

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ ФИЗИКИ ИМ. А.М. ПРОХОРОВА РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК»

На правах рукописи

Асташев Максим Евгеньевич

**НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ОПИСАНИЮ ДИНАМИКИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ
КОМПЛЕКСОВ, КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ И ТКАНЕЙ**

1.5.2. — Биофизика

**Диссертация на соискание ученой степени
доктора биологических наук**

Научный консультант: д.б.н. Гудков Сергей Владимирович

г. Пущино

2025

Оглавление

Введение	7
Актуальность темы исследования	7
Цель работы	13
Задачи диссертационной работы	13
Методология и методы диссертационного исследования.....	14
Научная новизна	15
Положения, выносимые на защиту	16
Основные научные результаты работы.....	17
Степень достоверности результатов	19
Апробация результатов работы	19
Личный вклад автора	19
Степень разработанности проблемы.....	20
Теоретическая значимость работы	21
Практическая значимость работы	22
Ценность научных работ.....	22
Публикации	23
Структура и объём работы.....	23
1 Обзор литературы.....	24
1.1 Экспериментальный подход системной биологии.....	24
1.2 Общее понятие биоритмов и периодических процессов в живых организмах	30
1.3 Общая классификация биоритмов	32
1.4 Суточные ритмы	34
1.5 Клеточный цикл и митоз как инфрадианный ритм.	36

1.6	Ультранианые биоритмы на клеточном и тканевом уровнях.....	37
1.7	Уровень физиологической системы:.....	50
1.7.1	Ритмы в сигналах электроэнцефалограмм	50
1.7.2	Сигналы сердечнососудистой системы	61
1.8	Изучение свойств растительных тканей.	77
1.9	Уровень клетки	85
1.9.1	Осцилляции в культуре эндотелиоцитов.....	85
1.9.2	Источники колебаний цитозольной концентрации кальция и продукции оксида азота в клетках.....	87
1.10	Уровень физико-химической молекулярной системы.....	91
1.10.1	Времена жизни одиночных ионных каналов	91
1.10.2	Осцилляции хемилюминесценции воды	97
1.11	Нелинейные преобразователи в биологических системах.	99
1.11.1	Релаксационные колебательные системы в биологии	99
1.11.2	Диффузионно-дрейфовые процессы.....	102
1.11.3	Концентрационные зависимости лиганд-рецепторных взаимодействий	104
1.12	Программное обеспечение и лабораторное оборудование с открытым исходным кодом и схемами	107
1.13	Синхронное измерение флуоресценции Fura-2 и DAF-FM	108
1.14	Фазовая вейвлет-когерентность.	109
1.15	Метод биспектрального анализа с использованием лог-нормального вейвлет - преобразования.....	114
2	Методы.....	124

2.1	Метод культивирования клеток эндотелия кровеносных сосудов мышцы, фенотипическая характеристика клеток	124
2.2	Методы регистрации сигналов.....	125
2.3	Метод регистрации тока одиночного канала	128
2.4	Метод микрофлуоресцентной регистрации со светодиодным осветителем.....	128
2.5	Метод регистрации и анализа электроэнцефалограмм у морских свинок.....	130
2.6	Методы получения наночастиц селена и плазмоактивированной воды для воздействия на биологические образцы	135
3	Результаты и обсуждение	138
3.1	Разработка измерительного оборудования для регистрации временных рядов биологических объектов	138
3.1.1	Флуоресцентная система для одновременной регистрации цитозольных концентраций иона кальция и продукции оксида азота ..	138
3.1.2	Прибор для электроимпедансной спектроскопии ветвей растений	149
3.1.3	Прибор для импульсной флуориметрии фотосинтетических пигментов растений.....	152
3.2	Разработка математических методов анализа временных рядов	158
3.2.1	Метод распределения популяции клеток по динамике транзистентных сигналов	158
3.2.2	Адаптация метода фазовой вейвлет-когерентности для анализа ритмов с разными частотами в одноканальном сигнале.....	163

3.2.3	Применение биспектрального анализа для исследования нелинейных процессов передачи сигнала. Поиск приемника и передатчика.....	168
3.3	Исследование ритмической активности на молекулярном уровне ...	175
3.3.1	Взаимосвязь и нелинейная динамики активационного и инактивационного процессов в динамике ионного канала.....	175
3.3.2	Биспектральный анализ динамики ионного канала.....	179
3.4	Исследование ритмической активности на клеточном уровне	190
3.4.1	Анализ транзистентных сигналов в неэлектровозбудимых клетках. Цитометрический подход	190
3.4.2	Влияние внешних химических стимулов на функциональные ответы невозбудимых клеток	200
3.4.3	Исследование низкочастотных ритмических компонент в неэлектровозбудимых клетках	203
3.4.4	Применение метода биспектрального анализа для оценки синхронизации колебаний внутриклеточных сигнальных молекул в эндотелиоцитах.....	213
3.5	Исследование ритмической активности на уровне тканей.....	227
3.5.1	Исследование ритмических процессов в фотосинтетическом аппарате растений	227
3.5.2	Электроимпедансная спектроскопия при анализе состояния стеблей: теория и эксперимент.....	238
3.6	Исследование ритмической активности на уровне физиологических систем.....	257
3.6.1	Осцилляторная активность и кросс-частотные взаимодействия во время обработки сенсорной информации в мозге	262

3.6.2	Изменение синхронизации ритмических процессов при введении L-глутамата в медиальную септальную область	269
4	Обсуждение	286
5	Заключение	302
	Список сокращений и обозначений	310
	Список литературы	314
	Список рисунков	384
	Список таблиц	409

Введение

Актуальность темы исследования

Системная биология (Zieglansberger & Tolle, 1993) — это научное направление, в котором теория систем применяется для изучения и описания сложных систем с сетевой организацией (von Bertalanffy, 1950). Перспективы системной биологии заключаются в преодолении кризиса предсказательной силы моделей, построенных на редуccionном подходе (Ahn et al., 2006). Экспериментальный подход системной биологии представляет собой цикл, состоящий из нескольких этапов (Kitano, 2002): теоретический анализ имеющихся данных, построение математической модели системы, симуляция, формирование гипотезы, дизайн эксперимента и разработка экспериментального оборудования; биологический эксперимент, описание экспериментальных данных и переход в начало цикла. Первые четыре этапа относятся к вычислительной биологии (dry biology), последующие — к экспериментальной (wet biology). Реализация такого цикла требует решения разнородных задач: математических, для формализации математической модели и анализа данных; биологических, для формирования гипотезы на основе имеющихся биологических данных и получения экспериментальных данных; технических, для построения оптимального дизайна эксперимента.

Поскольку модельное описание сложной системы требует ее верификации с применением высоко детализированных экспериментальных данных (Kreutz & Timmer, 2009), их получение невозможно без автоматизации измерительного процесса (King et al., 2009). В случае флаксомики, физиологии, электрофизиологии, экспериментальной биофизики данные часто получают в виде временных рядов, т.е. результатов синхронного многоканального измерения физико-химических параметров биологической системы во времени. Синхронное многоканальное измерение различных параметров многократно повышает информативное качество экспериментальных данных, поскольку появляется возможность оценки

фазовой синхронизации ритмических процессов, что является эффективным инструментом для анализа динамического поведения сложных сетевых систем, которые их генерируют (Shahsavari Baboukani et al., 2019).

Критерии описания временных рядов можно условно разделить на линейные и нелинейные. Первые обладают свойством аддитивности: сумма временных рядов двух сигналов в результате анализа даёт критерии, являющиеся суммой критериев сигналов. К таковым можно отнести критерии, основанные на статистических моментах: среднее, среднеквадратическое отклонение, асимметрия и эксцесс (Serov et al., 2020) и время-частотные методы (Morales & Bowers, 2022). Нелинейные критерии основаны на мерах из теории фракталов: фрактальная размерность, показатели Херста и Гёльдера (Brazhe et al., 2004; Kazachenko et al., 2004); на теории информации: информационная энтропия (Karbowskí, 2024), на исследовании фазовых портретов (Альмухаметов, 2009); на свертках временных рядов: сингулярный спектральный анализ (Ахметшин, 2013), на свертках частотных спектров: фиккер-шумовая спектроскопия (Abdullaev et al., 2018; Тимашев, 2012), на коэффициентах нелинейных или гармонических искажений (Бондарь, 2019), на спектральных методах второго и более высоких порядков, например, вейвлет-когерентный анализ (Bandrivskyu et al., 2004), биспектральный анализ, основанный на вейвлет-преобразовании (Newman et al., 2021) и др. Спектральные методы второго порядка представляют собой усложнение время-частотных методов (оконного Фурье-преобразования или непрерывного комплексного вейвлет-преобразования) путем сверток по времени комплексных корреляционных коэффициентов, зависящих от частоты (Sigl & Chamoun, 1994). Преимуществами этих методов являются: возможность вычисления сдвига фаз ритмических составляющих временных рядов в широком частотном диапазоне, — следовательно, и оценки фазовой синхронизации. В случае биспектрального анализа на основе вейвлет-разложения (вейвлет-биспектрального анализа),

преимуществами также является возможность анализа как одноканальных, так и многоканальных временных рядов, возможность анализа нестационарных по амплитуде сигналов, возможность вычисления межчастотных фазово-синхронных коэффициентов когерентности.

Несмотря на перспективы системной биологии, успешных примеров реализации экспериментальных исследований на молекулярном, клеточном и тканевом уровне немного (Fröhlich et al., 2018). На уровне органов, значительный прогресс достигнут в анализе процессов электрогенеза в мозге (Tewarie et al., 2019). Наиболее продуктивным подход системной биологии оказался в геномике (Konopka & Bhaduri, 2023) и метаболомике (Shanmugam, 2024; Veenstra, 2021)

Ключевые особенности планирования эксперимента системной биологии (Kreutz & Timmer, 2009): 1) верификация динамических моделей осуществляется путем исследования реакции биологической системы на провокационное возмущение; 2) наиболее информативными являются измерения на клеточном уровне; 3) для создания математических моделей требуется относительно большой объем данных: количество независимых параметров, определяемых по экспериментальным данным должно превышать количество параметров модели; 4) критерии, используемые для описания данных, должны быть чувствительны к используемым провокационным тестам. В отличие от физических объектов и явлений, где применение линейных моделей дает хорошее описание наблюдаемых свойств (например в электродинамике, уравнения индукции электрического и магнитного поля линейны, также линейны законы электро-, тепло-, магнитопроводности, диффузии) и учет нелинейных свойств необходим только при исключительных условиях (например, при высоких напряженностях электрического поля: для описания комбинационного рассеяния, генерации второй гармоники, мультифотонной флуоресценции и т.п. эффектов), в биологии все объекты, явления и временные ряды, которые

они производят, являются нелинейными. В прошлом, моделированию и воспроизводству нелинейных характеристик биологических сигналов и геометрии объектов были уделены значительные усилия (Murray, 2002). Нелинейные процессы, в силу их способности стохастическому резонансу, способны к рецепции слабых воздействий, например, магнитных полей (Gapeyev & Chemeris, 1999; Gapeyev & Chemeris, 2009). При анализе нелинейных характеристик во временных рядах биологической природы, применялись методы, пришедшие из радиофизики, такие как вычисление коэффициента гармонических искажений (Бондарь, 2019), пришедшие из теории фракталов, например, показатель Гельдера и Хёрста (Brazhe et al., 2004), сингулярный спектральный анализ (Ахметшин, 2013). Исследование нелинейных характеристик с помощью коэффициента гармонических (или нелинейных) искажений подразумевает исследование реакции системы на внешнее ритмическое воздействие с известным спектрально-гармоническим составом, однако, это воздействие, само по себе способно изменить состояние системы, поэтому идея использования собственных биологических ритмов в канале связи - пути трансдукции сигнала - для исследования нелинейных характеристик биологической системы, выглядит весьма перспективной.

Периодически повторяющиеся процессы и явления встречаются в самых разных областях биологии на всех уровнях организации живой материи. Одиночный ионный канал переключается последовательно между двумя состояниями: открытым и закрытым, электровозбудимая клетка способна генерировать повторяющиеся последовательности потенциалов действия, реализуя пачечный режим активности, неэлектровозбудимые клетки способны многократно демонстрировать транзистентные сигналы увеличения цитозольной концентрации кальция. На уровне тканей периодические сигналы наблюдаются, например, в микроциркуляторном русле, а на уровне органов, периодические сигналы электроэнцефалографии и

электрокардиографии стали основой определения функционального состояния соответствующего органа. Организм в целом и экосистема в своей жизни неизбежно привязаны к ритмам астрономического происхождения, но не только к ним.

Среди задач, которые решает биофизика - раздел биологии, изучающий физические основы существования биологических объектов и, одновременно, раздел физики, изучающий биологические системы через призму физических моделей, - интересной областью является изучение свойств биологических систем через анализ динамических сигналов (т.е. изменение регистрируемых величин по времени), производимых этими системами различного уровня организации. В настоящий момент существует огромное разнообразие методов измерения различных величин, характеризующих биологические системы, которые, вместе с методами анализа получаемых данных, образуют предмет интереса дисциплины под названием "количественная биология".

При описании изменяющейся во времени величины, характеризующей какую-либо функцию биологической системы, можно выделить три основных свойства сигнала: базовый уровень сигнала, транзистентные изменения сигнала и периодические осцилляции сигнала. При этом свойства периодического сигнала: амплитуда и частота, также могут быть описаны вышеуказанными свойствами, получая, таким образом, амплитудную и частотную модуляцию, вариант фазовой модуляции в биологии рассматривается крайне редко. Потенциально, анализ сигнала с точки зрения его осцилляторных компонент, несет значительный объем информации. Связано это с простой моделью рассмотрения сигнала как аддитивного набора (суперпозиции) сигналов, каждый из которых происходит от своего источника (пейсмейкера) в биологической системе. В этом случае, практической задачей исследователя является разделение сигнала на слагаемые компоненты и независимая характеристика этих компонентов с

дальнейшей привязкой данных компонентов к функциям биологического объекта. Такая концепция анализа функций биологических систем общепринята при исследовании системной организации нейронов (сигналы полевых потенциалов, регистрируемые с помощью электроэнцефалографии), при исследовании функционирования кровеносной системы (сигналы лазерной Доплеровской флоуметрии) и многих других. Результатом такого подхода являются выделенные частотные диапазоны в рассматриваемых сигналах: дельта-, тета-, альфа-, гамма-ритмы в сигналах ЭЭГ, эндотелиальный, нейрогенный, миогенный ритмы в микроциркуляторном русле. Причем, как видно из названия ритмов в микроциркуляторном русле, каждый диапазон соотносят со своей физиологической функцией. Для ритмов ЭЭГ физиологические функции также выделены, но в наименовании ритмов данные факты отражения не получили. Основная цель данной работы заключается в том, чтобы преодолеть трудности, связанные с недостатком экспериментальных данных и отсутствием эффективных методов для их анализа. Это открывает путь для использования концепции системной биологии в экспериментальной биофизике при изучении биологических объектов на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях. В диссертационной работе рассматривается ряд усовершенствованных методов регистрации временных рядов физических и химических величин, характеризующих физиологически важные параметры биологических объектов, применение новых критериев для описания этих временных рядов на основе вейвлет-биспектрального анализа, оценка чувствительности этих критериев к провокационным воздействиям. В качестве опорной гармоник сигнала рассматриваются как естественные для биологических объектов стохастические или периодические сигналы, так и навязанные периодические воздействия.

Цель работы

Разработка и совершенствование методов регистрации, анализа временных рядов и подходов для их описания для построения моделей передачи и трансформации сигналов в сложных биологических системах молекулярного, клеточного и органного уровня организации.

Задачи диссертационной работы

- 1) Разработать аппаратные и программные средства для получения и анализа синхронных, многоканальных временных рядов различных типов (концентрация внутриклеточных сигнальных молекул, импеданс тканей, электрофизиологические потенциалы) в экспериментальном цикле системной биологии для описания сложных биосистем молекулярного, клеточного и органного уровня организации.
- 2) Разработать математическую модель передачи и трансформации сигнала в сложных биологических системах молекулярного, клеточного и органного уровня организации, регистрации и анализа временного ряда этого сигнала с помощью биспектрального анализа, основанного на вейвлет-преобразовании, для определения критерия описания биофизических сигналов с помощью показателя биспектра.
- 3) Исследовать синхронизацию и синтез гармоник во временных рядах открывания и закрывания воротного механизма потенциалозависимого калиевого канала в мембранах нейронов большого прудовика и кальций-зависимого калиевого канала почечных клеток Vero, а также сравнить динамику воротного механизма природных каналов с динамикой воротного механизма математической модели калиевого канала.
- 4) С помощью критерия, основанного на показателе биспектра, изучить изменения в динамике флуоресценции пигментов

фотосистемы растений под влиянием периодического внешнего светового воздействия в условиях стресса, вызванного засухой .

- 5) С помощью внешних физических и химических факторов исследовать в культуре клеток эндотелиоцитов изменение синхронизации внутриклеточных и внеклеточных сигналов, а также появление в них высших гармоник и элементов сетевой организации.
- 6) Изучить фазовую синхронизацию ритмических компонентов локальных полевых потенциалов структур мозга животных, а также их изменение в результате физической или химической стимуляции.

Методология и методы диссертационного исследования

С целью построения математической модели и выявления структурных связей по динамическим характеристикам путей трансдукции сигналов были проанализированы биосистемы разной степени сложности: одиночные калиевые каналы из нейронов большого прудовика и культуры клеток Vero, эндотелиоциты микрососудов мыши, центральная нервная система морских свинок, растения салата латук. Работа выполнена с использованием широкого спектра современных биофизических, электрофизиологических, флуориметрических методов, а также методов математического моделирования и анализа сигналов в цифровой форме. Экспериментальные методы включали: динамическую микрофлуориметрию с флуоресцентными зондами Fura2-AM и DAF-FM, регистрацию токов через одиночные ионные каналы в режиме локальной фиксации потенциалов в конфигурации "inside-out", импульсную флуориметрию и регистрацию локальных потенциалов имплантируемых электродов. Для анализа экспериментальных данных были использованы: непрерывное комплексное вейвлет-преобразование с материнскими вейвлетами Морле и лог-нормальным вейвлетом, расчет статистических моментов 3-го и 4-го порядков, основанный на вейвлет-

преобразовании, биспектральный анализ, фазовый вейвлет-когерентный анализ.

Все эксперименты с лабораторными животными проводились в соответствии с нормативно-правовым актом Министерства здравоохранения РФ №199-н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики, международно-правовыми нормами указанных в Европейской конвенции ETS №123 «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» и руководством по работе с лабораторными животными ИБК РАН №57.30.12.2011. Все эксперименты проведены в соответствии с протоколами, одобренными комитетом по этике Института биофизики клетки РАН (№.12306, 2006). Животные были адаптированы к конвенциональным условиям и получали питье и корм *accessio libero*.

Научная новизна

Впервые в биологических системах разного уровня организации были сопоставлены данные об изменениях в амплитуде гармоник и межканальной синхронизации временных рядов при стрессе. Для этого разработан уникальный комплект приборов, включающий: трехволновой микрофлюорометрический комплекс со светодиодным возбуждением флуоресценции, восьмиканальную систему сбора данных для электроэнцефалографии, дистанционный импульсный флуориметр с непрерывным режимом измерения и импедансометр для исследования тканей растений. Разработан новый метод определения амплитуд вторых гармоник во временных рядах в широком диапазоне частот, позволяющий обнаруживать направление передачи сигнала в сложных сетевых структурах. Впервые установлена связь степени синхронизации механизмов активации и инактивации воротного механизма калиевого канала с трансмембранным потенциалом, выражающаяся в увеличении модуля показателя биспектра при увеличении трансмембранного потенциала – как для модельного, так и для

природных ионных каналов. Впервые показано изменение процента синхронизированных клеток и степени синхронизации колебаний внутриклеточных мессенджеров в культуре эндотелиоцитов при изменении температуры. Также показано, что показатель биспектра увеличивается при увеличении температуры, при этом при увеличении температуры от 37 до 40°C наблюдается увеличение доли клеток, с синхронизированными колебаниями цитозольной концентрации кальция, а доля клеток, синхронизированных по колебаниям продукции NO уменьшается. С помощью метода определения амплитуд вторых гармоник во временных рядах впервые показано, что при нормальных условиях полива реакция на периодические вспышки света не содержит высших гармоник исходного периодического сигнала, при засухе происходит увеличение показателя биспектра на частоте вспышек света. Впервые показано, что в результате физической или химической стимуляции ритмы центральной нервной системы грызунов усиливаются по амплитуде и фазовой синхронизации, причем рост степени фазовой синхронизации ритмов более выражен и наблюдается во всех исследованных структурах центральной нервной системы, тогда как существенное увеличение амплитуды наблюдается не в каждой изученной структуре.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработана методика количественной оценки амплитуды вторых гармоник и глубины взаимосвязи между каналами многоканального цифрового сигнала, что дает возможность исследовать направление передачи сигналов в биологической системе.
2. Одиночный ионный канал является минимальной структурной единицей клетки, формирующей нелинейные колебания.
3. Присутствие второй гармоники в динамике флуоресцентного ответа фотосистемы II при внешнем периодическом воздействии света может быть маркером развития стресса у растений.

4. Температура влияет на степень синхронизации культуры эндотелиоцитов и амплитуду колебаний цитозольной концентрации внутриклеточных мессенджеров.
5. Раздражение центральной нервной системы с помощью периодических световых импульсов и кратковременного протокола инъекций L-глутамата приводит к увеличению амплитуды ритмов локальных полевых потенциалов в структурах, ответственных за когнитивные функции, и к усилению фазовой синхронизации между ритмами во всех исследованных структурах мозга.

Основные научные результаты работы

1. На модельных сигналах были проверены возможности биспектрального метода по чувствительности к сигналам, содержащим нелинейные компоненты, также аналитически были показаны оптимальные способы оценки параметров перераспределения сигнала в многоканальной записи, что открывает новые возможности для трассировки маршрутов передачи системных сигналов в биологических объектах.
2. Возможность биспектрального метода исследовать нелинейные взаимосвязи в широком частотном диапазоне была использована для оценки степени взаимодействия активационного и инактивационного процессов в воротном механизме калиевых каналах, что ранее не делалось. Успех данной части работы был обеспечен возможностью получения длительных записей (около 900 секунд), содержащих до 80000 переключений канала из открытого состояния и обратно. В результате было установлено, что нелинейное взаимодействие активационного и инактивационного процессов в воротном механизме увеличивается при переходе канала в активированное состояние.

