeres.2012.11.001. Epub 2012 Nov 29. PMID: 23201436; PMCID: PMC3577063.
- Brown H. D.H., Woodall R. E., Ritching R. E., Baseler H. F., Morland A. B. Using magnetic resonance imaging to assess visual deficits: a review. *Ophthalmic and Physiological Optics*. 2016. V. 36. P. 240–265. <https://doi.org/10.1111/opo.12293>
- Dale A. M., Fischl B., Sereno M. I. Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage*. 1999 V. 9(2). P. 179–194. <https://doi.org/10.1006/nimg.1998.0395>
- Dai P., Zhang J., Wu J., Chen Z., Zou B., Wu Y., Wei X., Xiao M. Altered spontaneous brain activity of children with unilateral amblyopia: A resting state fMRI study. *Neural Plasticity*. 2019. V. 2019. P. 1–10. <https://doi.org/10.1155/2019/3681430>
- Desikan R. S., Segonne F., Fischl B., Quinn B. T., Dickerson B. C., Blacker D., Buckner R. L., Dale A. M., Maguire R. P., Hyman B. T., Albert M. S., Killiany R. J. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage*. 2006. V. 31(3). P. 968–980. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.01.021>
- Du H., Xie B., Yu Q., Wang J. Occipital lobe's cortical thinning in ametropic amblyopia. *Magn Reson Imaging*. 2009. V. 27(5). P. 637–640.
- Fischl B., Sereno M. I., Dale A. M. Cortical surface-based analysis. II: Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage*. 1999 V. 9(2). P. 195–207. <https://doi.org/10.1006/nimg.1998.0396>
- Fischl B., Salat D. H., Busa E., Albert M., Dieterich M., Haselgrove C., van der Kouwe A., Killiany R., Kennedy D., Klaveness S., Montillo A., Makris N., Rosen B., Dale A. M. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron*. 2002. V. 33(3). P. 341–355. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(02\)00569-x](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(02)00569-x)
- Fischl B., Rajendran N., Busa E., Augustinack J., Hinds O., Yeo B. T., Mohlberg H., Amunts K., Zilles K. Cortical folding patterns and predicting cytoarchitecture. *Cereb Cortex*. 2008. V. 18(8).

- P. 1973—1980. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhm225>
- Hess R. F., Thompson B., Gole G., Mullen K. T. Deficient response from the lateral geniculate nucleus in humans with amblyopia. *The European Journal of Neuroscience*. 2009. V. 29(5). P. 1064—1070. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06650.x>
- Hess R. F. The contrast dependence of the cortical fMRI deficit in amblyopia: a selective loss at higher contrasts. *Hum. Brain Mapp.* 2010. V. 31(8). P. 1233—1248. <https://doi.org/doi:10.1002/hbm.20931>
- Hinds O. P., Rajendran N., Polimeni J. R., Augustinack J. C., Wiggins G., Wald L. L., Diana Rosas H., Potthast A., Schwartz E. L., Fischl B. Accurate prediction of V1 location from cortical folds in a surface coordinate system. *Neuroimage*. 2008. V. 15;39(4). P. 1585—1599. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.10.033>
- Joly O., Franko E. Neuroimaging of amblyopia and binocular vision: a review. *Frontiers in Integrative Neuroscience*. 2014. V. 8(62). P. 1—10. <https://doi.org/10.3389/fnint.2014.00062>
- Levi D. M. Rethinking amblyopia 2020. *Vision Res.* 2020. V. 176. P. 118—129. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2020.07.014>
- Liang M., Xiao H., Xie B., Yin X., Wang J., Yang H. Morphologic changes in the visual cortex of patients with anisotropic amblyopia: a surface-based morphometry study. *BMC Neurosci.* 2019. V. 20(39). P. 1—7. <https://doi.org/10.1186/s12868-019-0524-6>
- Lin X., Ding K., Liu Y., Yan X., Song S., Jiang T. Altered spontaneous activity in anisotropic amblyopia subjects revealed by resting-state FMRI. *PLoS One*. 2012. V. 7(8). Article e43373. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043373>
- Liang, M., Xie, B., Yang, H. *et al.* Distinct patterns of spontaneous brain activity between children and adults with anisotropic amblyopia: a resting-state fMRI study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2016. V. 254. P. 569—576 <https://doi.org/10.1007/s00417-015-3117-9>
- Lv B., He H., Li X., Zhang Z., Huang W., Li M., Lu G. Structural and functional deficits in human amblyopia. *Neurosci Lett.* 2008. V. 437(1). P. 5—9.
- Mendola J. D., Ian P. Conner I. P., Roy A., Chan S-T., Schwartz T. L., Odom J. V., and Kenneth K. Kwong K. K. Voxel-Based Analysis of MRI Detects Abnormal Visual Cortex in Children and Adults with Amblyopia. *Human Brain Mapping*. 2005. V. 25(2). P. 222—236. <https://doi.org/10.1002/hbm.20109>
- Mendola J. D., Lam J., Rosenstein M., Lewis L. B., Shmuel A. Partial correlation analysis reveals abnormal retinotopically organized functional connectivity of visual areas in amblyopia. *Neuroimage Clin.* 2018. V. 18. P. 192—201. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2018.01.022>
- Miki A., Liu G. T., Goldsmith Z. G., Liu C. — S.J., Haselgrove J. C. Decreased activation of the lateral geniculate nucleus in a patient with anisometric amblyopia demonstrated by magnetic resonance imaging. *Ophthalmologia*. 2003. V. 217(5). P. 365—369. <https://doi.org/10.1159/000071353>
- Muckli I., Kiess S., Tonhausen W., Singer W., Goebel R., Sireteanu R. Cerebral correlates of impaired grating perception in individual, psychophysically assessed human amblyopes. *Vision Res.* 2006. V. 46(4). P. 506—526. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2005.10.014>
- Plessen K. J., Hugdahl K., Bansal R., Hao X., Peterson B. S. Sex, age, and cognitive correlates of asymmetries in thickness of the cortical mantle across the life span. *J. Neurosci.* 2014. V. 30;34(18). P. 6294—6302. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3692-13.2014>
- Peng, J., Yao, F., Li Q., Ge Q., Shi W., Su T., Tang L., Pan Y., Liang R., Zhang L., Shao Y. Alternations of interhemispheric functional connectivity in children with strabismus and amblyopia: a resting-state fMRI study. *Scientific Reports*. 2021. V. 11, 15059. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92281-1>
- Ségonne F., Dale A. M., Busa E., Glessner M., Salat D., Hahn H. K., Fischl B. A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. *Neuroimage*. 2004. V. 22(3). P. 1060—1075. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.03.032>. PMID: 15219578
- Shaw P., Lalonde F., Lepage C., Rabin C., Eckstrand K., Sharp W., Greenstein D., Evans A., Giedd J. N., Rapoport J. Development of cortical asymmetry in typically developing children and its disruption in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2009. V.66(8). P. 888—896. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2009.103>
- Spiegel D. P., Byblow W. D., Hess R. F., Thompson B. Anodal transcranial direct current stimulation transiently improves contrast sensitivity and normalizes visual cortex activity in individuals with amblyopia. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 2013. V. 27(8). P. 760—769. <https://doi.org/10.1177/1545968313491006>
- Toosy A. T., Werring D. J., Plant G. T., Bullmore E. T., Miller D. H., Thompson A. J. Asymmetrical activation of human visual cortex demonstrated by functional MRI with monocular stimulation. *Neuroimage*. 2001. V. 14(3) P. 632—641. <https://doi.org/10.1006/nimg.2001.0851>
- Tzourio-Mazoyer N., Landeau B., Papathanassiou D., Crivello F., Etard O., Delcroix N., Mazoyer B., Joliot M. Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *Neuroimage*. 2002. V. 15(1). P. 273—289. <https://doi.org/10.1006/nimg.2001.0978>

- Wang G., Liu L. Amblyopia: progress and promise of functional magnetic resonance imaging. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2023. V. 261(5). P. 1229–1246. <https://doi.org/10.1007/s00417-022-05826-z>
- Wang H., Crewther S. G., Liang M., Laycock R., Yu T., Alexander B. et al. Impaired activation of visual attention network for motion salience is accompanied by reduced functional connectivity between frontal eye fields and visual cortex in strabismic amblyopes. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2017. V. 11(195). P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2017.00195>
- Wang H., Liang M., Crewther S. G., Yin Z., Wang J., Crewther D. P., Yu T. Functional deficits and structural changes associated with visual attention network during resting state in adult strabismic and anisotropic amblyopes. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2022. V. 16. 862703. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2022.862703>
- Xiao J. X., Xie S., Ye J. T., Liu H. H., Gan X. L., Gong G. L., Jiang X. X. Detection of abnormal visual cortex in children with amblyopia by voxel-based morphometry. *Am. J. Ophthalmol.* 2007. V. 143(3). P. 489–493. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2006.11.039>

УДК 577.354.2

В ПОИСКАХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИОННОЙ ПАМЯТИ ПАЛОЧЕК: БАЗОВАЯ АКТИВНОСТЬ ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ

© 2024 г. Д. А. Николаева¹, М. Л. Фирсов¹, Л. А. Астахова^{1,*}

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, 194223, С.-Петербург, просп. Тореза, 44, Россия

*E-mail: lubkins@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.11.2023 г.

После доработки 14.12.2023 г.

Принята к публикации 22.12.2023 г.

Палочки сетчатки — фоторецепторы сумеречного зрения — способны адаптироваться к уровню освещения в широком диапазоне. Молекулярные механизмы световой адаптации во многом уже изучены, но не менее интересным представляется вопрос, какие изменения происходят в каскаде фототрансдукции после выключения адаптирующих световых стимулов. Ранее в палочках амфибий нами был показан феномен адаптивной памяти: после фоновой засветки чувствительность фоторецепторов к свету была понижена в течение нескольких минут, тогда как темнотой ток восстанавливался за 20–30 с. Это указывает на существование дополнительных, пока еще неизвестных механизмов регуляции каскада фототрансдукции, действующих после адаптирующего влияния света. В поисках конкретных механизмов, способных объяснить эффект адаптивной памяти, мы провели эксперименты по регистрации тока одиночных палочек лягушки для оценки базовой активности эффекторного фермента каскада фототрансдукции — фосфодиэстеразы 6-го типа в темновом состоянии и после насыщающей фоновой засветки. Оказалось, что постадаптивное состояние палочек характеризуется повышенной базовой активностью фосфодиэстеразы, и она постепенно снижается до темнового значения в течение десятков секунд после выключения адаптирующего светового фона. Эти результаты также позволяют предположить, что компоненты каскада фототрансдукции в палочках могут претерпевать пока неизученные постадаптивные изменения.

Ключевые слова: каскад фототрансдукции, палочки, адаптивная память, фосфодиэстераза 6

DOI: 10.31857/S0235009224010032

ВВЕДЕНИЕ

Каскад фототрансдукции — это цепь биохимических реакций в фоторецепторах (палочках и колбочках), превращающих энергию света в электрический ответ клетки. Вторичным мессенджером каскада является циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ), внутриклеточная концентрация которого определяется гидролитической активностью фосфодиэстеразы 6-го типа (ФДЭ6) и скоростью синтеза гуанилатциклазы (ГЦ). Возбужденный светом зрительный пигмент родопсин активирует G-белок трансдуцин, а тот, в свою очередь, повышает активность ФДЭ; гидролиз цГМФ увеличивается, что ведет к закрытию цГМФ-управляемых ионных каналов плазматической мембраны и гиперполяризации фоторецептора — так формируется фотоответ (Pugh et al., 2000; Lamb, 2022). Звенья каскада фототрансдукции являются точками приложения регуляторных механизмов, подстраивающих чувствительность фоторецепторов к уровню освещенности. В фоторецепторах существуют

три основных Ca²⁺-зависимых контура обратной связи — регулировка инактивации зрительного пигмента, активности ГЦ и изменения сродства цГМФ-управляемых ионных каналов к цГМФ (Govardovskii, Firsov, 2012; Vinberg et al., 2018). Также имеются данные о дополнительных регуляторных механизмах, мишени и посредники которых пока неизвестны (Calvert et al., 2002; Astakhova et al., 2012).

Не менее интересным представляется вопрос о том, какие изменения происходят в каскаде фототрансдукции при выходе фоторецептора из состояния световой адаптации, т.е. когда адаптирующая засветка прекращает действовать. Ранее мы обнаружили связанный с этим феномен, который назвали адаптивной памятью. Он заключается в постепенном и длительном восстановлении чувствительности палочек после ненасыщающих и насыщающих фоновых засветок (Rotov et al., 2021; Nikolaeva et al., 2023). Восстановление чувствительности проходит значительно медленнее, чем возвращение тока к темновому уровню, что

доказывает существование медленной фазы регуляции чувствительности после выхода палочек из состояния световой адаптации. Этот механизм регуляции, по-видимому, основан не на кальциевых обратных связях, поскольку восстановление темнового тока предполагает восстановление и темновой концентрации кальция в наружном сегменте фоторецепторной клетки.

Мы считаем, что в основе адаптационной памяти палочек лежат процессы длительной модификации компонентов каскада фототрансдукции. Для дальнейшего прояснения вопроса о том, какие молекулярные мишени могут подвергаться постадаптационной модификации, мы провели оценку базовой активности фосфодиэстеразы 6-го типа — основного эффекторного фермента процесса фототрансдукции.

Одним из параметров, который возможно измерить в условиях *ex vivo* в живой и нормально функционирующей фоторецепторной клетке, применив комбинацию электрофизиологического и фармакологического подходов, является базовая активность ФДЭ. В равновесном состоянии (например, в темноте) в наружном сегменте фоторецептора ФДЭ имеет постоянную фоновую активность и гидролизует цГМФ, а предъявление световой вспышки дополнительно повышает эту активность. Уровень такой фоновой активности важен для работы каскада фототрансдукции и способен меняться при некоторых воздействиях (например, во время фоновой засветки (Astakhova et al., 2008) или повышении внутриклеточного уровня циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) (Astakhova et al., 2012)). Ранее был предложен способ *ex vivo* оценки базовой активности ФДЭ в наружных сегментах фоторецепторов. Он заключается в фармакологической инактивации ФДЭ ее ингибитором 3-изобутил-1-метил-ксантином (ИБМХ), проводимой в рамках электрофизиологического эксперимента, в котором фоторецептор (палочка или колбочка) сохраняет все свои основные физиологические свойства, включая нормальную работу каскада фототрансдукции (Hodgkin et al., 1985; Hodgkin, Nunn, 1988). Применив этот метод, мы установили, что базовая активность ФДЭ после выхода палочек из состояния световой адаптации становится выше, чем была в темновом (преадаптационном) состоянии, и постепенно, в течение нескольких десятков секунд, возвращается к темновому уровню.

ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ

Эксперименты проводились на сетчатках озерных лягушек (*Pelophylax ridibundus*). Животные были отловлены в Астраханской области, доставлены в виварий ИЭФБ РАН, где содержались в холдильниках в контейнерах с водой при температуре 4–6 °С. Обращение с экспериментальными

животными соответствовало требованиям Директивы Совета европейских сообществ 1986 г. 86/609/ЕЕС и рекомендациям комиссии ИЭФБ РАН по биологической этике. Перед экспериментом животные проходили период темновой адаптации в течение 12 ч. Для получения изолированных фоторецепторов животных декапитировали, извлекали оба глаза, из них получали глазные бокалы и далее выделяли сетчатку. Все этапы препарирования проводили при свете тусклого красного фонаря или под бинокляром с инфракрасной подсветкой во избежание обесцвечивания фоторецепторов.

Ответы одиночных фоторецепторов регистрировали методом всасывающей пипетки (Baylog et al., 1979). Изолированную палочку всасывали в стеклянную пипетку в конфигурации «наружный сегмент наружу». Для препарирования и хранения глазных бокалов, а также перфузии препаратов фоторецепторов в ходе эксперимента использовали раствор Рингера, который готовился за один или два дня до начала эксперимента. Раствор Рингера для амфибий содержал в мМ: NaCl 90, KCl 2.5, MgCl₂ 1.6, CaCl₂ 1, NaHCO₃ 5, HEPES 5, глюкозу 10, EDTA 0.05; pH раствора доводили до 7.6 раствором NaOH. Все реагенты для приготовления растворов были приобретены у Sigma-Aldrich (Merck), США.

Система световой стимуляции состояла из двух независимых каналов, в каждом из которых источником света служил мощный зеленый светодиод ($\lambda_{\max} = 525$ нм). Интенсивность, период следования и длительность вспышек и засветок по обоим каналам стимуляции, а также регистрация показаний фототока палочек регулировались с помощью компьютерных плат АЦП-ЦАП и программ LabView (National Instruments, Austin, TX).

Для оценки базовой активности ФДЭ был применен подход с мгновенной инактивацией ФДЭ ее ингибитором ИБМХ. Изолированная палочка, зафиксированная в стеклянной пипетке наружным сегментом наружу, быстро перемещалась из нормального раствора Рингера в раствор Рингера, содержащего 0.5 мМ ИБМХ (Merck, США). Наблюдаемый при этом стремительный рост темнового тока отражает возрастание концентрации цГМФ, поскольку синтез цГМФ гуанилатциклазой в этих условиях не компенсируется работой ФДЭ (рис. 1а).

Анализ начальной фазы увеличения темнового тока позволяет оценить исходную активность ФДЭ. Расчет был основан на том, что изменение тока палочки $j(t)$, нормированного на темновой ток J_{dark} , связано с концентрацией цГМФ, нормированной на ее темновой уровень $cG(t)$, следующим выражением:

$$j(t)/J_{\text{dark}} = cG(t)^n,$$

где n — кооперативность цГМФ-управляемых каналов наружного сегмента фоторецептора, которая может принимать значения в диапазоне от двух до трех; ранее нами экспериментально было показано,

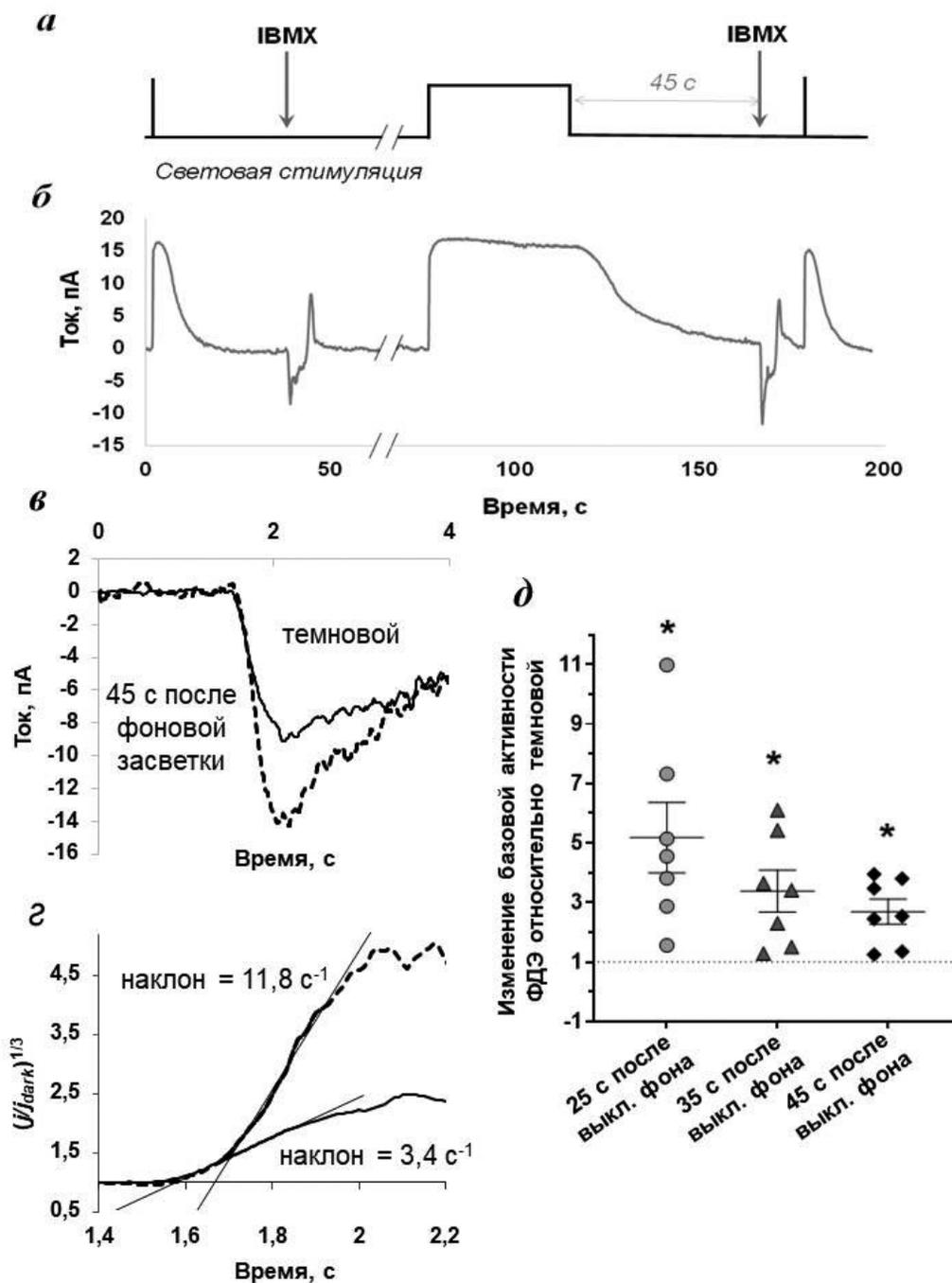


Рис. 1. Измерение базовой активности ФДЭ в одиночных палочках сетчатки лягушки в темновом и постадаптационном состоянии: *а* — схема типичного экспериментального протокола, включающего в себя световую стимуляцию (показана жирной черной линией) и кратковременную тестирующую аппликацию 0.5 мМ IBMX (показаны стрелками); *б* — реальная экспериментальная запись тока палочки при применении протокола, показанного на панели *а* (в целях иллюстрации запись подверглась цифровой Гаусс-фильтрации с окном 7 сигма); *в* — пример изменения тока палочки при кратковременной аппликации на ее наружный сегмент 0.5 мМ IBMX. Сплошная черная линия — кривая тока палочки в темновом состоянии, пунктирная линия — кривая тока этой же палочки через 45 с после выключения 40-секундной адаптирующей фоновой засветки интенсивностью 415 фотонов/мкм²/с; *з* — результат нормировки на темновой ток и извлечения корня кубического для кривых тока, показанных на панели *в* (кривая тока палочки в темновом состоянии, пунктирная линия — кривая тока этой же палочки через 45 с после выключения фоновой засветки). На графике также показаны линейные регрессии, аппроксимирующие линейные участки кривых и значения наклона, характеризующие базовую активность ФДЭ; *д* — изменения базовой активности ФДЭ относительно темнового значения, по оси *у* — кратность увеличения; * — значимые различия относительно единицы ($p < 0.05$, критерий Стьюдента).

что в палочках лягушки ее следует принимать равным трем (Astakhova et al., 2008).

Таким образом, аппроксимация линейной регрессией графика зависимости и определение ее наклона позволяют определить активность ФДЭ. Поскольку для расчета требуется нормировать увеличение тока под действием IBMX на исходный темновой ток, то палочке до или после регистрации ответа на IBMX предъявлялся насыщающий световой стимул, по величине которого и судили о темновом токе в текущий момент.

Длительное воздействие ингибитора ФДЭ в такой концентрации на фоторецепторные клетки является токсичным, поскольку большое количество каналов плазматической мембраны остаются открытыми, и обмен ионов в целом постепенно нарушается. В то же время кратковременное воздействие IBMX (доли секунды) практически не сказывается на жизнеспособности палочек и является обратимым. Поэтому в рамках экспериментального протокола клетка может выдерживать несколько десятков эпизодов ингибирования без изменения своего функционального состояния, что дает возможность надежно сравнить базовую активность ФДЭ при разных условиях. Такое кратковременное (500 мс) перемещение наружного сегмента палочки в раствор Рингера, содержащий 0.5 мМ IBMX, достигалось с помощью системы быстрой смены перфузионного раствора, подробно описанной нами ранее (Astakhova et al., 2012).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Задачей исследования было выяснить, изменятся ли базовая активность ФДЭ после фоновых засветок, которые, согласно нашим ранее опубликованным результатам, приводят к проявлению адаптационной памяти в палочках. Для этой цели мы выбрали фоновую засветку одной интенсивности и длительности — 40 с и 415 фотонов/мкм²/с. В нашей ранее опубликованной работе мы показали, что у одиночных палочек лягушки такая фоновая засветка приводила к эффекту адаптационной памяти: темновой ток восстанавливался с постоянной времени около 9 с, а восстановление чувствительности фотоответа проходило с постоянной времени 20—40 с (Nikolaeva et al., 2023; рис. 2, а и б). В качестве временных точек для проверки базовой активности ФДЭ мы выбрали 25, 35 и 45 с после выключения фоновой адаптирующей засветки. Экспериментальный протокол включал регистрацию насыщенного ответа (для оценки темнового тока) и короткую аппликацию IBMX в исходном (темновом) состоянии палочки, включение 40-секундной фоновой засветки, повторную аппликацию IBMX через заданный промежуток времени после выключения фоновой засветки

и регистрацию насыщенного ответа (для корректной нормировки), рис. 1, а.