3. Популяции невозбудимых клеток изменяют режим взаимной синхронизации при изменении температуры. Увеличение температуры увеличивает как количество синхронизованных клеток, оцененных по осцилляциям цитозольной концентрации кальция, так и уровень нелинейного взаимодействия. Колебания продукции оксида азота при этом демонстрируют обратную динамику, однако, отсутствие синхронных колебаний в данном случае, скорее всего, говорит о насыщении какого-то звена пути передачи сигнала, оканчивающегося регистрацией флуоресцентного зонда DAF-FM. Амплитудная модуляция осцилляций невозбудимых клеток осуществляется химическими внешними стимулами (АТФ, ингибитором NO-синтазы, наночастицами селена, инсулином), а также увеличением температуры от 37 до 40 градусов Цельсия.
4. Стресс от засухи растений хорошо регистрируется с помощью динамического непрерывного измерения параметров флуоресценции хлорофилла.
5. При хроническом возбуждении центральной нервной системы путем сенсорной стимуляции или введением L-глутамата регистрируемые амплитуды ритмов увеличивают, но вместе с тем, появляется фазовая синхронизация, что указывает на генерацию колебаний по типу гармоник или субгармоник. Это в свою очередь, указывает на ухудшение фильтрующих свойств нейрональных сетей ЦНС при хроническом возбуждении.
6. Во всех изученных случаях (молекулярный комплекс ионного канала, популяция культивируемых эндотелиоцитов, фотосинтетический аппарат растений, ритмы центральной нервной системы), выведение биологической системы из нормальных условий (увеличение трансмембранного потенциала, увеличение

температуры, воздействие периодического раздражения) приводило к расширению частотного диапазона, амплитудных показателей и параметров нелинейных искажений в передаче сигнала синхронной ритмической активности по типу гармоник или субгармоник.

Степень достоверности результатов

Достоверность научных результатов подтверждается воспроизводимостью экспериментальных данных и статистическим анализом с контролем вероятности ошибки не хуже $p < 0.05$, а также надежностью применяемых методов и широкой апробацией. Дизайн эксперимента включал многократные независимые биологические повторы и соответствующие контрольные испытания.

Апробация результатов работы

Результаты работы были представлены на конференциях "Рецепторы и внутриклеточная сигнализация" 2013, 2017, 2019, 2023 г., конференции Гиппокамп и память: норма и патология 2018, VI, VII Съездах биофизиков России (2019, 2023), третьей всероссийской конференции "Физика водных растворов" 2020, International Conference Volga Neuroscience Meeting 2021, Всероссийском симпозиуме "Физико-химические характеристики и дизайн биомакромолекул" 2023, VII Всероссийской Конференции Физика Водных Растворов (2024), X Международной конференции Лазерные, плазменные исследования и технологии ЛаПлаз-2024 (2024), 75, 77-й Международная школа-конференция "Биосистемы: организация, поведение, управление" (2022, 2024), The 31st International Conference on Advanced Laser Technologies (2024).

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключается в разработке уникального научного оборудования и программного обеспечения для анализа данных, использованного в работе, в проведении экспериментальных и теоретических

исследований, в анализе и обобщении результатов, подборе и анализе литературных данных, в написании статей, материалов конференций и подготовке их к публикации в научных изданиях и на профильных научных форумах. Все экспериментальные и теоретические результаты, представленные на защиту, получены лично диссертантом или при его непосредственном участии. Материалы, вошедшие в работу, обсуждались и публиковались совместно с соавторами. Эксперименты по регистрации электроэнцефалограмм у морских свинок выполнялись совместно с Асташевой Е.В. и Кичигиной В.Ф. (ИТЭБ РАН). Эксперименты по регистрации флуоресценции внутриклеточных зондов в эндотелиоцитах выполнялись совместно с Серовым Д.А. (ИОФ РАН). Адаптация фрактальной модели калиевого канала, получение синтезированных временных рядов модели ионного канала выполнялись совместно с Гриневичем А.А. (ИБК РАН).

Степень разработанности проблемы

Проблемам генерации нелинейных колебаний и нелинейной динамике в биологических объектах, в том числе, автоволновым процессам, посвящены труды авторов: Рубин А.Б., Ризниченко Г.Ю., Анохин К.В., Храмов А.Е., Феррара Дж., Янсон Н.Б., Муррай Дж.Д., Турчин И.В., Смолянинов В.В., Молчанов А.М., Иваницкий Г.Р., Морнев О.А., Медвинский А.Б., Гриневич А.А., Лахно В.Д., Шноль Э.Э., Агладзе К.И., Цыганов М.А., Москаленко А. В., Корниенко Н.Е., Зализняк В.Е., Золотов О.А., Казанцев В.Б. и другие.

Исследованию биологических объектов в соответствии с подходом системной биологии посвящены труды авторов: Говорун В.М., Дыгало Н.Н., Озолин О.Н., Самсонова М.Г., Миронова В. В., Афонников Д. А..

Методам оценки спектральных и нелинейных свойств временных рядов биологических объектов посвящены работы авторов: Голяндина Н.Э., Ефимов В. М., Галактионов Ю. К. Пенг К.К., Иванов П.Ч., Браже А.Р.,

Стефановской А., Аль-Фахум А.С., Чен З., Мартин-Монтеро А., Ньюман Дж., Бондарь А.Т., Федотчев А.И., Постников Е.Б., Захаров Д.Г., Караваев А.С.

Исследованию сложной динамики одиночных макромолекул, в том числе, рецепции слабых воздействий посвящены работы авторов: Чемерис Н.К., Гапеев А.Б., Браже А.Р., Либович Л.С., Тодоров А.Т., Гриневич А.А., Казаченко В.Н., Григорьев П.А., Трайбек П., Фесенко Е.Е., Щербаков И.А., Лобышев В.И., Семисотнов Г.В., Пеньков Н.В.

Исследованию динамических процессов в фотосинтетическом аппарате растений, оценке физиологического состояния растений по результатам измерений флуоресценции и импедансометрии посвящены работы авторов: Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б., Воденеев В.А., Сухов В.С., Рощина В.В., Цыганков В.Д., Кукушкин А.К., Яныкин Д.В., Ильницкий О.А., Плугатарь Ю.В., Филиппов Р.А., Соловченко А.Е., Хорт Д.О., Смирнов И.Г., Кутырев А.И., Цыганков В.Д., Иванов Б.Н., Борисова-Мумбаракшина М.М., Разживин А. П., Епринцев А. Т.

Исследованию динамики возбудимых клеток и тканей, генерации потенциала действия и распространении сигналов в ЦНС, а также их моделированию посвящены работы авторов: Бондарь А.Т., Федотчев А.И., Коломбет В.А., Большаков Д.И., Руннова А.Е., Клиньшов В.В., Слепнев А.В., Сафин А.Р., Яхно В.Г., Смолянинов В.В., Максимов Г.В. Бережнов А.В., Туровский Е.А., Кичигина В.Ф., Вихлянцев И.М., Туровский Я. А.

Теоретическая значимость работы

В работе с помощью имитационного моделирования процедуры анализа одноканального сигнала показана возможность определения в сигнале наличия второй гармоники исходных колебаний, что позволяет использовать биспектральный анализ для исследования степени нелинейности сигнала, наряду с оценкой коэффициента нелинейных (или гармонических) искажений. В работе аналитически показана возможность количественной оценки коэффициента перераспределения сигналов между

измерительными каналами, что позволяет оценивать направление передачи сигнала в сложных путях трансдукции сигнала. В работе впервые модель калиевого канала с фрактальной кинетикой использована для прогноза поведения природных каналов при исследовании взаимной синхронизации активационного и инактивационного процессов в воротном механизме потенциалозависимых и кальций-зависимых калиевых каналов.

Практическая значимость работы

Во время выполнения диссертационного исследования разработан ряд приборов для изучения колебательных процессов в биологических системах разного уровня организации. Разработан метод анализа физиологически значимых сигналов в цифровой форме, позволяющий определять направления передачи сигнала и степени нелинейности в пути трансдукции в биологических объектах. Описанные в диссертационной работе результаты представляют в первую очередь практический интерес с точки зрения определения следующих событий: неинвазивного определения у растений признаков развития стресса, а у млекопитающих признаки эпилептогенеза. Данные эффекты, обнаруженные у растений, в настоящий момент используются для построения автоматизированной системы управления освещением в теплицах.

Ценность научных работ

заключается в том, что разработанные приборы, программное обеспечение, математические решения в области анализа сигналов в цифровой форме можно применять для решения широкого класса фундаментальных и прикладных задач в биологии, медицине и сельском хозяйстве.

Публикации

Основные положения диссертации опубликованы в 19 печатных работах, индексируемых в библиографической системе Scopus, что соответствует категории K1 списка ВАК.

Структура и объём работы

Диссертация состоит из разделов: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение, Заключение, Список литературы, а также список сокращений и обозначений, списки рисунков и таблиц. Общий объём диссертации составляет 412 страниц, включая 92 рисунка и 17 таблиц. Список цитируемой литературы содержит 532 наименования.

1 Обзор литературы

1.1 Экспериментальный подход системной биологии

Взаимодействие между клетками превращает популяцию клеток с ограниченным набором функциональных реакций в сложную систему в том смысле, который вкладывается в это словосочетание в общей теории систем (von Bertalanffy, 1950). Эта сложная система, зачастую, обладает новыми свойствами, которые не являются простой суммой свойств отдельных клеток. Это свойство сложных систем — эмерджентность — означает, что изучение биологических объектов «снизу вверх», то есть анализ отдельных элементов и структуры системы без учета результатов её работы в виде метаболитов или динамики ключевых параметров, которые можно измерить, не позволяет объяснить многие эффекты, наблюдаемые в биологических системах. В результате, перспективными способами изучения и описания сложных биологических систем становятся 4D биология (K. S et al., 2024; Schöneberg et al., 2018) и системная биология (Zieglgansberger & Tolle, 1993). В первом случае структурная информация дополняется описанием процесса жизнедеятельности биологической системы во времени. Во втором случае, системная биология, не отрицая значимости первого подхода к сбору и описанию экспериментальных данных, предлагает более общий взгляд на организацию научной работы. Этот подход можно представить в виде цикла, состоящего из нескольких этапов. (Kitano, 2002): теоретический анализ имеющихся данных, построение математической модели системы, симуляция, формирование гипотезы, дизайн эксперимента и разработка экспериментального оборудования, биологический эксперимент, анализ и описание экспериментальных данных и переход в начало цикла (Рисунок 1). Первые четыре этапа относятся к вычислительной биологии (dry biology), последующие – к экспериментальной (wet biology) (Bruggeman & Westerhoff, 2007). Можно выделить четыре направления исследования свойств

биологической системы для всестороннего изучения биологической системы в целом (Kitano, 2002):

1. Структура системы. В этот пункт входит исследование сложных сетевых структур (Ma'ayan, 2011) взаимодействий между генами, метаболическими и сигнальными путями (Azeloglu & Iyengar, 2015), а также механизмы, посредством которых эти взаимодействия регулируют физические свойства как внутриклеточных, так и многоклеточных структур.
2. Динамика системы. В этот пункт входит исследование поведения системы с течением времени в различных условиях. Методы анализа динамики включают в себя метаболический анализ (метаболомика (Wishart, 2019)), анализ чувствительности (Zi, 2011), методы анализа динамики (Bandrivsky et al., 2004; Kholodenko, 2006; Newman et al., 2021).
3. Ключевые внешние условия. Факторы, являющиеся внешними условиями и воздействиями, которые влияют на состояние биологической системы. Их необходимо контролировать, чтобы свести к минимуму артефакты в ходе эксперимента. В случае биофизических экспериментов на клеточном уровне - это химический состав среды, pH, внеклеточные молекулы - лиганды рецепторов клеточной мембраны и биологически-активные вещества (Alberts, 2022), осмолярность, вязкость, газовый состав, температура, сдвиговое напряжение, механическое воздействие (Jaalouk & Lammerding, 2009), свет.
4. Направленная модификация биологической системы. Возможности модификации и конструирования биологических систем (Buller et al., 2024; Janes et al., 2017) позволяют разрабатывать системы, обладающие желаемыми свойствами, исключая вариант исследования путем слепых проб и ошибок.

Именно исследование динамики, т.е. поведения во времени биологических систем разного уровня организации было предметом интереса автора данной работы в течение более чем 20 лет. Были исследованы фрактальные свойства динамики воротного механизма различных природных и искусственных ионных каналов (Astashev et al., 2007; Brazhe et al., 2004; Grinevich et al., 2007; Kazachenko et al., 2007; Kazachenko et al., 2004). Была исследована регуляция динамики ионных токов, проходящих через ацетилхолиновые рецепторы никотинового типа и пуриновые рецепторы семейства P2X (Aminin et al., 2016; Averin et al., 2019; Gorbacheva et al., 2018; Vulfius et al., 2011). Были исследованы спонтанные и вызванные транзиентные кальциевые внутриклеточные сигналы в гранулоцитах (Astashev et al., 2007; Brazhe et al., 2004; Grinevich et al., 2007; Kazachenko et al., 2007; Kazachenko et al., 2004; Safronova et al., 2021; Serov et al., 2022; Serov et al., 2020). Были исследованы низкочастотные колебания в микроциркуляторном русле животных (Astashev et al., 2018; Astashev et al., 2019; Serov et al., 2022).

В результате этих работ были освоены как методы измерения и получения временных рядов, характеризующих динамику биологической системы, так и методы описания этих временных рядов.



Рисунок 1. Исследовательский цикл системной биологии. Из (Kitano, 2002) с изменениями.

Критерии описания временных рядов можно условно разделить на линейные и нелинейные. Первые обладают свойством аддитивности: сумма временных рядов двух сигналов даёт, в результате анализа, критерии, являющиеся суммой критериев сигналов. К таковым можно отнести критерии, основанные на статистических моментах: среднее среднеквадратическое отклонение, асимметрия и эксцесс (Серов et al., 2019) и время-частотные методы (Morales & Bowers, 2022). Нелинейные критерии основаны на мерах из теории фракталов: фрактальная размерность, показатели Херста и Гёльдера (Brazhe et al., 2004; Kazachenko et al., 2004) и теории информации: информационная энтропия (Karbowski, 2024), исследовании фазовых портретов (Aranson et al., 2017), свертках временных рядов: сингулярный спектральный анализ (Ахметшин, 2013), свертках частотных спектров: фиккер-шумовая спектроскопия (Abdullaev et al., 2018; Тимашев, 2012)), коэффициентах нелинейных или гармонических искажений (Бондарь, 2019),

спектральных методах второго и более высоких порядков, например, вейвлет-когерентный анализ (Bandrivskyu et al., 2004), биспектральный анализ, основанный на вейвлет-преобразовании (Newman et al., 2021) и др. Спектральные методы второго порядка представляют собой усложнение время-частотных методов (оконного Фурье-преобразования или непрерывного комплексного вейвлет-преобразования) путем сверток по времени комплексных корреляционных коэффициентов зависящих от частоты (Sigl & Chamoun, 1994). Преимуществами этих методов являются: возможность вычисления сдвига фаз частотных компонентов временных рядов в широком частотном диапазоне, а значит и оценки фазовой синхронизации. В случае биспектрального анализа на основе вейвлет-разложения (вейвлет-биспектрального анализа), преимуществами также является возможность анализа как одноканальных, так и многоканальных временных рядов, возможность анализа нестационарных по амплитуде сигналов, и возможность вычисления межчастотных фазово-синхронных коэффициентов когерентности.

Несмотря на перспективность подхода системной биологии, примеров успешной реализации экспериментального исследования процессов внутри- и межклеточной коммуникации не много (Fröhlich et al., 2018), но в то же время теоретических исследований значительно больше, что указывает на наличие дефицита подходящих экспериментальных методик и методов анализа данных (Schöneberg et al., 2018). На уровне органов, значительный прогресс достигнут в анализе процессов электрогенеза в мозге (Tewarie et al., 2019).

Ключевые особенности планирования эксперимента системной биологии (Kreutz & Timmer, 2009):

1. Верификация динамических моделей осуществляется путем исследования реакции биологической системы на провокационное возмущение.

2. Наиболее информативны клеточные измерения.
3. Для создания математических моделей требуется относительно большой объем данных, чем больше каналов синхронно регистрируется, тем выше информативность данных, частота регистрации временного ряда должна удовлетворять теореме Котельникова, время регистрации определяется максимальным периодом наблюдаемых ритмов в системе.
4. Используемые для описания данных критерии должны быть чувствительны к используемым провокационным тестам.

В случае флаксомии, физиологии, электрофизиологии, экспериментальной биофизики данные часто получают в виде временных рядов т.е. результатов синхронного многоканального измерения физико-химических параметров биологической системы во времени. Синхронное многоканальное измерение различных параметров многократно повышает информативное качество экспериментальных данных, поскольку появляется возможность оценки фазовой синхронизации ритмических составляющих сигнала, что является эффективным инструментом для анализа динамического поведения сложных сетевых систем, которые их генерируют (Pikovsky et al., 2001).

С учетом всего вышесказанного, для успешного внедрения подходов системной биологии в экспериментальную биофизику, можно выделить следующие перспективные направления развития методической и аналитической базы:

1. Увеличение количества получаемой от биологической системы информации путем расширения количества одновременно регистрируемых каналов.
2. Использование известных естественных ритмических процессов, в качестве опорных ритмов для выявления процессов распространения сигналов в сетевых структурах исследуемых биологических систем.

3. Увеличение качества описания временных рядов, путем внедрения более информативных, основанных на вейвлет-преобразовании, методов анализа синхронных ритмических процессов.

В исследованиях на клеточном уровне, увеличение количества получаемой информации может быть достигнуто путем, например, одновременной регистрации флуоресценции нескольких флуоресцентных зондов, чувствительных к цитозольной концентрации кальция и продукции оксида азота (Andreeva et al., 2023; Berkels et al., 2000). Второй путь развития - это переход от микроскопии к мезоскопии, т.е. сверхширокопольной микроскопии (Demas et al., 2021; McConnell et al., 2016) с оптическими системами небольшого увеличения (1х-2х) но большими числовыми апертурами, что в комбинации с современными камерами большого разрешения (доступны камеры 12-36 миллионов пикселей) позволяет на полях зрения с диагоналями от 12 до 24 мм обеспечивать одновременную регистрацию флуоресцентного сигнала индивидуально от десятков тысяч клеток с последующим определением сетевой организации таких популяций. Описанию естественных ритмических процессов в биологических системах различного уровня организации и методам анализа данных посвящены последующие разделы обзора литературы.

1.2 Общее понятие биоритмов и периодических процессов в живых организмах¹

Биологический ритм - это любое повторяющееся молекулярное, физиологическое или поведенческое событие или процесс (Lamont & Amir, 2017). Биологические ритмы являются характеристикой всех живых организмов (Lloyd & Murray, 2005). Исследования биоритмов имеет как

¹ Разделы 1.2-1.11 написаны по материалам статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307.

фундаментальное, так и прикладное значение. Фундаментальное значение заключается в расширении понимания взаимосвязи физиологических процессов в организме. Прикладное значение заключается в поиске связи развития патологий с нарушениями ритмических процессов. Примерами являются зависимость развития эпилепсии и других нарушений работы мозга с изменением картины ритмов ЭЭГ, возможность использования характеристик колебаний скорости кожной микроциркуляции и вариабельности сердечного ритма в диагностике системных нарушений у человека (Filina et al., 2018; Tikhonova et al., 2023; Zharkikh et al., 2023). Также ведется разработка методов коррекции стресс-индуцированных расстройств у человека путём изменения собственных ритмов организма с использованием схем обратной связи (Fedotchev et al., 2020).

С развитием методов молекулярной биологии произошёл резкий скачок числа публикаций, посвящённых биоритмам, продолжавшийся в течение следующих 50 лет. После 2010 года число работ, посвящённые биоритмам начало снижаться, что можно связать с началом истощения возможностей классического подхода для оценки биоритмов. Оценка биоритмов, как правило, выполняется качественно, иногда по принципу «всё или ничего» (Lahav, 2004; Nelson et al., 2004; Zambrano et al., 2016), амплитудно-частотные характеристики, как правило, представлены периодом или частотой (Turovsky et al., 2012; Turovsky et al., 2013; Turovsky et al., 2021), намного реже, амплитудой (Kozelka & Pedley, 1990; Niedermeyer, 1997) и фазой (Legendre et al., 2018). Однако, существуют более информативные подходы для анализа периодических процессов, способные значительно расширить наши знания о биоритмах, в частности, вейвлет-преобразование, оценка когерентности и корреляции, биспектральный анализ и другие (Martín-Montero et al., 2021; Mizeva et al., 2015; Tankanag & Chemeris, 2008; Tankanag et al., 2020). Мы предполагаем, что в будущем нас ждёт значительное пересмотренные классических для биологии подходов к

анализу биоритмов, а также, изменение разнообразия сфер исследований в биологии (Рисунок 3).

Цель настоящего обзора познакомить читателя с разнообразием биоритмов, их проявлениями в жизни организма и методами исследований биоритмов .