На рис. 1, б показана запись тока изолированной палочки, полученная в ходе описанного экспериментального протокола. Видно, что аппликация IBMX приводит к быстрому отрицательному отклонению кривой темнового тока, что означает увеличение темнового тока вследствие увеличения концентрации цГМФ. На рис. 1, в в более крупном масштабе показаны наложенные друг на друга кривые изменения тока в ответ на IBMX, записанные в темновом состоянии и через 45 с после выключения адаптирующей фоновой засветки. Видно, что в постадаптационном состоянии реакция тока палочки на ингибирование ФДЭ более выражена, и применение дальнейшего анализа (нормирование на j_{dark} , извлечение кубического корня и аппроксимация выделенного участка кривой линейной регрессией) показывает, что активность ФДЭ в несколько раз выше после световой адаптации (рис. 1, г).

Мы провели такой анализ для трех временных точек — 25, 35 и 45 с после выключения адаптирующей засветки. Для всех трех точек базовая активность ФДЭ была повышена по сравнению со значением в темноте — в 5.2 ± 1.2 раза через 25 с, в 3.4 ± 0.7 раза через 35 с и в 2.7 ± 0.4 раза через 45 с (данные приведены как среднее \pm стандартная ошибка среднего), рис. 1, д. Затухание повышенной активности ФДЭ проходит с постоянной времени приблизительно 30 с.

ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаружив ранее в палочках феномен адаптационной памяти (Rotov et al., 2021; Nikolaeva et al., 2023), в этой работе мы сосредоточились на дальнейшем поиске молекулярных механизмов, лежащих в его основе. Задача оценки активности и определения концентраций основных участников каскада фототрансдукции в условиях *ex vivo* является нетривиальной, и большинство таких показателей до сих пор измеряется в препаратах мембран или наружных сегментов фоторецепторов, т.е. *in vitro*. Следовательно, полученные в таких экспериментальных условиях значения далеки от физиологических и не способны объяснить функционирование живой фоторецепторной клетки. В нашем исследовании мы выбрали сочетание электрофизиологического и фармакологического подходов, которые позволяют измерить базовую активность ФДЭ путем ее кратковременного ингибирования в целой изолированной палочке и провести такие измерения в разных состояниях.

Мы измерили базовую активность ФДЭ в первые десятки секунд после выключения адаптирующей фоновой засветки, которая была достаточно интенсивной, чтобы вызвать адаптационную

память после ее выключения, и сравнили полученные значения с базовой активностью ФДЭ в темноадаптированном состоянии фоторецепторов. Нами были выбраны три момента времени после выключения фоновой засветки — 25, 35 и 45 с после окончания засветки. В каждый из этих моментов базовая активность ФДЭ была повышена в несколько раз по сравнению с темновым уровнем; однако со временем она монотонно убывала, но не достигала темнового значения даже к 45 с. По нашим данным, при воздействии такого адаптирующего фона (40 с, 415 фотонов/мкм²/с) через 35 с после выключения фоновой засветки темновой ток может еще и не восстановиться до конца, и доля закрытых каналов может составлять 5–7%, тогда как через 45 с темновой ток у большинства палочек восстанавливался полностью. В этой временной точке базовая активность ФДЭ остается все еще повышенной в среднем в 2.7 раза. Природа такого повышения остается неизвестной. Поскольку темновой ток к этому времени восстановлен и предполагается, что и концентрация внутриклеточного кальция вернулась к темновому уровню, мы не можем связать такие модификации с кальциевыми контурами регуляции. В основе такой модификации могло бы лежать фосфорилирование отдельных субъединиц ФДЭ. Ранее было показано, что *in vitro* фосфорилирование ингибиторной γ -субъединицы ФДЭ в сайтах Thr22 или Thr35 приводит к некоторому снижению ингибиторной активности этой субъединицы (Paglia et al., 2002) и, таким образом, может повышать базовую активность фермента в целом. Однако в настоящее время нет экспериментальных данных *in vivo* о том, что фосфорилирование γ -субъединицы ФДЭ могло бы изменять базовую активность всего фермента, или о том, что в постадаптации происходит какое-либо дополнительное фосфорилирование. Этот вопрос требует дальнейшего экспериментального изучения.

Известно, что базовая активность ФДЭ в палочках может изменяться при различных воздействиях. Так, ранее нами было показано, что повышение внутриклеточного уровня цАМФ активатором аденилатциклазы форсколином приводит к уменьшению базовой активности ФДЭ в 1.6 раза (Astakhova et al., 2012) и такое изменение сопровождалось приблизительно двукратным ростом чувствительности палочек. В этом исследовании активность

ФДЭ повышалась в несколько раз после адаптирующей засветки при снижении чувствительности палочек в те же моменты, т.е. результаты этого исследования и наблюдения 2012 г. хорошо согласуются. Кроме того, имеются данные, полученные на фоторецепторах саламандры, о том, что базовая активность ФДЭ приблизительно в 3 раза выше в колбочках ($1.3\text{--}5.3\text{ с}^{-1}$ (Cornwall et al., 1995)), чем в палочках ($0.9 \pm 0.3\text{ с}^{-1}$ (Cornwall, Fain, 1994)). Колбочки обладают более низкой чувствительностью к свету, чем палочки, и хотя более высокая базовая активность ФДЭ является не единственной причиной таких различий в чувствительности, тем не менее это согласуется с нашими данными о том, что повышенная базовая активность ФДЭ в постадаптации сопряжена с временным снижением чувствительности палочек.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 22-25-00591.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность А. Ю. Ротову за плодотворную дискуссию и советы по представлению данных.

УЧАСТИЕ АВТОРОВ

Проведение экспериментов, обработка данных, редактирование рукописи выполнено Д. А. Николаевой; создание экспериментальной установки, концепция исследования, редактирование рукописи — М. Л. Фирсовым. Концепция исследования, формулирование экспериментального протокола, обработка данных, написание рукописи — вклад Л. А. Астаховой. Все авторы участвовали в обсуждении и редактировании текста статьи.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

In search of the molecular mechanisms of adaptation memory in rods: basic activity of phosphodiesterase

D. A. Nikolaeva^a, M. L. Firsov^a, and L. A. Astakhova^{a, #}

*^aSechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences
194223, Saint-Petersburg, Thorez, 44, Russia*

[#]E-mail: lubkins@yandex.ru

Retinal rods, the photoreceptors responsible for twilight vision, are capable of adapting to a wide range of light levels. The molecular mechanisms of light adaptation have been well studied, but an interesting question is what changes occur in the phototransduction cascade after the adaptive light stimuli are eliminated. Previously, we showed the phenomenon of adaptation memory in amphibian rods: after background illumination photoreceptor sensitivity to light remained reduced for several minutes, while the dark current recovered within 20–30 s. This suggests the existence of additional, as yet unknown, regulatory mechanisms of the phototransduction cascade that act after the adaptive effect of light. In search of specific mechanisms that could explain the effect of adaptation memory, we performed electrophysiological experiments on isolated frog rods to evaluate the basal activity of the effector enzyme of the phototransduction cascade, the phosphodiesterase type 6, in the dark and after saturating background illumination. It was found that the post-adaptation state of rods was characterized by increased basal phosphodiesterase activity, which gradually decreased to the dark level within tens of seconds after turning off the adaptive illumination. These results also suggest that the components of the phototransduction cascade may undergo some unstudied changes after light adaptation.

Key words: phototransduction cascade, rods, adaptation memory, phosphodiesterase

REFERENCES

- Astakhova L. A., Firsov M. L., Govardovskii V. I. Kinetics of turn-offs of frog rod phototransduction cascade. *J. Gen. Physiol.* 2008. V. 132(5). P. 587–604. <https://doi.org/10.1085/jgp.200810034>
- Astakhova L. A., Samoiliuk E. V., Govardovskii V. I., Firsov M. L. cAMP controls rod photoreceptor sensitivity via multiple targets in the phototransduction cascade. *J. Gen. Physiol.* 2012. V. 140(4). P. 421–433. <https://doi.org/10.1085/jgp.201210811>
- Baylor D. A., Lamb T. D., Yau K. W. Responses of retinal rods to single photons. *J. Physiol.* 1979. V. 288. P. 613–634. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1979.sp012716>
- Calvert P. D., Govardovskii V. I., Arshavsky V. Y., Makino C. L. Two temporal phases of light adaptation in retinal rods. *J. Gen. Physiol.* 2002. V. 119(2). P. 129–146. <https://doi.org/10.1085/jgp.119.2.129>
- Cornwall M. C., Fain G. L. Bleached pigment activates transduction in isolated rods of the salamander retina. *J. Physiol.* 1994. V. 480(2). P. 261–279. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1994.sp020358>
- Cornwall M. C., Matthews H. R., Crouch R. K., Fain G. L. Bleached pigment activates transduction in salamander cones. *J. Gen. Physiol.* 1995. V. 106(3). P. 543–557. <https://doi.org/10.1085/jgp.106.3.543>
- Govardovskii V. I. Firsov M. L. Unknown mechanisms regulating the GPCR signal cascade in vertebrate photoreceptors. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2012. V. 42. P. 180–192. <https://doi.org/10.1007/s11055-011-9551-1>
- Hodgkin A. L., Nunn B. J. Control of light-sensitive current in salamander rods. *J. Physiol.* 1988. V. 403. P. 439–471. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1988.sp017258>
- Hodgkin A. L., McNaughton P.A., Nunn B. J. The ionic selectivity and calcium dependence of the light-sensitive pathway in toad rods. *J. Physiol.* 1985. V. 358. P. 447–468. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1985.sp015561>
- 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. <https://doi.org/10.1113/JP282058>
- Nikolaeva D. A., Nekrasova M. A., Rotov A. Y., Astakhova L. A. Adaptation memory in photoreceptors: different mechanisms in rods and cones. *Front. Mol. Neurosci.* 2023. V. 16. P. 1135088. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1135088>
- Paglia M. J., Mou H., Cote R. H. Regulation of photoreceptor phosphodiesterase (PDE6) by phosphorylation of its inhibitory gamma subunit re-evaluated. *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 5017–5023. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M106328200>
- Pugh Jr., Edward N., Lamb T. D. Phototransduction in vertebrate rods and cones: molecular mechanisms of amplification, recovery and light adaptation. In: *Handbook of biological physics*. 2000. V. 3. 183–255. [https://doi.org/10.1016/S1383-8121\(00\)80008-1](https://doi.org/10.1016/S1383-8121(00)80008-1)
- Rotov A. Y., Astakhova L. A., Firsov M. L., Govardovskii V. I. Light adaptation of retinal rods, adaptation memory, and afterimages. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2021. V. 51. P. 116–122. <https://doi.org/10.1007/s11055-020-01046-2>
- Vinberg F., Chen J., Kefalov V. J. Regulation of calcium homeostasis in the outer segments of rod and cone photoreceptors. *Prog. Retin. Eye Res.* 2018. V. 67. P. 87–101. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2018.06.001>

УДК 159.931

НЕИНВАЗИВНАЯ РЕГИСТРАЦИЯ ЭЛЕКТРОРЕТИНОГРАММЫ ОТ ОБОИХ СЛОЖНЫХ ГЛАЗ У ТАРАКАНА *PERIPLANETA AMERICANA L.* В ОТВЕТ НА СВЕТОВЫЕ СТИМУЛЫ

© 2024 г. Е. С. Новикова¹, М. Л. Астахова¹, А. Ю. Ротов¹, М. И. Жуковская^{1,*}

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии РАН

194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44, Россия

*E-mail: mzhukovskaya@rambler.ru

Поступила в редакцию 22.11.2023 г.

После доработки 18.12.2023 г.

Принята к публикации 22.12.2023 г.

В работе представлен оригинальный метод неинвазивного отведения электроретинограммы от обоих сложных глаз насекомого. Метод показал высокую надежность и повторяемость результатов. Фотоэффект, искажающий амплитуду и форму ответа, был устранен использованием золотого отводящего электрода. С помощью этого метода показано, что величина ответов глаз мутантных тараканов *pearl*, лишенных экранирующего пигмента, на световой стимул примерно в четыре раза превышает ответы насекомых дикого типа. Время до пика ответа снижалось при увеличении интенсивности стимулирующего света для коротковолновых и длинноволновых стимулов. Тараканы *pearl* демонстрировали более быстрое, чем тараканы дикого типа, достижение максимума ответа. Результаты ковариационного анализа свидетельствуют, что эти различия не могут быть полностью объяснены увеличением числа фотонов, достигающих фоторецепторных мембран. Это предполагает дополнительные различия в физиологии сложного глаза мутантов и особей дикого типа. Положительное отклонение потенциала после окончания световой стимуляции зависело от интенсивности света и отражало гиперполяризацию рецепторных клеток.

Ключевые слова: электроретинограмма, таракан, *Periplaneta*, сложные глаза, зрение, насекомое

DOI: 10.31857/S0235009224010048

ВВЕДЕНИЕ

Свет, попадающий в глаз насекомого, запускает в фоторецепторных клетках каскад фототрансдукции, приводящий к изменению мембранного потенциала.

Суммарная реакция многих фоторецепторов, а иногда и постсинаптических нейронов, может быть зарегистрирована с поверхности глаза в виде внеклеточного сигнала — электроретинограммы (ЭРГ) (Schirmer et al., 2014; Dolph et al., 2011; Wu et al., 2022). Основным органом зрения насекомых — сложные (фасеточные) глаза, состоящие из множества омматидиев, включающих несколько фоторецепторных клеток разных спектральных классов, фоторецепторные мембраны которых образуют рабдом, и вспомогательных клеток (Грибакин, 1981). В большинстве работ применялись инвазивные методики отведения ЭРГ, при которых регистрирующий электрод вводится внутрь глаза через отверстие, вырезанное в кутикуле (Kugel, 1977; Gribakin, 1988; French et al., 2015; Crook et al., 2014; 2022; Schirmer et al., 2014). Глаз таракана

имеет сложную форму, нерегулярные ряды фасеток и разную длину фоторецепторов в разных участках глаза (Butler, 1973 a, b), что приводит к регистрации крайне вариабельной по амплитуде и кинетике ЭРГ (French et al., 2015) в зависимости от местоположения электрода. Кроме того, используя инвазивные методы, сложно или вовсе невозможно выполнять длительную или повторную регистрацию электрической активности глаз одного и того же животного, что существенно ограничивает решаемые с помощью этого метода задачи.

Количество фотонов, попадающих на фоторецепторные мембраны, зависит от присутствия и распределения экранирующего пигмента, оптически изолирующего рабдомы друг от друга (Грибакин, 1981). Показано, что амплитуда ЭРГ у белоглазых пчел с мутацией *snow* была примерно в 10 раз больше, чем у пчел дикого типа (Gribakin, 1988), а у синей мясной мухи *Calliphora vicina* (*erythrocephala*) — в 2–5 раз (Chen et al., 1999). Белоглазые мутанты с отсутствующим экранирующим пигментом демонстрируют более узкие пики спектральной чувствительности, чем особи дикого типа

(Gribakin, Ukhanov, 1990; Gribakin, 1988; Gribakin et al., 1996). Ранее было показано, что белоглазые тараканы более чувствительны к свету, избегая его при существенно меньших интенсивностях (Kelly, Mote, 1990). Однако чувствительность отдельных фоторецепторов, измеренная в электрофизиологических экспериментах, оказалась сниженной, предположительно вследствие уменьшения общей площади поверхности фоторецепторных мембран (Saari et al., 2018).

Другая проблема, с которой сталкиваются исследователи при отведении электрических ответов на свет серебряными и, особенно, хлорсеребряными электродами, — фотоэффект, появляющийся при взаимодействии коротковолнового освещения большой интенсивности с материалом электрода. Чтобы минимизировать не связанные с физиологическими ответами артефакты световой стимуляции, предлагались разные решения — от использования ватных фитилей для регистрации биопотенциалов до использования искусственного интеллекта для вычитания артефактов (Sieving et al., 1978; Mikulovic et al., 2016; Fabetti et al., 2021). Однако ватные фитили подсыхают, в результате чего не подходят для длительной и/или многократной регистрации ЭРГ от глаз насекомого, а искусственный интеллект нуждается в большом количестве хорошо определенных примеров для машинного обучения, которые сложно получить из-за вариативности фотоэффекта и ответов глаза.

Мы предлагаем новый неинвазивный метод отведения ЭРГ от сложных глаз таракана *Periplaneta americana* L. и применяем его для записи длительного протокола с предъявлением световых стимулов с максимумами излучения 525 и 365 нм, соответствующим максимумам чувствительности зрительных пигментов этого вида (Mote, Goldsmith, 1970). Для оценки влияния экранирующего пигмента на параметры ЭРГ были использованы белоглазые мутанты *pearl*, у которых такой пигмент отсутствует (Ross et al., 1964). В задачи работы также входило сравнение наиболее часто используемого неполяризуемого хлорсеребряного электрода с поляризуемым золотым электродом, особенно в области высокоинтенсивной УФ-стимуляции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Насекомые. Нимф последнего возраста мужского пола таракана *Periplaneta americana* L. (Insecta: Blattodea: Blattellidae) отсаживали от основной колонии и содержали в климатической камере Sanyo MLR-352H при инвертированном фоторежиме 12L:12D, температуре 24–28 °С (ночь—день) и относительной влажности 60%. Камера была оборудована люминесцентными лампами с максимальным излучением при 450, 540, 610 нм, цветовая температура 5 200°К. Пластиковые садки (45 л) с насекомыми

были снабжены картонными укрытиями, кормом и водой. Белоглазые тараканы с мутацией *pearl* (Ross et al., 1964) и тараканы дикого типа содержались в одинаковых условиях. В экспериментах использовали имаго возрастом от двух недель.

Электроретинография. Непосредственно перед началом скотофазы таракана фиксировали в плексигласовом боксе, закрепив шею в вырезе передней стороны бокса, чтобы голова оставалась свободной, аналогично описанному ранее способу (Zhukovskaya, 2012), и оставляли в светонепроницаемой коробке на час для темновой адаптации. Индифферентный электрод из нержавеющей стали был вмонтирован в шейный вырез и контактировал с шеей насекомого через ватный тампон, смоченный в растворе Рингера (Zhukovskaya, 2012). Регистрирующий электрод изготавливали из серебряной проволоки толщиной 0.5 мм и хлорировали в течение 1 мин непосредственно перед экспериментом в растворе следующего состава: $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ — 10 г; NaCl — 10 г.; H_2SO_4 (концентрированная) — 2.5 мл.; вода — до 100 мл, а затем накладывали на поверхности обоих сложных глаз и фиксировали концы пластилином к боксу. В части экспериментов использовали золотой электрод, изготовленный из проволоки 3л 99.99 диаметром 0.5 мм (SilverSalt, ГОСТ 7222–2014). Ротовые органы и антенны также фиксировали пластилином для уменьшения помех. Для улучшения контакта щель между поверхностью глаза и электродом заполняли электропроводящим гелем Vidisic® Gel (Bausch and Lomb, Сингапур) или Uniagel (Гельтек, Россия). Все манипуляции проводили при темно-красном свете налобного фонаря. Подготовленный препарат оставляли в темноте на 10 мин, а затем начинали отведения.

Система световой стимуляции состояла из двух независимых каналов на основе мощных светодиодов с пиками излучения с $\lambda_{\text{max}} = 525$ нм (зеленый) и 365 нм (ультрафиолетовый, УФ). Свет от зеленого светодиода к глазам таракана подавался через программно-переключаемые нейтральные светофильтры (с оптической плотностью (ND — 1, 2, 3.5)) по световоду, интенсивность света дополнительно регулировалась током светодиода. УФ стимул на глаза таракана подавался с УФ-светодиода, расположенного в непосредственной близости от головы животного. Интенсивность УФ-света регулировалась током светодиода и добавлением/удалением одного нейтрального фильтра (ND3.0). Интенсивность света обоих длин волн контролировали с помощью измерителя мощности света 843-R/843-R-USB (Newport, optoelectronic technologies Wuxi Co Ltd, China), помещаемого для измерения на место головы таракана.

Регистрируемый электрический сигнал, проходя через дифференциальный усилитель (модель 3000, A-M Systems, США, входное сопротивление 1 015

Ом), пропусклась через аналоговый фильтр низких частот (3 кГц) и регистрировалась с частотой дискретизации 10 мс/точку. Сбор данных, а также интенсивность, время и длительность стимуляции контролировали с использованием аналого-цифрового преобразователя и программного обеспечения, написанного в среде LabView (National Instruments, Austin, TX) (Goriachenkov et al., 2021).

Протоколы экспериментов. Световые стимулы предъявлялись последовательно с возрастающей интенсивностью, начиная с зеленого света, после чего аналогичным образом выполняли УФ-стимуляцию (чтобы избежать адаптации зеленочувствительных (широкополосных) рецепторов ультрафиолетом (Frolov et al., 2022)) (табл. 1).

Длительность стимула составляла 10 мс для большинства случаев, 1 или 5 мс для УФ-света низкой интенсивности и 50, 100 и 500 мс для

максимальной интенсивности. В случае низкой и средней интенсивности стимулы предъявлялись по 10 раз для последующего усреднения, чтобы улучшить соотношение “сигнал–шум”. Стимулы высокой интенсивности предъявлялись меньшее количество раз для снижения влияния световой адаптации на результаты. Интервал между стимулами составлял не менее 15 с.

Обработка данных и статистика. С использованием специализированной программы, написанной в среде LabView, корректировали нулевую линию и выполняли низкочастотную фильтрацию с применением 8-полосного фильтра Бесселя на частоте 20 Гц. Амплитуда ЭРГ рассчитывалась как минимальное значение потенциала в период 0–0.2 с после начала действия стимула. Время до пика определяли как абсциссу минимального значения потенциала. Выборки проверяли на нормальность распределения с помощью критерия

Таблица 1. Интенсивности световой стимуляции глаз таракана монохроматическим светом при регистрации ЭРГ

№ п/п	525 нм		365 нм	
	Фотоны/мм ² /мс	Стимул, мс	Фотоны/мм ² /мс	Стимул, мс
1	1.7×10^4			1
2	4.3×10^4		2.8×10^6	5
3	1.1×10^5			
4	2.7×10^5		7.1×10^6	
5	2.1×10^6		1.8×10^7	
6	5.3×10^6	10	4.5×10^7	
7	1.3×10^7		1.1×10^8	10
8	3.2×10^7		2.9×10^9	
9	8.2×10^7		7.2×10^9	
10	2.1×10^8		1.8×10^{10}	
11	4.2×10^8		4.5×10^{10}	
12				
13		50		50
14	8.2×10^8	100	1.1×10^{11}	100
15		500		500

Колмогорова–Смирнова. Поскольку большая часть выборок была распределена нормально, использовали параметрическую статистику. Уровень шума рассчитывали на участке от начала записи до начала стимуляции как два стандартных отклонения. Статистические сравнения выполняли в программе IBM SPSS Statistics 22 и онлайн-калькулятора (<http://vassarstats.net/>) с использованием следующих методов: Т-критерия Стьюдента, однофакторного и двухфакторного дисперсионного анализа (one-way and two-way ANOVA) и ковариационного анализа (ANCOVA).

Всего использовано 20 тараканов дикого типа и 15 белоглазых мутантов pearl.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Предлагаемый метод регистрации ЭРГ имеет ряд преимуществ перед широко используемым ответением электродом, вводимым в глаз. Стабильная регистрация в течение нескольких часов позволила предъявлять большое количество световых стимулов, варьирующих по интенсивности и длительности, с длинными интервалами между ними, предотвращающими существенную адаптацию фоторецепторов у каждого насекомого. Удалось преодолеть основную проблему классического метода записи ЭРГ (French et al., 2015) — зависимость амплитуды и формы ЭРГ от положения регистрирующего электрода.

Все регистрируемые в ответ на свет ЭРГ были сходной формы, с выраженным отрицательным пиком (рис. 1, *a*).

При предъявлении УФ-вспышки высокой интенсивности на ответ глаза накладывался фотоэффект на электроде, о котором можно судить по сдвигу пика к концу стимуляции (рис. 1, *б*). При замене таракана ватным тампоном, смоченным раствором Рингера, можно было наблюдать характерный электрический сигнал, вызванный фотоэффектом, подробно описываемый далее.

Тараканы дикого типа. Амплитуды ответов интактных тараканов на зеленый свет были достоверно выше уровня шума, начиная с 5.3×10^6 фотонов/мм²/мс, а на УФ-излучение — с 2.8×10^6 фотонов/мм²/мс (Т-тест Стьюдента, $p < 0.05$). Достигнуть насыщения амплитуды ответов не удалось ни для зеленого, ни для УФ-стимулов. Удлинение стимуляции приводило к стабилизации амплитуды ответов (рис. 2).

При увеличении длительности стимуляции до 50 мс росла амплитуда, до 100 мс и более на максимальных интенсивностях рост амплитуды уменьшался или прекращался, после пика ответа следовало плато. После выключения светового стимула у некоторых препаратов наблюдался овершут — переход потенциала через нулевую линию в область положительных значений (рис. 3).

Частота встречаемости овершутов не зависела от длины волны предъявляемого света, но росла с увеличением интенсивности сигнала (рис. 4, *a*). При увеличении длительности стимула максимальной интенсивности, 8.4×10^8 фотонов/мм²/мс для зеленого света и 1.1×10^{11} фотонов/мм²/мс для УФ (см. табл. 1), частота овершутов снижалась (рис. 4, *б*). Однако при оценке регистрируемого сигнала через 1 с после начала стимуляции ответы на зеленый, но не УФ-свет увеличивающейся длительности не показывали снижения частоты овершутов с удлинением стимула (рис. 4, *в*).

Поскольку амплитуду овершута сложно оценить из-за того, что в некоторых случаях максимум не наблюдался до конца записи, измеряли величину напряжения в точке 1 с от начала стимуляции. Эти величины показывают монотонное возрастание с ростом интенсивности световых стимулов обеих длин волн (рис. 5).

При увеличении длительности ярких стимулов 8.4×10^8 фотонов/мм²/мс для зеленого света и 1.1×10^{11} фотонов/мм²/мс для УФ повышенное значение потенциала сохраняется для зеленого

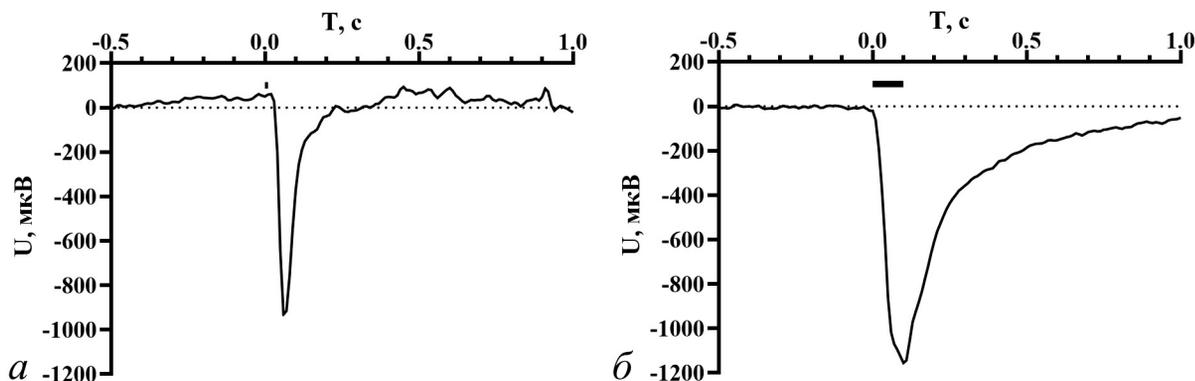


Рис. 1. Оригинальная запись ЭРГ интактного таракана дикого типа. *a* — таракан № 2 (26.05.2021), ответ на 10 мс вспышку зеленого (525 нм) света средней интенсивности (2.1×10^8 фотонов/мм²/мс); *б* — таракан № 8 (19.05.2022), ответ на 100 мс вспышку УФ (365 нм) света высокой интенсивности (1.1×10^{11} фотонов/мм²/мс). Отметка стимула показана над кривыми. Смещение минимального значения напряжения к концу стимуляции свидетельствует о существенном вкладе фотоэффекта.

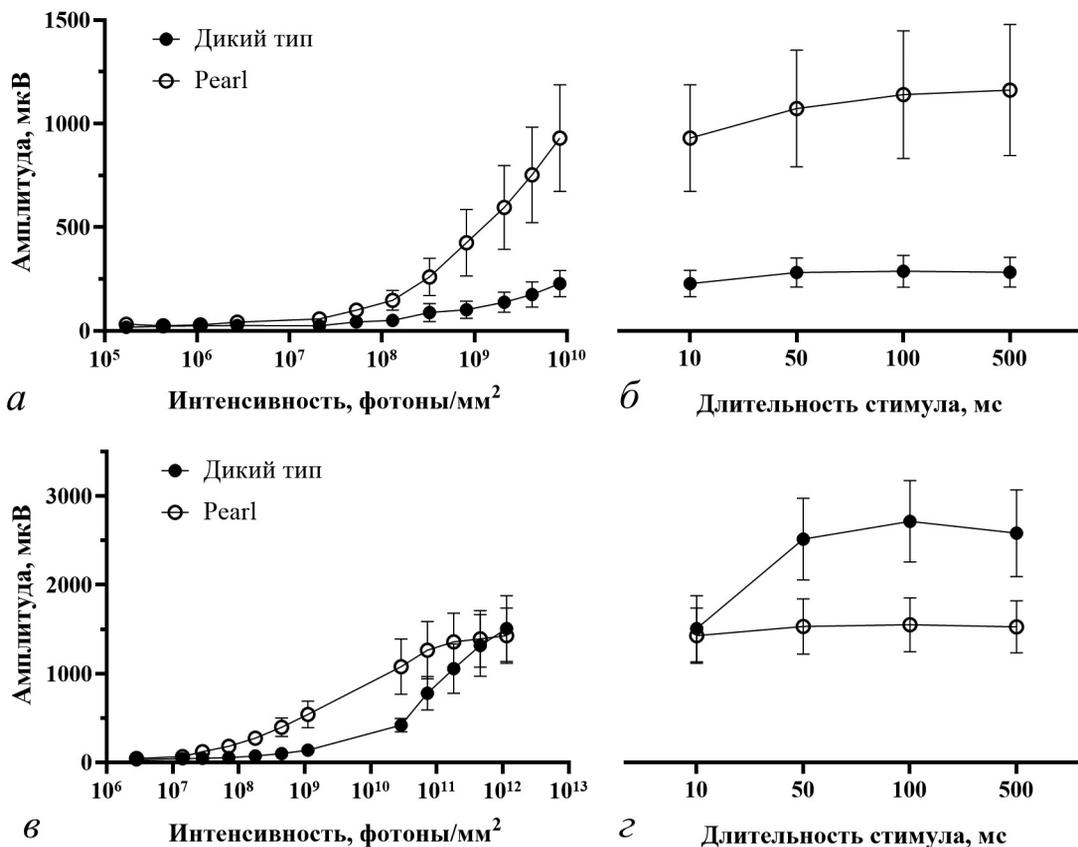


Рис. 2. Амплитуды ответов на короткие (1–10 мс) вспышки возрастающей интенсивности зеленого (а, б) и УФ (в, з) света. Амплитуды ответов на стимулы длительностью 10–500 мс (б, з). Показаны средние и ошибки среднего.

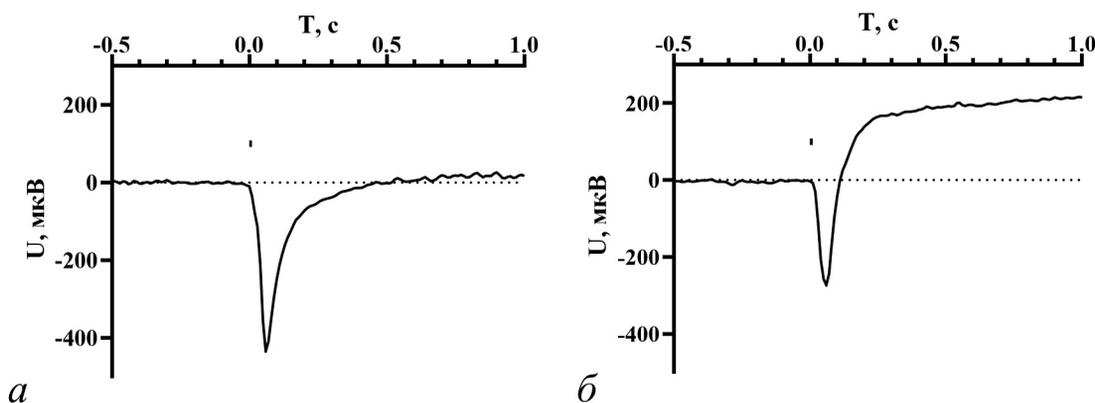


Рис. 3. Оригинальная запись ЭРГ интактного таракана дикого типа в ответ на 10 мс вспышку УФ (365 нм) света средней интенсивности (4.5×10^{10} фотонов/мм²/мс). а — таракан № 9 (19.05.2022), овершута нет; б — таракан № 12 (06.06.2022), овершут есть. Отметка стимула показана над кривыми.

света, но уменьшается для УФ, снижаясь до отрицательных значений для вспышек длительностью 500 мс (см. рис. 5).

Время достижения пика ответа (минимум) было наибольшим в ответ на слабый световой стимул и сокращалось при увеличении интенсивности

света в пределах стимулов обеих длин волн, не вызывающих существенного фотоэффекта (зеленый one-way ANOVA, $F_{8/149} = 5.31, p < 0.001$; УФ, $F_{11/198} = 14.71, p < 0.001$ (рис. 6). При ярком УФ-свете время до пика хотя бы отчасти росло, по-видимому, вследствие фотоэффекта.

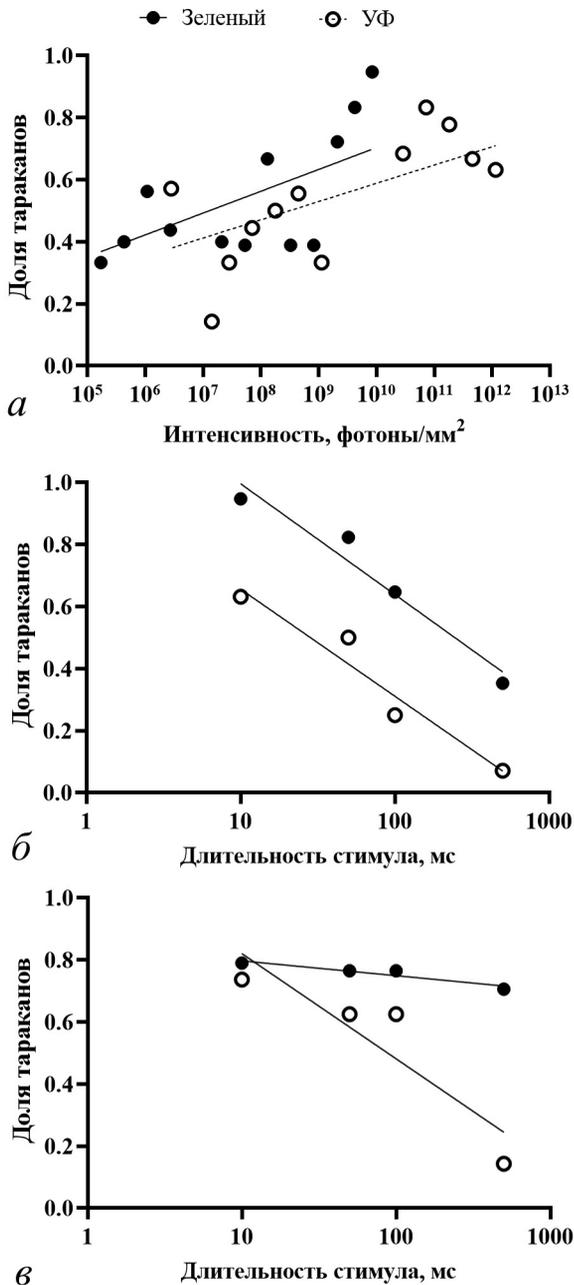


Рис. 4. Доля тараканов с положительным значением напряжения в точке 0.5 (а, б) и 1 (в) секунд после стимуляции (частота встречаемости овершотов). Для максимальной интенсивности света, использованного для стимуляции (б, в) приведены величины в ответ на вспышки длительностью 10–500 мс. Логарифмическая аппроксимация.

Основным недостатком хлорсеребряного электрода был фотоэффект, который искажал форму ответов на УФ-световые стимулы высокой интенсивности, начиная с 50 мс вспышек интенсивностью 1.1×10^{11} фотон/мм²/мс, поэтому были выполнены эксперименты по оценке фотоэффекта на ватном препарате с хлорсеребряным и золотым электродами.

При замене таракана на ватный тампон, смоченный раствором Рингера, наблюдалось характерное отклонение потенциала, нарастающего к концу стимуляции и спадающего после выключения света (рис. 7).

Стимулы зеленого света высокой интенсивности и длительностью 500 мс иногда также вызвали сходные электрические сигналы, но их величина была пренебрежимо мала (даже на ватном препарате не превышала 30 мкВ, см. рис. 7). К сожалению, особенно на живых препаратах, величина фотоэффекта, оцениваемая по смещению пика, была крайне вариабельной, что делает невозможным его вычитание из записей ЭРГ. Оказалось, что форма регистрируемого электрического сигнала в ответ на свет отличается от динамики ЭРГ, что становится особенно заметным с увеличением длительности стимула, а именно максимальное отклонение наблюдается в конце стимуляции. Зеленый свет вызывал небольшой фотоэффект на хлорсеребряном электроде даже при максимальных стимулах, а на золотом электроде не выделялся из шума (данные не показаны). УФ приводил к заметному фотоэффекту порядка 0.1 мВ уже на интенсивности 4.5×10^{10} фотон/мм²/мс для 10 мс стимулов и далее достигал нескольких милливольт. Фотоэффект, зарегистрированный с золотого электрода, не достигал 0.1 мВ даже при максимальной засветке (см. рис. 7).

Мутанты *pearl*. Белоглазые тараканы демонстрировали большую чувствительность к свету, чем насекомые дикого типа (см. рис. 2). Ответы на зеленый и УФ-свет у мутантов *pearl* появляются на стимулы меньшей интенсивности, чем у дикого типа, а соотношение амплитуд ответов достигает четырех для обеих длин волн (для зеленого света $p < 0.001$; two-way ANOVA, $F_{1/275} = 31.79$; для УФ $p < 0.01$, $F_{1/368} = 7.02$). Используемые нами максимальные интенсивности зеленого света не позволили достичь насыщения ответов, однако при ответах на УФ белоглазые тараканы демонстрировали насыщение ответа, начиная с интенсивности 1.8×10^{10} фотон/мм²/мс (см. рис. 2). Таким образом, кривые зависимости амплитуды ответа от интенсивности у белоглазых мутантов оказываются сдвинуты влево по отношению к тараканам дикого типа.

Время до пика у белоглазых тараканов было существенно короче, чем у черноглазых, при ответах как на зеленый, так и УФ-свет во всем диапазоне интенсивностей, вызывающих ответы, превышающие уровень шума (зеленый two way ANOVA, $F_{1/275} = 54.38$, $p < 0.001$; УФ, $F_{1/366} = 170.40$, $p < 0.001$; см. рис. 6).

Величина положительного отклонения потенциала после выключения стимуляции зависела от интенсивности света как для тараканов дикого типа, так и для мутантов, при этом величина овершута у белоглазых

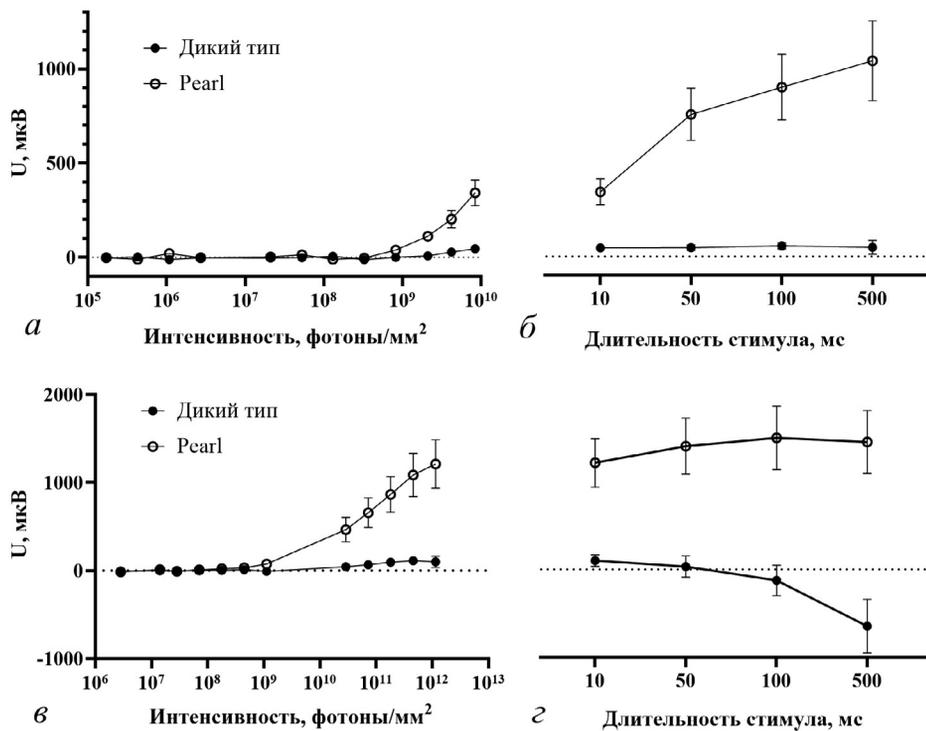


Рис. 5. Зарегистрированное напряжение через 1 с после начала стимуляции для 10 мс стимулов увеличивающейся интенсивности (а, в) и стимулов максимальной интенсивности при увеличении длительности (б, г). Стимуляция зеленым (а, б) и УФ (в, г) светом. Показаны средние и ошибки среднего.

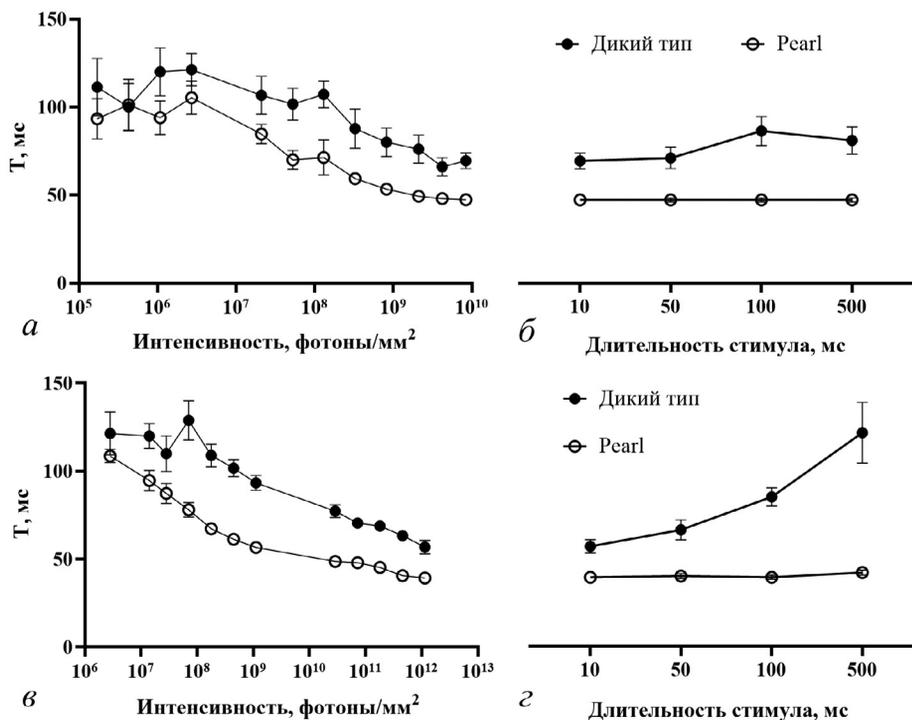


Рис. 6. Время до пика ЭРГ тараканов в ответ на короткие вспышки (1–10 мс) зеленого (а, б) и УФ (в, г) света возрастающей интенсивности. Для максимальной интенсивности света приведены времена для стимулов возрастающей длительности (б, г). Показаны средние и ошибки среднего.

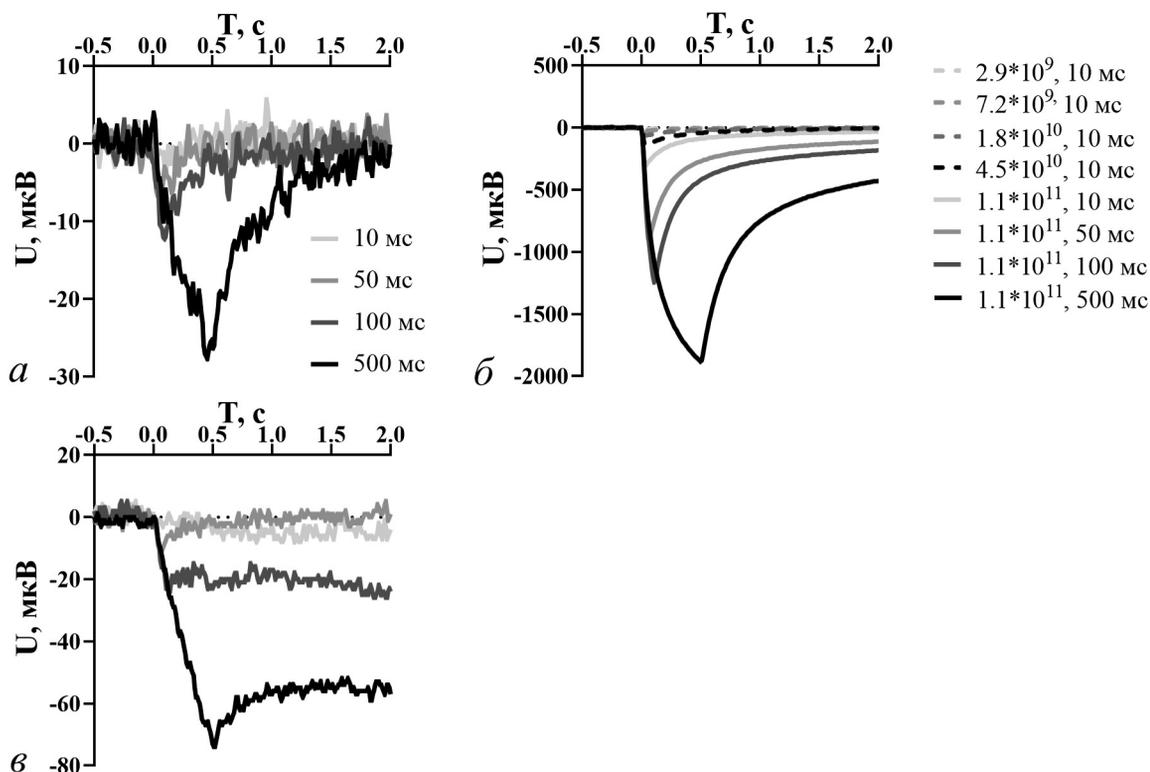


Рис. 7. Фотоэффект. Таракан заменен на ватный тампон, смоченный раствором Рингера. *а, б* — хлорсеребряный электрод; *в* — золотой электрод; *а* — зеленый, *б, в* — УФ световой стимул.

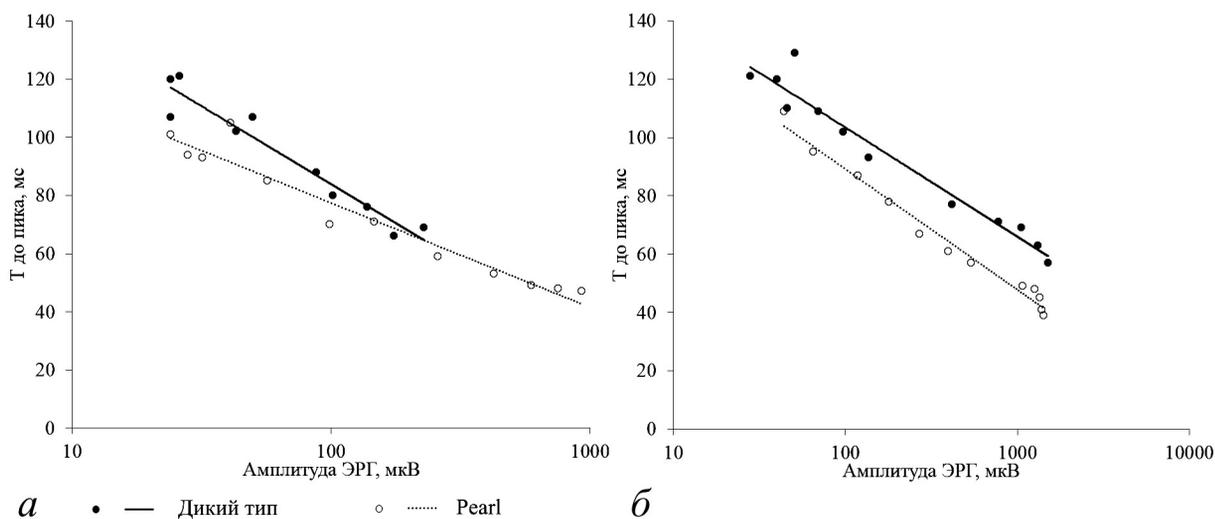


Рис. 8. Зависимость времени до пика от амплитуды ответа: *а* — зеленый, *б* — УФ свет. Приведены средние значения для ответов на 10 мс вспышки света и логарифмическая аппроксимация.