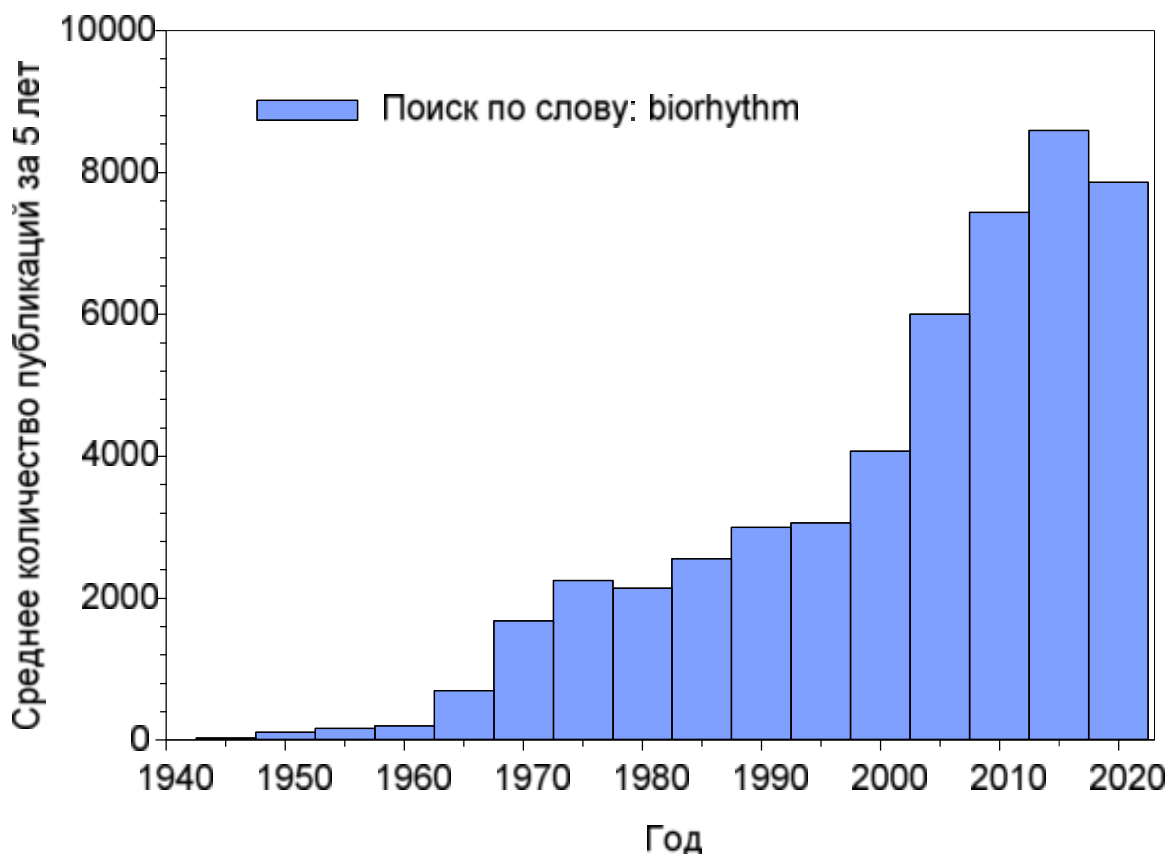


Рисунок 2. Динамика публикаций работ с ключевым словом «биоритм» (по данным <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> дата обращения 20 марта 2023 года)

1.3 Общая классификация биоритмов

Ритмичность наблюдается в диапазоне временных масштабов от долей секунды до лет, но в целом их можно разделить на три категории: ультрадианные, циркадные и инфрадианные. Ультрадианные ритмы, такие как передача сигнала по внутриклеточным сигнальным каскадам, клеточное деление или цикл сна человека с быстрыми движениями глаз (БДГ) и без-БДГ, имеют период в несколько секунд, минут или часов, соответственно, и происходят несколько раз в день. К ультрадианным ритмам можно также

отнести сердцебиение, дыхание и т.д. (Lloyd & Murray, 2005). В случае клеток, показаны ритмические изменения концентраций сигнальных молекул, в частности, NF-κB, а так же более быстрыми осцилляциями концентраций внутриклеточных посредников, например, IP₃R-зависимые колебаний $[Ca^{2+}]_i$ calcium-induced calcium release (CICR) или TRP-зависимые осцилляции $[Ca^{2+}]_i$, спайковая активность электровозбудимых клеток (Ledoux et al., 2008; Wang et al., 2016). К ультрадианным ритмам можно отнести циклы смены сна с быстрым движением глаз и без быстрого движения глаз, имеющего период порядка 90 мин (частоту 0,0002 Гц) (Carskadon & Dement, 2005), осцилляции концентрации глюкокортикоидов в крови (1 ч, 0,0003 Гц) (Vidal-Puig et al., 2012). Функционирование метаболических циклов (цикл передачи электрона в светособирающем комплексе растений и т.д.) тоже можно рассматривать как циклические процессы с очень высокой частотой (Romero et al., 2014). Суточные ритмы (циркадианные ритмы), включая фотосинтез, цикл активности и концентрации в плазме многочисленных циркулирующих гормонов повторяются примерно каждые 24 часа. Инфрадианные ритмы имеют периоды продолжительностью более 24 часов, от дней до недель, месяцев или даже лет. Примеры включают менструальный цикл человека, спячка или гибернация животных, 17-летний цикл появления некоторых североамериканских цикад соответственно (Lamont & Amir, 2017; Lloyd & Murray, 2005).

Циркадные ритмы (суточные) являются одними из наиболее очевидных ритмов в живых системах. Их появление обусловлено сменой дня и ночи вследствие вращения Земли вокруг своей оси. Считается, что циркадные ритмы присущи почти всем живым клеткам. При изоляции от внешних раздражителей организмы проявляют самоподдерживающиеся циклы в поведении, физиологии и метаболизме с периодом около 24 часов (Dunlap, 1999). Циркадные ритмы встречаются у прокариот и эукариот (Dodd et al., 2005; Woelfle et al., 2004). Поддержание циркадного ритма, совокупность

молекулярно-клеточных событий, обеспечивающих наличие циркадного ритма называется transcription-translation feedback loop (TTFL). Поддержание постоянства циркадных ритмов обеспечивается несколькими сигнальными системами разной степени древности. По последним данным, наиболее древней является система, основанная на колебаниях экспрессии оксидоредуктаз (пероксиредоксинов и супероксиддисмутаза) в клетках (Edgar et al., 2012). В обеспечении циркадных ритмов участвуют также осцилляторы KaiABC, cAMP/Ca²⁺, CK1/2, GSK3, TOC1-CCA-1-осциллятор, FRQ- осциллятор и PER-осциллятор.

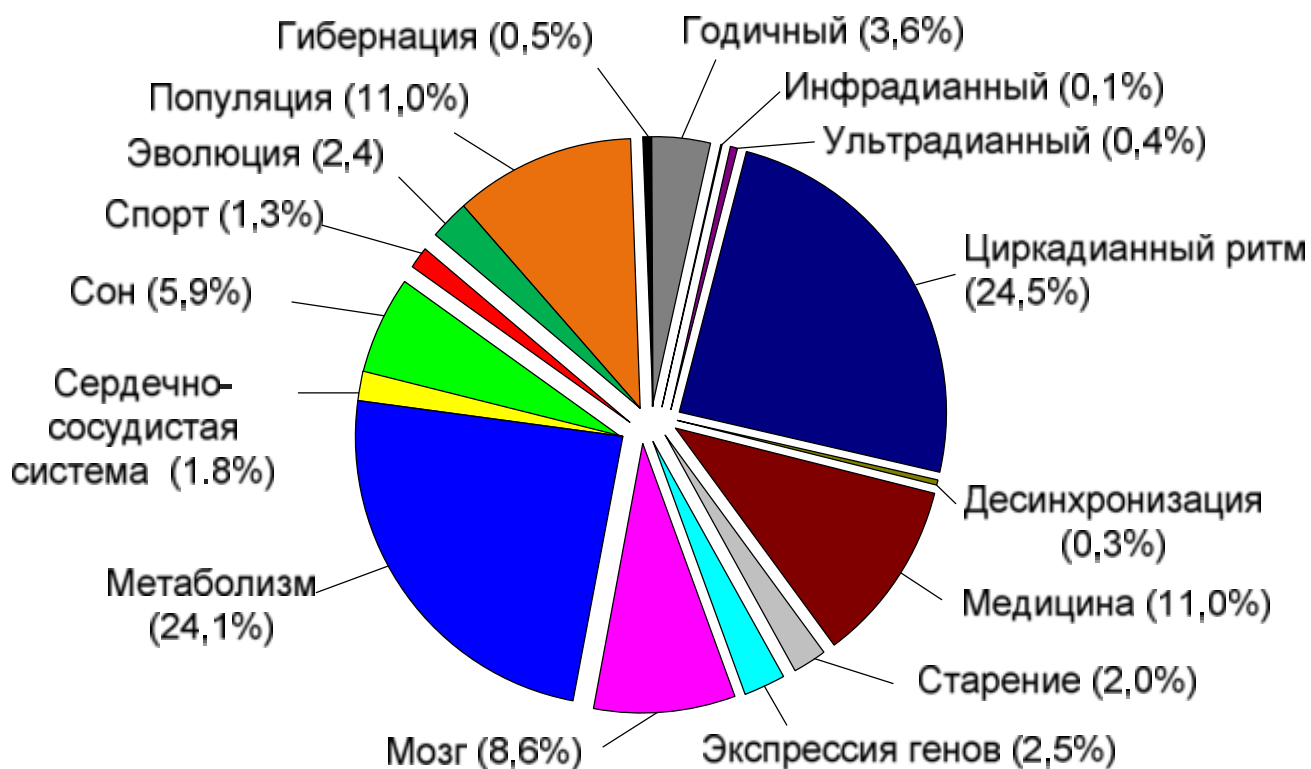


Рисунок 3. Распределение публикаций по ключевым словам, связанным с ключевым словом «биоритм» (по данным <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> дата обращения 20 марта 2023 года)

1.4 Суточные ритмы

Осциллятор Kai встречается у прокариот и представляет собой самоподдерживающуюся систему из трёх белков KaiA, KaiB, KaiC и АТФ. KaiC. Система работает по типу схемы с отрицательной обратной связью и в упрощённом виде может быть представлена как: KaiA связывает и

активирует KaiC, KaiC автофосфорилируется, KaiC становится способен к присоединению KaiB, KaiB инактивирует KaiA, KaiA отсоединяется от KaiC, KaiC дефосфорилируется, KaiB отсоединяется, KaiC готов к ассоциации с KaiA (Kondo, 2007).

Показано участие $\text{cAMP}/\text{Ca}^{2+}$ в генерации циркадных ритмов млекопитающих по средством модуляции активности ЦНС (клетки супрахиазматического ядра гипоталамуса). На рассвете происходит усиленное поступление Ca^{2+} в цитоплазму, приводящее к активации транскрипционного фактора CREB, активация которого происходит в тандеме с активацией транскрипционных факторов CLOCK/BMAL1. При сумерках происходит снижение активности $\text{cAMP}/\text{Ca}^{2+}$, CLOCK/BMAL1-звено блокируется по собственному механизму обратной связи. Стоит отметить, что внешний вход кальция, например, через метаботропные глутаматные рецепторы, способен вызвать фазовый сдвиг ритма, обеспечивая его пластичность (O'Neill & Reddy, 2012). CK1/2-осциллятор описан для растений, представляющий собой петлю с отрицательной обратной связью, включающей серию фосфорилирований сигнальных белков (Daniel et al., 2004). Супрахиазматическое ядро (SCN) управляет и синхронизирует суточные ритмы на клеточном уровне с помощью петель транскрипционно-трансляционной обратной связи, состоящих из часовых генов, таких как Bmal1 и Period (Per). На клеточном уровне 24-часовая синхронизация поддерживается осциллятором с обратной транскрипционно-трансляционной связью, приводящей к ритмической экспрессии основных «часовых генов». Первичный контур включает транскрипционные факторы-активаторы (CLOCK и BMAL1), которые, в частности, усиливают экспрессию супрессоров (PER и CRY). Накопившиеся супрессоры подвергаются фосфорилированию, активируются и ингибируют активность транскрипционных факторов CLOCK и BMAL1. Далее происходит убиквитинилирование и деградация PER и CRY, после которого активация

CLOCK и BMAL1 вновь становится возможной (Huang et al., 2012; Partch et al., 2014). Вторичный контур обратной связи состоит из супрессора орфанного рецептора REV-ERB α (Preitner et al., 2002; Reischl et al., 2007). Длина цикла молекулярных часов может регулироваться посттрансляционными событиями, включая фосфорилирование киназами, такими как CK1. Киназа 3 гликогенсинтазы (GSK3), серин/треонинкиназа, фосфорилирует по крайней мере пять основных часовых белков PER2, CRY2, CLOCK, BMAL1 и REVERB α , и демонстрирует суточные колебания состояния фосфорилирования (инактивации) изоформы GSK3 β (Besing et al., 2015; Kaladchibachi et al., 2007; Kurabayashi et al., 2010; Spengler et al., 2009).

1.5 Клеточный цикл и митоз как инфрадианный ритм.

Клеточный цикл – это цепь событий, включающая рост клетки, удвоение генетического материала и деление (митоз в случае эукариот). Деление и гибель клеток млекопитающих являются двумя основными преобладающими физиологическими процессами в тканевом гомеостазе. Клеточный цикл является одним из наиболее изученных периодических процессов в организме. В настоящем обзоре мы преследуем цель дать общую картину данного явления с точки биологических ритмов. Подробный обзор молекулярно-клеточных механизмов клеточного цикла дан в работах (Thu et al., 2018). Клеточный цикл очень четко регулируется и состоит из четырех четко упорядоченных фаз: G0/G1 (от англ. «gap» разрыв), S (синтез ДНК), G2 и M (митоз). Регуляция клеточного ритма также осуществляется по принципу TTFL. Ведущую роль в этом процессе играет динамика изменения экспрессии и активности белков циклинов и циклин-зависимых киназами (CDK), а также CDK inhibitors (CKIs) (Lim & Kaldis, 2013). В крайне обобщённом виде основной колебательный контур регуляции клеточного цикла можно представить как: ...завершение митоза → циклин D/CDK4/6 → фаза G1 → циклин E/CDK2 → переход в S-фазу → циклин A/CDK2 →

переход в G2 → циклин A/CDK1 → завершение фазы G2 → циклин B/CDK1 → переход в фазу M (митоз) →(Wang, 2021). Стоит отметить, что клетка не всегда находится в клеточном цикле. При отсутствии митогенных сигналов клетка переходит в режим покоя (resting) или, так называемую, фазу G0 (Oki et al., 2014). В ходе клеточного цикла клетка проходит ряд так называемых контрольных точек (check points) для обеспечения достоверной репликации в фазе S и точной агрегации хромосом в дочерние клетки (Satyanarayana & Kaldis, 2009). Ключевыми контрольными точками являются переходы G1/S, S/G2 и проверка момента сборки веретена деления (spindle assembly checkpoint, SAC) (Barnum & O'Connell, 2014). Нарушения клеточного цикла, как правило ассоциированы с нарушением целостности генетического аппарата. В зависимости от исхода их можно разделить на три типа: 1) программируемая гибель клетки при аппарата путём апоптоза; 2) необратимая остановка клеточного деления с сохранением жизнеспособности «клеточное старение»; 3) продолжение жизнедеятельности и деления клетки, с последующих перерождением в раковую (Belosludtsev et al., 2006; Di Micco et al., 2020; Ding et al., 2020; Elmore, 2016; Salovska et al., 2022; Sharapov et al., 2021; Singh et al., 2019). Несмотря на обширный накопленный материал по данному вопросу механизмы управлением клеточным циклом и перехода клетки между указанными выше состояниями остается исследованным не до конца. Возможно, привлечение более спектральных методов позволит расширить понимание процессов клеточного деления, гибели или старения.

1.6 Ультраниантные биоритмы на клеточном и тканевом уровнях

Ритмические процессы, затрагивающие клеточный и тканевый уровень, в значительной степени относятся к ультраниантным сигнальным процессам. Стоит отметить, что в большинстве работ, авторы оперируют разными величинами для описания ритмических событий: периодом (Lahav, 2004; Nelson et al., 2004; Zambrano et al., 2016), числом событий в произвольный

период времени (минута, час) (Catai et al., 2020; Shaffer & Ginsberg, 2017; Yamamoto et al., 1991). В настоящей работе нами была предпринята попытка систематизировать накопленные данные по известным ультрадианным клеточным и тканевым процессам. Для наглядности все ритмы были описаны частотой, выраженной в Герцах. Обобщённая картина основных тканевых и клеточных ритмов представлена на рисунке 1.

Большинство биоритмов клеток и тканей лежат в диапазоне от десятков Герц до сотых долей Герцев. С учётом более медленных процессов, ассоциированных с транскрипционной активностью и спайковой активностью «быстрых» (fast-spike) нейронов, вариация ультрадианных ритмов по частоте составляет практически 7 порядков (Lahav, 2004; Nelson et al., 2004; Wang et al., 2016; Zambrano et al., 2016). Однако, несмотря на высокую вариацию ритмов по частоте между собой, в общей картине можно различить несколько компактно локализованных по частоте групп ритмов.

На основе представленных данных, можно выделить три основные группы ритмических процессов в тканях и органах:

Первая – ритмы, связанные с центральной частотой 0,005-0,01 Гц. В указанную группу попадают ритмы колебаний скорости кожной микроциркуляции (EDHF и NO-зависимый), низкочастотные осцилляции цитозольной концентрации кальция в электронеовозбудимых клетках (Turovsky et al., 2012; Turovsky et al., 2013; Turovsky et al., 2021). ультранизкочастный ритм вариации ЧСС (Electrophysiology, 1996; Esco & Flatt, 2014; Shaffer et al., 2014; Stampfer, 1998; Stampfer & Dimmitt, 2013) и низкочастотные ритмы ЭЭГ человека, в частности, spontaneous activity transients (SAT) (Vanhatalo et al., 2002). Данный ритм соответствует ритму колебаний микрогемодинамики и осцилляций концентрации метаболитов на примере окисленной и восстановленной форм NADH (Smirni et al., 2019; Zharkikh et al., 2018). Вероятно, что скоординированная работа ЦНС и сердечно-сосудистой системы призвана поддерживать данный

метаболического ритма или, наоборот, указанный метаболический ритм накладывается на все остальные.

Вторая группа – ритмы, связанные с центральной частотой 0,02-0,2 Гц. Данная группа включает в себя низкочастотные ритмы колебаний микроциркуляции (нейрогенный и миогенный) (Kastrup et al., 1989; Meyer et al., 1988), низкочастотные ритмы колебаний variability сердечного ритма (VLF и LF) а также ритмы амплитудной модуляции спайковой активности нейронов спинного мозга в ответ на Oxotremorine (Legendre et al., 2018). В литературе низкочастотные ритмы колебаний микроциркуляции и вариации ЧСС ассоциируют с функционированием автономной нервной системы. Ввиду этого, нами было предположено, что главным водителем ритма в данной группе является ритм амплитудной модуляции спайковой активности в спинном мозге (Legendre et al., 2018). Примечательно, что данной центральной частоте в ЦНС соответствует ритмическая активность под названием *infra-slow oscillations* (ISO) (Vanhatalo et al., 2004). Совпадение центральных частот ISO и ритмов в автономных отделах нервной системы, может говорить о связи и синхронизации данных ритмических процессов. Мы предполагаем, что синхронизация ритмов в ЦНС и автономной нервной системе может быть одним из механизмов передачи сигналов из мозга на периферию.

Третья группа – это ритмы электрической активности коры головного мозга. Эти ритмические процессы связаны с сенсорным восприятием, моторными функциями и когнитивной активностью мозга (Tallon-Baudry, 2003; Ward, 2003; Worrell & Gotman, 2011). В данной группе можно выделить две подгруппы с центральными частотами 30 и 300 Гц соответственно. По совпадению частот можно видеть, что по своей сути ЭЭГ ритмы являются репрезентацией ритмов спайковой активности синхронизованных нейронов: где бета и гама ритмы соответствуют спайковой активности нейронов в режиме относительного покоя и активного обучения (Frost et al., 1973; Tallon-

Baudry, 2003; Ward, 2003; Worrell & Gotman, 2011), а высокочастотные колебания или «рябь» соответствует электрической активности моторных нейронов (Haueisen et al., 2000; Klostermann et al., 2001; Wang et al., 2016).

Стоит отметить, что вариабельность частотны спайков нейронов коры головного мозга является важной составляющей их функционирования. Явление снижения частоты спайков у нейронов после стимуляции получило название «Spike frequency adaptation». Считается, что оно играет ключевую роль в процессах перехода от «обучения» к «запоминанию», распознавания образов и поддержании внимания на выбранном объекте (Fuhrmann et al., 2002; Liu & Wang, 2001; Salaj et al., 2021).

Обнаруженная компактная локализации групп ритмов может выступать механизмов обеспечения взаимосвязи физиологических процессов в разных тканях и системах организма и регулирования их протекания. Данная концепция согласуется с **гипотезой о когерентности (синхронизации) биологических ритмов**. Ниже представлены некоторые подтверждения данной теории в литературе. Исследования в области нейрокардиологии установили, что взаимодействия между сердцем и мозгом чрезвычайно сложны. Паттерны афферентной активности барорецепторов модулируют активность ЦНС в течение периодов времени, которые варьируются от миллисекунд до минут; то есть не только в пределах сердечного цикла (Armour, 2008). Внутренние сердечные ганглии демонстрируют как кратковременную, так и долговременную память. Это влияет на ритмы афферентной активности, создаваемые как механическими переменными (например, давлением и ЧСС), которые возникают в течение миллисекунд (одиночные циклы), так и гормональными переменными, которые колеблются в течение периодов от секунд до минут (Ardell et al., 2009; Armour, 2003). Маккрати предложил гипотезу когерентности сердечного ритма, которая утверждает, что структура и стабильность активности сердечного ритма от удара к удару кодируют информацию в

«макроскопических масштабах времени», что может влиять на когнитивные функции и эмоциональные переживания (MacKinnon et al., 2013). Нами обнаружено, что объединение ЦНС-ССС может быть расширено до ЦНС-ССС-МО, где СССР – сердечнососудистая система, МО – метаболический осциллятор, отражающий колебания в NADH в тканях. К механизмам генерации метаболических ритмов могут быть отнесены функционирование фосфоглюкокиназы (PFK), приводящее к осцилляциям скорости гликолиза и синтеза АФТ, а так же циклы деполяризации мембран митохондрий при синтезе АТФ из глюкозы (Luciani et al., 2006; Smirni et al., 2019).