особей была существенно выше (см. рис. 5). Интересно отметить, что величина овершута, регистрируемого при удлиняющихся ярких УФ-стимулах, уменьшалась у тараканов дикого типа, но не менялась у белоглазых мутантов для стимулов 50–500 мс.

ОБСУЖДЕНИЕ

Предложенный в нашей работе неинвазивный метод отведения ЭРГ показал значительные преимущества перед традиционно используемым инвазивным методом с введением микроэлектрода

внутри глаза (French et al., 2015). Форма ответа была одинаковой у всех препаратов, в отличие от экспериментов с электродами, вводимыми в глаз, что позволило обнаружить связь параметров ЭРГ с характеристиками стимулов и состоянием глаза. Отрицательный пик ЭРГ характеризует суммарный ответ (деполяризацию) фоторецепторных клеток на свет, его амплитуда растет, а время до пика падает с увеличением интенсивности стимуляции. При использовании хлорсеребряного электрода ответы на УФ-свет высокой интенсивности искажаются артефактом, вызванным фотоэффектом, однако эта проблема может быть решена заменой хлорсеребряного электрода на золотой (см. рис. 7). Небольшой фотоэффект, наблюдаемый на искусственном препарате (ватный тампон, смоченный раствором Рингера), с золотым электродом был примерно на два порядка меньше, чем с хлорсеребряным и, по-видимому, вызван небольшим количеством серебра, содержащимся в золотой проволоке (ГОСТ 6835–2002). Отведение от обоих глаз таракана оказалось удобным, поскольку позволяет легко закрепить электрод на голове насекомого.

Белоглазые тараканы демонстрировали существенно более высокую чувствительность к свету, а именно ответы, превышающие уровень шума, обнаруживались в ответ на меньшие интенсивности света обеих длин волн, при этом амплитуды ответов были в несколько раз больше, чем у особей дикого типа. Таким образом, полученные данные подтверждают ранее наблюдавшееся кратное увеличение амплитуды ЭРГ у белоглазых мутантов (Gribakin, 1988; Chen et al., 1999). Кажущееся противоречие с данными, полученными при внутриклеточных отведениях (Saari et al., 2018), которые демонстрируют более низкие ответы на свет фоторецепторов из глаз мутантов *pearl* по сравнению с диким типом, объясняется увеличением потока света, достигающего фоторецепторных мембран и, соответственно, вкладом большего числа фоторецепторов в суммарный электрический ответ глаза.

Вследствие технических ограничений по яркости предъявляемых вспышек, увеличения числа фотонов в стимуле достигали увеличением его длительности (см. табл. 1). Удлинение стимуляции позволяет увеличить ответ фоторецептора с сохранением его динамики только в очень небольшом временном диапазоне, пока не заработали механизмы выключения в каскаде фототрансдукции. Это время задержки перед фотоответом и первые 10–15 мс ответа, далее часть падающих фотонов возбуждает каскад в уже адаптирующейся к свету клетке, в которой усиление в каскаде снижено. Как следствие, искажается форма переднего фронта — он оказывается более пологим, а время до пика не меняется или удлиняется с увеличением числа фотонов в стимуле. Тем не менее временное окно для стимула, который будет приводить к увеличению амплитуды, несколько шире — до момента, когда клетка полностью адаптируется к текущей

плотности потока фотонов (несколько десятков миллисекунд). Еще более длительная стимуляция будет поддерживать клетку в некоем стационарном состоянии, так как механизмы активации и выключения будут в равновесии. Наши данные демонстрируют, что стимулы зеленого света 8.4×10^8 фотон/мм²/мс при увеличении их длительности воспринимаются глазом таракана не как одномоментные вспышки, а как светлые периоды. Мы не можем с уверенностью утверждать, что это же верно и для УФ-света из-за фотоэффекта.

Особый интерес представляет положительная волна потенциала (овершут), наблюдавшийся у части препаратов. Поскольку выраженность овершута растет с интенсивностью световых стимулов обеих длин волн, можно предположить, что он связан с гиперполяризацией фоторецепторных клеток. Это предположение не противоречит данным, полученными на белоглазых тараканах *pearl* (более выраженные овершуты), у которых фоторецепторы получают больше света из-за отсутствия экранирующего пигмента.

Положительные овершуты, наблюдаемые после окончания стимуляции, были описаны у некоторых видов ночных и дневных насекомых. Так, для богомолы *Tenodera aridifolia sinensis*, *Sphodromantis lineola* и *Popa spurca* описана медленная положительная волна, которую авторы трактуют как гиперполяризацию фоторецепторов (Popkiewicz, Prete, 2013) и связывают с работой электрогенного катионного насоса (Jansonius, 1990; Schirmer et al., 2014). Внутриклеточные отведения от фоторецепторов мясной мухи *Calliphora vicina (erythrocephala)* и светляка *Photinus pyralis* демонстрируют волну медленной гиперполяризации после выключения стимула, величина которой растет с интенсивностью стимула (Hochstrate, 1989; Cronin et al., 2000).

Для длительных УФ-стимулов овершуты исчезали, вероятно, вследствие медленного восстановления мембранного потенциала фоторецепторов.

Время до пика снижалось при увеличении интенсивности стимулирующего света для обеих длин волн. Такая же зависимость наблюдалась для белоглазых мутантов. Однако полученные значения времени до пика были меньше, чем для черноглазых тараканов дикого типа. Дополнительный ковариационный анализ (ANCOVA) для амплитуд ответов и времени достижения пиков ответов показал достоверные различия между белоглазыми мутантами и черноглазыми особями дикого типа (для зеленого света $F = 4.35$, $df = 1$, $p = 0.05$; для УФ $F = 65.28$; $df = 1$, $p < 0.0001$, рис. 8).

Таким образом, уменьшение времени до пика у белоглазых мутантов связано не только с увеличением количества света, достигающего фоторецепторов, но и с каким-то дополнительным фактором, возможно, более короткими фоторецепторными клетками (Saari et al., 2018), но это предположение требует дальнейшей проверки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанный нами метод отведения ЭРГ от поверхности обоих сложных глаз насекомого показал высокую надежность и позволяет регистрировать ответы глаза в течение длительного времени.

Амплитуда ЭРГ белоглазых тараканов в несколько раз превышала значения, полученные для черноглазых, как для зеленого, так и для УФ-стимулов средних интенсивностей динамического диапазона.

Время до пика было меньше у белоглазых тараканов, и эти различия невозможно полностью объяснить увеличением света, достигающего фоторецепторов. Это, по-видимому, связано с изменениями свойств фоторецепторных клеток при потере экранирующего пигмента.

Волна положительного потенциала, наблюдаемая после выключения стимула, увеличивается с интенсивностью стимуляции и, по-видимому, отражает гиперполяризацию рецепторных клеток.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 22-24-00806.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят чл.-корр. М. Л. Фирсова за предоставленную возможность использования созданной им установки и программного обеспечения.

УЧАСТИЕ АВТОРОВ

Содержание и подготовка насекомых, проведение экспериментов, обработка данных, подготовка таблицы и рисунков выполнено Е. С. Новиковой; отработка протоколов экспериментов, калибровка источников света и светофильтров — А. Ю. Ротовым и Л. А. Астаховой. Идея метода регистрации ЭРГ, обработка данных, написание статьи реализованы М. И. Жуковской. Все авторы участвовали в обсуждении и редактировании текста статьи.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Грибакин Ф. Г. *Механизмы фоторецепции насекомых*. Л.: Наука, 1981. 213 с.

- Butler R. The anatomy of the compound eye of *Periplaneta americana* L. 1. General features *J. Comp. Physiol.* 1973a. V. 83. P. 223–238. <https://doi.org/10.1007/BF00693676>
- Butler R. The anatomy of the compound eye of *Periplaneta americana* L. 2. Fine structure. *J. Comp. Physiol.* 1973b. V. 83. P. 239–262. <https://doi.org/10.1007/BF00693677>
- Chen B., Meinertzhagen I. A., Shaw S. R. Circadian rhythms in light-evoked responses of the fly's compound eye, and the effects of neuromodulators 5-HT and the peptide PDF. *J. Comp. Physiol. A.* 1999. V. 185. P. 393–404. <https://doi.org/10.1007/s003590050400>
- Cronin T. W., Järvilehto M., Weckström M., Lall A. B. Tuning of photoreceptor spectral sensitivity in fireflies (Coleoptera: Lampyridae). *J. Comp. Physiol. A.* 2000. V. 186. P. 1–12. <https://doi.org/10.1007/s003590050001>
- Crook D. J., Hull-Sanders H. M., Hibbard E. L., Mastro V. C. A comparison of electrophysiologically determined spectral responses in six subspecies of *Lymantria*. *J. Econ. Entomol.* 2014. V. 107. P. 667–674. <https://doi.org/10.1603/EC13464>
- Crook D. J., Chiesa S. G., Warden M. L., Nadel H., Ioriatti C., Furtado M. Electrophysiologically determined spectral responses in *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Econ. Entomol.* 2022. V. 115(5). P. 1499–1504. <https://doi.org/10.1093/jeet/toac124>
- Dolph P., Nair A., Raghu P. Electroretinogram recordings of *Drosophila*. *Cold Spring Harb Protoc.* 2011. V. 2011(1). P. pdb-prot5549. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5549>
- Fabietti M., Mahmud M., Lotfi A., Kaiser M. S., Aversa A., Guggenmos D. J., Nudo R. J., Chiappalone M., Chen J. SANTI: a Matlab-based open-source toolbox for artifact detection and removal from extracellular neuronal signals. *Brain Informatics.* 2021. V. 8. P. 1–19. <https://doi.org/10.1186/s40708-021-00135-3>
- French A. S., Meisner S., Liu H., Weckström M., Torkkeli P. H. Transcriptome analysis and RNA interference of cockroach phototransduction indicate three opsins and suggest a major role for TRPL channels. *Frontiers in physiology.* 2015. V. 6. P. 207. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00207>
- Frolov R. V., Severina I., Novikova E., Ignatova I. I., Liu H., Zhukovskaya M., Torkkeli P. H., French A. S. Opsin knockdown specifically slows phototransduction in broadband and UV-sensitive photoreceptors in *Periplaneta americana*. *J. Comp. Physiol. A.* 2022. V. 208(5–6). P. 591–604. <https://doi.org/10.1007/s00359-022-01580-z>
- Goriachenkov A. A., Rotov A. Y., Firsov M. L. Developmental dynamics of the functional state of the retina in mice with inherited photoreceptor degeneration. *Neuroscience and Behavioral Physiology.*

2021. V. 51. P. 807–815. <https://doi.org/10.1007/s11055-021-01137-8>
- Gribakin F. G. Photoreceptor optics of the honeybee and its eye colour mutants: the effect of screening pigments on the long-wave subsystem of colour vision. *J. Comp. Physiol. A*. 1988. V. 164. P. 123–140. <https://doi.org/10.1007/BF00612726>
- Gribakin F. G., Ukhanov K. Y. Is the white eye of insect eye-color mutants really white? *J. Comp. Physiol. A*. 1990. V. 167. P. 715–721. <https://doi.org/10.1007/BF00192666>
- Gribakin F. G., Alekseyev Y. N., Ukhanov K. Y. Spectral sensitivity of white-eyed insect mutants in the UV, blue and green. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 1996. V. 35(1–2). P. 13–18. [https://doi.org/10.1016/1011-1344\(96\)07313-7](https://doi.org/10.1016/1011-1344(96)07313-7)
- Hochstrate P. Lanthanum mimicks the trp photoreceptor mutant of *Drosophila* in the blowfly *Calliphora*. *J. Comp. Physiol. A*. 1989. V. 166. P. 179–187. <https://doi.org/10.1007/BF00193462>
- Jansonius N. M. Properties of the sodium pump in the blowfly photoreceptor cell. *J. Comp. Physiol.* 1990. V. 167. P. 461–467. <https://doi.org/10.1007/BF00190816>
- Kelly K. M., Mote M. I. Avoidance of monochromatic light by the cockroach *Periplaneta americana*. *Journal of insect physiology*. 1990. V. 36(4). P. 287–291. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(90\)90113-T](https://doi.org/10.1016/0022-1910(90)90113-T)
- Kugel M. The time course of the electroretinogram of compound eyes in insects and its dependence on special recording conditions. *Journal of Experimental Biology*. 1977. V. 71(1). P. 1–6. <https://doi.org/10.1242/jeb.71.1.1>
- Mikulovic S., Pupe S., Peixoto H. M., Do Nascimento G. C., Kullander K., Tort A. B., Leão R. N. On the photovoltaic effect in local field potential recordings. *Neurophotronics*. 2016. V. 3(1). P. 015002. <https://doi.org/10.1117/1.NPh.3.1.015002>
- Mote M. I., Goldsmith T. H. Spectral sensitivities of color receptors in the compound eye of the cockroach *Periplaneta*. *J. Exp. Zool.* 1970. V. 173. P. 137–145. <https://doi.org/10.1002/jez.1401730203>
- Popkiewicz B., Prete F. R. Macroscopic characteristics of the praying mantis electroretinogram. *Journal of insect physiology*. 2013. V. 59(8). P. 812–823. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2013.05.002>
- Ross M. H., Cochran G., Smyth D. T. Eye-color mutations in the American cockroach, *Periplaneta americana*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1964. V. 57. P. 790–792. <https://doi.org/10.1093/aesa/57.6.790>
- Saari P., Immonen E. V., Kemppainen J., Heimonen K., Zhukovskaya M., Novikova E., French A. S., Torkkeli P. H., Liu H., Frolov R. V. Changes in electrophysiological properties of photoreceptors in *Periplaneta americana* associated with the loss of screening pigment. *J. Comp. Physiol. A*. 2018. V. 204. P. 915–928. <https://doi.org/10.1007/s00359-018-1290-0>
- Schirmer A. E., Prete F. R., Mantes E. S., Urdiales A. F., Bogue W. Circadian rhythms affect electroretinogram, compound eye color, striking behavior and locomotion of the praying mantis *Hierodula patellifera*. *Journal of Experimental Biology*. 2014. V. 217(21). P. 3853–3861. <https://doi.org/10.1242/jeb.102947>
- Sieving P. A., Fishman G. A., Maggiano J. M. Corneal wick electrode for recording bright flash electroretinograms and early receptor potentials. *Archives of Ophthalmology*. 1978. V. 96(5). P. 899–900. <https://doi.org/10.1001/archophth.1978.03910050501024>
- Wu J., Tian Y., Dong W., Han J. Protocol for electroretinogram recording of the *Drosophila* compound eye. *STAR protocols*. 2022. V. 3(2). P. 101286. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2022.101286>
- Zhukovskaya M. I. Modulation by octopamine of olfactory responses to nonpheromone odorants in the cockroach, *Periplaneta americana* L. *Chemical senses*. 2012. V. 37(5). P. 421–429. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjr121>

Non-invasive recording of electroretinogram from both compound eyes in the cockroach *Periplaneta americana* L. in response to light stimuli

E. S. Novikova^a, L. A. Astakhova^a, A. Yu. Rotov^a, M. I. Zhukovskaya^{a*}

^aSechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences

104223, St. Petersburg, Thorez Ave, 44, Russia

**E-mail: mzhukovskaya@rambler.ru*

The paper presents an original method of non-invasive registration of electroretinogram from both compound eyes of an insect. The method demonstrated high reliability and repeatability of the results. Using this method, it was shown that the magnitude of the light responses obtained from mutant cockroaches devoid of screening pigment, pearl, was about 4 times greater than those of wild-type insects. The time to peak of the response decreased with increasing light intensity, both for short-wavelength and long-wavelength stimuli. The pearl cockroaches exhibited a faster time to peak response than wild-type cockroaches; the results of covariance analysis indicate that these differences cannot be fully explained by an increase in the number of photons reaching the photoreceptor membranes and suggest additional differences in the compound eye physiology of mutant and wild-type insects. The positive voltage wave after the end of light stimulation depends on light intensity and reflects hyperpolarization of receptor cells. The photovoltaic effect, which distorts the amplitude and the shape of the response can be eliminated by using a gold wire as a recording electrode.

Key words: electroretinogram, cockroach, *Periplaneta*, compound eyes, insect vision

REFERENCES

- Gribakin F. G. *Mehanizmy fotorepcii nasekomyh* [Mechanisms of photoreception in insects]. Leningrad. Nauka, 1981. 213 p. (in Russian).
- Butler R. The anatomy of the compound eye of *Periplaneta americana* L. 1. General features *J. Comp. Physiol.* 1973a. V. 83. P. 223–238. <https://doi.org/10.1007/BF00693676>.
- Butler R. The anatomy of the compound eye of *Periplaneta americana* L. 2. Fine structure. *J. Comp. Physiol.* 1973b. V. 83. P. 239–262. <https://doi.org/10.1007/BF00693677>.
- Chen B., Meinertzhagen I. A., Shaw S. R. Circadian rhythms in light-evoked responses of the fly's compound eye, and the effects of neuromodulators 5-HT and the peptide PDF. *J. Comp. Physiol. A.* 1999. V. 185. P. 393–404. <https://doi.org/10.1007/s003590050400>
- Cronin T. W., Järvilehto M., Weckström M., Lall A. B. Tuning of photoreceptor spectral sensitivity in fireflies (Coleoptera: Lampyridae). *J. Comp. Physiol. A.* 2000. V. 186. P. 1–12. <https://doi.org/10.1007/s003590050001>.
- Crook D. J., Hull-Sanders H.M., Hibbard E. L., Mastro V. C. A comparison of electrophysiologically determined spectral responses in six subspecies of *Lymantria*. *J. Econ. Entomol.* 2014. V. 107. P. 667–674. <https://doi.org/10.1603/EC13464>.
- Crook D. J., Chiesa S. G., Warden M. L., Nadel H., Ioriatti C., Furtado M. Electrophysiologically determined spectral responses in *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Econ. Entomol.* 2022. V. 115(5). P. 1499–1504. <https://doi.org/10.1093/jeet/toac124>
- Dolph P., Nair A., Raghu P. Electroretinogram recordings of *Drosophila*. *Cold Spring Harb Protoc.* 2011. V. 2011(1). P. pdb-prot5549. <https://doi.org/10.1101/pdb-prot5549>
- Fabiatti M., Mahmud M., Lotfi A., Kaiser M. S., Aversa A., Guggenmos D. J., Nudo R. J., Chiappalone M., Chen J. SANTI: a MATLAB-based open-source toolbox for artifact detection and removal from extracellular neuronal signals. *Brain Informatics.* 2021. V. 8. P. 1–19. <https://doi.org/10.1186/s40708-021-00135-3>.
- French A. S., Meisner S., Liu H., Weckström M., Torkkeli P. H. Transcriptome analysis and RNA interference of cockroach phototransduction indicate three opsins and suggest a major role for TRPL channels. *Frontiers in physiology.* 2015. V. 6. P. 207. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00207>.
- Frolov R. V., Severina I., Novikova E., Ignatova I. I., Liu H., Zhukovskaya M., Torkkeli P. H., French A. S. Opsin knockdown specifically slows phototransduction in broadband and UV-sensitive photoreceptors in *Periplaneta americana*. *J. Comp. Physiol. A.* 2022. V. 208(5–6). P. 591–604. <https://doi.org/10.1007/s00359-022-01580-z>
- Goriachenkov A. A., Rotov A. Y., Firsov M. L. Developmental dynamics of the functional state of the retina in mice with inherited photoreceptor degeneration. *Neuroscience and Behavioral Physiology.* 2021. V. 51. P. 807–815. <https://doi.org/10.1007/s11055-021-01137-8>
- Gribakin F. G. Photoreceptor optics of the honeybee and its eye colour mutants: the effect of screening pigments on the long-wave subsystem of colour vision. *J. Comp. Physiol. A.* 1988. V. 164. P. 123–140. DOI: 10.1007/BF00612726.
- Gribakin F. G., Ukhanov K. Y. Is the white eye of insect eye-color mutants really white? *J. Comp. Physiol. A.* 1990. V. 167. P. 715–721. <https://doi.org/10.1007/BF00192666>.
- Gribakin F. G., Alekseyev Y. N., Ukhanov K. Y. Spectral sensitivity of white-eyed insect mutants in the UV, blue and green. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* 1996. V. 35(1–2). P. 13–18. [https://doi.org/10.1016/1011-1344\(96\)07313-7](https://doi.org/10.1016/1011-1344(96)07313-7)
- Hochstrate P. Lanthanum mimicks the TRP photoreceptor mutant of *Drosophila* in the blowfly *Calliphora*. *J. Comp. Physiol. A.* 1989. V. 166. P. 179–187. <https://doi.org/10.1007/BF00193462>
- Jansonius N. M. Properties of the sodium pump in the blowfly photoreceptor cell. *J. Comp. Physiol.* 1990. V. 167. P. 461–467. <https://doi.org/10.1007/BF00190816>
- Kelly K. M., Mote M. I. Avoidance of monochromatic light by the cockroach *Periplaneta americana*. *Journal of insect physiology.* 1990. V. 36(4). P. 287–291. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(90\)90113-T](https://doi.org/10.1016/0022-1910(90)90113-T).
- Kugel M. The time course of the electroretinogram of compound eyes in insects and its dependence on special recording conditions. *Journal of Experimental Biology.* 1977. V. 71(1). P. 1–6. <https://doi.org/10.1242/jeb.71.1.1>
- Mikulovic S., Pupe S., Peixoto H. M., Do Nascimento G. C., Kullander K., Tort A. B., Leão R. N. On the photovoltaic effect in local field potential recordings. *Neurophotonics.* 2016. V. 3(1). P. 015002. <https://doi.org/10.1117/1.NPh.3.1.015002>
- Mote M. I., Goldsmith T. H. Spectral sensitivities of color receptors in the compound eye of the cockroach *Periplaneta*. *J. Exp. Zool.* 1970. V. 173. P. 137–145. <https://doi.org/10.1002/jez.1401730203>
- Popkiewicz B., Prete F. R. Macroscopic characteristics of the praying mantis electroretinogram. *Journal of insect physiology.* 2013. V. 59(8), P. 812–823. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2013.05.002>
- Ross M. H., Cochran G., Smyth D. T. Eye-color mutations in the American cockroach, *Periplaneta americana*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1964. V. 57. P. 790–792. <https://doi.org/10.1093/aesa/57.6.790>

- Saari P., Immonen E. V., Kemppainen J., Heimonen K., Zhukovskaya M., Novikova E., French A. S., Torkkeli P. H., Liu H., Frolov R. V. Changes in electrophysiological properties of photoreceptors in *Periplaneta americana* associated with the loss of screening pigment. *J. Comp. Physiol. A*. 2018. V. 204. P. 915–928. <https://doi.org/10.1007/s00359-018-1290-0>
- Schirmer A. E., Prete F. R., Mantes E. S., Urdiales A. F., Bogue W. Circadian rhythms affect electroretinogram, compound eye color, striking behavior and locomotion of the praying mantis *Hierodula patellifera*. *Journal of Experimental Biology*. 2014. V. 217(21). P. 3853–3861. <https://doi.org/10.1242/jeb.102947>
- Sieving P. A., Fishman G. A., Maggiano J. M. Corneal wick electrode for recording bright flash electroretinograms and early receptor potentials. *Archives of Ophthalmology*. 1978. V. 96(5). P. 899–900. <https://doi.org/10.1001/archophth.1978.03910050501024>
- Wu J., Tian Y., Dong W., Han J. Protocol for electroretinogram recording of the *Drosophila* compound eye. *STAR protocols*. 2022. V. 3(2). P. 101286. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2022.101286>
- Zhukovskaya M. I. Modulation by octopamine of olfactory responses to nonpheromone odorants in the cockroach, *Periplaneta americana* L. *Chemical senses*. 2012. 37(5). P. 421–429. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjr121>

СЕНСОРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОПЕРАТОРОВ В ЗАДАЧАХ УПРАВЛЕНИЯ ЭРГАТИЧЕСКИМИ СИСТЕМАМИ ПРИ ОТСУТСТВИИ ЗРИТЕЛЬНОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

© 2024 г. Я. А. Туровский^{1,2,*}, В. Ю. Алексеев², Р. А. Токарев²

¹Институт проблем управления им. В. А. Трапезникова Российской академии наук

117997, Москва, ул. Профсоюзная, 65, Россия

²Воронежский государственный университет

394018, Воронеж, Университетская площадь, 1, Россия

*E-mail: yaroslav_turovsk@mail.ru

Поступила в редакцию 12.09.2023 г.

После доработки 09.11.2023 г.

Принята к публикации 08.12.2023 г.

Целью исследования было выяснить влияние зрительной обратной связи на качество работы пользователей с рядом интерфейсов “человек–компьютер”, а также на освоение интерфейсов. В результате работы были оценены особенности генерации управляющих команд операторами эргатических систем с использованием окулографического интерфейса, интерфейсов управления движениями руки и головы. Наличие зрительной обратной связи оказалось важным для точной генерации команд во всех случаях. Однако при управлении головой и глазами наличие зрительной обратной связи приводило у необученных пользователей к большему отклонению от идеальной траектории и увеличению дистанции, которую проходил курсор до достижения цели. Анализ типичных реакций во всех экспериментах позволил выделить три типа управления, отличающихся для движения глаз и головы, но не для движения рук в режиме эргатической системы. Первый и второй типы проявляли большее количество ошибок при наличии обратной связи по сравнению с третьим типом. Полученные результаты могут быть использованы при разработке перспективных интерфейсов для эргатических систем, включая определение необходимых компонентов зрительной обратной связи для данного класса технических устройств.

Ключевые слова: сенсорная особенность, оператор, управление, эргатическая система, зрительная обратная связь, интерфейс “человек–компьютер”, инфракрасный окулографический интерфейс

DOI: 10.31857/S0235009224010058

ВВЕДЕНИЕ

Расширение требований к эргатическим системам управления, т.е. человеко-машинным системам, где человек включен в контур управления, требует одновременного развития и систем подготовки операторов для таких систем, причем подготовки с учетом особенностей функционирования самой системы. Одной из таких особенностей является использование новых каналов генерации команд человеком–оператором. Кроме классического подхода, основанного на использовании клавиатур и джойстик-подобных устройств, делаются разнообразные попытки применения иных каналов генерации команд. К таким каналам можно отнести голосовой канал (Cohenetal, 2004), акселерометрические решения, интерфейсы “мозг–компьютер” (Мельк, 2020; Полубаров и др., 2022; Туровский и др., 2020; Wolpraw, Wolpraw, 2012), миографические интерфейсы (Туровский, Боронников, 2020) и интерфейсы, обеспечивающие генерацию

управляющих команд с помощью движения головы (Орлов и др., 2018) или движения глаз (Турицын и др., 2016; Туровский, Алексеев, 2023). При этом, как и в большинстве классических подходов, важную роль играет обратная связь по каналу зрения (Туровский и др., 2017). Иными словами, оператор использует зрение для контроля, например за положением управляющей конечности по отношению к консоли управления или управляемого им курсора на плоскости графического интерфейса. В то же время в целом ряде случаев оператор эргатической системы вынужден генерировать команды, не используя канала зрения для контроля. Очевидно, что в общем случае снижение контроля за подобной генерацией, выражающееся в отсутствии зрительного контроля, снижает точность работы оператора. При этом возникает и следующая проблема — не развиты механизмы оценки «слепого управления» даже с использованием классических подходов в генерации оператором управляющих команд. В ситуации же использования

альтернативных интерфейсов (окулографического, миографического, акселерометрического) автоматизация оценки способности оператора к генерации заданных команд является ключевым механизмом не только профессионального отбора, но задач обучения пользователя, создания эргономически обоснованных систем управления. Очевидно, что в большинстве случаев с использованием альтернативных интерфейсов “человек–компьютер” (окулографических, миографических, акселерометрически и подобных) отсутствие канала зрительной обратной связи компенсируется моторной памятью (Корнеев, Курганский, 2017). Иными словами, получая в ходе работы данные от мышц, связок и сухожилий об их состоянии, пользователь должен сформировать картину, соответствующую генерации тех или иных управляющих команд. Очевидно, что формирование этой картины, по сути энграммы (Солодов, 2018), — процесс, растянутый по времени и подвергающийся постоянной коррекции с учетом опыта пользователя. Тем не менее его оценка применительно к тем интерфейсам “человек–компьютер”, которые основаны на мышечной активности, представляет значительный интерес в аспекте оценки потенциала данных устройств в работе в условиях ограниченного зрительного канала обратной связи и, следовательно, в оценке требований к формированию этого и других каналов обратной связи.

Цель работы — изучение проприоцептивных компонентов формирования моторной памяти для оценки возможности оператора генерировать управляющие команды для эргатической системы в условиях отсутствия зрительного контроля оператором процесса управления.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте приняли участие 30 испытуемых в возрасте от 17 до 26 лет (21 мужчина и 9 женщин), медианный возраст составил 21 год. В рамках эксперимента проверялась способность испытуемого генерировать управляющие команды в ходе работы новым интерфейсам “человек–компьютер” как в условиях контроля генерации по зрительному каналу, так и в отсутствие зрительного канала с опорой на проприоцептивную информацию. Было выбрано три интерфейса. Первый — максимально близкий к классическим — представлял собой виртуальную клавиатуру, где пользователь, меняя положение верхней конечности, набирал определенные команды (РИ). Второй — генерировал команды движением головы пользователя, положение которой определялось, как и в первом случае, методами машинного зрения (ГИ). В третьем интерфейсе использовался оригинальный оптико-окулографический интерфейс (ОИ) (Туровский, Алексеев, 2023). Для проверки качества эксперимент с каждым из интерфейсов проводился в две

фазы: первая в режиме обратной связи (ОС), когда пользователь видит реакцию системы на его действия, и вторая — без обратной связи, когда визуальное отображение результатов взаимодействия испытуемого с интерфейсом отсутствует. Каждый из испытуемых проходил в один день эксперимент со всеми тремя типами интерфейсов, порядок которых определялся случайным образом.

Программно-аппаратная платформа была общей для всех трех экспериментов. В каждом эксперименте испытуемый тем или иным образом управлял оранжевым маркером, отображаемым на мониторе перед ним. Монитор с диагональю 22 дюйма и разрешением 1920 × 1080 пикселей располагался перед оператором на удобном для него расстоянии. На экране были иные маркеры в сетке 3 × 3, за каждым из которых была закреплена числовая команда от 1 до 9; из них один был маркером цели, к которому испытуемому требовалось подвести как можно ближе свой маркер, а остальные пассивно отображались (рис. 1).

По умолчанию маркер цели имел красный цвет, остальные — серый. В случае фазы эксперимента с обратной связью проводили поиск маркера, ближайшего к управляемому пользователем. Если данный маркер был маркером цели, он менял свой цвет на зеленый, информируя таким образом испытуемого о том, что система произвела захват маркера пользователя так, что он совпал с областью маркера цели. В случае фазы эксперимента без обратной связи изменение цвета маркером, как и отображение управляемого испытуемым маркера, не проводилось. Все маркеры в случайном порядке становились маркером-целью, всего каждый из маркеров становился целью четыре раза за один этап эксперимента. Смена маркера-цели проводили по истечении 3 с, отводимых на выполнение команды, либо после корректного выполнения пользователем команды в течение 1 с. Выполнение команды в некоторый момент считается корректным, когда для маркера, управляемого пользователем, ближайшим является маркер цели. Корректность выполнения за 1 с времени засчитывается, если доля ошибок, т.е. выхода управляемого маркера за пределы поля маркера-цели, не превышает 5% времени.

Всего производилось испытание трех видов интерфейсов, использующих в качестве исходных данных:

- координаты перемещения кончика указательного пальца испытуемого по плоской поверхности;
- координаты смещения и вращения головы испытуемого в пространстве;
- регистрируемые интерфейсом инфракрасной окулографии данные о движении правого глаза испытуемого.

В эксперименте, когда для управления использовался указательный палец руки испытуемого, веб-камера Logitech HD Webcam C615 (частота

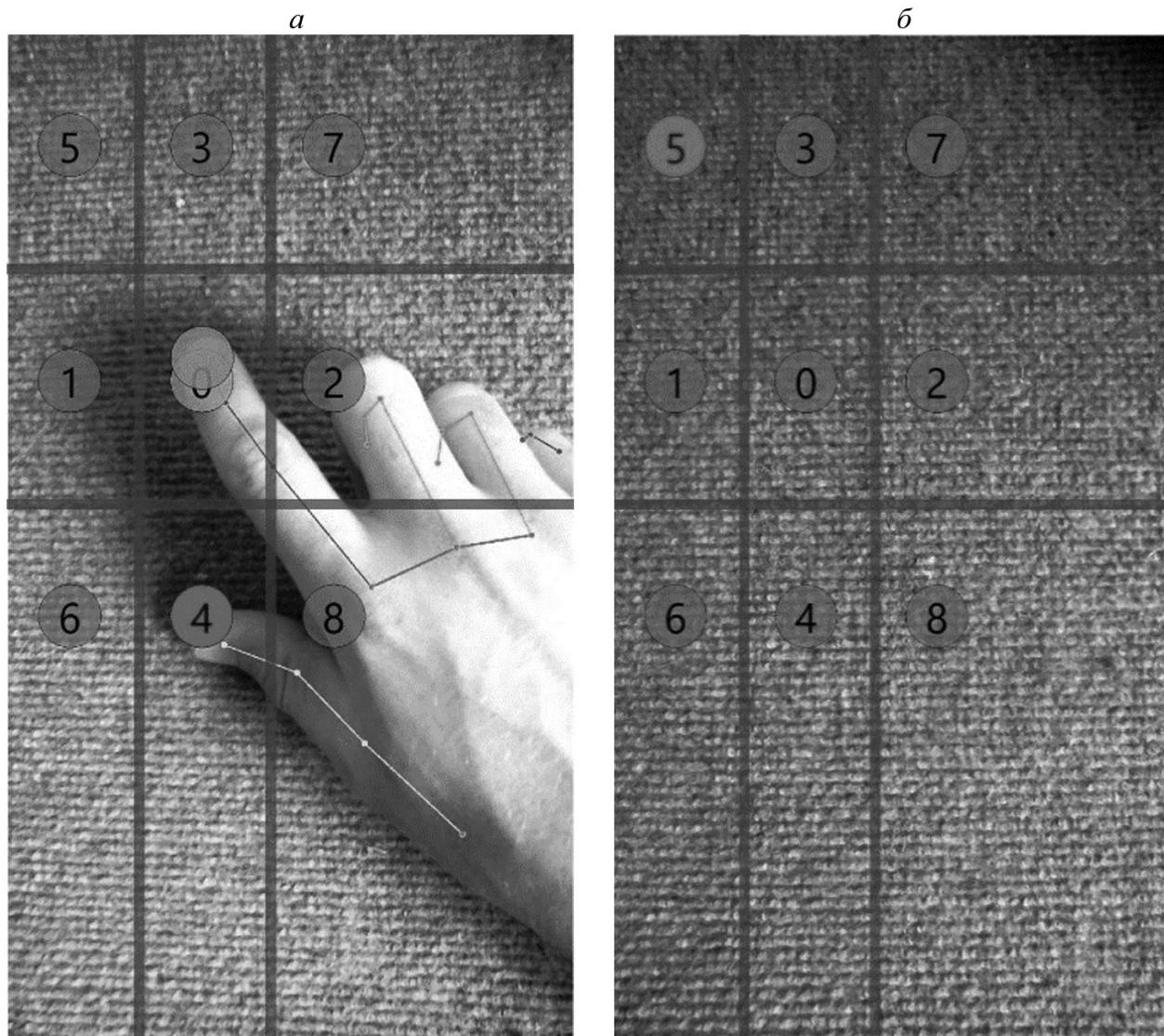


Рис. 1. Пример работы интерфейса, управляемого пальцем испытуемого: *a* — круглый маркер, без обозначений — маркер испытуемого. Нумерованный маркер центрального поля по цвету отличается от остальных нумерованных маркеров, так как является целевым; *б* — целевым является маркер под номером 5. Поскольку эксперимент проходил без обратной связи по зрительному каналу, маркер испытуемого и видео положения руки отсутствуют.

регистрации 30 кадров в секунду) была закреплена сверху над поверхностью, по которой испытуемый перемещал руку, и направлена на нее. Поверх транслируемого изображения с камеры во время эксперимента с обратной связью накладывалась сетка с девятью маркерами (рис. 1, *a*), а координаты кончика указательного пальца в пикселях на потоковом видео принимались за координаты управляемого испытуемым маркера. В режиме работы без обратной связи пользователю демонстрировалось статичное изображение (рис. 1, *б*) с сеткой из девяти маркеров.

В эксперименте, когда для управления использовалась голова пользователя, данные о ее движении и вращении регистрировались веб-камерой Logitech HD Webcam C615, расположенной перед испытуемым. Эти координаты, изначально представленные в локальной системе координат камеры, переводились в глобальную систему координат, в которой были предварительно указаны координаты камеры и экрана, на котором испытуемый проходил эксперимент. В дальнейшем строился луч, начинающийся на кончике носа пользователя и направленный от лица вперед. Трехмерные координаты пересечения построенного луча

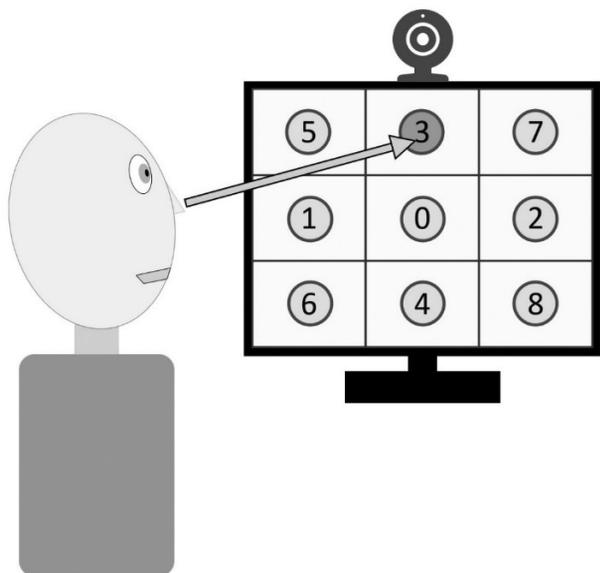


Рис. 2. Общая схема управления маркером движением головы.

и экрана переводились в пиксельные координаты окна программы, в которой проводился эксперимент, и принимались за координаты управляемого испытуемым маркера (рис. 2).

В эксперименте для управления маркером с помощью интерфейса инфракрасной окулографии оригинальной конструкции (Туровский, Алексеев, 2023), обеспечивающей фиксацию положения зрачка с частотой 70 Гц, после калибровки по каждому из представленных на экране маркеров проводилось непосредственное предсказание координат в пикселях, соответствующих точке на экране в центре поля зрения испытуемого. Во время эксперимента испытуемый был неподвижен, шея была зафиксирована для нивелирования произвольных поворотов головы вслед за смещением поля зрения, что могло привести к целому ряду артефактов, включая вестибуло-окулографические рефлексы (Туровский и др., 2023; Hampton, 2023).

В расчетах использовались следующие показатели: время выполнения задания, которое, согласно протоколу эксперимента, не могло превышать 3 с, и расстояние, которое проходил управляемый пользователем курсор. С учетом того, что управление осуществлялось на экране монитора, расстояние определялось в пикселях. Скорость перемещения управляемого курсора и среднее квадратическое отклонение (СКО) траектории пользователя от идеальной траектории (ИТ), представляющей собой отрезок с началом в точке начального положения курсора и концом в точке, соответствующей исполняемой команде (рис. 3).



Рис. 3. Пример построения идеальной траектории движения курсора по реально полученной траектории оператора.

В статистическом анализе использовали методы описательной статистики, критерии Крускала–Уоллеса, Манна–Уитни, Вилкоксона для парных случаев, при этом параметр α принимался равным 5%. Для анализа категориальных переменных использовали точный критерий Фишера и критерий χ^2 . Для статистического изучения связи между явлениями использовали непараметрический метод — коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Учитывался эффект множественных сравнений на основе FDR-подхода (Benjamini, Hochberg, 1995; Туровский и др. 2021). Для кластерного анализа применили метод К-средних. Использовались статистические пакеты Statistica 8.0 и выше и разработанное авторами программное обеспечение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Значения частот успешных и неуспешных экспериментов показано на рис. 4.

Из рисунка следует, что наличие обратной связи ожидаемо приближает к 100% точность выполнения задач при генерации сигналов движением верхней конечности и головы, поскольку произвольное управление в течение длительного времени и головой, и верхними конечностями представляет собой типовую задачу, неоднократно и каждодневно решаемую. Однако при использовании окулографических интерфейсов точность была существенно ниже, достигая только 62%, что объясняется как отсутствием опыта у испытуемых, так и ограниченным временем на набор команды. В эксперименте без обратной связи точность выполнения задачи ожидаемо упала: для генерации команд движением руки она составила 44% ($p \ll 0.001$, $\chi^2 = 821$), для генерации команд движением головы 41% ($p \ll 0.001$, $\chi^2 = 814$) и 45% ($p \ll 0.001$, $\chi^2 = 61,7$) для окулографического интерфейса. Таким образом, удаление из контура управления визуального канала обратной связи приводит к тому, что точность движения верхней конечности приближается к точности движения глаза (Toreini et al., 2020) и головы, формируя очень схожие по точности

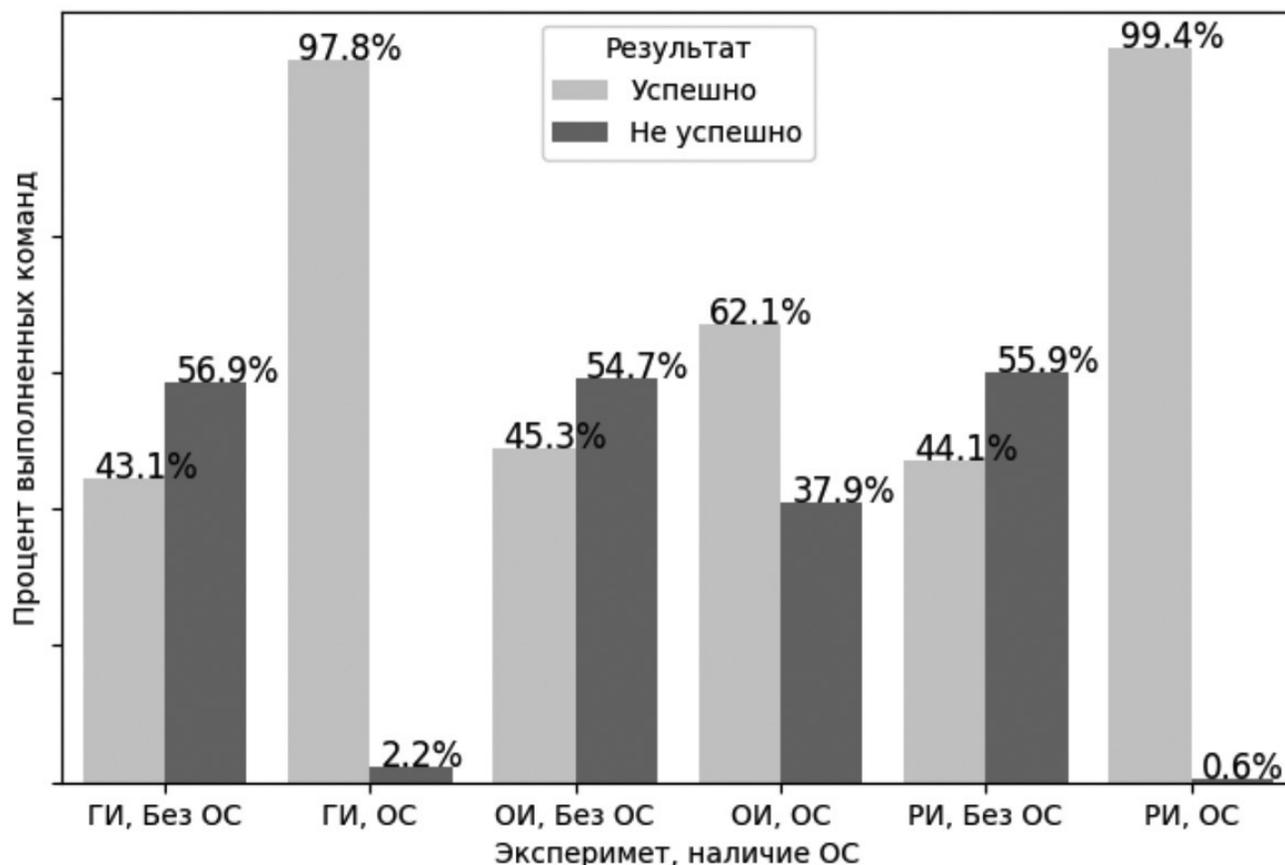


Рис. 4. Распределение числа экспериментов по интерфейсам со зрительной обратной связью и без (ОИ — окулографический интерфейс, РИ — интерфейс управления рукой, ГИ — интерфейс управления головой, ОС — управление в режиме обратной связи, без ОС — управление в режиме без обратной связи).

показатели, демонстрирующие ошибки проприоцептивного канала обратной связи.

Распределение числа успешных экспериментов, т.е. тех, где пользователь достигал поставленной экспериментатором цели, распределялось следующим образом: для ОИ процент успешных экспериментов при наличии обратной связи составил для каждой из позиций маркера-цели 54, 71, 67, 59, 60, 66, 52, 64, 63% ($p = 0.04$, $\chi^2 = 16.08$); для экспериментов без обратной связи 38, 46, 31, 53, 45, 69, 30, 47, 45% ($p \ll 0.001$, $\chi^2 = 53.76$). Иными словами, точность выполнения заданий напрямую связана с локализацией изображения, что согласуется с работой (Alonso et al., 2013). При этом вполне ожидаемо наличие обратной связи для ОИ повышает эффективность взаимодействия с интерфейсом, чему посвящено значительное количество работ самого разного дизайна (Eisma et al., 2021), включая не только ОИ, но и гибридные интерфейсы, где данный подход основан на совместном использовании ОИ с другими системами (Kim et al., 2014). Для интерфейса, основанного на движении верхней конечности (РИ), процент успешных экспериментов

составил 100, 98, 100, 100, 98, 98, 98, 100, 100% ($p = 0.33$, $\chi^2 = 9.05$) при наличии зрительной обратной связи и 21, 38, 68, 30, 22, 49, 82, 80, 90% ($p \ll \ll 0.001$, $\chi^2 = 191$) без ОС. Для интерфейса, основанного на движении головы оператора (ГИ), процент успешных экспериментов при ОС составил 98, 97, 96, 98, 97, 98, 95, 98, 100% ($p = 0.42$, $\chi^2 = 8.03$), а без ОС — 53, 37, 43, 42, 44, 35, 37, 37, 38% ($p = 0.155$, $\chi^2 = 11.9$). Таким образом, удаление из схемы эксперимента визуального канала обратной связи приводит для РИ и ГИ к резкому ухудшению точности работы, сопровождаемому появлением паттернов успешного выполнения задания, когда точность для одной цели может значительно превышать точность для другой (в случае РИ).

Корреляционный анализ экспериментов с обратной связью показал, что для всех исследуемых видов интерфейсов есть тесная взаимосвязь между исследуемыми величинами ($r = 0.81, 0.53, 0.56$ для пар «время выполнения команд» — «дистанция между началом движения и целью», «время выполнения команд» — «СКО», «СКО» — «дистанция между началом движения и целью» соответственно для ОИ;

0.62, 0.46, 0.52 — для аналогичных пар переменных РИ, 0.66, 0.62, 0.69 — для ГИ; во всех случаях $p < 0.01$). Если корреляция между временем выполнения задания и дистанцией, на которую будет перемещен курсор, очевидна, то связь с этими показателями СКО, вероятно, может означать, что с ростом дистанции при наличии обратной связи увеличивается и разброс движения управляемого оператором маркера относительно идеальной траектории. Отсюда можно предположить, что большие дистанции перемещения курсора в большей степени влияют на число генерации ошибочных команд, что в итоге отражает процесс обучения управлением курсором не имевшего ранее опыта оператора. Для попыток, где цель не была достигнута, значения коэффициента корреляции составили: 0.75, 0.25, 0.35 для ОИ, порядок пар корреляции здесь и далее соответствует указанному ранее; 0.34, 0.18, 0.49 — для РИ; 0.04, 0.24, 0.63 — для всех значений, кроме выделенного курсором, $p < 0.01$.

Рассмотрим количественные данные о результатах выполнения задания. Общие результаты представлены в табл. 1.

Различия по ОИ в попытках, которые завершились успешно, были ожидаемо связаны с временем выполнения команды: без обратной связи оно меньше, чем с обратной связью ($p \ll 0.0001$), при этом короче и траектория управляемого курсора ($p = 0.03$). Отклонения от идеальной траектории не различались вне зависимости от наличия или отсутствия обратной связи, аналогично не различались и скорости перемещения управляемого курсора. Наиболее вероятной причиной является время на обработку зрительной информации о положении управляемого курсора. Больше время, затрачиваемое оператором, было связано и с большей дистанцией, которую проходил курсор под управлением ОИ. Вероятным объяснением может быть то, что ни одни из испытуемых не работал раньше с окулографическим интерфейсом. Таким образом, не имея навыка работы с данным устройством, пользователь, используя канал обратной связи, пытается корректировать движение глаза. При этом формирование навыка управления недостаточно, чтобы оперативно корректировать положение глаза, генерирующего управляющие команды. При отсутствии обратной связи пользователь реализует управление «как есть», т.е. исходя из полученных им в фазе работы с обратной связью моторных навыков и, следовательно, не совершая дополнительных движений, инициируемых контуром обратной связи, вызывающим дополнительное отклонение с учетом задержки реакции пользователя из-за недостатка навыков.