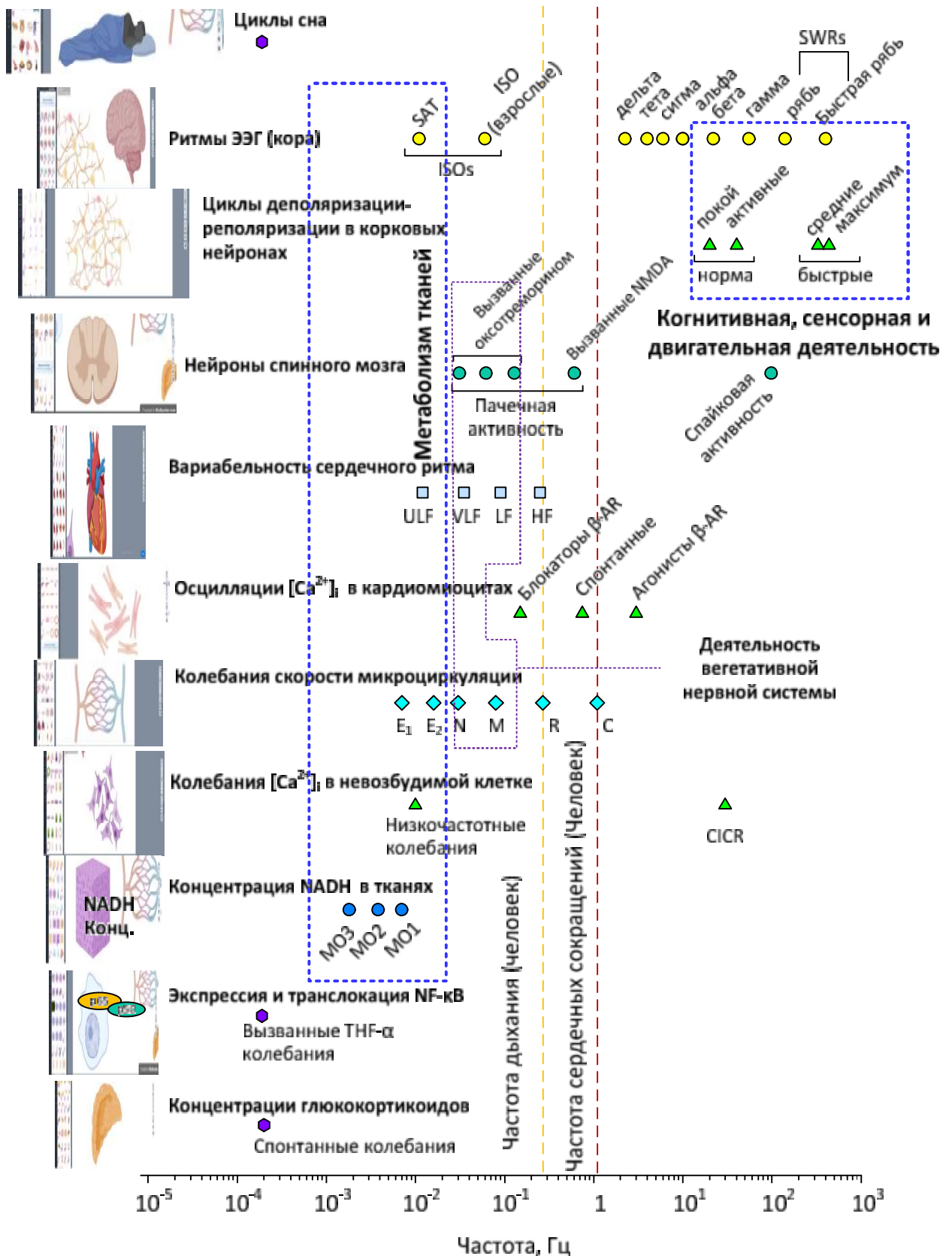


Рисунок 4. Сравнительная шкала локализация основных ультрадианных ритмов у человека и животных в диапазоне частот от 0,0001 до 100 Гц в различных физиологических системах: центральная нервная система

(ЦНС), сердечно-сосудистая система, эндокринная регуляция, внутриклеточные ритмические процессы. Обозначения ритмов: ЭЭГ: одноколебательные медленные (SAT), инфрамедленные осцилляции (ISO), островершинные колебания (SWRs); **Вариабельность сердечного ритма:** ультранизкочастотные (ULF), сверхнизкочастотные (VLF), Низкочастотный (LF), Высокочастотный (HF); **Скорость микроциркуляции:** EDHF (E_1), NO-зависимый (E_2), нейрогенный (N), миогенный (M), респираторный (R) ритмы и кардиоритм (C); **колебания $[Ca^{2+}]_i$ в невозбудимых клетках:** IP₃R-зависимый кальциевый выброс из эндоплазматического ретикулума (CICR); **концентрация НАДН в тканях:** метаболические осцилляторы (MO), **Нейроны спинного мозга:** Оксотреморин (Oxo), N-метил-D-аспартат (NMDA). Ссылки на источники представлены в тексте и таблице (Таблица 1). Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307

Таблица 1. Ультрадианные ритмы сигнальных событий в клетках животных и человека. Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307

№	Название ритма	Частота, Гц	Механизм	Стимул	Связи с патологиями	Reference
1	Электрическая активность fast-spicing нейронов	Средняя ~330 maximal instantaneous frequency ~440 (temporal parahippocampal region, primary visual cortex)	Деполаризация-реполяризация в ответ на электрическую стимуляцию. Участие voltage-gated K ⁺ channel with fast gating kinetics, the K _{v3} family, свойства постсинаптической мембраны дендритов, координации токов Na ⁺ и K ⁺ в аксоне и пресинаптического	supra-threshold current steps (500 ms in duration). После стимула возбудимость нейронов снижается на ~20 секунд.	Нарушение ритма ассоциировано с эпилепсией	(Descalzo et al., 2005; Hu & Jonas, 2014; Lien & Jonas, 2003; Wang et al., 2016)

			секреторного аппарата			
2	CICR в эндокринных клетках	33	IP3R- или RyR-зависимые кальциевые волны	Спонтанная активность на границе эндотелий- гладкомышечны е клетки, спонтанная активность в β - клетках поджелудочной железы.	Нарушение сигнализации CICR ассоциировано с развитием сахарного диабета I типа	(Klec et al., 2019; Ledoux et al., 2008)
3	Осцилляции мембранного потенциала cortical neurons	40 покой 20 режим «кратковре менной памяти»	Частотная модуляция циклов деполяризации- реполяризации. Точные механизмы уточняются.	Периодическая электрическая стимуляция, Моделирование.	Предполагаемые нарушения процессов внимания и обучения.	(Fitz et al., 2020; Fuhrmann et al., 2002)
4	Осцилляции	0,5	Перенос Ca^{2+} между	Механическая	Гипертензия,	(Cohen & Safran,

	цитозольного кальция в кардиомиоцитах	(спонтанный) 1 (низкочастотный режим) 3 (высокочастотный режим) 3 (режим «взрыва») 3 (положительная модуляция) 0,15	цитоплазмой и ЭПР с участием рианодиновых рецепторов RyR и SERCA Положительная модуляция - активация β-адренорецепторов (β-AR) Отрицательная модуляция – блокировка (β-AR)	стимуляция с заданной частотой, положительные модуляторы (изопроптериол, эпинефрин) отрицательные модуляторы (Doxazin, Verapomil)	аритмия	2020; Kokoz et al., 2019; Maltsev & Kokoz, 2020; Nitsan et al., 2016; Sirenko et al., 2013; Tran et al., 2004; Wible et al., 2005)

		(отрицательная модуляция)				
5	Кальциевые осцилляции в глиальных клетках	0,013-0,04 (спонтанная в норме) 0,08-0,13 (активность глиии в районе ишемического полутени или при острой гипоксии)	CICR (Ca^{2+} -induced Ca^{2+} -release) и работа $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменника	Спонтанные. Отменяются при аппликации EGTA, Ni	Нарушение функционирования астроглии ассоциированно с старением мозга Избыточная спонтанная активность астроглии может быть ассоциирована с осложнениями после инсульта.	(Fordsmann et al., 2019; Mathiesen et al., 2012; Rodríguez-Prados et al., 2020; Verisokin et al., 2021; Verkhatsky et al., 2020)

6	Кальциевые осцилляции в электро-невозбудимых клетках	0,004-0,01	Сигнальные системы рецепторов IP3R и RyR, включающие ADP-рибозилциклазу, фосфатидилинозитол-3-киназу, NO-синтазу и цГМФ-зависимую протеин-киназу	Стимул для адипоцитов: 1% FBS и ACh (0,1-0,5 mM)	Нарушение ритмической кальциевой активности ассоциировано с мультигормональной резистентностью адипоцитов при развитии сахарного диабета II типа.	(Turovsky et al., 2012; Turovsky et al., 2013; Turovsky et al., 2021; Zuccolo et al., 2017)
7	Осцилляции продукции NO в эндотелиоцитах	0,004-0,008	Сигнальные пути с участием RyR, CaMKII и eNOS, sGCR, цГМФР, PKGR и цАДФР	ACh	Эндотелиальная дисфункция	(Fernando Grover & Javier Esparza, 2022; Turovsky et al., 2013; Zuccolo et al., 2017)
8	Осцилляции	0,005-0,009	Функционирование	Спонтанная или	Метаб	(Luciani et al., 2006; Smirni et

	концентрации NAD(P)H в тканях (три метаболических осциллятора)	(MO1) 0,0025- 0,005 (MO2) 0,0013- 0,0025 (MO3)	фосфоглюкокиназы (PFK), приводящее к осцилляциям скорости гликолиза и синтеза АФТ. Циклы деполяризации мембран митохондрий.	в ответ на добавку D- глюкозы	оличе ские наруш ения.	al., 2019)
9	Осцилляции экспрессии транскрипцион ных факторов (NF-κB)	0,0002	Изменение экспрессии NF-κB по механизмам обратной связи	TNF-α (проток 10 ng/ml TNF-α)	Нару шение адекватног о имму нного ответа .	(Lahav, 2004; Nelson et al., 2004; Zambrano et al., 2016).

1.7 Уровень физиологической системы:

1.7.1 Ритмы в сигналах электроэнцефалограмм

Активное исследование электроэнцефалограмм (ЭЭГ) ведется со второй половины прошлого века. За это время было описано свыше десятка ритмических активностей мозга (Таблица 2).

Ритмы частотного диапазона альфа-ритма присутствуют в нормальном здоровом мозге при его функционировании (Niedermeyer, 1997). В норме в расслабленном состоянии при закрытых глазах преобладает альфа-ритм (8-12 Гц), а при развитии болезни Альцгеймера начинает преобладать дельта-ритм (2-4 Гц) и тета-ритм (4-8 Гц). Кроме того, снижается фазовая синхронизация между ритмами в разных отделах мозга (Babiloni et al., 2016).

Бета-ритм наиболее заметен в лобной и центральной. Он часто увеличивается по амплитуде во время сонливости, сна N1 и впоследствии уменьшается во сне N2 и N3. Большинство седативных препаратов, таких как барбитураты, хлоралгидрат и бензодиазепины, увеличивают амплитуду и количество бета-активности у людей (Frost Jr et al., 1973). Очаговое, регионарное или полушарное ослабление бета-ритма может происходить при повреждении коры, пороках развития, субдуральном, эпидуральном или субгалеальном скоплении жидкости.

Сигма-волны наблюдаются физиологически во время сна N2 и называется веретенами сна или сигма-волнами (Gondeck & Smith, 1974).

Дельта (от 0,5 до 4 Гц): дельта-ритм физиологически наблюдается в глубоком сне и заметен в лобно-центральных областях головы. Патологический дельта-ритм присутствует в бодрствующем состоянии при генерализованной энцефалопатии и очаговой мозговой дисфункции. Фронтальная перемежающаяся ритмическая дельта-активность (FIRDA) присутствует у взрослых (Cordeau, 1959), тогда как затылочная перемежающаяся ритмическая дельта-активность (OIRDA) возникает у детей (Dalby, 1969).

Временная перемежающаяся ритмическая дельта-активность (TIRDA) часто наблюдается у людей с височной эпилепсией (Reiher et al., 1989).

Исследование ISO стало возможным с появлением нового поколения электродов («мокрых электродов») и метода полночастотного ЭЭГ (Vanhatalo et al., 2005). Использование мокрых электродов позволяет получать более точные результаты с большей воспроизводимостью по сравнению с классической ЭЭГ (Kam et al., 2019).

Высокочастотные осцилляции ЭЭГ (частота выше 100 Гц), называемые «рябью», были описаны относительно недавно, после значительной эволюции методов регистрации (Reed & Plourde, 2015; Worrell & Gotman, 2011). Обнаружено, что эпилептические очаги генерируют эпизоды очень высокочастотной активности. Внутричерепные глубинные записи эпилептического гиппокампа (модели животных и человека) показали всплески сверхбыстрой частоты (быстрые пульсации), которые, вероятно, коррелируют с локальной эпилептогенностью ткани головного мозга (Worrell & Gotman, 2011).

Регистрация и оценка ритмической активности мозга актуальна в связи с работами по созданию интерфейсов мозг-машина. Как правило, при регистрации ЭЭГ и применении роботизированных экзоскелетов регистрируются изменения, которые испытывают некоторые ритмы мозга во время движения. Для оценки этих изменений может быть применено несколько подходов. Один из них, это изменение мощности ритмов, регистрируемое с помощью частотной фильтрации и оценки мощности с помощью анализа Фурье (Al-Fahoum & Al-Fraihat, 2014). Второй подход, декомпозиция ритмов мозга на основе эмпирической модовой декомпозиции в качестве альтернативы анализу электроэнцефалографических (ЭЭГ) сигналов. Преимуществом данного подхода является способность адаптироваться к локальным колебаниям данных (Ortiz et al., 2020).

Спинной мозг – амплитудная модуляция высокочастотных 100 Гц сигналов в виде трех низкочастотных ритмов 0,5 Гц, 0,625 Гц, 0,03 Гц, 0,031 (Legendre et al., 2018).

Таблица 2. Ритмы, регистрируемые в ЭЭГ человека. Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307

№	Частота, Гц	Название ритма	Локализация, условия регистрации, связь с патологиями	Reference
1	0,01-0,1	spontaneous activity transients (SAT)	Наблюдается у недоношенных новорождённых. Эндогенно управляемая спонтанная активность, которая имеет решающее значение для формирования связности нейронов на ранней стадии созревания мозга, когда сенсорный ввод практически не играет роли.	(Vanhatalo et al., 2002)
2	0,02-0,2	non-REM sleep-associated ISO	ISO, генерируемые при небыстрой фазе сна (non-REM sleep). Синхронизованы с более высокочастотными колебаниями.	(Vanhatalo et al., 2004)
3	0,5-4	Дельта-ритм	Фаза глубокого сна, лобная доля	(Reiher et al., 1989)
4	4-7	Тета-ритм	Ранние стадии быстрого сна N1 и N2. Лобно-центральные области, медленно мигрирует назад, замещая альфа-ритм в период ранней сонливости.	(Nuñez & Buño, 2021)

			Повышенные эмоциональные состояния могут усиливать лобный ритмический тета-ритм у детей и молодых людей. Фокальная тета-активность во время бодрствования свидетельствует о фокальной церебральной дисфункции.	
5	4-7	Ciganek or Third rhythm	Иногда рассматривается как вид альфа-ритма. 60-210 microV. Макушечная и срединная области во время сонливости. Его можно отличить от мю-ритма по непостоянной реакции на мысли о движении или на фактическое движение контралатеральной конечности	(Niedermeyer, 1991; Westmoreland & Klass, 1986)
6	4-7	Rhythmic mid-temporal theta of drowsiness (RMTD)	«Психомоторный вариант». Выражен в быструю фазу сна. Локализован в средневисочных цепочках во время сонливости.	(Mushtaq & Van Cott, 2005)
7	8-12	Альфа-ритм	Задний доминантный альфа-ритм обычно присутствует в нормальных бодрствующих записях ЭЭГ в затылочной области головы. Это	(Aird & Gastaut, 1959; Niedermeyer, 1997)

			определяющая черта нормального фонового ритма записи ЭЭГ взрослых. Задний ритм достигает альфа-диапазона 8 Гц в возрасте 3 лет и не снижается даже до девятого десятилетия жизни у здоровых людей. Быстрые варианты фонового альфа-ритма наблюдаются в нормальной популяции. Замедление фонового альфа-ритма считается признаком генерализованной мозговой дисфункции. Амплитуда альфа-ритма переменна. Открывание глаз и умственное усилие ослабляет альфа-ритм. При диффузной энцефалопатии у пациентов может проявляться генерализованная альфа-активность, которая не реагирует на внутренние или внешние раздражители и называется «альфа-комой».	
8	8-12	Мю-ритм	Мю-ритм это тип альфа-ритма, который присутствует в центральных областях, имеет дугообразную морфологию. Этот ритм обычно	(Chatrian et al., 1959)

			исчезает при двигательной активности контралатеральных конечностей или при мысли о начале двигательной активности. Не зависит от открытия глаз. Часто наблюдается у молодых людей и реже у детей и пожилых людей. Ослабляющие факторы включают усталость, соматосенсорную стимуляцию и счет в уме.	
9	Wickets rhythm	6-11	Вид альфа-ритма. 60-210 microV Легкий сон. Височные области.	(Niedermeyer, 1991; Reihner & Lebel, 1977)
10	12-14 – медленные 14-16 - быстрые	Сигла-волны	Сон N2, наиболее заметны в лобно-центральных областях головы. Патологический веретенообразный ритм наблюдается при генерализованной энцефалопатии и известен как «веретенообразная кома».	(Gondeck & Smith, 1974)
11	13-30	Бета-ритм	Лобной и центральная части. Он часто увеличивается по амплитуде во время сонливости, сна N. Большинство седативных препаратов, таких как барбитураты, хлоралгидрат и бензодиазепины,	(Barone & Rossiter, 2021; Frost et al., 1973; Nayak & Anilkumar, 2022)

			увеличивают амплитуду и количество бета-активности у людей. Очаговое, регионарное или полушарное ослабление бета-ритма может происходить при повреждении коры, пороках развития, субдуральном, эпидуральном или субгалеальном скоплении жидкости. Бета ритм сенсомоторной коре участвует в формировании моторных навыков.	
12	30-80	Гамма-ритм	Сенсорное восприятие с разных областей мозга. Может быть связан с развитием эпилепсии. Когнитивные процессы: память, внимание.	(Tallon-Baudry, 2003; Ward, 2003; Worrell & Gotman, 2011)
13	80-200	«Рябь»	Когнитивные функции, Снижение амплитуды и выраженности ряби связано с развитием эпилепсии у детей	(Mooij et al., 2017; Reed & Plourde, 2015; Worrell & Gotman, 2011)
14	200-600	«Быстрая рябь»	Соматосенсорная стимуляция и движение, entorhinal cortex	(Haueisen et al., 2000; Klostermann et al., 2001; Worrell & Gotman, 2011)

Примечание к таблице:

№ 1-2 – обобщённо называют Infra-slow oscillations (ISO) ($<0,5$ Гц)

№ 9-11 – Высокочастотные осцилляции (ВЧ) (частота более 30 Гц)

Ритмы локализованы в разных участках неокортекса. Наиболее частая локализация ритмических активностей мозга показана на рисунке (Рисунок 5). Стоит отметить несколько общих особенностей локализации ритмов ЭЭГ. Первое - чем выше частота ритма, тем более он узколокализован пространственно. ISO ритмы захватывают практически всю площадь коры (Vanhatalo et al., 2004), в то время как рябь и быстрая ряд локализованы в относительно компактной энторинальной области (Bragin et al., 2002). Второе – ритмы со сходной частотой локализованы в разных участках мозга, что хорошо видно на подтипах альфа-ритма (Aird & Gastaut, 1959; Chatrian et al., 1959; Niedermeyer, 1997). Третье – ритмы с разными частотами могут быть локализованы в одном участке коры, например, тета, гамма и альфа ритмы (Niedermeyer, 1997; Nuñez & Buño, 2021; Worrell & Gotman, 2011).

Мы предполагаем, что разделение ритмов по частотам и локализации призваны, с одной стороны, обеспечить максимальную независимость генераторов ритмов друг от друга, с другой стороны, «упаковать» все генераторы ритмов максимально компактно. Кроме того, стоит отметить подвиды альфа-ритма, выделяемые ранее по локализации, амплитудным характеристикам, форме сигнала и факторам, которые их модулируют (Aird & Gastaut, 1959; Chatrian et al., 1959; Niedermeyer, 1991; Niedermeyer, 1997; Westmoreland & Klass, 1986). Однако, в последнее время данные ритмы объединяют в единый альфа-ритм. Одной из причин данного явления может являться то, что анализ таких параметров, как форма сигнала, часто выполняется путём экспертной оценки. Это снижает воспроизводимость результатов такого анализа. Возможно, развитие современных математических методов анализа с распознаванием формы сигнала, в том

числе машинного обучения, вновь позволит анализировать данные трудноразличимые ритмы.

В последнее время набирается всё больше данных, указывающих, что для выполнения той или иной функции нужен не один конкретный ритм, а синхронизация нескольких ритмов сразу. Обнаружено, что синхронизация альфа, бетта, гамма, тета и дельта ритма между разными областями мозга усиливается во время сна, после обучения, по сравнению со сном без предварительного обучения. Примечательно, что ISO во время сна после обучения модулируют амплитуду гамма ритм и влияют на синхронизацию гамма ритма в разных областях мозга. Обнаруженные явления указывают на участие синхронизации высокочастотных и низкочастотных ритмов в процессе запоминания новой информации во время сна (Mölle et al., 2004).

Перспективным подходом в разработке методов персонализированной медицины лечения стресс-индуцированных состояний является так называемый подход «адаптивной нейростимуляции». Было обнаружено, что частью ритмов ЭЭГ можно управлять с помощью представления специально подготовленных сигналов: музыки разных жанров, свето-звуковой стимуляции (Riganello et al., 2019; Федотчев, 2022). Суть подхода заключается в следующем. У испытуемого регистрируются амплитудно-частотная характеристика (АЧХ) собственных, биоритмов ЭЭГ (тета-, альфа-, бета ритмы), реже, к ним добавляются ритмы ЭКГ и/или дыхания. Далее АЧХ указанных ритмов перекодируются и передаются испытуемому в виде модулированного акустического или зрительного сигнала. Таким образом, ЭЭГ ритмы человека заключаются в систему с обратной связью, способствующую саморегуляции ритмов ЭЭГ (Riganello et al., 2019; Федотчев, 2022). Подход может найти применение для снижения стресса во время беременности, при лечении стресс-индуцированных состояний, ассоциированных с высокими умственными нагрузками (Cheung et al., 2016; Fedotchev et al., 2020; Tegeler et al., 2017; Федотчев & Ким, 2009).