Аналогичные отклонения в дистанции движения курсора наблюдались и в тех экспериментах, которые закончились неуспешно. При этом меньшие значения СКО в целом показывают, что наличие обратной связи вызывает и в этом случае дополнительные движения курсора, порожденные движениями глаз пользователя. При этом в отличие от успешного

выполнения задания наличие обратной связи вызывает большую скорость движения. Таким образом, наличие обратной связи вызывает более быстрые движения глаза, не сказывающиеся в то же время на точности генерации команд.

Рассматривая движения головы как способ генерации управляющих команд, можно отметить следующее. Наличие обратной связи, как в случае успешного выполнения задания, приводило к большей дистанции, на которую перемещался курсор, большей скорости перемещения и большему отклонению от идеальной траектории. Таким образом, мы видим, что и в этом случае обратная связь, хотя и способствует генерации верных команд в большем проценте случаев, по факту приводит к более длинным перемещениям курсора, управляемым положением головы.

В случае же классического подхода, связанного с генерацией команд движением верхней конечности, зависимости были иными. При успешном выполнении задания отклонение от идеальной траектории, длина траектории и скорость были меньше при наличии обратной связи, чем при ее отсутствии. В то же время при неуспешном выполнении наличие обратной связи приводило к большей траектории, большему отклонению и большей скорости перемещения, чем при отсутствии ОС.

Рассмотрим различия траекторий с ОС и без ОС, исходя из цели перемещения управляемого курсора. В случае ОИ и успешного выполнении команд ни скорость, ни СКО от идеальной траектории не отличались для имеющих разные позиции цели, аналогично не было различия и для режима без ОС. Таким образом, локализация требуемой целевой позиции не влияет на работу ОИ вне зависимости от наличия ОС. Следовательно, механизм формирования данных, связанных с моторной памятью в отношении положения глаза, не имеет при заданном уровне точности привязки к локализации цели.

Иная картина сложилась при генерации команд с использованием движения головы (рис. 5).

На рисунке видно, что цели, вызывающие наибольшие отклонения, и скорости при выполнении заданий, сгруппированы по периферии центральной, ближе к нижней кромке экрана. Расположение полей целей представлено на рис. 2.

Для интерфейса с использованием руки, являющегося по сути эталонным, поскольку управление с его использованием является традиционным, при имеющемся уровне технического развития выявлены следующие особенности. При управлении с обратной связью различия в зависимости от целевой области достоверны от идеальной траектории и для СКО ($p = 0.005$), и для скорости выполнения команды ($p \ll 0.001$). В то же время при отсутствии обратной связи различия сохранялись только для скорости ($p \ll 0.001$). В данном случае можно говорить, что моторная память, связанная

Таблица 1. Результаты работы операторов для трех исследуемых типов интерфейсов “человек–компьютер” в зависимости от успешности выполнения задания и зрительной ОС (М, m, Q25, Me, Q75)

Результат	Успешно					
	ОИ		ГИ		РИ	
	ОС	Без ОС	ОС	Без ОС	ОС	Без ОС
Время	1.52***	1.41	1.72	1.70	1.52	1.50
	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02
	1.24	1.20	1.54	1.53	1.38	1.37
	1.35	1.29	1.70	1.70	1.49	1.49
	1.73	1.47	1.93	1.90	1.65	1.65
Дистанция	3 641***	3 256	895***	844	704***	918
	61	53	13	22	9	21
	2 614	2 575	622	577	499	570
	3 297	3 121	870	831	678	876
	4 288	3 726	1 174	1 116	899	1 218
СКО	59.51	55.89	32.10***	25.71	15.71*	19.07
	2.37	2.47	0.84	1.18	0.48	0.90
	23.10	22.61	12.44	10.26	5.38	6.66
	40.39	39.69	24.21	19.79	10.82	12.61
	72.87	69.97	44.47	35.76	20.81	25.30
Скорость	2 376	2 335	500***	479	453***	605
	25	27	6	12	5	13
	1 953	1 979	380	321	339	399
	2 352	2 300	491	479	441	571
	2 739	2 683	640	625.	552	757
Результат	Неуспешно					
	ОИ		ГИ		РИ	
	ОС	Без ОС	ОС	Без ОС	ОС	Без ОС
Время	2.98	2.98	2.91	2.92	2.97	2.97
	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00
	2.98	2.99	2.89	2.89	2.96	2.96
	2.99	2.99	2.91	2.92	2.97	2.96
	2.99	2.99	2.92	2.95	2.99	2.99
Дистанция	7 936***	7 246	1 512***	979	1 851*	1 268
	127	95	96	35	372	25
	6 271	5 566	1 071	617	1 333	892
	7 767	7 235	1 474	869	1 577	1 196
	9 457	8 698	1 860	1 267	1 885	1 558
СКО	125.04***	81.68	111.65***	34.04	49.06*	29.82
	5.04	3.11	19.09	2.10	9.04	1.49
	52.39	30.71	62.71	13.71	23.61	8.13
	92.46	55.27	100.32	24.91	57.49	16.39
	168.46	111.47	160.21	43.63	63.32	40.43
Скорость	2 659***	2 428	520***	335	623*	427
	42	32	33	12	126	8
	2 099	1 863	367	210	450	300
	2 599	2 422	508	300	530	403
	3 167	2 918	637	434	630	523

*** $p < 0.0001$; * $p < 0.05$ — различия между экспериментами с обратной связью и без обратной связи для каждого из интерфейсов.

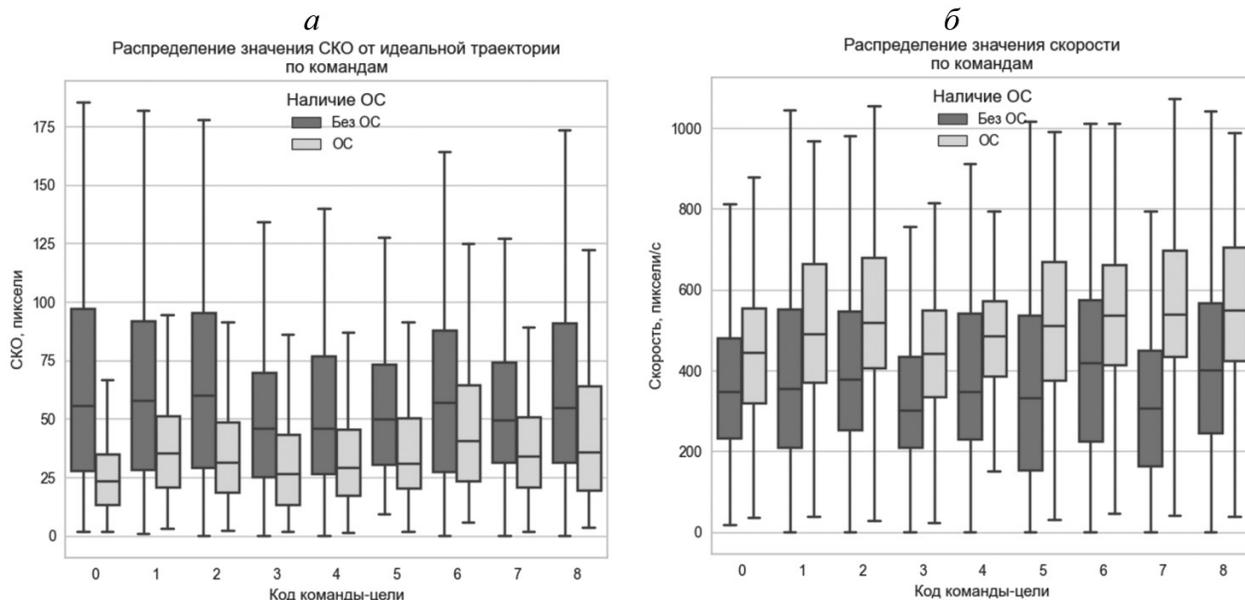


Рис. 5. Диаграмма размаха с наблюдаемыми минимумом и максимумом, не превышающим 1.5 интерквартильного размаха для следующих величин: *а* — СКО в зависимости от номера цели при работе в режиме генерации команд движением головы. При наличии ОС $p < 0.0001$, без ОС $p = 0.004$; *б* — скорости в зависимости от номера цели при работе в режиме генерации команды движением головы. При наличии ОС (критерий Краскейла–Уоллеса), без ОС $p = 0.17$.

с активностью верхней конечности, обеспечивая достаточную точность в аспекте отклонения от идеальной траектории, но недостаточную для достижения цели. Иными словами, само целевое поле в системе координат пользователя перемещается от истинного к иному положению, но это иное положение достигается с достаточным уровнем контроля со стороны проприоцептивного анализатора.

Рассмотрим результаты кластерного анализа, примененного для выявления индивидуально-типологических особенностей генерации команд (рис. 6).

Кластеризацию осуществляли по мерам СКО в каждом эксперименте, упорядоченном по номеру попытки. При этом результаты, содержащие «выбросы» в виде маргинальных значений исследуемой величины, были удалены, если они встречались хотя бы в одном из шести экспериментов у любого пользователя. Сформированный массив данных перед кластеризацией был нормализован методом уео-johnson (Yeo, Johnson, 2000).

Исходя из полученных данных, видно, что можно выделить 34.2% экспериментов, составивших первый кластер, при котором отсутствие обратной связи в режиме генерации команд движениями руки сопровождалось значительно более высокими значениями СКО, чем с ОС.

Во втором кластере (33.6% экспериментов) наблюдаются более высокие средние значения СКО для ОИ по сравнению с остальными кластерами; значения СКО для экспериментов, управляемых

рукой, как и в первом кластере, сопровождались более высокими значениями СКО для режима без ОС. Отсутствие различий между кластерами для генерации команд верхней конечностью в режиме с ОС, очевидно, объясняется тем, что работа, как с ОС так и без ОС в виде перемещения пальцев и кисти, является типовой задачей, обучение которой проходит с ранних лет и в дальнейшем поддерживается широким спектром различных повседневных ситуаций. В то же время ситуации, требующие формирования управляющих команд движениями головы или, особенно, глаз, несмотря на современный уровень развития техники, представляют собой редко встречающиеся события.

В третьем кластере (32.2% экспериментов) сохранены более высокие значения СКО для любого типа эксперимента в режиме без ОС, однако менее выражено по сравнению с остальными кластерами. В экспериментах, управляемых ОИ и движениями головы, также характерны более высокие значения СКО для экспериментов без ОС.

Оценивая распределение успешных экспериментов по кластерам, получим следующую картину (табл. 2).

Полученные результаты в целом демонстрируют связь высоких значений СКО с неуспешными экспериментами, когда испытуемый не смог сгенерировать команды, обеспечивающие перемещение

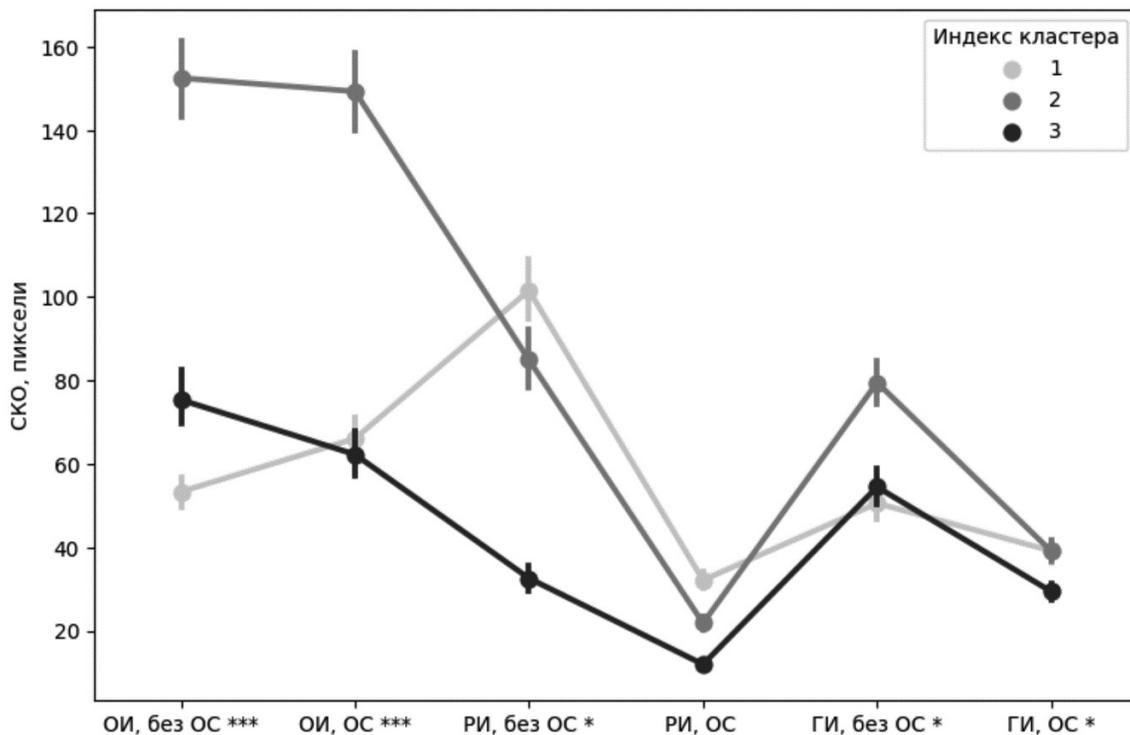


Рис. 6. Распределение среднего отклонения от идеальной траектории по трем кластерам (ОИ — окулографический интерфейс, РИ — интерфейс управления рукой, ГИ — интерфейс управления головой, ОС — управление в режиме обратной связи, без ОС — управление в режиме без обратной связи).

*** $p < 0.0001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$.

Таблица 2. Распределение успешных экспериментов по кластерам

Тип интерфейса	Номер кластера	ОС		Без ОС	
		Неуспешно, %	Успешно, %	Неуспешно, %	Успешно, %
ОИ	1	30.54***	69.45	47.83*	52.16
	2	56.75*	43.25	68.31***	31.68
	3	25.94***	74.06	47.83*	52.1
РИ	1	0.81	99.19	61.08*	38.92
	2	0.83	99.17	58.68*	41.32
	3	0	100	48.70*	51.30
ГИ	1	2.43*	97.57	51.89*	48.11
	2	3.58*	96.41	65.56*	34.44
	3	0.57*	99.42	59.37*	40.63

*** $p < 0.0001$; * $p < 0.05$ — различия между средним значением СКО успешных и неуспешных экспериментов.

управляемого курсора в требуемые области пространства экрана.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе оценены особенности генерации оператором эргатической системы управляющих команд с использованием трех интерфейсов, использующих разные механизмы генерации управляющих сигналов: движение верхней конечности, головы, глаз. Во всех случаях обратная связь осуществлялась на основе зрительного канала. При отсутствии обратной связи пользователь мог рассчитывать на моторную память, сформированную в процессе обучения, и в случае движения головы — на данные с вестибулярного анализатора. Во всех случаях наличие зрительного канала обратной связи важно для качественной генерации команд в аспекте точности. В то же время в первую очередь для генерации команд движением головы и глаз наличие канала обратной связи приводит к большому отклонению от идеальной траектории и большей дистанции, которую проходит управляемый курсор до попадания в цель. Локализация требуемой целевой позиции не влияет на работу ОИ вне зависимости от наличия ОС. Для ОИ механизм формирования данных, связанных с моторной памятью в отношении положения глаза, не имеет значения при заданном уровне точности привязки к локализации цели, в отличие от движения головы и верхней конечности. Выделение типовых реакций для совокупности всех экспериментов позволило выделить три типа управления (кластера), различающихся для движения глаз и головы, но не различающихся для движения рук в режиме ОС. Для первого и второго типов характерно большее число ошибок, чем для третьего, и разное относительно друг друга число ошибок, в первую очередь для управления рукой. Полученные результаты могут быть использованы в задачах конструирования перспективных интерфейсов эргатических систем, в том числе и в оценке необходимых компонентов визуальной обратной связи для данного класса технических устройств.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 23–19–00664, <https://rscf.ru/project/23-19-00664/>.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием людей, соответствуют этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

УЧАСТИЕ АВТОРОВ

Руководство работой, постановка целей и задач, статистическая обработка результатов, разработка окулографического интерфейса выполнены Я. А. Туровским. Разработку программно-аппаратных решений для интерфейсов “человек–компьютер” осуществлял В. Ю. Алексеев. Эксперименты проведены Р. А. Токаревым.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Корнеев А. А., Курганский А. В. Внутренняя репрезентация серии движений при воспроизведении статического рисунка и траектории движущегося объекта. *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*. 2013. Т. 63. № 4. С. 437–450. <https://doi.org/10.7868/S0044467713040060>
- Мельк А. Ю. Обзор интерфейса мозг — компьютер. *Научный аспект*. 2020. Т. 5. № 3. С. 704–707.
- Орлов И. В., Столбков Ю. К., Герасименко Ю. П. Управление устройствами для двигательной реабилитации человека. *Физиология человека*. 2018. Т. 44. № 6. С. 93–103. <https://doi.org/10.1134/S0131164618050120>
- Полубаров А. А., Кашин Д. А., Абдрахманов Д. Ф. Применение алгоритмов машинного обучения в интерфейсе мозг — компьютер на волне р300. *Вопросы устойчивого развития общества*. 2022. № 8. С. 929–941. <https://doi.org/10.34755/IROK.2022.26.86.021>
- Солодов А. В. Эмоции в процессах памяти, когнитивных процессах и образовании. *European Research: сборник статей XVI Международной научно-практической конференции*. В 2 ч. Под ред. Г. Ю. Гуляева. Пенза: Наука и просвещение, 2018. Ч. I. С. 190–194.
- Турицын М. И., Анохин А. Н., Воловод Д. А., Герасимчук И. С., Машковцева Р. И. Исследование характеристик и возможностей применения бюджетного айтрекера в эргономических задачах. *Человеческий фактор в сложных технических системах и средах*. Под ред. А. Н. Анохина, П. И. Падерно, С. Ф. Сергеева. СПб: Северная звезда, 2016. С. 107–113.
- Туровский Я. А., Алексеев В. Ю. Сравнение подходов к отслеживанию распределения внимания

- операторов с использованием окулографических интерфейсов. *Программная инженерия*. 2023. Т. 14. № 3. С. 137–145. <https://doi.org/10.17587/prin.14.137-145>
- Туровский Я. А., Алексеев А. В., Ипполитов Ю. А. Информационная система дополнительного канала обратной связи для видеоокулографических интерфейсов “человек–компьютер”. *Вестник новых медицинских технологий*. 2017. Т. 24. № 2. С. 152–157. https://doi.org/10.12737/article_5947d43a55d805.86585568
- Туровский Я. А., Алексеев В. Ю., Мурадова Л. Г., Миронкин А. П. Особенности генерации команд для окулографических интерфейсов в условиях вестибулярных воздействий. *Сенсорные системы*. 2023. Т. 37. № 1. С. 49–59. <https://doi.org/10.31857/S0235009223010080>
- Туровский Я. А., Боронников А. И. Влияние обратной связи на характеристики освоения команд, генерируемых в задачах миографических интерфейсов. *Технологии живых систем*. 2020. Т. 17. № 2. С. 39–45. <https://doi.org/10.18127/j20700997-202002-04>
- Туровский Я. А., Борзунов С. В., Вахтин А. А. Алгоритм оценки результатов статистического анализа данных биомедицинской природы в условиях эффекта множественных сравнений. *Программная инженерия*. 2021. Т. 1. № 9. С. 470–474. <https://doi.org/10.17587/prin.12.470-474>
- Туровский Я. А., Борзунов С. В., Данилова А. В., Глаголева Е. П. Динамика произвольного формирования корреляционных паттернов ЭЭГ по механизму биологической обратной связи. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2020. № 2. С. 90–99. <https://doi.org/10.34014/2227-1848-2020-2-90-99>
- Alonso R., Causse M., Vachon F., Parise R., Dehais F., Terrier P. Evaluation of head-free eye tracking as an input device for air traffic control. *Ergonomics*. 2013. V. 56(2). P. 246–255. <https://doi.org/10.1080/00140139.2012.744473>
- Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B*. 1995. V. 57(1). P. 289–300. <https://doi.org/10.2307/2346101>
- Cohen M. H., Giangola J. P., Balogh J. *Voice User Interface Design*. Addison Wesley Publisher. 2004. 368 p.
- Eisma Y., Borst C., Paassen R., Winter J. Augmented Visual Feedback: Cure or Distraction? *Human Factors*. 2021. V. 63(7). P. 1156–1168. <https://doi.org/10.1177/0018720820924602>
- Hampton L. *Reflexes*. <https://www.physio-pedia.com/Reflexes>
- Kim B., Kim M., Jo S. Quadcopter flight control using a low-cost hybrid interface with EEG-based classification and eye tracking. *Computers in Biology and Medicine*. 2014. V. 51. P. 82–92. <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2014.04.020>
- Toreini P., Langner M., Maedche A. Using Eye-Tracking for Visual Attention Feedback. *Information Systems and Neuroscience*. Lecture Notes in Information Systems and Organisation. Cham. Springer, 2020. V. 32. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28144-1_29
- Wolpaw J., Wolpaw E. W. *Brain-computer interfaces: principles and practice*. Oxford University Press, 2012. P. 424.
- Yeo I. K., Johnson R. A. A new family of power transformations to improve normality or symmetry. *Biometrika*. 2000. V. 87(4). P. 954–959. <https://doi.org/10.1093/biomet/87.4.954>

Individual and typological features of motor memory in problems of control of ergatic systems in the absence of visual feedback

Ya. A. Turovsky^{a, b, #}, V. Yu. Alekseev^b, R. A. Tokarev^b

^aV. A. Trapeznikov Institute of Control Sciences of Russian Academy of Sciences, 117997, Moscow, Profsoyuznaya street, 65, Russia

^bVoronezh State University, 394018, Voronezh, Universitetskaya pl., 1, Russia

[#]E-mail: yaroslav_turovsk@mail.ru

The purpose of the study was to determine the impact of the presence of visual feedback on the quality of user experience with a number of human-computer interfaces, as well as the process of mastering the interfaces. As a result of the work, the features of the generation of control commands by operators of ergatic systems using an oculographic interface, interfaces for controlling hand movements and head movements were assessed. In the absence of visual feedback, users relied on motor memory formed during the learning process, and in the case of head control, on data from the vestibular analyzer.

The presence of visual feedback was found to be important for accurate command generation in all cases. However, when controlling the head and eyes, the presence of visual feedback led to a greater deviation from the ideal trajectory and an increase in the distance that the cursor traveled before reaching the goal. Localization of the target position did not have a significant effect on the performance of the operator interface, regardless of the presence of visual feedback.

Analysis of typical reactions in all experiments made it possible to identify three types of control, differing for eye and head movements, but not for hand movements in the ergatic system mode. Types 1 and 2 exhibited more errors compared to type 3, and the number of errors varied between them, especially for hand control.

The results obtained can be used in the development of promising interfaces for ergatic systems, including the determination of the necessary visual feedback components for this class of technical devices.

Key words: sensory feature, operator, control, ergatic system, visual feedback, human-computer interface, infrared oculographic interface

REFERENCES

- Korneev A. A., Kurganskii A. V. *Vnutrennyaya reprezentatsiya serii dvizhenii pri vosproizvedenii staticheskogo risunka i traektorii dvizhushchegosya ob"ekta* [Internal representation of a series of movements in the reproduction of a static pattern and the trajectory of a moving object]. *Zurnal Vucshey Nervnoi Deytelnosti I. P. Pavlova* [I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity]. 2013. V. 63(4). P. 437–450 (in Russian). <https://doi.org/10.7868/S0044467713040060>
- Mel'k A. Yu. *Obzor interfeisa mozg-komp'yuter* [Brain computer interface overview]. *Nauchnyi aspekt*. 2020. V. 5(3). P. 704–707 (in Russian).
- Orlov I. V., Stolbkov Yu.K., Gerasimenko Yu. P. *Upravlenie ustroystvami dlya dvigatel'noi reabilitatsii cheloveka* [Managing Devices for Human Movement Rehabilitation]. *Fiziologiy cheloveka* [Fiziologiya cheloveka]. 2018. V. 44(6). P. 93–103 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S0131164618050120>
- Polubarov A. A., Kashin D. A., Abdrakhmanov D. F. *Primenenie algoritmov mashinnogo obucheniya v interfeise mozg-komp'yuter na volne p300* [Application of machine learning algorithms in the brain-computer interface on the p300 wave]. *Voprosy ustoychivogo razvitiya obshchestva*. 2022. (8). P. 929–941 (in Russian). <https://doi.org/10.34755/IROK.2022.26.86.021>
- Solodov A. V. *Emotsii v protsessakh pamyati, kognitivnykh protsessakh i obrazovanii* [Emotions in memory processes, cognitive processes and education]. *European Research: sbornik statei XVI Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii* [European Research: collection of articles of the XVI International Scientific and Practical Conference]. Penza. *Mezhdunaronyi tsentr nauchnogo sotrudnichestva «Nauka i Prosveshchenie»*. 2018. P. 190–194 (in Russian).
- Turitsyn M. I., Anokhin A. N., Volovod D. A., Gerasimchuk I. S., Mashkovtseva R. I. *Issledovanie kharakteristik i vozmozhnostei primeneniya byudzhetnogo aitrekeru v ergonomicheskikh zadachakh* [Study of the characteristics and possibilities of using a budget eye-tracker in ergonomic tasks]. *Chelovecheskii faktor v slozhnykh tekhnicheskikh sistemakh i sredakh* [Human factor in complex technical systems and

- environments]. Saint Petersburg. 2016. P. 107–113 (in Russian).
- Turovskii Ya.A., Alekseev V. Yu. *Sravnienie podkhodov k otslezhivaniyu raspredeleniya vnimaniya operatorov s ispol'zovaniem okulograficheskikh intrefeysov* [Comparison of approaches to tracking the distribution of attention of operators using oculographic interfaces]. *Software Engineering*. 2023. V. 14(3). P. 137–145 (in Russian). <https://doi.org/10.17587/prin.14.137-145>
- Turovskiy Ya.A., Alekseev A. V., Ippolitov Yu. A. *Informatsionnaya sistema dopolnitelnogo kanala obratnoy svyazi dlya videookulograficheskikh interfeysov chelovek-kompyuter* [Information system of additional channel of feedback for video-oculographic interfaces human-computer.]. *Journal of new medical technologies*. 2017. V. 24 (2). P. 152–157 (in Russian). https://doi.org/10.12737/article_5947d43a55d805.86585568
- Turovskii Ya.A., Alekseev V. Yu., Muradova L. G., Mironkin A. P. *Osobennosti generatsii komand dlya okulograficheskikh interfeysov v usloviyakh vestibulyarnykh vozdeistvii* [Features of command generation for oculographic interfaces under conditions of vestibular influences]. *Sensornye Sistemy* [Sensory Systems]. 2023. V. 37(1). P. 49–59 (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0235009223010080>
- Turovskii Ya.A., Boronnikov A. I. *Vliyaniye obratnoy svyazi na kharakteristiki osvoeniya komand, generiruemyykh v zadachakh miograficheskikh interfeysov* [Influence of feedback on the characteristics of mastering commands generated in tasks of myographic interfaces]. *Technologies of Living Systems*. 2020. V. 17(2). P. 39–45 (in Russian). <https://doi.org/10.18127/j20700997-202002-04>
- Turovskii Ya.A., Borzunov S. V., Vakhtin A. A. *Algoritm otsenki rezul'tatov statisticheskogo analiza dannykh biomeditsinskoi prirody v usloviyakh ehffekta mnozhestvennykh sravnenii* [Algorithm for evaluating the results of statistical analysis of biomedical data under the conditions of the result of multiple comparisons]. *Software Engineering*. 2021. V. 1(9). P. 470–474 (in Russian). <https://doi.org/10.17587/prin.12.470-474>
- Turovskii Ya.A., Borzunov S. V., Danilova A. V., Glagoleva E. P. *Dinamika neproizvol'nogo formirovaniya korrelyatsionnykh patternov EEG po mekhanizmu biologicheskoi obratnoi svyazi* [Dynamics of involuntary formation of EEG correlation patterns by the biofeedback mechanism]. *Ulyanovsk Medico-biological Journal*. 2020. V. 2. P. 90–99 (in Russian). <https://doi.org/10.34014/2227-1848-2020-2-90-99>
- Alonso R., Causse M., Vachon F., Parise R., Dehais F., Terrier P. Evaluation of head-free eye tracking as an input device for air traffic control. *Ergonomics*. 2013. V. 56(2). P. 246–255. <https://doi.org/10.1080/00140139.2012.744473>
- Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B*. 1995. V. 57(1). P. 289–300. <https://doi.org/10.2307/2346101>
- Cohen M. H., Giangola J. P., Balogh J. *Voice User Interface Design*. Addison Wesley Publisher. 2004. 368 p.
- Eisma Y., Borst C., Paassen R., Winter J. Augmented Visual Feedback: Cure or Distraction? *Human Factors*. 2021. V. 63(7). P. 1156–1168. <https://doi.org/10.1177/0018720820924602>
- Hampton L. *Reflexes*. <https://www.physio-pedia.com/Reflexes>
- Kim B., Kim M., Jo S. Quadcopter flight control using a low-cost hybrid interface with EEG-based classification and eye tracking. *Computers in Biology and Medicine*. 2014. V. 51. P. 82–92. <https://doi.org/10.1016/j.compbimed.2014.04.020>
- Toreini P., Langner M., Maedche A. Using Eye-Tracking for Visual Attention Feedback. *Information Systems and Neuroscience*. Lecture Notes in Information Systems and Organisation. Cham. Springer, 2020. V. 32. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28144-1_29
- Wolpaw J., Wolpaw E. W. *Brain-computer interfaces: principles and practice*. Oxford University Press, 2012. P. 424.
- Yeo I. K., Johnson R. A. A new family of power transformations to improve normality or symmetry. *Biometrika*. 2000. V. 87(4). P. 954–959. <https://doi.org/10.1093/biomet/87.4.954>

РАЗЛИЧИЕ ГРЕБЕНЧАТЫХ СПЕКТРОВ С РАЗНОЙ ШИРИНОЙ ГРЕБНЕЙ В НОРМЕ И ПРИ ТУГОУХОСТИ

© 2024 г. Д. И. Нечаев¹, О. Н. Милехина¹, М. С. Томозова¹, А. Я. Супин^{1,*}

¹Институт проблем экологии и эволюции Российской академии наук

119071, Москва Ленинский просп., 33, Россия

*E-mail: alex_supin@mail.ru

Поступила в редакцию 11.10.2023 г.

После доработки 13.11.2023 г.

Принята к публикации 08.12.2023 г.

Частотную разрешающую способность слуха (ЧРС) оценивали по предельной различаемой плотности гребней спектра у испытуемых в возрасте от 26 до 82 лет, характеризующихся различной степенью сохранности/потери слуха: от нормы (normal) до умеренной потери (moderate loss) по классификации Всемирной организации здравоохранения). Оценивали зависимость ЧРС от ширины спектральных гребней. У испытуемых с нормальным слухом наблюдали повышение ЧРС при сужении гребней сигнала, тогда как у испытуемых с потерей слуха этот эффект проявлялся минимально или отсутствовал. Различие в эффекте сужения спектральных гребней между испытуемыми с нормальным и редуцированным слухом не может быть объяснено моделью спектрального анализа, основанной на концепции профилей возбуждения. Модель временного анализа может объяснить это различие при допущении, что у испытуемых с нормальным слухом увеличение автокорреляции входного сигнала приводит к удлинению задержки, на которой автокорреляция может быть обнаружена, тогда как у испытуемых с редуцированным слухом этот эффект ослаблен или отсутствует.

Ключевые слова: слух, тугоухость, гребенчатые спектры, спектральное различение, временной анализ

DOI: 10.31857/S0235009224010066

ВВЕДЕНИЕ

Возрастная потеря слуха проявляется не только в снижении чувствительности (повышении порогов), но и в снижении способности различать частотные составляющие звуков (частотная разрешающая способность, ЧРС). Снижение ЧРС обусловлено в первую очередь снижением усиления активного механизма улитки, что приводит как к потере чувствительности, так и к ухудшению остроты частотно-избирательных кохлеарных фильтров (Patterson et al., 1982; Glasberg, Moore, 1986; Leek, Summers, 1993; Davis-Venn et al., 2015). Снижение чувствительности можно компенсировать применением звукоусиливающих слуховых аппаратов, но значительно труднее компенсировать снижение разрешающей способности.

Для поиска путей решения этой проблемы необходимо точное измерение разрешающей способности слуха. Одним из эффективных методов измерения разрешающей способности слуха является использование звуковых тест-сигналов с гребенчатыми спектрами (girppled spectra). Такие спектры характеризуются периодическим чередованием спектральных максимумов и минимумов (спектральные

гребни). Максимальная плотность гребней, при которой различается гребенчатая структура спектра, служит мерой ЧРС.

Тугоухость (потеря слуха, hearing loss) или замена нормального слуха кохлеарным имплантом сопровождается снижением разрешения гребенчатой структуры спектра по сравнению с нормальным слухом (Chi et al., 1999; Leek, Summers, 2001; Henry et al., 2005; Litvak et al., 2007; Bernstein et al., 2013; Mechraei et al., 2014).

На испытуемых с нормальным слухом показано, что предельная плотность гребней, доступная для различения, зависит от формы гребней: чем уже (острее) гребни, тем выше предел разрешения (Supin et al., 2022). Возникает вопрос: может ли обострение спектральных компонентов служить средством восстановления разрешающей способности слуха при тугоухости? Для решения этого вопроса, в данном исследовании измеряли разрешающую способность слуха у испытуемых с нормальным слухом и с разной степенью тугоухости, обусловленной возрастными изменениями. Для измерений использовали тест-сигналы с гребенчатыми спектрами при разной ширине спектральных гребней.

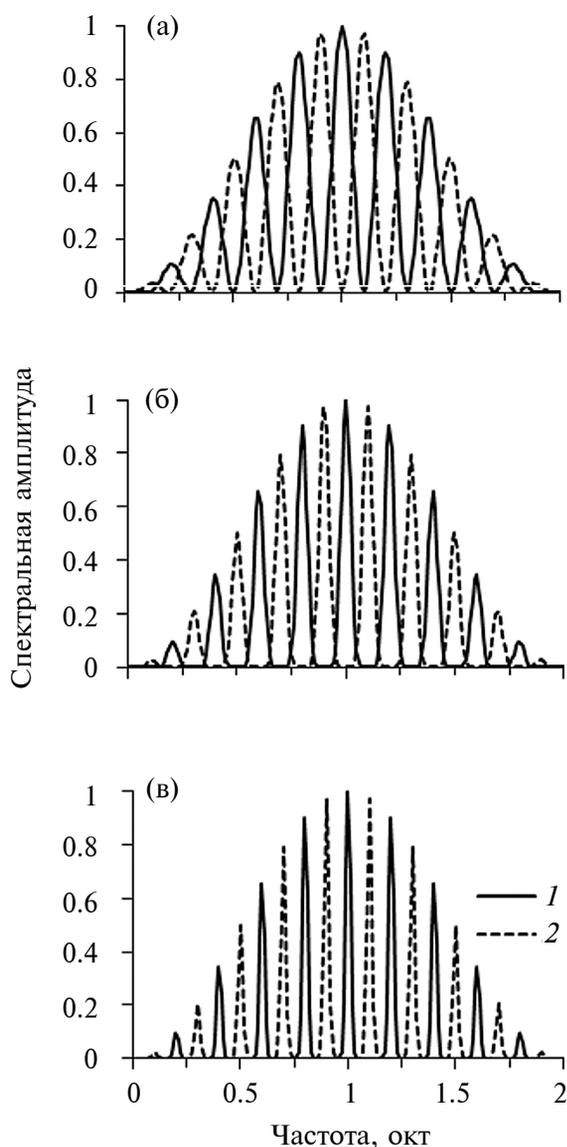


Рис. 1. Характеристики фильтров, примененных для синтеза гребенчатых сигналов, с разной шириной гребней. Плотность гребней 5 цикл/окт. Эквивалентная ширина гребней: *a* — 37% от частотного интервала между соседними гребнями; *b* — 16%; *v* — 9% (показатели степени в уравнении (1) соответственно 1, 4 и 16). 1 и 2 — варианты характеристик с противоположными положениями спектральных максимумов и минимумов на шкале частот.

МЕТОДИКА

Испытуемые. Измерения выполнены на 20 испытуемых в возрасте от 26 до 82 лет. При выборе испытуемых в широком возрастном диапазоне исходили из предположения, что испытуемые старших возрастов могут иметь тугоухость (снижение слуховой чувствительности, проявляющееся в повышенных тональных порогах). Все

испытуемые имели опыт участия в экспериментах с различением сигналов с гребенчатыми частотными спектрами.

Условия эксперимента. Во время измерений (как при тональной аудиометрии, так и при измерении ЧРС) испытуемый находился в звукозаглушающей кабине MINI 350 (IAC, Германия). Кабина обеспечивала ослабление внешних звуков не менее 40 дБ.

Тональная аудиометрия. Стандартная тональная аудиометрия была проведена для всех испытуемых. Использован аудиометр АА-02 (Биомедилен, С.-Петербург, Россия).

Сигналы для измерения ЧРС. Для измерения ЧРС применяли тест-сигналы с гребенчатыми спектрами. Сигналы синтезировали цифровым способом, пропуская белый шум (случайную последовательность чисел в диапазоне ± 1) через фильтры, задающие как частотную полосу, так и гребенчатую структуру спектра сигнала. Частотные характеристики фильтров имели огибающую в виде одного периода смещенной косинусоиды (т.е. в диапазоне значений от 0 до 2) с центральной частотой 2 кГц и периодом 2 октавы (от 1 до 4 кГц, рис. 1).

В пределах частотной полосы, заданной огибающей, спектр имел периодические максимумы и минимумы, форма которых задавалась формулой

$$A(f) = [0.5 + 0.5\cos(\pi Df)]^e \quad (1)$$

где $A(f)$ — спектральная амплитуда, f — частота (окт относительно 1 кГц), D — плотность гребней (цикл/окт), e — показатель степени, задающий ширину гребней. Поскольку сигналы были центрированы на частоте 2 кГц (одна окт относительно частоты 1 кГц), во всех случаях $f = 1$. Использовали значения e , равные 1, 2, 4, 8, 16 и 32. При $e = 1$ форма спектра была смещенной синусоидой от частоты, выраженной в октавах, с эквивалентной шириной гребня 37% от частотного интервала между гребнями. При $e > 1$ гребни были более узкими: при значениях e , равных 2, 4, 8, 16 и 32 ширина гребней составляла соответственно 28, 20, 16, 13 и 9% от частотного интервала между гребнями.

Спектры сигналов, полученных фильтрацией белого шума, имели такую же гребенчатую структуру с теми же значениями эквивалентной прямоугольной ширины гребней. Уровень сигналов выбирался испытуемым как комфортный для прослушивания сигналов, поэтому он различался в зависимости от тональных порогов и составлял 50–55 дБ над тональным порогом на частоте 2 кГц.

В процессе измерения использовали два типа сигналов: тестовый и референтный. Оба сигнала имели одинаковый уровень, спектральную полосу, плотность гребней и ширину гребней. Различие между тестовым и референтным сигналами состояло в том, что в тестовом сигнале каждые 400 мс положения максимумов и минимумов спектральной

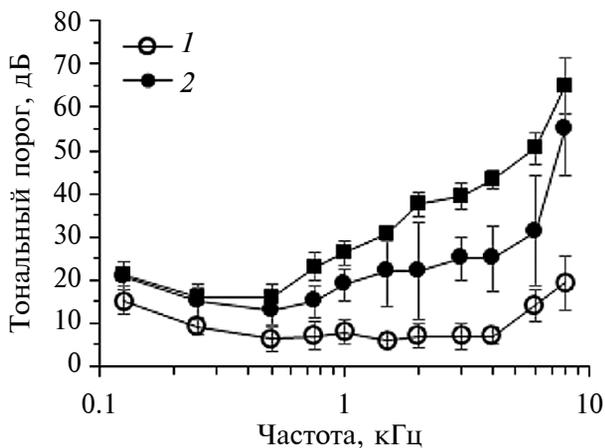


Рис. 2. Усредненные аудиограммы испытуемых по категориям потери слуха. 1 — нормальный слух; 2 — легкая потеря слуха; 3 — умеренная потеря слуха. Планки погрешностей — стандартные ошибки средних значений.

амплитуды менялись местами (варианты 1 и 2 на рис. 2).

Сигнал содержал три полных цикла переключений между двумя вариантами спектра, так что полная длительность сигнала составляла 2400 мс. У референтного сигнала спектр оставался постоянным в течение всей его длительности, которая также была равна 2400 мс. Плотность гребней (одинаковую в тестовом и референтном сигналах) меняли ступенчато, используя следующую шкалу: 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50 цикл/окт (квазилогарифмическая шкала с шестью значениями на десятичную логарифмическую единицу).

Процедура измерения ЧРС. ЧРС оценивали как максимальную плотность гребней спектра, при которой испытуемый различал сигналы с разным положением спектральных гребней на шкале частот. Использовали трехальтернативную процедуру с принудительным выбором в сочетании с адаптивным варьированием плотности гребней спектра сигналов. В каждой пробе испытуемому предъявляли три сигнала: один тестовый и два референтных. Порядок следования сигналов (тесовый сигнал на первом, втором или третьем месте) меняли от пробы к пробе в случайном порядке. Каждый сигнал длился 2400 мс, интервалы между ними были 400 мс. Задача испытуемого состояла в том, чтобы определить, какой из сигналов (тесовый) отличается от двух других (референтных), и сообщить, какой из трех сигналов отличается.

Адаптивное варьирование стимула состояло в том, что плотность гребней в каждой пробе зависела от результата распознавания сигналов в предыдущей пробе. После одного правильного ответа

плотность гребней в следующей пробе не меняли. После двух подряд правильных ответов плотность гребней в следующей пробе увеличивали на один шаг. После ошибки плотность гребней в следующей пробе уменьшали на один шаг. Такое варьирование приводит к тому, что варьируемый параметр (плотность спектральных гребней) колеблется около значения, которое обеспечивает вероятность правильных ответов, равную $0.5^{0.5} = 0.71$ (Levitt, 1971). Это значение принимали за предел различения гребенчатой структуры спектра, поскольку оно близко к средней точке (0.67) между уверенным различением тестового и референтного сигналов (вероятность правильного ответа 1.0) и случайным угадыванием одного из трех сигналов (вероятность 0.33). Процедуру продолжали до тех пор, пока не получали десять точек реверсии (переход от увеличения плотности гребней к уменьшению и обратно). Среднее значение плотности гребней в этих десяти точках реверсии принимали за оценку ЧРС в данном эксперименте.

При каждом значении ширины гребней на каждом испытуемом измерении повторяли трижды. Среднее значение трех измерений принимали за окончательную оценку ЧРС у данного испытуемого при данном значении ширины гребня.

Статистика. Статистическую оценку данных выполняли, используя программу Prism Graph Pad (Graph-Pad Software, San Diego, США).

Модели. В моделях, примененных для объяснения полученных результатов, вычисляли профили возбуждения, создаваемые сигналами (внутренние спектры) и автокорреляграммы входных и воспринимаемых сигналов.

Профиль возбуждения вычисляли сверткой спектра входного сигнала с частотной характеристикой кохлеарного фильтра. Согласно формуле, приведенной в работе (Glasberg, Moore, 1986), на частоте 2 кГц, соответствующей максимуму спектра гребенчатого сигнала, полоса пропускания кохлеарного частотно-избирательного фильтра составляет 12.5% от центральной частота, что соответствует 0.16 октавы. Эту величину принимали за полосу пропускания фильтра в модели.

Автокорреляционные функции сигналов рассчитывались обратным фурье-преобразованием частотного спектра мощности.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Тональная аудиометрия. Несмотря на значительный межиндивидуальный разброс, наблюдали очевидную тенденцию, связывающую возраст и тональные пороги: чем старше возраст, тем (в среднем) выше тональные пороги. Для порогов на частотах 0.5–4 кГц усредненная тенденция составила 0.6 дБ/год, для частоты 2 кГц (на которой проводили измерения ЧРС, см. далее) — 0.7 дБ/год (рис. 2).

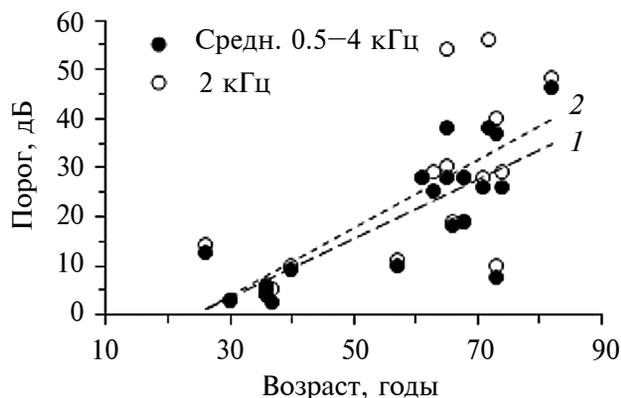


Рис. 3. Зависимость порогов слухового восприятия от возраста испытуемого. Приведены средние значения порогов на частотах 0,5, 1, 2 и 4 кГц и пороги на центральной частоте сигналов для измерения ЧРС (2 кГц), как указано в легенде.

По результатам тональной аудиометрии и в соответствии с шкалой Всемирной организации здравоохранения (Olusanya et al., 2019) восемь испытуемых (от 26 до 73 лет) имели нормальный слух (пороги воздушной проводимости для частот 500, 1000, 2000 и 4000 Гц в среднем не выше 15 дБ), трое испытуемых (от 26 до 73 лет) характеризовались легкой потерей слуха (mild, пороги от 16 до 25 дБ), восемь испытуемых (от 61 до 82 лет) характеризовались умеренной потерей слуха (moderate, пороги от 26 до 40 дБ) и один испытуемый — сильной потерей слуха (severe, 41–55 дБ). Испытуемые с более значительной потерей слуха (profound или deafness) не были исследованы.

Во всех трех группах испытуемых наблюдали повышение порогов на высоких частотах (см. рис. 2). Однако частоты, начиная с которых происходило явное повышение порогов, различались: от 4 кГц для группы с нормальным слухом (см. рис. 2, 1) до 0,5 кГц у группы с умеренной и сильной потерей слуха (см. рис. 2, 3); группа со слабой потерей слуха характеризовалась промежуточным положением усредненной аудиограммы (см. рис. 2, 2).

Имела место корреляция тональных порогов с возрастом. Для среднего значения порогов на частотах 500, 1000, 2000 и 4000 Гц коэффициент корреляции составил 0,77, для порогов на частоте 2 кГц (центральная частота для сигналов, которыми измеряли ЧРС) коэффициент корреляции составил 0,72. Связь тональных порогов с возрастом проявлялась также в наклонах линий регрессии для функций, связывающих эти величины (рис. 3).

Для усредненного порога на частотах 0,5–4 кГц наклон линии регрессии и соответствующая стандартная ошибка составили $0,62 \pm 0,14$ дБ/год, для частоты 2 кГц $0,74 \pm 0,20$ дБ/год. Наряду

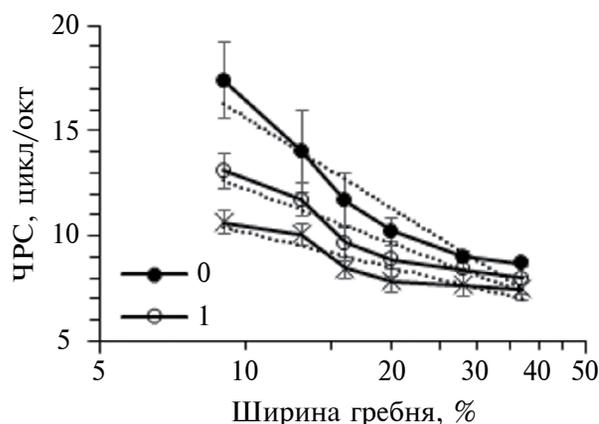


Рис. 4. Зависимость ЧРС от ширины спектральных гребней. Ширина гребней указана в процентах от частотного интервала между соседними гребнями.

с указанной тенденцией наблюдали значительный разброс данных, т.е. у испытуемых близких возрастов тональные пороги могли значительно различаться.

Влияние ширины гребней на ЧРС. Влияние ширины гребней на ЧРС зависело от степени потери слуха (рис. 4).

У испытуемых с нормальным слухом сужение гребней спектра приводило к значительному повышению ЧРС: усредненная зависимость аппроксимируется линией регрессии с наклоном $-0,28$ (цикл/окт)/% и стандартной ошибкой $0,1$ (цикл/окт)/%. Отрицательный наклон линии регрессии отражает то обстоятельство, что чем больше ширина гребня, тем хуже разрешение. У испытуемых с умеренной и значительной потерей слуха этот эффект был значительно слабее (наклон линии регрессии и стандартная ошибка $-0,11 \pm 0,05$ (цикл/окт)/%). У испытуемых с легкой потерей слуха зависимость имела промежуточный характер: наклон линии регрессии $-0,17 \pm 0,06$ (цикл/окт)/%.