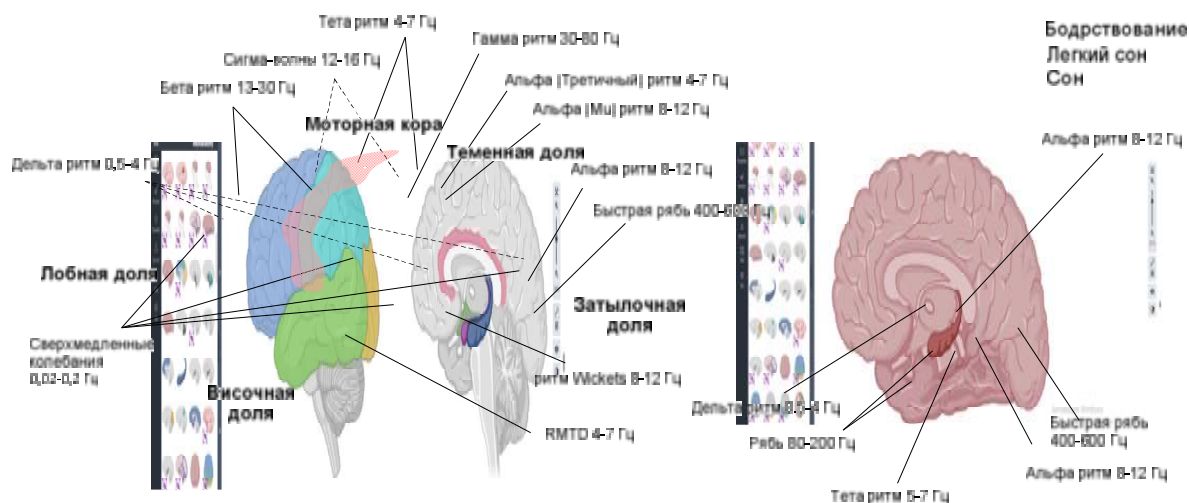


Рисунок 5. Локализация ритмической активности мозга человека (RMTD - rhythmic midtemporal theta burst of drowsiness)

(ссылки на источники представлены в тексте и таблице 2). Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307

Быстрый он-лайн анализ амплитудно-частотной характеристики ЭЭГ ритмов находит применение в разработке интерфейсов мозг-машина, в частности, при создании управляемых мозгом мобильных роботов, протезов, средств передвижения для маломобильных людей (Krishnan & Mariappan, 2015). Главной проблемой применения данных технологий является трудность обучения человека произвольному управлению собственной электрической активностью мозга. Одним из путей её решения является создание системы с обратной связью, описанной выше (Fedotchev et al., 2017).

Помимо нейрональных клеток, кальциевая ритмическая активность свойственна ещё и глиальным клеткам. При этом в генерации осцилляций цитозольного кальция ведущую роль играет наличие сети связанных между собой клеток (Rodríguez-Prados et al., 2020; Verveiko et al., 2021). Механизмами генерации осцилляций являются работа $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника, CICR (Rodríguez-Prados et al., 2020; Verisokin et al., 2021; Verisokin et al.,

2021). Нарушение функционирования астроглии, в том числе, кальциевой сигнализации, ассоциировано со старением мозга (Verkhatsky et al., 2020). Избыточная спонтанная активность астроглии может наблюдаться у более старых модельных животных и может быть ассоциирована с развитием осложнений после инсульта (Fordsmann et al., 2019). Частота спонтанных и вынужденных колебаний концентрации в астроглии составляет 0,013-0,13 Гц, что соответствует частоте метаболических осцилляторов (Smirni et al., 2019).

1.7.2 Сигналы сердечнососудистой системы

В сердечнососудистой системе можно выделить два мажорных периодических процесса: 1) вариабельность сердечного ритма, 2) колебания скорости микроциркуляции (Рисунок 6) (Shaffer & Ginsberg, 2017).

Вариабельность сердечного ритма – это частотная модуляция частоты сердечных сокращений, как правило, определяемой с помощью ЭКГ (Shaffer & Ginsberg, 2017). Описанные в литературе частотные диапазоны вариабельности сердечного ритма и их причины показаны в таблице (Таблица 3). Диапазон вариабельности сердечного ритма в районе 0,3-0,6 Гц относят к высокочастотным колебаниям. Его механизмом генерации являются дыхание. Частота сердечных сокращений ускоряется во время вдоха и замедляется во время выдоха. Во время вдоха сердечнососудистый центр подавляет активность блуждающего нерва, что приводит к ускорению ЧСС. Во время выдоха он восстанавливает активность блуждающего нерва, что приводит к замедлению ЧСС за счет высвобождения ацетилхолина (Eckberg & Eckberg, 1982). Тотальная блокада блуждающего нерва практически устраняет ВЧ-колебания и снижает его мощность (Malliani et al., 1991).

Вариабельность сердечного ритма с частотой ниже 0,15 Гц относят к низкочастотной. Низкочастотную вариабельность сердечного ритма подразделяют на низкочастотную LF, сильно-низкочастотную VLF и ультра-

низкочастотную ULF (Berntson et al., 2007; Electrophysiology, 1996; Esco & Flatt, 2014; Goldstein et al., 2011; Kember et al., 2001; Kember et al., 2000; Lehrer & Gevirtz, 2014; Shaffer et al., 2014; Stampfer, 1998; Stampfer & Dimmitt, 2013). Механизмом генерации LF колебаний считается регуляция артериального давления через барорецепторы (Berntson et al., 2007; Goldstein et al., 2011; Lehrer & Gevirtz, 2014). VLF колебания генерируются за счёт работы автономной нервной системы сердца (Kember et al., 2001; Kember et al., 2000). Детали генерации ULF колебаний в настоящее время уточняются.

Таблица 3. Частотные характеристики колебаний variability сердечного ритма. Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307

№	Частота, Гц	Название ритма	Механизм генерации	Ассоциированные патологии	Reference
1	$\leq 0,003$	ultra-low-frequency band	Колебания температуры тела, изменение скорости метаболизма, функционирование ренин-ангиотензиновой системы. Детали уточняются.	Психологические заболевания	(Electrophysiology, 1996; Esco & Flatt, 2014; Shaffer et al., 2014; Stampfer, 1998; Stampfer & Dimmitt, 2013)
2	0,003-0,04	very-low-frequency band	Циклические процессы во внутренней автономной нервной системе сердца.	Аритмия, воспаление, гормональные нарушения	(Bigger et al., 1992; Kember et al., 2001; Kember et al., 2000) (Carney et al., 2007; Lampert et al., 2008)

3	0,04-0,15	low-frequency band	Регуляция артериального давления барорецепторами через симпатическую или парасимпатическую нервную систему. Автономная регуляция через барорецепторы. Подсасывающее действие диафрагмы клетки при дыхании.	Ишемическая болезнь сердца.	(Berntson et al., 2007; Goldstein et al., 2011; Houle & Billman, 1999; Lehrer & Gevirtz, 2014)
4	0,15-1,04	high-frequency band	Парасимпатическая активность и изменения ЧСС, связанные с дыхательным циклом.	Сердечная недостаточность	(Goldstein et al., 2011; Grossman & Taylor, 2007; Malliani et al., 1991; Quintana et al., 2016)

Есть данные о влиянии температуры тела, изменения скорости метаболизма и функционировании ренин-ангиотензиновой системы на ULF полосу variability сердечного ритма (Electrophysiology, 1996; Esco & Flatt, 2014; Shaffer et al., 2014; Stampfer, 1998; Stampfer & Dimmitt, 2013). Обнаружено влияние психологических заболеваний и особенностей суточного ритма на ULF (Stampfer, 1998; Stampfer & Dimmitt, 2013).

Мощность СНЧ ассоциируется со смертностью от всех причин сильнее, чем мощность НЧ или ВЧ (Bigger et al., 1992; Tsuji et al., 1994). Ритм VLF может иметь основополагающее значение для оценки состояния здоровья (Shaffer et al., 2014). Низкая мощность СНЧ связана с риском аритмической смерти (Bigger et al., 1992). Понижение мощности в этом диапазоне также может быть маркером воспаления (Carney et al., 2007; Lampert et al., 2008). Кроме того, низкая мощность СНЧ коррелирует с низким уровнем тестостерона (Lampert et al., 2008). LF-ритма косвенно отражает особенности регуляции сердечных сокращений через вегетативную нервную систему, в основном, симпатическую. Изменение амплитуды LF-ритма происходит при повышенных нагрузках на сердце, в частности, при тренировках или на ишемической болезни сердца (Houle & Billman, 1999). Наличие выраженного ВЧ-компонента в записях ВСР указывает на наличие свойственной здоровому сердцу дыхательной синусной аритмии. Ослабление или утрата ВЧ-ритма может указывать на сердечную недостаточность (Goldstein et al., 2011).

Микроциркуляцией (микрогемодинамикой) называется движение крови по кровеносным сосудам с малым просветом (диаметром не более ~150 мкм): артериолам, капиллярам и венулам (Johnson, 2008). Артериолами называются малые сосуды (обычно, менее 150 мкм в диаметре), берущие свое начало от артерий и расположенные далее по направлению тока крови. В стенках артериол содержатся слои гладкомышечных клеток, обеспечивающих их

способность к изменению просвета (Johnson, 2008). Концевые концы артериол переходят в капилляры. Капиллярами называют микрососуды, состоящие из монослоя эндотелиоцитов, окруженных базальной мембраной и перицитами. Капилляры формируют густую микрососудистую сеть, пронизывающую окружающие ткани. Капиллярная сеть участвует в газообмене, доставке питательных веществ и удалении продуктов обмена из тканей и органов, в то время как артериолы участвуют в регуляции скорости кровотока через ткани (Johnson, 2008). Капилляры объединяются в венулы — микрососуды, строение которых сходно со строением артериол за исключением отсутствия гладкомышечных клеток в стенках малых венул (Johnson, 2008).

Механизмами регуляции скорости микрогемодинамики являются: 1) сокращение гладкой мускулатуры сфинктеров артериол, влекущее за собой уменьшение просвета, и 2) локальное увеличение давления и скорости кожного кровотока (Hill et al., 2009). Данное явление является следствием закона Гогена-Пуазейля, гласящего, что при установившемся ламинарном течении вязкой несжимаемой жидкости сквозь длинную (то есть при длине трубы многократно превышающей её диаметр) прямую цилиндрическую трубу (капилляр) круглого сечения объёмный расход жидкости прямо пропорционален перепаду давления на единицу длины трубы и четвёртой степени радиуса и обратно пропорционален коэффициенту вязкости жидкости (Sutera & Skalak, 1993). Поскольку в норме вязкость крови должна изменяться незначительно, основными способами регуляции кровотока является изменение давления за счёт регуляции сердечного выброса и изменение просвета (диаметра) сосуда (Hill et al., 2009). Повышенное внутрипросветное давление вызывает сужение артериол, тогда как снижение давления приводит к расширению сосудов. Это явление, известное как «миогенная реакция артериол», поддерживает перфузию микрососудов на постоянном уровне, несмотря на колебания артериального давления (Hill et

al., 2009). Расширение просвета сосудов называется вазодилатацией, а сужение — вазоконстрикцией.

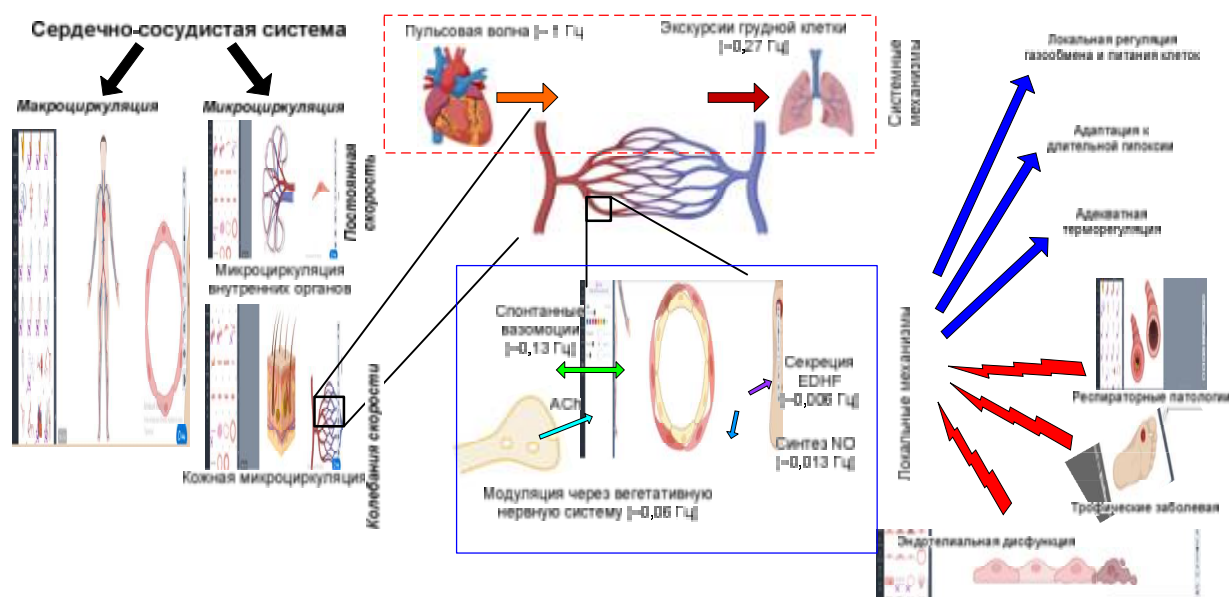


Рисунок 6. Механизмы генерации колебаний скорости кожной микроциркуляции и их роль в функционировании кровотока человека (ссылки на источники в тексте и таблице (Таблица 4). Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307

К механизмам регуляции скорости локальной микрогемодинамики относятся поток-индуцированная вазодилатация — расширение просвета сосудов в ответ на сдвиговое напряжение, метаболический и нейрональный механизмы управления (Hill et al., 2009). Среди последних сигналы от симпатической нервной системы вызывают вазоконстрикцию, в то время как парасимпатические нейроны способны вызывать вазодилатацию за счёт выделения сигнальных молекул: пептида, связанного с геном кальцитонина (CGRP) и субстанции P (Smillie & Brain, 2011).

На клеточном уровне основными эффекторами регуляции просвета микрососудов являются клетки гладкой мускулатуры (миоциты артериол),

которые тесно связаны с эндотелием, выделяющим факторы, вызывающие вазоконстрикцию (вазоконстрикторы) и вазодилатацию (вазодилататоры). Эндотелий-зависимая вазодилатация запускается разными путями. Первый путь — это продукция оксида азота NO с помощью NO-синтазы (NOS). NO является мощным вазодилататором, достигающим миоцитов артериол путем диффузии. Стоит отметить, что NO-зависимый путь связан с другими механизмами регуляции. В частности, АФК способны окислять NO и снижать его продукцию эндотелиальной NO-синтазой (eNOS) (Goodwill & Frisbee, 2012). С другой стороны, CGRP стимулирует высвобождение NO (Smillie & Brain, 2011). Высвобождение NO блокирует симпатическую вазоконстрикцию на этапе постсинаптической передачи сигнала (Shibasaki et al., 2008). Эндотелиоциты также выделяют ряд других вазодилататоров, таких как простаглицлин (PGI₂) и эпоксиэйкозатриеновые кислоты (EETs) (Bellien et al., 2011).

Таблица 4. Ритмы колебаний скорости кожной микроциркуляции. Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashov M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307

№	Название	Частотный интервал, Гц	Механизм генерации/модуляции	Экспериментальное подтверждение	Связанные патологии	Источники
1	Кардиоритм (C)	0,6-2	Сердечные сокращения	Совпадение по частоте с частотой сердечных сокращений	COVID-19, ревматоидные патологии	(Krupatkin, 2008; Stewart et al., 2007; Zharkikh et al., 2023) (Pavone et al., 2018)
2	Респираторный (R)	0,2-0,6	Подсасывающее действие грудной клетки при вдохе	Совпадение по частоте с частотой дыхания, изменение частоты ритма при контролируемом по частоте дыхании у добровольцев	COVID-19, ревматоидные патологии	(Krupatkin, 2008; Mück-Weymann et al., 1996; Tankanag et al., 2021; Zharkikh et al., 2023; Тюрина и др., 2011) (Pavone et al., 2018)

3	Миогенный (М)	0,05-0,2	Спонтанное сокращение гладкой мускулатуры сфинктеров артериол	Совпадение по частоте спонтанным сокращением гладкомышечных клеток сосудов	COVID-19, СД2Т, ХОБЛ	(Golenhofen, 1970; Iskhakova et al., 2016; Kastrup et al., 1989; Meyer et al., 1988)
4	Нейрогенный (N)	0,018-0,05	Спонтанное сокращение гладкой мускулатуры сфинктеров артериол/активность парасимпатической нервной системы	Утрата ритмической компоненты при фармакологической блокаде периферических нервов, кожной трансплантации или денервации кожного участка, восстановление ритмической компоненты после	СД2Т, БА	(Kastrup et al., 1989; Kolosova et al., 2018; Söderström et al., 2003; Tikhonova et al., 2010) (Zharkikh et al., 2023)

				восстановления иннервации		
5	Эндотелиаль ный (E ₂) NO- зависимый	0,01- 0,018	Спонтанное сокращение гладкой мускулатуры сфинктеров артериол/Секр еция NO	Изменение вклада ритмической компоненты при ионофорезе доноров NO (SNP) и ингибиторов eNOS (L-NAME, NLA)	СД2Т, БА, ХОБЛ	(Kvernmo et al., 1999; Stefanovska et al., 1999; Stewart et al., 2007) (Kolosova et al., 2018; Tikhonova et al., 2010) (Iskhakova et al., 2016)
6	Эндотелиаль ный (E ₁) NO- независимый	0,005- 0,01	Спонтанное сокращение гладкой мускулатуры сфинктеров артериол/Кол ебания уровней NADH в	Изменение вклада ритмической компоненты при ионофорезе АХ, совпадение с частотой колебаний NADH в тканях	СД2Т,	(Kvernmo et al., 1999; Smirni et al., 2019; Stefanovska et al., 1999)

			тканях, секреция EDHF			

Помимо нейронального и локального контроля, микрососуды кожи демонстрируют автономные колебаний диаметра, называемые вазомоциями. Данные колебания имеют низкую частоту (1-2 цикла/мин) и, как правило, обнаруживаются только с помощью спектрального анализа. Вазомоции усиливаются в условиях циркуляторного или метаболического стресса, например, при окклюзионной пробе (Kvandal et al., 2006; Rossi et al., 2008). Ритмы колебаний скорости микроциркуляции и известные механизмы их генерации показаны в таблице (Таблица 4).

Оценка АЧХ колебаний кожной микроциркуляции может выступать в роли диагностический маркеров на широкий ряд патологий: респираторных (бронхиальная астма) и метаболических (сахарный диабет). методы оценки скорости кожной микроциркуляции позволяют получить относительные амплитуды сигнала. Сама по себе амплитуда сигнала в покое является малоинформативной, поэтому часто используют провокационные тесты, чтобы оценить реактивность и резервные возможности микрососудистого русла. Для этого используются механические раздражители (закупорка артерии, давление на кожу) (Cracowski et al., 2006; Fromy et al., 2012; Rossi et al., 2013), тепловая проба - нагрев или охлаждение (Krasnikov et al., 2007; Minson, 2010; Roustit & Cracowski, 2011), электрические раздражители (Roustit & Cracowski, 2011), местное введение фармакологических средств (Blaise et al., 2011; Kalia et al., 2004; Stefanovska et al., 1999) и изменение позы (ортостатическая проба) (Tikhonova et al., 2020). Все эти тесты различаются по разным аспектам, таким как воспроизводимость, простота выполнения и исследуемым физиологическим эффектам (Roustit & Cracowski, 2011).

В дыхательных патологий модели острой локальной тканевой гипоксии у человека применяется так называемая окклюзионная проба (Cracowski et al., 2006). Окклюзия — это кратковременное перекрытие и восстановления кровотока. После окклюзии в коже человека наблюдается временное

усиление кожного оттока, обычно называемое постокклюзионной реактивной гиперемией (PORH) (Czacowski et al., 2006). Этот тест обычно выполняется путем наложения манжеты на проксимальную часть конечности при регистрации потока на дистальной части (предплечья или пальца) (Medow et al., 2007). После окклюзионной пробы у здоровых добровольцев наблюдается увеличение амплитуд колебаний кожной микроциркуляции всех пяти ритмов (Tikhonova et al., 2010). При бронхиальной астме (БА) у пациентов с низким объемом формированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) наблюдалось снижение амплитуды колебаний кожной микроциркуляции в интервалах миогенного, нейрогенного и NO-зависимого эндотелиального ритмов по сравнению с условно здоровыми добровольцами и пациентов с БА с высокими значениями ОФВ1 (Kolosova et al., 2018; Tikhonova et al., 2010). Снижение ОФВ1 при БА также влияло на PORH: снижая изменение амплитуды колебаний скорости микроциркуляции в миогенном и NO-зависимом эндотелиальном ритме (Tikhonova et al., 2016). У пациентов с ХОБЛ в фазе обострения обнаружено увеличение абсолютных значений ПМ и амплитуд колебаний кожной микроциркуляции в областях респираторного и эндотелиального ритмов по сравнению с условно здоровыми добровольцами. При ремиссии ХОБЛ амплитуды колебаний скорости кожной микроциркуляции в респираторном и эндотелиальном ритмах снижались до уровней условно здоровых добровольцев, дополнительно снижались амплитуды колебаний кожной микрогемодинамики в кардио-, миогенном и нейрогенном ритмах (Tikhonova et al., 2008).

Широкая группа осложнений сахарного диабета 2 типа (СД2Т) ассоциирована с нарушением функционирования макро- и микрососудов: гипертония, ишемическая болезнь сердца, инсульты, диабетическая ретинопатия, нефропатия, «диабетическая стопа» и т.д. (Farmaki et al., 2021), поэтому оценка ритмов колебания скорости кожной микроциркуляции может оказаться информативным методом ранней диагностики СД2Т. В литературе

имеются данные о взаимосвязи микрососудистых осложнений диабета с развитием эндотелиальной дисфункции (Muris et al., 2012; Nguyen et al., 2011). Потенциальными механизмами развития эндотелиальной дисфункции и, следовательно, микрососудистых осложнений СД2Т, являются нарушения кальциевого гомеостаза клеток и продукции оксида азота (NO) (Fernández-Velasco et al., 2014; Tessari et al., 2010). Детальное изучение молекулярных механизмов развития эндотелиальной дисфункции при СД2Т позволит найти новые терапевтические подходы для предотвращения развития осложнений СД2Т, а также расширит применение оценка АЧХ колебаний скорости микроциркуляции в ранней диагностике СД2Т. Обнаружено, что у пациентов с СД2Т происходит снижение как абсолютных, так и относительных (нормированных на общую мощность по спектру) амплитуд колебаний скорости кожной микроциркуляции в NO-независимом эндотелиальном, нейрогенном и миогенном ритмах по сравнению с условно здоровыми добровольцами, также происходит сложная модификация ответа на тепловую пробу, зависящая от температуры нагрева (Filina et al., 2018; Hsiu et al., 2018; Pavone et al., 2018; Zharkikh et al., 2022). Кроме того, обнаружена зависимость выраженности осцилляций в миогенном ритме от липидного профиля и степени выраженности СД2Т (Iskhakova et al., 2016).

Одним из осложнений COVID-19 является развитие тромбозов и нарушение функционирования микроциркуляторного русла (Cenko et al., 2021). Перенесенная инфекция COVID-19 (10 дней после болезни) увеличивала амплитуды нейрогенного, респираторного ритма и кардиоритма (Zharkikh et al., 2023). Для ревматоидных нарушений также свойственен рост амплитуды кардио- и респираторного ритмом (Pavone et al., 2018).