ОБСУЖДЕНИЕ

Природа потери слуха. Различия в слуховых порогах между испытуемыми мы относили за счет возрастной потери слуха. Об этом свидетельствует значимая корреляция между тональным порогом и возрастом испытуемых (см. рис. 3). Поэтому полученные данные о зависимости ЧРС от ширины гребней спектра, как минимум, могут быть отнесены к случаям потери слуха, зависящим от возраста. Вместе с тем значительный разброс данных показывает, что и другие факторы могли существенно влиять на пороги. Это не исключает возможности применения полученных результатов и к другим

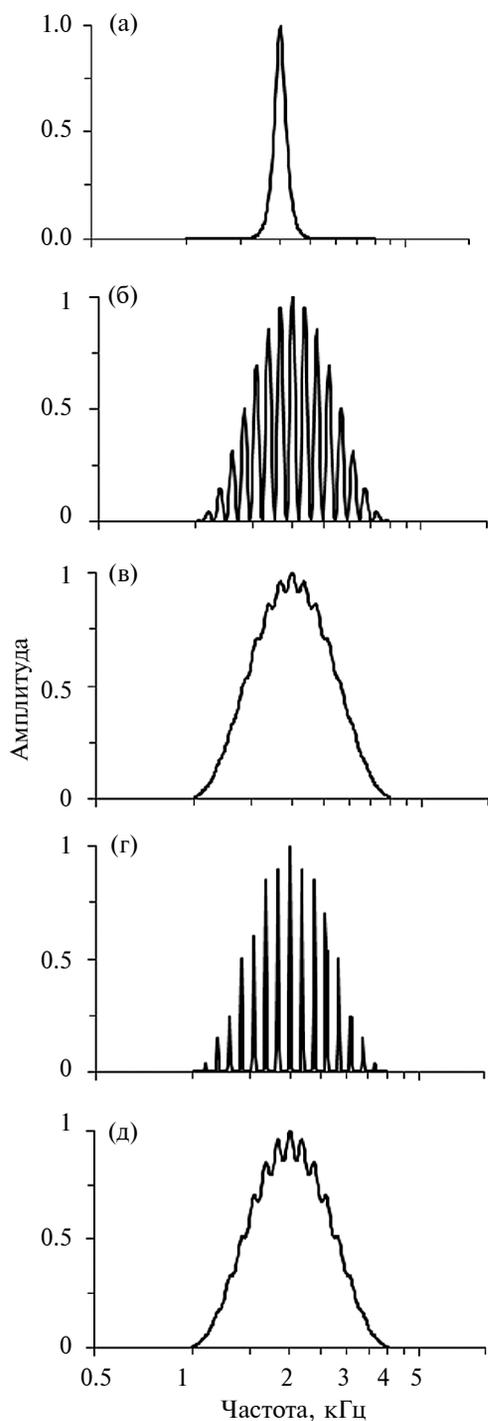


Рис. 5. Спектральная модель различения гребенчатой структуры спектра при разной ширине гребней: нормальный слух *a* — характеристика кохлеарного фильтра с эквивалентной прямоугольной полосой пропускания 0.16 окт (моделирование восприятия сигналов при нормальном слухе); *б* — спектр входного сигнала с плотностью спектральных гребней 8 цикл/окт, шириной гребней 37% (косинусоидальная форма гребней); *в* — расчетный профиль возбуждения при характеристиках, приведенных на поз. *a* и *б*, *г* и *д*, — то же при ширине гребней 12%. Спектральная амплитуда нормирована, принимая максимум спектра за единицу.

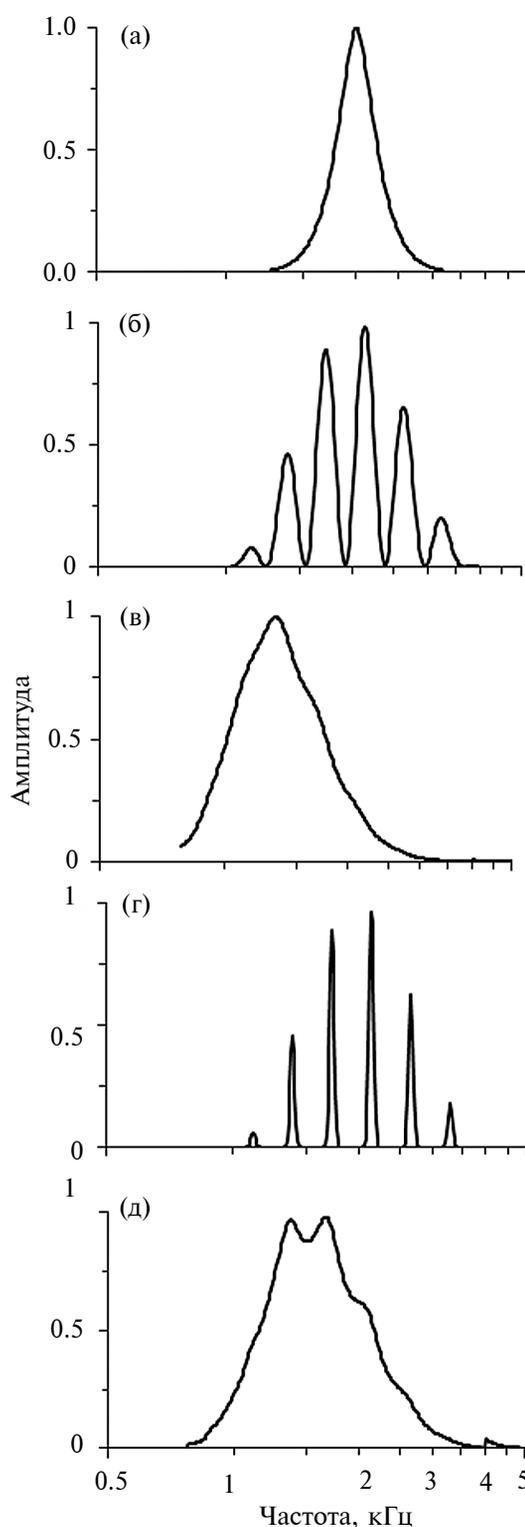


Рис. 6. То же, что рис. 6 при полосе пропускания кохлеарного фильтра 0.4 окт и плотности спектральных гребней 3.2 цикл/окт (моделирование восприятия сигналов при снижении добротности фильтра в 2.5 раза по сравнению с нормой). Сужение гребней приводит к углублению гребенчатой структуры профиля возбуждения, так же как при нормальном слухе.

случаям сенсоневральной потери слуха, если они обусловлены теми же механизмами.

Спектральный механизм различения гребенчатых спектров. Зависимость ЧРС от ширины спектральных гребней была ранее показана для испытуемых с нормальным слухом (Supin et al., 2022): сужение спектральных гребней приводило к возможности различения более высоких плотностей гребней. Этот эффект удовлетворительно объяснялся моделью профиля возбуждения (внутреннего спектра), которая представляет зависимость выходного сигнала частотно-избирательных фильтров от характеристики частоты. При гребенчатом спектре входного сигнала профиль возбуждения также характеризуется гребенчатым рисунком, но за счет интегрирования спектральных составляющих в полосе пропускания фильтров глубина гребней в профиле возбуждения меньше, чем в спектре входного сигнала. Сужение гребней спектра приводит к увеличению глубины модуляции профиля из-за увеличенных интервалов между гребнями. Увеличенная глубина модуляции профиля возбуждения облегчает различение гребенчатой структуры спектра сигнала.

Увеличение глубины модуляции профиля возбуждения воспроизводилось в данном исследовании моделью спектрального различения. Для моделирования использована форма кохлеарных фильтров, аппроксимированная функцией скругленной экспоненты (*roex*) (Patterson et al., 1982). В соответствии с формулой, описывающей зависимость полос пропускания кохлеарных фильтров от центральной частоты (Glasberg, Moore, 1990), принимали, что на частоте 2 кГц полоса пропускания составляла 237 Гц (приблизительно 12% от центральной частоты, или 0.16 октавы). Расчет показал (рис. 5), что при узких гребнях спектра входного сигнала (рис. 5, *з*) профиль возбуждения имеет более глубокую модуляцию (рис. 5, *д*), чем при широких гребнях (рис. 5, *б* и *в*).

При сенсоневральной потере слуха возникают два эффекта.

1. Потеря чувствительности к высоким частотам звука, из-за чего в профиле возбуждения происходят выпадение высоких частот и сдвиг спектрального максимума в сторону низких частот.

2. Снижение селективности частотно-избирательных кохлеарных фильтров вследствие снижения усиления активного механизма улитки.

Сдвиг профиля возбуждения относительно спектра входного сигнала воспроизводится в модели спектрального различения (рис. 6).

Глубина модуляции внутреннего спектра зависит от соотношения плотности гребней во входном сигнале и добротности частотно-избирательных фильтров (чем ниже это отношение, тем ближе внутренний спектр к спектру сигнала). Поэтому решающую

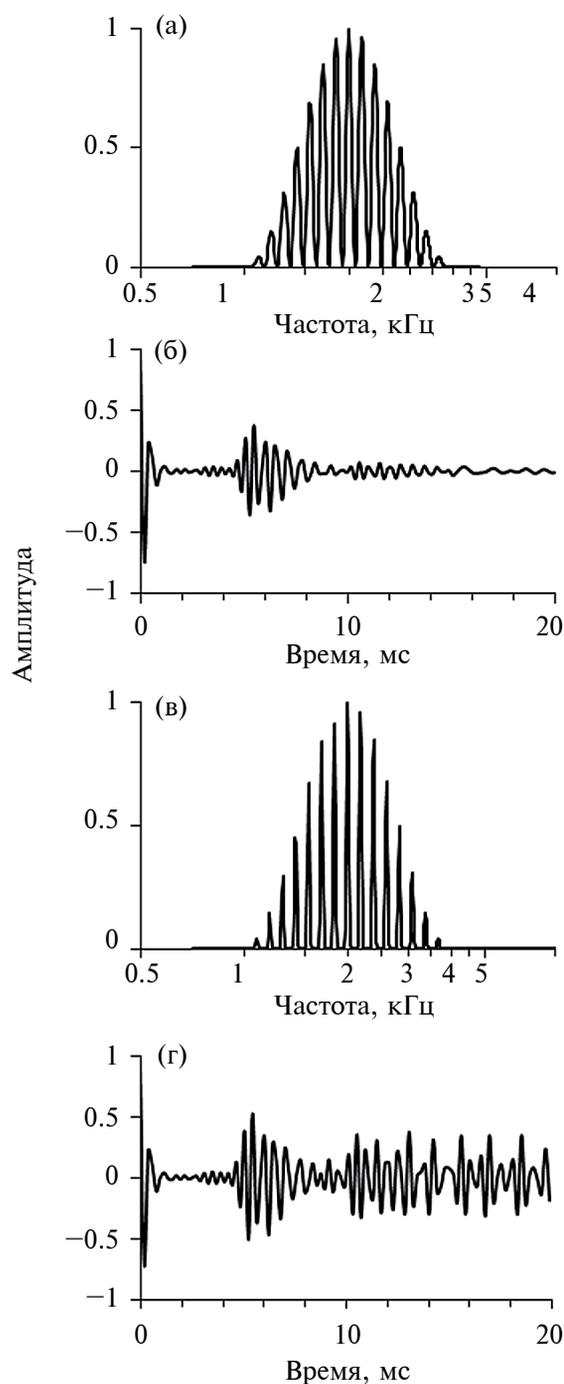


Рис. 7. Автокоррелограммы сигнала с разной шириной гребней для нормального слуха

a — спектр воспринимаемого сигнала (идентичен спектру входного сигнала) с плотностью гребней 8 цикл/окт и шириной гребней 37% (косинусоидальная форма гребней); *б* — автокоррелограмма сигнала. Амплитуда нормализована относительно значения на нулевой задержке, которое принято за единицу. Автокорреляция максимальна на задержке 5.6 мс, что численно равно плотности гребней в максимуме спектра в размерности цикл/кГц; *в* и *з* — то же, что *a* и *б* при ширине гребней 16%. При узких гребнях амплитуда и длительность задержанного сегмента автокоррелограммы увеличены по сравнению с таковыми при широких гребнях спектра.

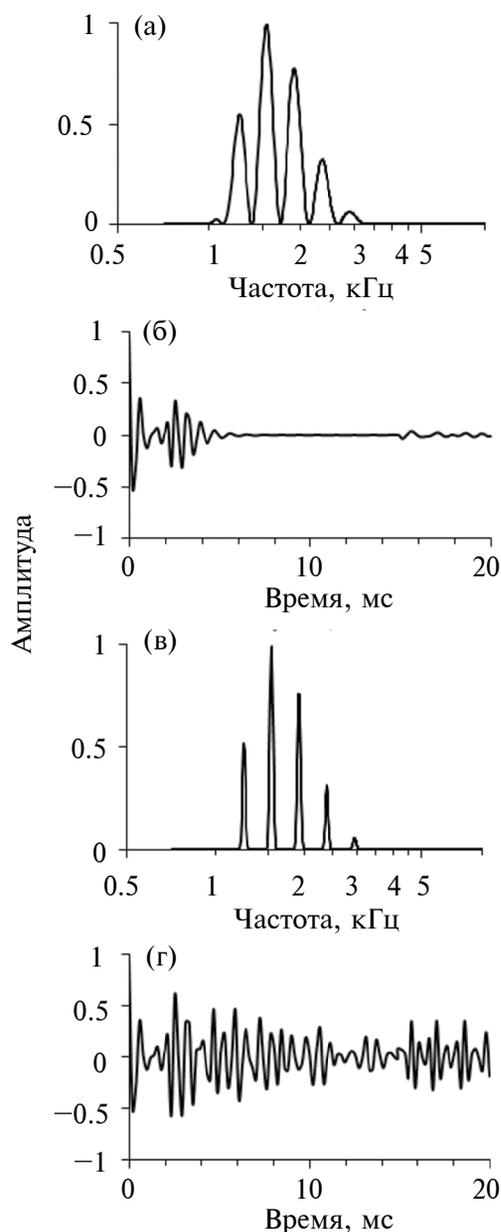


Рис. 8. То же, что на рис. 7 для умеренной потери слуха. Плотность гребней 3.2 цикл/окт. Спектр воспринимаемого сигнала смещен относительно спектра входного сигнала в сторону низких частот на 0.4 окт (максимальный пик на частоте 1.54 кГц вместо 2 кГц во входном сигнале). Автокорреляция максимальна на задержке 2.5 мс, что численно равно плотности гребней в максимуме спектра в размерности цикл/кГц. Так же, как и при нормальном слухе, при узких гребнях амплитуда и длительность задержанного сегмента автокорреллограммы увеличены по сравнению с такими при широких гребнях спектра.

роль в снижении разрешающей способности слуха играет снижение остроты избирательности фильтров. При сниженной добротности фильтров пороговая глубина модуляции внутреннего спектра достигается

при пропорциональном снижении плотности гребней спектра сигнала, что проявляется как сниженное разрешение гребенчатой структуры спектра.

Если плотность гребней снижена пропорционально снижению остроты фильтров, то сужение гребней должно вызывать у испытуемых с сенсоневральной потерей слуха улучшение ЧРС, так же как у испытуемых с нормальным слухом. Этот эффект воспроизводится моделью и демонстрируется сравнением рис. 5 (нормальный слух, полоса пропускания фильтров 0.16 окт, плотность гребней 8 цикл/окт) и рис. 6 (сниженный слух, полоса пропускания фильтров расширена до 0.4 окт, плотность гребней снижена до 3.2 цикл/окт). В том и другом случае сужение ширины гребней с 37 до 13% приводит к увеличению глубины модуляции внутреннего спектра, так что пороговая глубина модуляции достигается при более высокой плотности гребней.

Это предсказание модели противоречит экспериментальным данным. Экспериментальные данные показали, что у испытуемых с нормальным слухом сужение спектральных гребней приводит к повышению различаемой плотности гребней, что согласуется с моделью. У испытуемых с значительной потерей слуха разрешение гребенчатой структуры спектра сигнала практически не зависит от ширины гребней, что противоречит модели.

Таким образом, модель *не воспроизводит* экспериментальные данные и не может быть применена для их объяснения.

Временной механизм различения гребенчатых спектров. У испытуемых с нормальным слухом ЧРС, определяемая по возможности различения двух сигналов с гребенчатым спектром при одинаковой плотности гребней, но с разным положением гребней на шкале частот, обусловлена в основном спектральным механизмом. Преимущественное действие спектрального механизма возникает потому, что при одинаковых плотностях гребней задержки автокорреляции двух сигналов также одинаковы; в результате временной механизм оказывается неэффективным. Однако у испытуемых с значительной потерей слуха эффективность спектрального механизма может быть значительно снижена из-за снижения остроты частотно-избирательных фильтров. Тогда ЧРС может определяться временным механизмом, работа которого мало зависит от остроты частотно-избирательных фильтров. В этой ситуации ключевую роль может играть выпадение восприятия высоких частот. Дело в том, что задержка автокорреляции гребенчатого сигнала численно равна плотности гребней в расчете на единицу частоты. Поэтому меньшая задержка автокорреляции имеет место на более высоких частотах:

$$d = D_{\text{lin}} \approx 1.4D_{\text{oct}} / f, \quad (2)$$

где d (мс) — задержка автокорреляции, D_{lin} (цикл/кГц) — плотность гребней в линейной шкале

частот (количество гребней на единицу частоты), $D_{\text{окт}}$ (цикл/окт) — плотность гребней в логарифмической (октавной) шкале, f — частота (кГц). Если временной механизм способен обнаруживать автокорреляцию сигнала при задержках не более некоторой предельной величины, то выпадение высокочастотных компонентов сигнала может привести к тому, что задержка окажется за пределами обнаружения автокорреляции, из-за чего гребенчатая структура может обнаруживаться только при более низкой плотности гребней.

Влияние эффекта сужения спектральных гребней на автокорреляцию воспринимаемого сигнала представлено на рис. 7 (нормальный слух) и рис. 8 (умеренная потеря слуха).

При нормальном слухе спектр воспринимаемого сигнала незначительно отличается от спектра входного сигнала. При ширине спектральных гребней 37% и плотности гребней 8 цикл/окт (что близко к экспериментально полученному значению ЧРС) в автокоррелограмме имеется задержанный сегмент, максимум которого близок к 5.6 мс, что численно равно плотности гребней в размерности цикл/кГц в максимуме спектра. Сужение гребней спектра до 13% приводит к увеличению длительности задержанного сегмента и возрастанию амплитуды колебаний. Согласно ранее представленной интерпретации (Surin et al., 2022), эти эффекты обеспечивают удлинение задержки, при которой возможно обнаружение задержанного сегмента АКФ, что приводит к более высокому разрешению гребенчатой структуры спектра и повышению ЧРС.

У испытуемых с потерей слуха происходит сдвиг максимума частот воспринимаемого сигнала в сторону более низких частот: при усредненной аудиограмме (как на рис. 7, 3) максимум спектра сдвигается с 2 кГц (1 окт относительно 1 кГц) до приблизительно 1.5 кГц (0.6 окт) (см. рис. 8). При этом пик задержанного сегмента возникает при задержке приблизительно 2.5 мс, что численно равно плотности гребней в размерности цикл/кГц в воспринимаемом спектре сигнала. Сужение гребней вызывает эффект, качественно сходный с таковым у нормально слышащих испытуемых: длительность и амплитуда задержанного сегмента автокоррелограммы увеличиваются. Однако экспериментальные данные показали (см. рис. 4), что разрешение гребенчатой структуры спектра остается не лучше, чем около 4 цикл/окт. У нормально

слышащих испытуемых при косинусоидальной форме спектральных гребней (эквивалентная прямоугольная ширина 37%) временной механизм анализа обеспечивает различение спектральных гребней до 26 цикл/окт (Nechaev et al., 2019) или более 30 цикл/окт (Milekhina et al., 2019). В нашем исследовании разрешение гребенчатой структуры спектра у нормально слышащих испытуемых составляло менее 10 цикл/окт. Из этих данных следует, что при использованной схеме эксперимента (различение гребенчатого тест-сигнала и гребенчатого референтного сигнала) у нормально слышащих испытуемых ЧРС не определялась временным механизмом. При значительном снижении добротности кохлеарных фильтров у испытуемых с потерей слуха преобладание временного механизма анализа возможно. Причем необходимо допустить, что при потере слуха диапазон задержек, в котором возможно обнаружение автокорреляции, сокращен по сравнению с нормой, на что указывает сниженная ЧРС. Этот сокращенный диапазон заметно не продлевается при увеличении автокорреляции во входном сигнале.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Помимо известных эффектов (повышение слуховых порогов, сокращение частотного диапазона слуха, снижение добротности кохлеарных частотно-избирательных фильтров) сенсоневральная потеря слуха сокращает диапазон задержек, в котором возможно обнаружение автокорреляции входного сигнала.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана РНФ, грант 23–25–00148.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концептуализация и подготовка рукописи выполнены А. Я. Супиным и Д. И. Нечаевым. Измерения и первичная обработка данных проделаны О. Н. Милехиной, Д. И. Нечаевым, М. С. Томозовой.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Discrimination of rippled spectra with various ripple widths in listeners with normal and impaired hearing

D. I. Nechaev^a, O. N. Milekhina^a, M. S. Tomozova^a, A. Ya. Supin^{a*}

^aInstitute of Ecology and Evolution of The Russian Academy of Sciences

119071, Moscow, Leninsky Prospect, 33, Russia

**E-mail: alex_supin@mail.ru*

In listeners aged 26 to 82 years with various degrees of hearing loss (from normal to moderate), the frequency resolving power (FRP) was assessed as the resolved ripple density resolution in rippled-spectrum signals at various ripple widths. In normal-hearing listeners, FRP increased with narrowing the ripple width. In impaired-hearing listeners, the effect of narrowing the ripple width was minor. The difference between the normal- and impaired-hearing listeners could not be explained by the excitation pattern model of the rippled spectrum resolution. The temporal analysis model did explain this difference on an assumption that in normal hearing listeners, enhancing the autocorrelation of the input signal resulted in prolongation of the delay at which the autocorrelation could be detected by the auditory system, whereas in impaired-hearing listeners this effect was reduced or absent.

Key words: hearing, hearing loss, rippled spectra, spectral resolution, temporal resolution

REFERENCES

- Bernstein J. G. W., Golbarg M. G., Shamma S., Gallun F. J., Theodoroff S. M., Leek M. R. Spectrotemporal modulation sensitivity as a predictor of speech intelligibility for hearing-impaired listeners. *J. Am. Acad. Audiol.* 2013. V. 24. P. 293–306.
- Chi T., Gao Y., Guyton M. C., Ru P., Shamma S. Spectro-temporal modulation transfer functions and speech intelligibility. *J. Acoust. Soc. Am.* 1999. V. 106. P. 2719–2732.
- Davis-Venn E., Nelson P., Souza P. Comparing auditory filter bandwidths, spectral ripple modulation detection, spectral ripple discrimination, and speech recognition: Normal and impaired hearing. *J. Acoust. Soc. Am.* 2015. V. 138. P. 492–503.
- Glasberg B. R., Moore B. C. J. Auditory filter shapes in subjects with unilateral and bilateral cochlear impairments. *J. Acoust. Soc. Am.* 1986. V. 79. P. 1020–1033.
- Glasberg B. R. and Moore, B. C. J. Derivation of auditory filter shapes from notched-noise data. *Hearing Res.* 1990. V. 47. P. 103–138.
- Henry B. A., Turner C. W., Behrens A. Spectral peak resolution and speech recognition in quiet: Normal hearing, hearing impaired, and cochlear implant listeners. *J. Acoust. Soc. Am.* 2005. V. 118. P. 1111–1121.
- Leek M. R., Summers V. Auditory filter shapes of normal-hearing and hearing-impaired listeners in continuous broadband noise. *J. Acoust. Soc. Am.* 1993. V. 94. P. 3127–3137.
- Leek M. R., Summers V. Pitch strength and pitch dominance of iterated rippled noise in hearing-impaired listeners. *J. Acoust. Soc. Am.* 2001. V. 109. P. 2944–2954.
- Litvak L. M., Spahr A. J., Saoji A. A., Fridman G. Y. Relationship between the perception of spectral ripple and speech recognition in cochlear implant and vocoder listeners. *J. Acoust. Soc. Am.* 2007. V. 122. P. 982–991.
- Levitt H. Transformed up-down methods in psychoacoustics. *J. Acoust. Soc. Am.* 1971. V. 49. P. 467–477.
- Mechraei G., Gallun F. J., Leek M. R., Bernstein J. G. Spectrotemporal modulation sensitivity for hearing-impaired listeners: Dependence on carrier center frequency and the relationship to speech intelligibility. *J. Acoust. Soc. Am.* 2014. V. 136. P. 301–316.
- Milekhina O. N., Nechaev D. I., Supin A. Y. Rippled-spectrum resolution dependence on frequency: Estimates obtained by discrimination from rippled and nonrippled reference signals. *J. Acoust. Soc. Am.* 2019. V. 146. P. 2231–2239.
- Nechaev D. I., Milekhina O. N., Supin A. Y. Estimates of ripple-density resolution based on the discrimination from rippled and nonrippled reference signals. *Trends in Hearing.* 2019. V. 23. P. 1–9.
- Olusanya B. O., Davis A. C., Hoffman H. J. Hearing loss grades and the international classification of functioning, disability and health. *Bull. World Health Organ.* 2019. V. 97. P. 725–728.
- Patterson R. D., Nimmo-Smith I., Weber D. L., Milroy R. The deterioration of hearing with age: Frequency selectivity, the critical ratio, the audiogram, and speech threshold. *J. Acoust. Soc. Am.* 1982. V. 72. P. 1788–1803.
- Supin A. Y., Milekhina O. N., Nechaev D. I., Tomozova M. S. Ripple density resolution dependence on ripple width. *PLoS ONE.* 2022. V. 17. e0270296.