Дополнительным методом оценки физиологического статуса и резервных возможностей систем локальной регуляции работы микрососудистого русла может выступать оценка фазовой когерентности осцилляторных сигналов, генерируемых разными системами организма (дыхание, сердцебиение,

скорость микрокровотока) или генерируемых одной системой, но зарегистрированных с разных участков (Mizeva, 2017). В частности, для пациентов с СД2Т было обнаружено снижение фазовой вейвлет-когерентности колебаний скорости кожной микроциркуляции и ВСР, как в контроле, так и в ответ на функциональную пробу (смена положения тела) (Tikhonova et al., 2023).

Обнаружены ритмы осцилляций скорости кровотока внутренних органов. В частности, осцилляции с частотой 0,24-0,03 Гц (близкие по частоте к нейрогенному ритму колебаний кожной микроциркуляции) были обнаружены в корковом слое кочек крысы (Bader et al., 2014). Однако, вопрос о вариабельности данного ритма в зависимости от внешних условий и/или патологий остаётся открытым.

1.8 Изучение свойств растительных тканей.

Электроимпедансная спектроскопия — метод исследования электрических свойств материалов и систем путем приложения гармонических электрических сигналов переменной частоты и регистрации комплексной вольт-амперной характеристики. Зарегистрированное таким образом комплексное сопротивление (импеданс) в зависимости от частоты затем связывается с физическими параметрами или свойствами материалов и систем. Клеточная мембрана растительных клеток состоит в основном из фосфолипидов, белков и сахаров. Фосфолипидный бислой представляет собой основной каркас клеточной мембраны и является отличным электрическим изолятором. Клетка в целом может рассматриваться как концентрический сферический конденсатор (Buckley et al., 1990; Zhang et al., 2020), в котором раствор внутри и снаружи мембраны действует как подкладка, а липидный бислой — как изолирующая щель. Емкость такого конденсатора стандартна для всех организмов на Земле и составляет 1 мкФ на 1 см² площади мембраны (Katz, 1966). Когда ткани растений подвергаются внешнему механическому воздействию, высыханию, меняется как проницаемость клеточной мембраны, так и концентрация электролитов внутри и снаружи клеточной мембраны. Это приводит к изменению импеданса и емкости ткани, а также сосудистых структур.

Электроимпедансная спектроскопия начала использоваться для анализа состояния и структуры биологических систем в 1920-х годах (Bozler & Cole, 1935; Remington, 1928). Позже были разработаны подходы к электротехническому описанию биологических систем посредством электротехнических терминов. Например, Фрике предложил эквивалентную принципиальную схему биологической ткани (Fricke, 1924; Fricke, 1925; Fricke & Morse, 1926), Шван предложил теорию дисперсии импеданса тканей организма (Guermazi et al., 2014; Schwan, 1957), эмпирически было получено уравнение дисперсии Коула-Коула (Cole & Cole, 1941). В некоторых из этих

моделей используется специальный элемент, называемый элементом постоянной фазы (Ando et al., 2016), чтобы лучше подогнать данные электроимпедансной спектроскопии к электротехнической модели и различать резистивные и емкостные элементы в структуре биологической ткани. Элемент постоянной фазы сохраняет фазу сигнала переменного тока, проходящего по нему, постоянной во всем анализируемом диапазоне частот (Zoltowski, 1998), что позволяет объяснить некоторые неоднородности электрических свойств тканей, обусловленные сложными биологическими реакциями при использовании электроимпедансной спектроскопии (Chowdhury et al., 2016; Watanabe & Ando, 2021).

Можно выделить три основных направления использования электроимпедансной спектроскопии: электроимпедансная томография в медицине (Brown, 2009), оценка качества и безопасности продукции в пищевой промышленности и изучение физиологии растений в сельском хозяйстве (Gadallah et al., 2022; Muñoz-Huerta et al., 2014; Repo et al., 2014). Применительно к физиологии растений этот метод в основном полезен для характеристики количественных клеточных изменений. Регистрация электрического импеданса тканей как *in vivo*, так и *in vitro* дает информацию о клеточной структуре, содержании жидкости, характеристиках и целостности внутри- и внеклеточных частей растительных тканей.

Электроимпедансная спектроскопия является альтернативой существующим методам и показывает многообещающие результаты в агропищевой промышленности и исследованиях физиологии растений. Например, эта технология позволяет отслеживать состояние растений даже на ранних стадиях развития и контролировать качество готовой продукции. Однако применение электроимпедансной спектроскопии часто связано с необходимостью организации специальных лабораторных условий для проведения измерений. Наша цель — получить информацию о состоянии внутренних тканей ветвей растения из измерений импеданса. Поэтому мы

предлагаем новую методику с использованием разработанного нами устройства и модели, позволяющую отслеживать состояние тканей ветвей деревьев *in situ*. В качестве объекта исследования была выбрана яблоня и проанализирована зависимость импеданса ветки яблони от частоты сигнала и длины ветки. Также было проанализировано изменение импеданса ветки яблони при сушке. Показано, что при высыхании ветки проводимость ксилемы преимущественно снижается. Разработанная методика была применена также для определения развития сосудистой системы яблони после прививки

Для тканей растений описаны ритмы колебаний электрического потенциала тканей. Так же обнаружены годовые и суточные ритмы (Damineli et al., 2022). Для растений, так же как и для животных, показано участие кальция в генерации осцилляций, при этом, период колебаний зависит от типа ткани. (Allan et al., 2022; Galotto et al., 2020). Как правило, при оценке частотных характеристик колебаний в растительных клетках и тканях классически оперируют периодом, при этом, выраженном в производных единицах времени (секунды, минуты, часы), что усложняет сравнение результатов, полученных в разных условиях между собой (Damineli et al., 2022; Evans et al., 2001). Нами была предпринята попытка унифицировать известные в литературе частотные характеристики ритмов в растительных тканях и клетках (Таблица 1).

Таблица 5. Биоритмы в растительных тканях. Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307

№	Частота , Гц	Уровень организации	Процесс	Reference
1	$1,15 \times 10^{-5}$	Целый организм	Циркадные изменение экспрессии транскрипционных факторов	(Arsenault et al., 2020)
2	$4,6 \times 10^{-5}$	Латеральные корни (рост)	Периодические изменения уровня ауксина в одних и тех же клетках. Различный уровень ауксина в клетках с разным расположением. Сеть отрицательных обратных связей.	(Tsai et al., 2008; van den Berg et al., 2021)
3	$1,4 \times 10^{-4}$	Латеральные корни (вращение)	Работа Ca^{2+} и H^{+} насосов цитоплазматической мембраны клеток	(Taylor et al., 2021)
4	0,027	Корни злаков (нет латеральных корней)	Работа Ca^{2+} и H^{+} насосов цитоплазматической мембраны клеток	(Jeon et al., 2019)
5	0,027 (fast)	Пыльцевая трубка	Работа Ca^{2+} и H^{+} насосов цитоплазматической мембраны клеток	(Feijó et al., 2001)

	0,003 (slow)			
6	0,004	Мезофилл	Работа Ca^{2+} и H^{+} насосов цитоплазматической мембраны клеток	(Shabala et al., 2006)
7	0,005	Устьица	Работа Ca^{2+} и H^{+} насосов цитоплазматической мембраны клеток	(Jeon et al., 2019)
8	0,008- 0,017	Протонема (рост)	Работа Ca^{2+} и H^{+} насосов цитоплазматической мембраны клеток	(Taylor et al., 2021)
9	0,01- 0,017	Корневые волоски (микробный симбиоз)	Ca^{2+} oscillations in root hairs with microbial symbiosis (Nod/Мyc)	(Charpentier et al., 2016)
10	0,03	Корневые волоски (без симбиоза)	Работа Ca^{2+} и H^{+} насосов цитоплазматической мембраны клеток	(Brost et al., 2019)
11	10^{13}	Светособирающий комплекс II	Функционирование цепи переноса электронов.	(Romero et al., 2014)

Основные ритмы в растительных тканях представлены в таблице (Таблица 5)

и на рисунке (

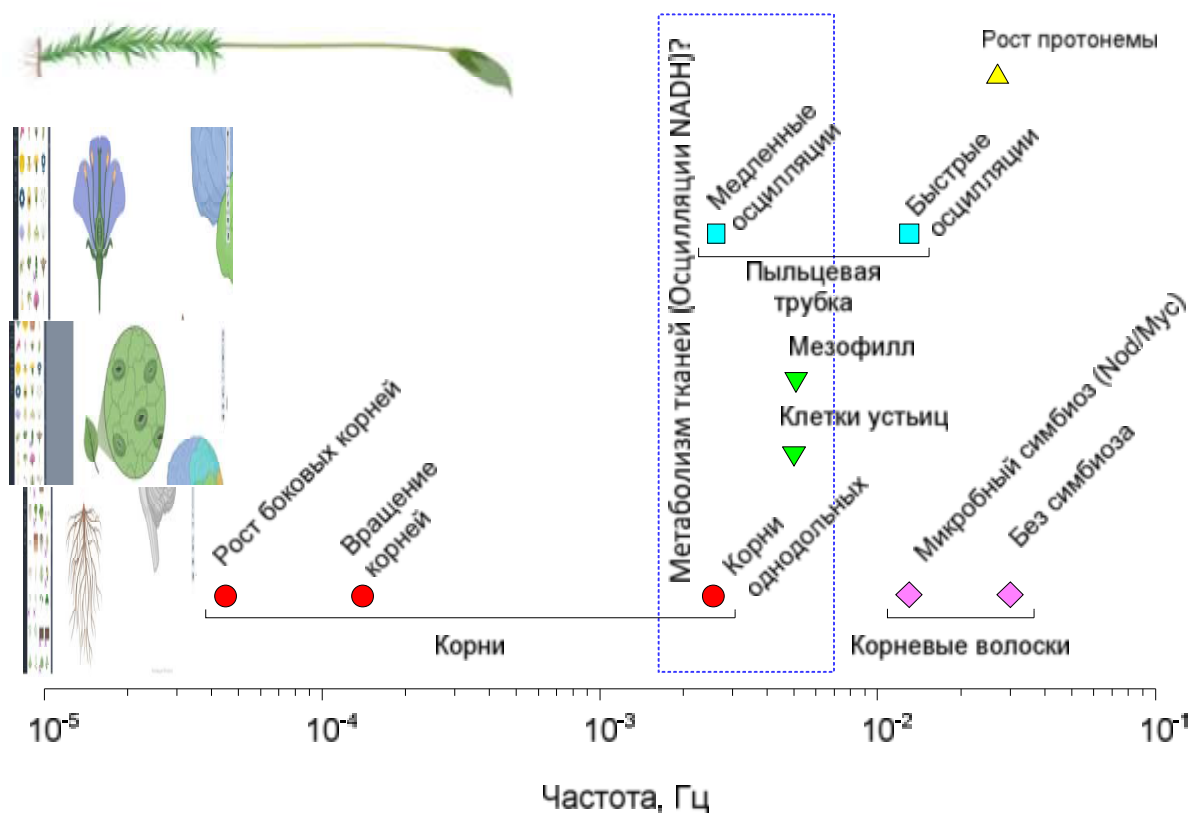


Рисунок 7). Примечательно, что в случае растений, как и в случае животных, можно наблюдать наличие ритмов из разных органов (корень и лист) в частотной области 0,002-0,07 Гц, соответствующей «метаболическим осцилляторам» или колебаниям НАДН в тканях (Smirni et al., 2019; Zharkikh et al., 2018). Мы предполагаем, что метаболические осцилляторы в этом диапазоне частот могут быть универсальными ритмами для всех эукариот.

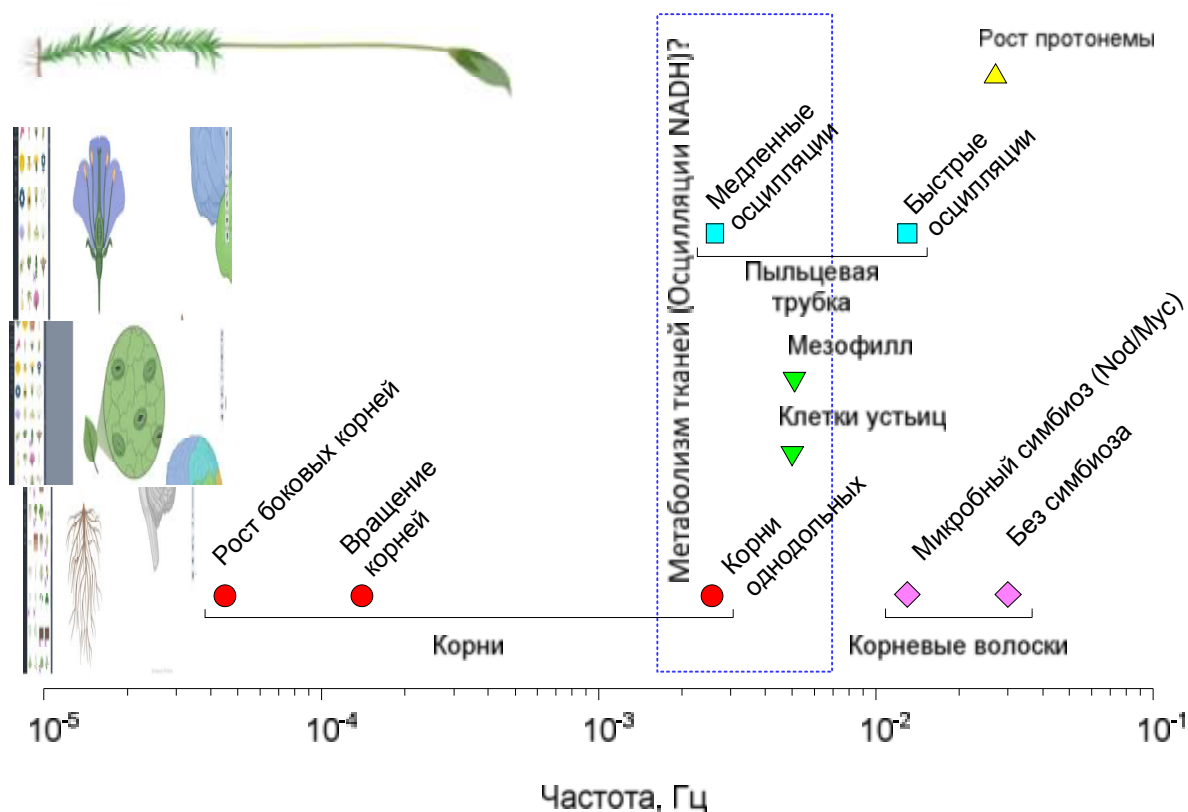


Рисунок 7. Центральные частоты осцилляций концентраций ионов в клетках органов растений (ссылки на источники литературы представлены в тексте и Таблица 5). Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307

Основные ультрадианные периодические процессы регистрируемые в тканях растений – это осцилляции концентрации ионов кальция, натрия и калия, реже, изменения концентрации кислорода (Shabala et al., 2006). Характеристики осцилляций цитозольной концентрации кальция в клетках из разных тканей растений подробно описаны в работе Evans et al 2001 (Evans et al., 2001). Клеточные механизмы генерации кальциевых осцилляций в растительных клетках похожи на таковые в животных клетках (Plattner & Verkhatsky, 2015). Усилительное звено, включают в себя вход внешнего кальция через каналы плазмолеммы. Звено линии задержки включает активную откачку кальция через кальциевые помпы, перераспределение кальция между цитоплазмой, эндоплазматическим ретикулумом,

митохондриями и аппаратом Гольджи (Evans et al., 2001). Регуляторное звено представлено сигнальными белками, в том числе, кальмодулином, при этом по мере эволюционного развития растений число регуляторных белков увеличивается (Edel et al., 2017). Частота осцилляций ионов в клетках растений зависит от органа растения и его функционального состояния, в частности, наличия или отсутствия микробного симбиоза (Brost et al., 2019; Charpentier et al., 2016; Evans et al., 2001). Кальциевая сигнализация участвуют в ответах растений на действие стрессовых факторов (Ladeynova et al., 2023). Кальциевые спайки в растительных клетках играют важную роль в образовании симбиотических структур в корнях бобовых (Vasil'eva et al., 2011). Для растений, как и для животных, обнаружено участие цитозольного кальция в модуляции колебаний продукции NO в клетках. Также показано, что колебания продукции NO в клетках проростков ассоциированы с приспособлением к недостаточному уровню освещения (Glyan'ko & Ischenko, 2014). Всё вышеперечисленное делает методы анализа периодических процессов в растительных тканях привлекательными с точки зрения экспресс оценки физиологического статуса растения в сельском хозяйстве. Применение внешних периодических воздействий может помочь растениям лучше переносить неблагоприятные условия, например, переменное магнитное поле способствует лучшему росту пшеницы в условиях засухи, влияет на функционирование фотосинтетического аппарата (Grinberg et al., 2022; Mshenskaya et al., 2023).

Описание ритмической активности растительных клеток и тканей, как правило, является феноменологическим или включает работу с математическими моделями (Damineli et al., 2022; Evans et al., 2001; Shabala et al., 2006). Мы считаем, что применение более информативных методов спектрального анализа позволит более полно оценить АЧХ периодических процессов в растительных тканях, а также получить более расширенную информацию о синхронизации разных ритмов между собой.

1.9 Уровень клетки

1.9.1 Осцилляции в культуре эндотелиоцитов.

В эндотелиоцитах обнаружены низкочастотные колебания $[Ca^{2+}]_i$ в покое и в ответ на гистамин, тромбин или АТФ, при этом их частотная характеристика зависит от природы стимула (Balke, 1996; Jacob, 1991; Ying et al., 1996; Yokota et al., 2015; Zhu et al., 2008). Факторы II, Ха, тромбин, SLIGRL (специфический агонист PAR2) и sTF вызывают в части эндотелиальных клеток эмбриональной пуповины человека (HUVEC) кальциевый ответ в виде кальциевых осцилляций или единичных длительных ответов. При этом соотношение клеток с разными типами кальциевой активности зависит от типа и концентрации стимулов и может определять функциональные ответы клеток, в частности, секрецию провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-8 (Daubie et al., 2006). Авторы данной работы полагают, что кальциевые ответы играют важную роль в регуляции провоспалительных ответов эндотелиоцитов. Мишени цитозольного кальция в эндотелиоцитах разнообразны. Среди них важную роль играет кальмодулин (CaM), способный инициировать ответ клетки на незначительные (порядка нМ) изменения концентрации цитоплазматического кальция ($[Ca^{2+}]_i$) (Busse & Mülsch, 1990; Ignarro et al., 1987). CaM регулирует активность эндотелиальной eNOS, синтезирующей NO, играющего роль вазодилатора (Busse & Mülsch, 1990; Ignarro et al., 1987). Кроме того, CaM регулирует проницаемость Ca^{2+} -зависимых K^+ каналов (K_{Ca}) низкой и средней проводимости $K_{Ca2.3}$, и $K_{ir3.1}$ (Crane et al., 2003), что приводит к эндотелий-зависимой деполяризации (EDH) гладкой мускулатуры сосудов в местах плотных контактов между эндотелиоцитами и гладкомышечными клетками, и последующей вазодилатации (Bychkov et al., 2002; Taylor & Francis, 2014). Рост $[Ca^{2+}]_i$ в эндотелиоцитах вызывает активацию фосфолипазы A2, которая ускоряет реакцию синтеза производных арахидоновой кислоты: простагличина и эпоксиэйкозатриеновых кислот, вызывающих

вазодилатацию (Campbell & Fleming, 2010). Несмотря на участие всех факторов в регуляции тонуса сосудов их вклад различается в зависимости от участка кровеносного русла: вклад NO более выражен в крупных сосудах, в то время как EDHF — в малых (Brähler et al., 2009). Кроме вазодилатации увеличение $[Ca^{2+}]_i$ может опосредовать и секрецию вазоконстрикторов, например, эндотелина-1 (ET-1) (Marsen et al., 1996). Стоит отметить сложный характер действия ET-1, который распознаётся двумя типами рецепторов эндотелина: ET_A и ET_B. ET_A экспрессируются в значительной степени на гладкомышечных клетках, и в них ET-1 вызывает вазоконстрикцию, а ET_B экспрессируется в основном на эндотелиоцитах и опосредует ET-1-зависимое высвобождение NO с последующей вазодилатацией (Davenport et al., 2016).

NO-синтаза (NOS) — это фермент, катализирующий реакцию синтеза NO, в которой субстратом является L-аргинин, а его гуанадиновая группа выступает в роли донора атома азота (Palmer et al., 1988). Данная реакция может ингибироваться аналогами L-аргинина: L-(NMMA) или L-NAME (Fels et al., 2010). В эндотелиоцитах экспрессируется NOS3 или эндотелиальная NOS (eNOS) (Heiss et al., 2015). eNOS конститутивно экспрессируется на высоком уровне в эндотелии крупных артерий. Экспрессия eNOS снижена в артериолах, и не наблюдается в эндотелии капилляров. Также eNOS экспрессируется во всех клетках крови: эритроцитах, лимфоцитах, тромбоцитах (Cortese-Krott et al., 2012; Heiss et al., 2010). Поскольку синтезируемый NO является газом, то кроме локального действия на эндотелиоциты и гладкомышечные клетки, NO может включаться в циркулирующий пул NO. NO является нестабильным соединением, но кроме него в регуляции тонуса сосудов могут участвовать более стабильные соединения азота: нитриты, нитраты и нитрозо-соединения. Данные соединения могут проявлять NO-подобную активность в отношении тонуса сосудов (Rassaf et al., 2002). Стоит отметить, что блокирование eNOS и добавка доноров NO могут оказывать эффекты по независимым друг от друга

механизмам, как это показано на эндотелиальных клетках аорты быка при стимуляции альдостероном (Fels et al., 2010).

Оксид азота NO является ключевой сигнальной молекулой, реализующей вазодилатирующую функцию эндотелия путём действия на гладкомышечные клетки артерий и артериол (Fels et al., 2010; Marziano et al., 2017). В частности, высвобождение NO эндотелиоцитами происходит при сдвиговом напряжении (Sriram et al., 2016). Помимо секретируемого NO, важную роль в функционировании эндотелиоцитов играет изменение внутриклеточного уровня NO ($[NO]_i$) (Garczorz et al., 2015). Возможный вклад колебаний $[NO]_i$ в регуляцию периодических изменений кожной микроциркуляции не исследован. Для эндотелиоцитов описана взаимосвязь сигнальных путей, включающих $[Ca^{2+}]_i$ и NO, в частности, NO вызывает кальциевый выброс в эндотелиоцитах свиньи (Berkels et al., 2000). В связи с этим, исследование связи осцилляций $[Ca^{2+}]_i$ и $[NO]_i$ приобретает особый интерес.

1.9.2 Источники колебаний цитозольной концентрации кальция и продукции оксида азота в клетках

Обобщенная схема источников колебаний и синхронизации клеток показана на рисунке (Рисунок 8). В качестве источника колебаний $[Ca^{2+}]_i$, предположительно, могут выступать внутренние процессы в индивидуальных клетках, а также секретируемые сигнальные молекулы (Yokota et al., 2015). Колебания цитозольного кальция в клетке могут иметь разную форму (динамику), амплитуду, локализацию и длительность (Parker et al., 1996). Для колебаний цитозольного кальция в эндотелиоцитах описана относительно большая длительность и локализация в районе ЭПР (Taylor & Francis, 2014). Для кальциевых автоколебаний описано несколько механизмов генерации, включающих петли обратной связи, вовлекающих разное количество сигнальных молекул. Например, высвобождаемый из ЭПР

через IP(3)R Ca^{2+} активирует фосфолипазу C (PLC), которая продуцирует новые порции IP(3). Схематично этот процесс можно представить так $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{PLC} \rightarrow \text{IP(3)} \rightarrow \text{IP(3)R} \rightarrow \text{Ca}^{2+}$. Примечательно, что автоколебания $[\text{Ca}^{2+}]_i$ могут самопроизвольно инициироваться при 37° при отсутствии протока (Foskett et al., 2007). Стоит отметить, что для данной сигнальной петли характерна генерация осцилляций $[\text{Ca}^{2+}]_i$ с высокой частотой (>10 Гц), что значительно выше, диапазона низкочастотных колебаний скорости кожной микроциркуляции (0,005-0,2 Гц) (Söderström et al., 2003). Для невозбудимых клеток на примере адипоцитов описана и более «короткая» петля обратной связи $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{CaM} \rightarrow \text{RyR} \rightarrow \text{Ca}^{2+}$ (Turovsky et al., 2013). Указанная петля принципиально возможна и в эндотелиоцитах (Toussaint et al., 2015).

Стимуляция вазоактивными агентами, например АХ, увеличивает долю клеток с Ca^{2+} колебаниями (Foskett et al., 2007; Wilson et al., 2019). АСh может действовать на эндотелиоциты через рецепторы ацетилхолина мускаринового типа mAChR (Gericke et al., 2011) и никотинового типа $\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$ и $\beta 4$ nAChR (Cooke & Ghebremariam, 2008; Wang et al., 2001), которые относятся к рецепторам ассоциированным с Gq -белками ($Gq\text{PCR}$) и ионным каналам с Na^+ и Ca^{2+} проводимостью соответственно (Albuquerque et al., 2009). Однако для некоторых nAChR описаны неканоничные метаболотропные ответы, механизмы которых с настоящее время активно исследуются (Grau et al., 2018; Safronova et al., 2021). Эндотелиоциты способны к синтезу и секреции эндогенного АХ, что делает АХ возможным участником сигнальной петли: секреция АХ, распознавание mAChR или nAChR , гидролиз до холина (ХЛ) с участием ацетилхолинэстеразы (АХЭ), перенос холина в клетку высокоаффинным транспортёром (СНТ1), синтез АХ из ХЛ и кофермента ацетил-КоА, секреция АХ (Cooke & Ghebremariam, 2008; Wilson et al., 2019).

Важную роль в генерации кальциевых автоколебаний в клетках играет Na^+ - Ca^{2+} обменник (NCX), как это было показано для астроцитов (Brazhe et al.,

2018). Для эндотелиоцитов показано участие NCX в регуляции АХ-индуцированной вазодилатации (Lillo et al., 2018; Schneider et al., 2002).

Кроме того, роль синхронизирующих медиаторов могут играть ET-1 а также эндогенные АФК (Davenport et al., 2016; Sakurada et al., 2019; Suresh et al., 2015; Wilson et al., 2016).

Активно исследуется участие в регуляции $[Ca^{2+}]_i$ неселективных катионных каналов временного рецепторного потенциала (TRP) (Di & Malik, 2010). В частности, обнаружено, что TRP ваниллоидного типа (TRPV4), вызывают автоколебания цитозольного кальция в эндотелии брыжеечной артерии мышей (Sonkusare et al., 2012). Учитывая то, что TRPV4 являются механочувствительными (Marziano et al., 2017), то они могут являться связующим звеном между пульсовой волной и периодическими изменениями $[Ca^{2+}]_i$ в эндотелиоцитах. Обнаружено, в ряде случаев стимуляция TRPV4 вызывает ЭПР-зависимые кальциевые волны в клетках (Sonkusare et al., 2012). Сходным образом в эндотелии церебральных артерий крыс активация TRP анкиринового типа (TRPA1) вызывает генерацию кальциевых волн (Qian et al., 2013). Таким образом кальциевые ответы через TRP могут инициировать колебания $[Ca^{2+}]_i$ с участием ЭПР.

Кальциевые TRP-зависимые спайки вызывают открытие K_{Ca} , при этом, активация TRPV4 и TRPA1 приводит к активации преимущественно определённых изоформ K_{Ca} ($K_{Ca3.1}$ или $K_{Ca2.3}$) (Earley et al., 2009; Ma et al., 2016). Важную роль в обеспечении этой специфичности может играть кавеолин (Rath et al., 2009). С использованием нокаутов по $K_{Ca3.1}$ и $K_{Ca2.3}$ было обнаружено, что вызванная K_{Ca} гиперполяризация может усиливать вход Ca^{2+} через TRP, тем самым ассоциация TRP/ K_{Ca} может работать как каскад усиления сигнала при генерации автоколебаний цитозольного кальция (Qian et al., 2013).

eNOS в клетке может быть локализована в двух компартментах, кавеолах на периферии клеток и в мембране аппарата Гольджи (Liu et al., 1997; Rath et al.,

2009). Ассоциация $K_{Ca2.3}$, TRPV4 и eNOS с кавеолином предполагает их возможное взаимодействие. Экспериментальными подтверждениями этого предположения являются следующие факты. Во-первых, избыточная экспрессия $K_{Ca2.3}$ увеличивает как NO-, так АХ-индуцированную вазодилатацию (Brähler et al., 2009). Во-вторых, расслабление легочных артерий крыс посредством активации TRPV4 связано с активностью eNOS, так и K_{Ca} -опосредованной EDH (Sukumaran et al., 2013). Так же показано, что TRPV4 участвуют в кооперативном входе Ca^{2+} в эндотелиоцит и индукцию последующей NO-зависимой вазодилатации (Marziano et al., 2017). Для эндотелиальных клеток описан кальциевый ответ на NO (Berkels et al., 2006; Marziano et al., 2017), что согласуется с предположением об ассоциации $K_{Ca2.3}$, TRPV4 и eNOS (Brähler et al., 2009; Sukumaran et al., 2013). Для адипоцитов описана петля обратной связи $[Ca^{2+}]_i \rightarrow NO \rightarrow \text{цГМФ} \rightarrow PKG \rightarrow CD38 \rightarrow RyR \rightarrow [Ca^{2+}]_i$, обеспечивающая связь колебаний как $[Ca^{2+}]_i$, так и NO (Turovsky et al., 2013). В случае эндотелиоцитов, реализация данного сигнального каскада также принципиально возможна (Berkels et al., 2006; Boslett et al., 2018; Marziano et al., 2017; Toussaint et al., 2015).

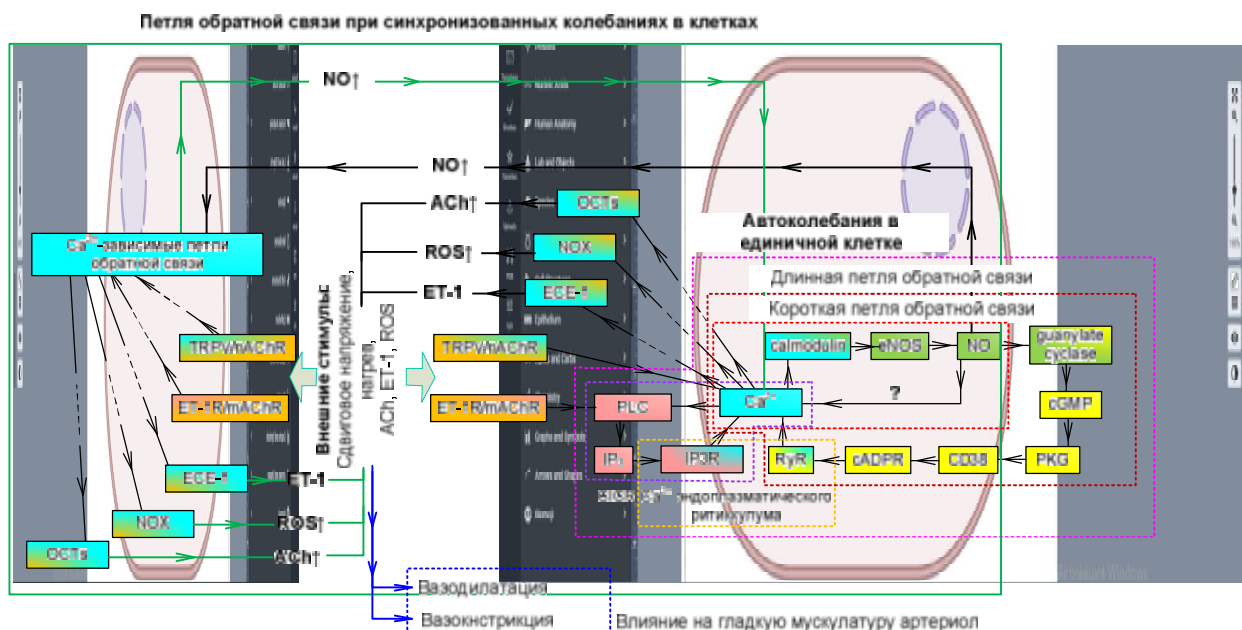


Рисунок 8. Обобщённая схема генерации автоколебаний цитозольного Ca^{2+} и продукции NO внутри отдельной клетки и синхронизации колебаний между клетками. Мы предполагаем, что часть секретируемых агентов участвует в синхронизации клеток, а часть – в управлении просветом сосудов (Ссылки на источники литературы представлены в тексте). Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307

1.10 Уровень физико-химической молекулярной системы

1.10.1 Времена жизни одиночных ионных каналов

Воротный механизм ионного канала - это объединение структурных элементов макромолекулярного трансмембранного комплекса ионного канала, отвечающего за управление величиной ионного тока через селективный центр канала. Первоначальное представление о наличии в структуре канала выделенной воротной частицы было сформировано как предположениями, легшими в основу модели Ходжкина и Хаксли, так и экспериментами с обработкой мембраны нейрона протеолитическим ферментом Проназой, вызывавшей устранение инактивационного процесса у

натриевых каналов (Armstrong et al., 1973) или мутациями, вызвавшими устранение инактивационного процесса у калиевого канала (Hoshi et al., 1990). В результате, на долгие годы в функциональные схемы ионных каналов были введены отдельные воротные частицы (Hille, 2001). В дальнейшем было выяснено, что инактивационный и воротный процессы ионных каналов обеспечиваются различными структурными элементами: у калиевых каналов инактивационный процесс обеспечивается небольшой глобулярной структурой, расположенной на N-конце (Zagotta et al., 1990) а внутриклеточный воротный процесс S6-сегментом (Kuang et al., 2015), кроме того, выделяют еще и внеклеточный воротный механизм (хотя уместнее его назвать воротным механизмом, связанным с селективным фильтром) (Imai et al., 2010). Все эти воротные процессы, в эксперименте, реализуют динамику тока в форме "все-или-ничего" т.е. триггерный режим переключения канала из полностью проводящего состояния в полностью непроводящее (Рисунок 9) с временем переключения менее 1 мс.

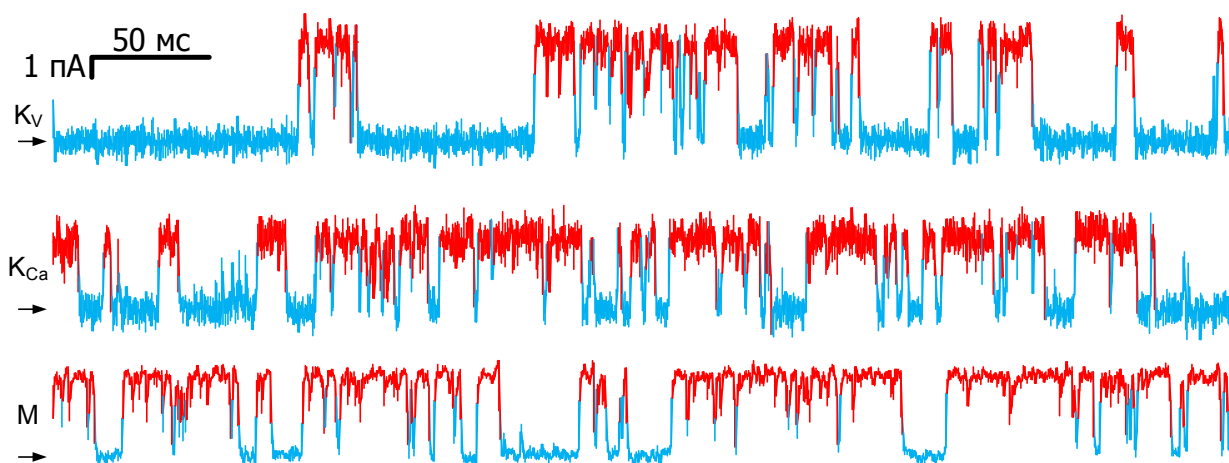


Рисунок 9. Записи ионных токов через одиночные потенциалозависимый K^+ канал из мембраны нейрона *Lymnaea st* (K_v), кальций-зависимый K^+ канал из мембраны культивируемых почечных клеток Vero (K_{Ca}) и модельного канала с учетом гидростатического давления в области поры (Гриневич & Асташев, 2019) (M). Стрелками указан уровень нулевого тока, красным цветом указаны времена нахождения каналов в открытом состоянии, синим цветом указаны времена нахождения каналов в закрытом состоянии при простой пороговой дискриминации состояний. Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173

Анализ активности одиночного канала по записи тока через него традиционно включает в себя выделение "открытых" и "закрытых" состояний с помощью простого порогового алгоритма для формирования массивов нумерованных времен жизни канала в открытом и закрытом состоянии (Brazhe et al., 2004). Для дальнейшего анализа данных массивов предложено несколько вариантов анализа:

1. Анализ распределений времен жизни с целью определения констант скорости конформационных переходов для определения параметров Марковских моделей (Рисунок 10)

(Linaro & Giugliano, 2022). Или вероятностей нахождения канала в открытом состоянии.

2. Анализ последовательностей времен жизни как временных рядов с целью выявления эффектов долговременной памяти, фрактальных свойств с помощью преобразования Фурье (Kazachenko et al., 2001) или методов анализа фрактальных параметров (Brazhe et al., 2004; Kazachenko et al., 2007; Kazachenko et al., 2004).

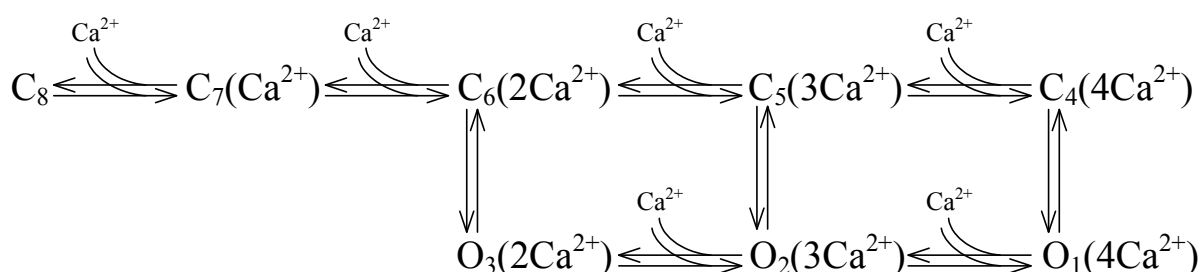


Рисунок 10. Марковская модель K_{Ca} -канала. Данная модель с восемью фиксированными состояниями описывает переходы канала между конформационными состояниями в процессе связывания до четырех ионов кальция с цитозольной стороны мембраны. Состояния, обозначенные как "С" соответствуют закрытому функциональному состоянию канала; состояния, обозначенные как "О" соответствуют открытому функциональному состоянию канала. Каждой стрелочке перехода соответствует своя скорость реакции, которую можно получить из соответствующего мультиэкспоненциального распределения времен жизни канала в функциональных состояниях при одноканальной регистрации, что дает возможность моделировать кинетику канала. Из (McManus & Magleby, 1991).

Ионные каналы в клеточных мембранах представляют собой белки, которые образуют закрытые поры, обеспечивающие пассивный транспорт ионов по градиенту их электрохимического потенциала (Hille, 1978). Вероятность их открывания и закрывания регулируется соответствующим управляющим сигналом, таким как трансмембранный потенциал, связывание или диссоциация лиганда, механическое напряжение мембраны, pH, температура.

Их переключение между функционально различными (по току) состояниями можно математически описать как цепь Маркова с зависящей от напряжения скоростью перехода между небольшим набором дискретных состояний (Рисунок 10). Такая модель соответствует микроскопической картине канала как макромолекулярного ансамбля, претерпевающего конформационные изменения. Воротный процесс представляет собой обобщенное движение в определенном «энергетическом ландшафте», а дискретные Марковские состояния соответствуют локальным минимумам энергии. Скорости переходов отражают термоактивированные скачки через энергетические барьеры, разделяющие минимумы. На практике как топология (количество и связность дискретных состояний), так и параметры перехода таких моделей разрабатываются в соответствии с экспериментальными данными, которые в основном поступают в виде электрофизиологических записей одиночных ионных каналов под действием соответствующих управляющих сигналов (Bezanilla et al., 1994; Schoppa & Sigworth, 1998; Stefani et al., 1994).

Кинетика открытия одиночных ионных каналов может быть исследована с использованием дискретного вейвлет-преобразования кинетики канала и трансмембранного потенциал (Chen et al., 2007; Kargol, 2013). Математическое моделирование кинетики ионных каналов является важным инструментом для изучения электрофизиологических механизмов нервных клеток, сердца или раковых клеток, при рассмотрении физиологических систем от уровня отдельной клетки до уровня целого органа.

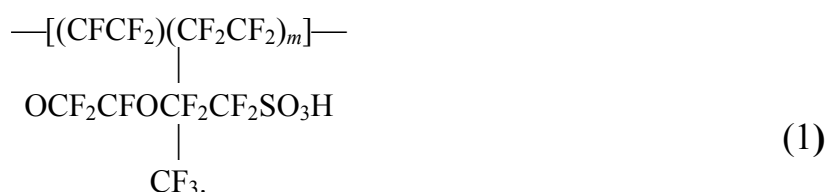
Нелинейные свойства кинетики одиночных ионных каналов подробно исследованы: получены данные о персистентности процессов открывания и закрывания ионных калиевых каналов в нейронах прудовика (Kazachenko et al., 2004), кальций-зависимого канала в почечных клетках Vero (Brazhe et al., 2004), также исследованы нелинейные свойства переходов в искусственном аламетициновом канале (Astashev et al., 2007). Эти данные свидетельствуют о том, что в канале присутствует сохранение информации о предыдущих

состояниях в широком диапазоне характерного времени (long-term memory). Данный результат может быть объяснен при рассмотрении молекулярного комплекса канала не в виде жесткой механистической структуры с фиксированными состояниями (как в Марковской модели), а в виде лабильной, вязкой глобулы, имеющей непрерывный многомерный профиль возможных конформационных состояний. С другой стороны, результаты, полученные на аламетициновом канале - несравненно более простом объекте, чем потенциалозависимый природный канал, могут свидетельствовать о том, что данный эффект связан с окружающей канал мембраной, ее вязкостью и фазовыми переходами липидов в ней под действием температурных воздействий, что также исследовалось путем эквимоллярной замены части носителя заряда - ионов калия- на непроникающий катион N-метил-D-глюкамин (Асташев и др., 2004). Однако все эти данные получены при независимом анализе последовательностей времен жизни открывания и закрывания канала

Калиевые ионные каналы, обладающие нелинейными свойствами, являются возможной основой появления нелинейных свойств у электровозбудимых клеток (Ude et al., 2012), и это в принципе, показывает возможность вертикального распространения нелинейных свойств объектов разного уровня, когда нелинейные свойства объекта более низкого уровня организации обуславливают наличие нелинейных свойств у объекта более высокого уровня.

1.10.2 Осцилляции хемилюминесценции воды²

Ранее нами были обнаружены осцилляции интенсивности хемилюминесценции воды, предварительно обработанной лазерным излучением с длиной волны 1264 нм (Gudkov et al., 2011). Сам эффект хемилюминесценции заключается в появлении увеличенного количества квантов света от образца воды со скоростью потока квантов около 40-60 фотонов в секунду, причем данное увеличение происходит не мгновенно, наблюдается лаг-период длиной 0,5-1,5 часа и дальнейший выход на стационарный уровень эмиссии фотонов, который сохраняется в течение 8-15 часов. Данный эффект можно убрать путем удаления кислорода из водного образца путем вакуумной дегазации, кипячением, вытеснением кислорода путем барботирования инертными газами. Это явление также называют свето-кислородным эффектом. Также было установлено, что в процессе хемилюминесценции наблюдаются периодические флуктуации. В настоящее время наиболее распространенной мембраной для низкотемпературных (< 1000° С) топливных элементов является перфторированная ионообменная мембрана нафийон (NafionTM), разработанная компанией DuPont (Heitner-Wirguin, 1996). Нафийон представляет собой сополимер тетрафторэтилена и сомономеров, имеющих боковые цепи перфторированного винилового эфира, оканчивающиеся сульфогруппами (Mauritz & Moore, 2004):



Здесь m - количество боковых цепей. При набухании нафийона в воде в нем образуются каналы размером 2 – 3 нм. При этом концевая SO_3H -

² По материалам статей автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Bolotskova P. N., Bunkin N. F., Gudkov S. V., Kozlov V. A., Okuneva M. A. Swelling of Polymer Membrane in an Aqueous Protein Suspension: Photoluminescence Spectroscopy Experiments // Physics of Wave Phenomena. – 2021. – Т. 29, № 2. – С. 123-130. DOI: 10.3103/s1541308x21020035; Astashev M. E., Serov D. A., Sarimov R. M., Gudkov S. V. Influence of the Vibration Impact Mode on the Spontaneous Chemiluminescence of Aqueous Protein Solutions // Physics of Wave Phenomena. – 2023. – Т. 31, № 3. – С. 189-199. DOI: 10.3103/s1541308x23030020.

сульфогруппа диссоциирует в воде с отрывом протона: $R-SO_3H + H_2O \rightleftharpoons R-SO_3^- + H_3O^+$, т.е. внутренняя поверхность образующихся каналов заряжена отрицательно. Поэтому внутрь таких каналов втягиваются положительные ионы, а отрицательные - отталкиваются, что и обуславливает ионообменные свойства мембраны нафiona. Это вызывает интерес у биофизиков, поскольку точно так же ведут себя клеточные мембраны: селективно пропускают один тип ионов и выталкивают другой (Ивков В. Г., 1982). Кроме того, набухший в воде нафion проявляет гидрофильные свойства, т.е. должен оказывать влияние на приповерхностные слои воды. Следует отметить, что проблема взаимодействия гидрофильной либо гидрофобной поверхности с полярными жидкостями до сих пор полностью не решена (Ninham & Lo Nostro, 2010). Тем не менее, общепринятая точка зрения заключается в том, что пространственный масштаб, внутри которого молекулярная структура воды изменена за счет взаимодействия с твердой подложкой, порядка нескольких нанометров, что связано с короткодействующими дисперсионными силами.

В то же время, согласно работам (Chai et al., 2009; Pollack, 2013), в воде вблизи поверхности нафiona возникает протяженная область, из которой эффективно выталкиваются коллоидные частицы микронного размера, поэтому в статье (Chai et al., 2009) эта область была названа исключенной зоной (exclusion zone). По данным просвечивающего оптического микроскопа (Chai & Pollack, 2010), размер этой области порядка 220 мкм, растет со временем (Chai & Pollack, 2010; Chai et al., 2009) и зависит от диаметра коллоидных частиц, их концентрации и химического состава (Zheng & Pollack, 2003).

Следуя результатам (Pollack, 2013), вода в исключенной зоне представляет собой специфическую, четвертую фазу воды. Поэтому возникает интерес провести исследования различных физических эффектов, достоверно установленных в объеме обычной жидкой воды, в исключенной зоне. Одним

из таких эффектов является возбуждение люминесценции, обусловленной рекомбинацией радикалов, относящихся к так называемым активным формам кислорода (АФК) (Bruskov et al., 2009). В основе данного явления лежит феномен возбуждения молекулярного кислорода растворенного в воде с помощью лазерных излучений с $\lambda = 632,8$ или 1264 нм соответствующих максимумам поглощения кислорода. При этом молекулярный кислород переходит из триплетного в синглетное состояние, это явление также называют свето-кислородным эффектом (Gudkov et al., 2011).

1.11 Нелинейные преобразователи в биологических системах.

Биологическая система, сама по себе, является в высшей степени нелинейной. Это означает, что приложение к такой системе, например, гармонического сигнала приведет к регистрации сигнала, содержащего большое количество гармоник, либо наоборот, фильтрующие свойства системы приведут к подавлению части входного сигнала. В биологических системах можно выделить, как минимум, три очевидных нелинейных преобразователя сигнала: релаксационные колебательные системы, диффузионно-дрейфовые процессы, и концентрационные зависимости лиганд-рецепторных взаимодействий. Это не исчерпывающий список. Кроме того, биологические сети различного уровня организации способны к многократному усилению нелинейных свойств своих отдельных элементов.

1.11.1 Релаксационные колебательные системы в биологии

Релаксационные генераторы хорошо известны и широко применяются в радиотехнике. Математическое описание для релаксационного генератора было предложено Ван-дер-Полем в 1927 году (van der Pol, 1927). Уравнение осциллятора Ван-дер-Поля имеет вид:

$$\frac{d^2x}{dt^2} - \mu(1 - x^2)\frac{dx}{dt} + x = 0 \quad (2)$$

где μ - нелинейный коэффициент, задающий в системе силу затухания (диссипацию).

На основе этой модели в 1961 году была предложена модель ФитцХью — Нагумо (другое название - уравнение Бонхёффера — ван дер Поля) (FitzHugh, 1961; Nagumo et al., 1962) для описания колебательного режима в обобщенной модели нейрона Ходжкина-Хаксли (в безразмерных переменных):

$$\begin{aligned}\frac{dv}{dt} &= f(v) - w + I_s, \\ \frac{dw}{dt} &= \phi(v - \gamma w) \\ f(v) &= v(1 - v)(v - a),\end{aligned}\tag{3}$$

где v - обозначает мембранный потенциал, w - переменная медленного восстановления, γ - положительная константа. Данная модель демонстрирует бистабильное поведение (см. Рисунок 11) (Cebrián-Lacasa et al., 2024), не содержа внутри себя тригерных элементов, поэтому генерирует дифференцируемые временные последовательности траекторий. Хорошее сравнение динамики колебаний нейрона, моделируемого с помощью моделей ФитцХью — Нагумо и Ходжкина-Хаксли приведено в работе (Baladron et al., 2012).

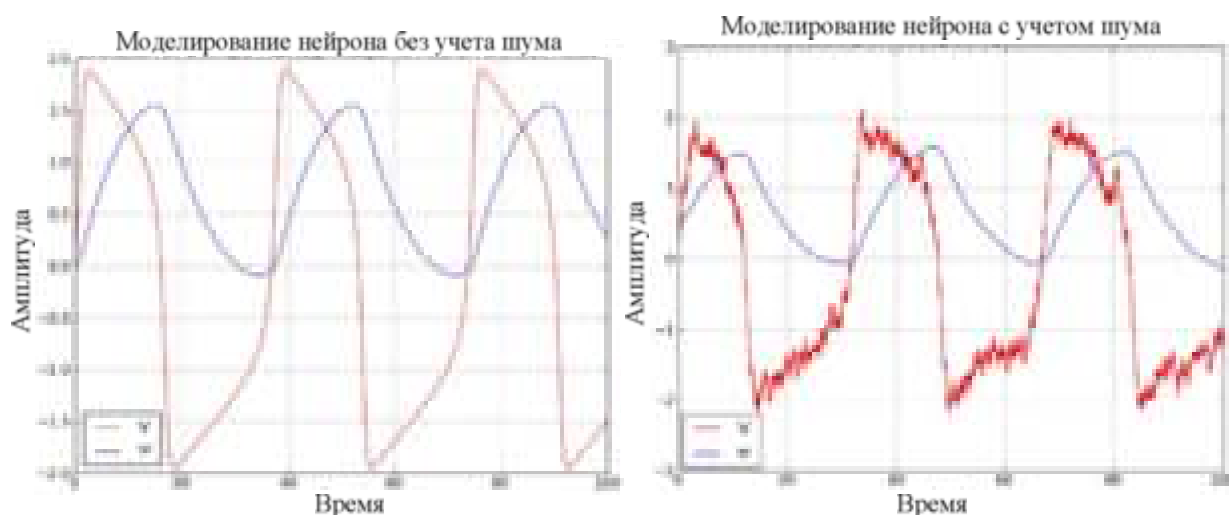


Рисунок 11. Динамика поведения мембраны нейрона в модели ФитцХью — Нагумо (из (Baladron et al., 2012) с изменениями) без учета шума и супрессия при учете шума.

Уравнение Бонхёффера — ван дер Поля является основой для моделирования широкого круга биофизических задач (Мищенко Е. Ф., 1995) и активно исследуется до сих пор в различных приложениях, включая сокращение кардиомиоцитов (Gonzalez Herrero et al., 2021), динамику трансмембранного потенциала нейронов (Doruk & Abosharb, 2019; Fisco-Compte et al., 2024), нейрональных сетей (Chinichian et al., 2024), циркадных ритмов С4 растений (Hartzell et al., 2015). Вариации данной модели способны воспроизводить основные нелинейные волны с колебательными хвостами, а именно фронты, импульсы и волновые цуги (Zemskov et al., 2021). При определенных условиях (Winfrey, 1991), кубичная модель ФитцХью — Нагумо способна в двумерной среде генерировать плоские автоволны, а в модифицированном виде используется для моделирования автоволновых процессов (Chekanov et al., 2021). Сеть нейронов, моделируемых с помощью уравнения ФитцХью — Нагумо способна проявлять частотно-фильтрующие свойства, т.е. выступать в роли полосового фильтра (Zhao et al., 2006), что может объяснить локализацию ритмической активности в центральной нервной системе и микроциркуляторном русле. Кроме того, при шумовой (Baladron et al., 2012)

или высокочастотной стимуляции модели возможен срыв (суппрессия) колебательного режима (Cubero et al., 2006).

1.11.2 Диффузионно-дрейфовые процессы

Процесс перераспределения носителей заряда под действием неравновесного процесса выравнивания концентраций под действием теплового движения частиц приводит к появлению диффузионного тока. Диффузионный ток подчиняется первому закону Фика, пропорционален и обратно направлен к вектору градиента концентрации. Коэффициент пропорциональности называется коэффициентом диффузии и зависит от подвижности данного носителя заряда в среде. Токи, возникающие под действием кулоновской силы электрического поля на носители заряда в распределенной среде называют дрейфовыми.

Диффузионно дрейфовые модели используются для решения ряда задач физики полупроводников (Benaichi et al., 2019; Jerome & Kerkhoven, 1991), газов (Surzhikov, 2024), плазмы (DeChant et al., 2023), водных растворов электролитов (Murad, 2011), при моделировании ионной проницаемости ионных каналов (van der Straaten et al., 2003), а также в мембранных электрохимических процессах в одномерном случае (уравнение Нернста, Уравнение Гольдмана-Ходжкина-Катца (Katz, 1966)), фактически, везде, где присутствует набор разнородных носителей заряда, различающихся по подвижности в среде, или в задачах с неоднородной по диффузии средой.

При регистрации ряда электрофизиологических сигналов (электроэнцефалограмм, электрокардиограмм и др.) регистрируемые сигналы лежат в области значительно более низких частот (единицы и десятки Гц), чем спектральные диапазоны исходных сигналов потенциалов действия электровозбудимых клеток. Причина изменений заключается в интегрирующих свойствах самой межклеточной среды, формирование потенциала в которой можно описать уравнением Пуассона (Kajikawa & Schroeder, 2011):

$$\varphi(\vec{r}) = \frac{1}{4\pi\sigma} \int \frac{q(\vec{r} - \vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' . \quad (4)$$

Т.е. потенциал в точке нахождения электрода является интегралом (суммой) наведенных потенциалов всех окружающих зарядов. При этом распределение зарядов в пространстве является результатом диффузионно-дрейфовых процессов. А геометрию линейных участков нейронов учитывают в приближение линейного источника (Nenadic & Burdick, 2006). Таким образом, весь процесс интегрирования потенциалов отдельных нейронов можно представить в виде эквивалентной схемы (Рисунок 12). Данная схема показывает, что при регистрации локального полевого потенциала электродом среда является сумматором и интегратором сигналов отдельных нейронов, в результате чего высокочастотные компоненты (вплоть до 1 кГц), содержащиеся в потенциалах действия фильтруются и в регистрируемый сигнал не попадают.

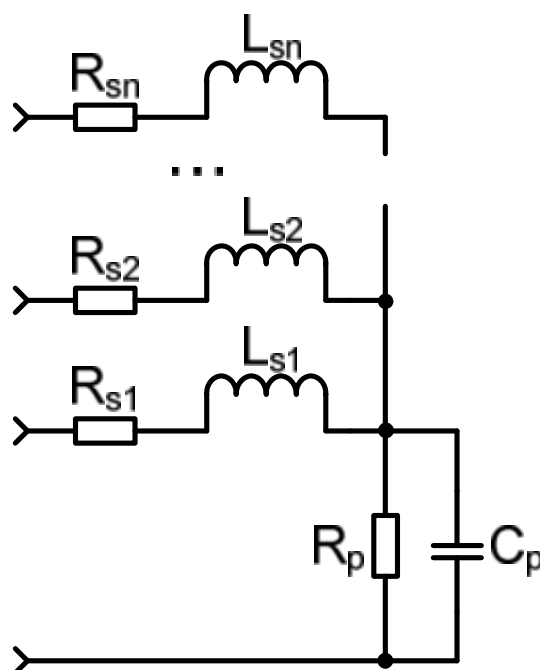


Рисунок 12. Эквивалентная схема процесса формирования локального полевого потенциала электрода из отдельных потенциалов нейронов. R_{sn} - сопротивление среды, учитывающее также и расстояние от конкретного нейрона до электрода. L_{sn} - индуктивность, моделирующая медленные дрейфовые процессы. R_p - входное сопротивление электрода и утечка среды распространения сигнала. C_p - входная емкость электрода, а также буферные свойства среды. Рисунок автора.

1.11.3 Концентрационные зависимости лиганд-рецепторных взаимодействий

Взаимодействие лиганда с рецептором представляет собой фундаментальный биологический процесс, в ходе которого молекулы лиганда специфически связываются с рецепторами на поверхности клеток, сообщая клетке необходимые сигналы и вызывая различные клеточные реакции. Специфичность связывания лиганда обеспечивается электростатическими силами взаимодействия и геометрией места связывания (Attie & Raines, 1995).

В простом случае, когда у рецептора единственное место связывания и для реакции достаточно однократного лиганд-рецепторного взаимодействия,

зависимость доли активированного рецептора вычисляется с помощью уравнения Михаэлиса-Ментен (Michaelis et al., 2011):

$$\frac{[RL]}{[R]_{total}} = \frac{[L]}{K_A + [L]} \quad (5)$$

В случае наличия у рецептора нескольких мест связывания, которые должны быть одновременно заполнены для перехода рецептора в активное состояние (кооперативное связывание), данное уравнение переходит в уравнение Хилла-Ленгмюра (Hill, 1910):

$$\frac{[RnL]}{[R]_{total}} = \theta = \frac{[L]^n}{K_A^n + [L]^n} \quad (6)$$

где θ - доля активированного рецептора, $[RnL]$ -концентрация лиганд-рецепторного комплекса, $[R]_{total}$ - общая концентрация рецептора, $[L]$ - концентрация лиганда, $[K_A]$ - концентрация половинного эффекта, n - коэффициент Хилла, характеризующий количество молекул лиганда, необходимых для кооперативной активации рецептора.

Рисунок 13 показывает различные концентрационные зависимости при значениях коэффициента Хилла 1, 2 и 4 в линейных и логарифмических координатах по оси абсцисс, а также вторую производную для оценки степени нелинейности графика. Данные графики имеет следующие особенности:

- насыщение - при $[L] \gg K_A$, т.е. при больших концентрациях график зависимости асимптотически стремится к 1;
- в районе около $[L]=K_A$ наблюдается наиболее линейный участок, (вторая производная около 0) особенно при высоком коэффициента Хилла.

Потенциало-зависимость вероятности открытого состояния ионных каналов также выглядит как сигмоидальная зависимость, причем в линейных по потенциалу координатах.

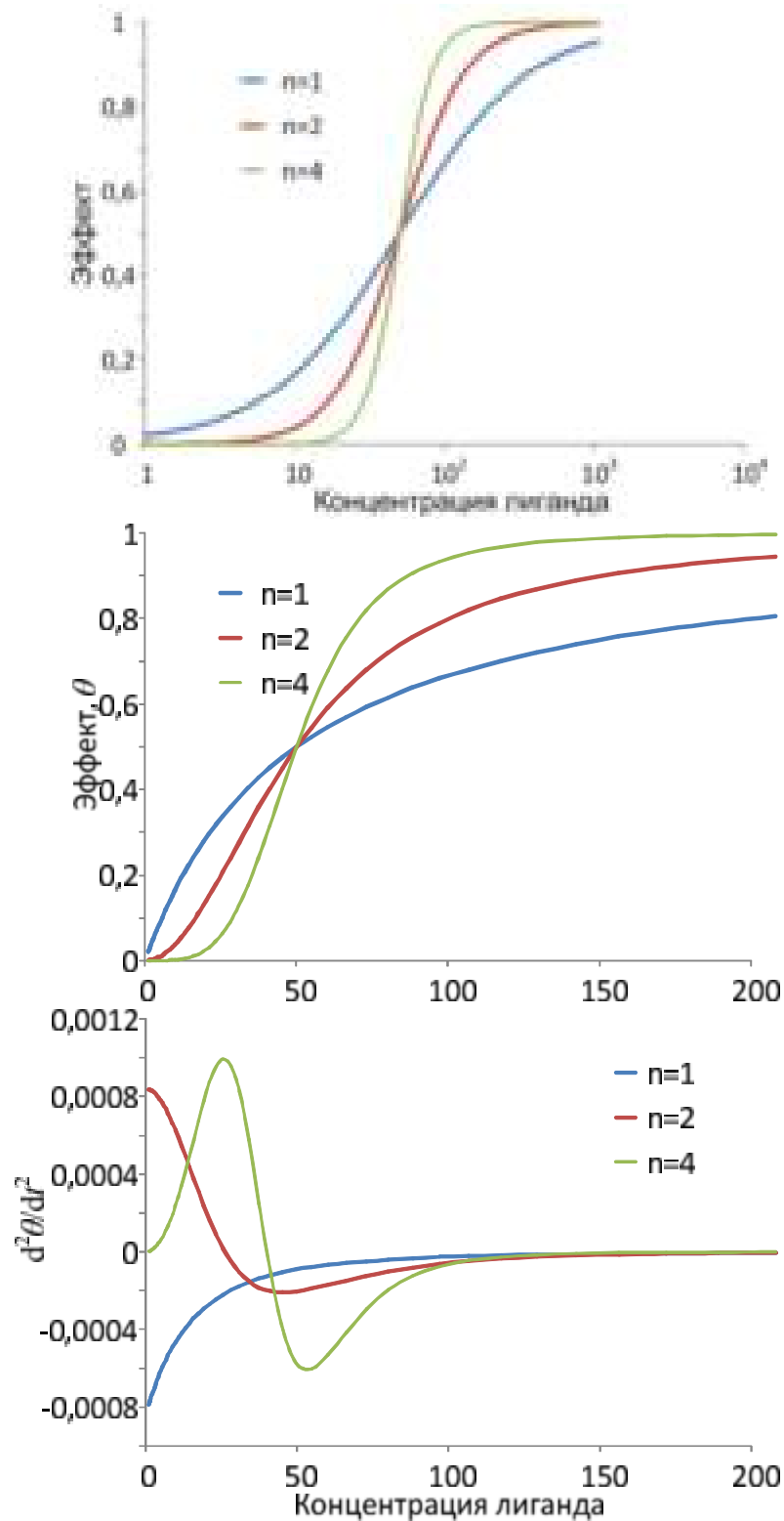


Рисунок 13. Концентрационные зависимости активации фермента при значениях коэффициента Хилла 1, 2 и 4. Верхний график - логарифмические координаты по оси абсцисс, средний график - линейные координаты по оси абсцисс, нижний график - вторая производная активации фермента. Графики построены автором на основе уравнения Хилла-Ленгмюра (Hill, 1910).

1.12 Программное обеспечение и лабораторное оборудование с открытым исходным кодом и схемами

В последние годы развивается направление разработки лабораторного оборудования с открытой технической документацией, допускающей его повторение, для которого принято обозначение Open-Source Lab (Pearce, 2014). Это касается научного программного обеспечения (Dempster), и такого лабораторного оборудования, как усилитель токов для БЛМ (Barnes et al., 2014), робот для молекулярно-биологических исследований, [396] и многого другого. Рывок в области самостоятельной разработки научного оборудования связан со следующими обстоятельствами:

- 1) доступной технологией 3D-печати;
- 2) распространением управляющих контроллеров типа Arduino,
- 3) открытием библиотек программного обеспечения и моделей для 3D печати [397] в сети Интернет;
- 4) формированием многочисленной аудитории авторов-пользователей.

Моторизация микроскопа позволят автоматизировать многие рутинные экспериментальные операции. Схема моторизации оптико-механического узла состоит из вращательного или линейного шагового мотора, датчика положения и схемы управления. В связи с распространением техники 3D-печати, перешли в разряд продуктов массового производства и стали весьма доступны компоненты для создания 3D-принтеров: шаговые моторы, линейные направляющие, приводные ремни, датчики положения и микропроцессорные электронные блоки для числового программного управления шаговыми моторами и нагревателями экструдера и стола. Существует несколько открытых проектов разработки оптико-механических компонентов, например колес для автоматической смены интерференционных фильтров, правда, для любительской астрономии (Dempster, 2025), также есть подходящее Open-Source программное обеспечение для ПК (Dempster, 2025).

1.13 Синхронное измерение флуоресценции Fura-2 и DAF-FM

Цитоплазматическая концентрация иона кальция является важным маркером происходящих в клетке процессов, поскольку цитоплазматический кальций является универсальным регулятором многих внутриклеточных процессов (Bootman & Bultynck, 2020), включая пролиферацию, секрецию, метаболизм, сокращение и другие. Оксид азота является более специфической сигнальной молекулой, тем не менее, управляет, например расслаблением гладких мышц, в том числе при вазодилатации, синтезируясь в эндотелиоцитах и диффундируя до гладкомышечных клеток (Andreeva et al., 2023). Синхронное измерение цитоплазматической концентрации иона кальция и продукции оксида азота возможно при использовании комбинированного окрашивания клеток цитоплазматическими флуоресцентными красителями Fura2-AM и DAF-FM (Berkels et al., 2000; Yi et al., 2002). Сравнивая спектры возбуждения и эмиссии данных красителей (Рисунок 14), видно, что спектры возбуждения данных красителей достаточно хорошо распределены и имеют максимумы 340 нм (Fura-2 со связанным ионом кальция), 380 нм (Fura-2 без иона кальция) и 488 нм (Daf-FM). При этом, спектры эмиссии совпадают в области 510-600 нм, что позволяет регистрировать флуоресценцию данных красителей, применяя простое переключение длины волны источника флуоресцентного освещения микроскопа.

Наличие в ассортименте светоизлучающих диодов источников с центральной длиной волны спектра излучения 340 нм (например, M340D4, Thorlabs, USA), 385 нм (например, M385D2, Thorlabs, USA) и 490 нм (например, M490D3, Thorlabs, USA), позволяет сконструировать простой источник освещения с объединением коллимированных пучков с помощью соответствующих дихроических зеркал.

Однако, успешных примеров реализации такой схемы измерения в литературе не много, в 2005 году была опубликована работа по измерению

выброса NO эндотелиоцитами в ответ на аппликацию инсулина (Hartell et al., 2005).

Синхронное одновременное измерение цитоплазматических концентраций иона кальция и продукции NO дает возможность заглянуть во внутрь метаболического пути каждой отдельной клетки, получая качественно новую и более объемную информацию.

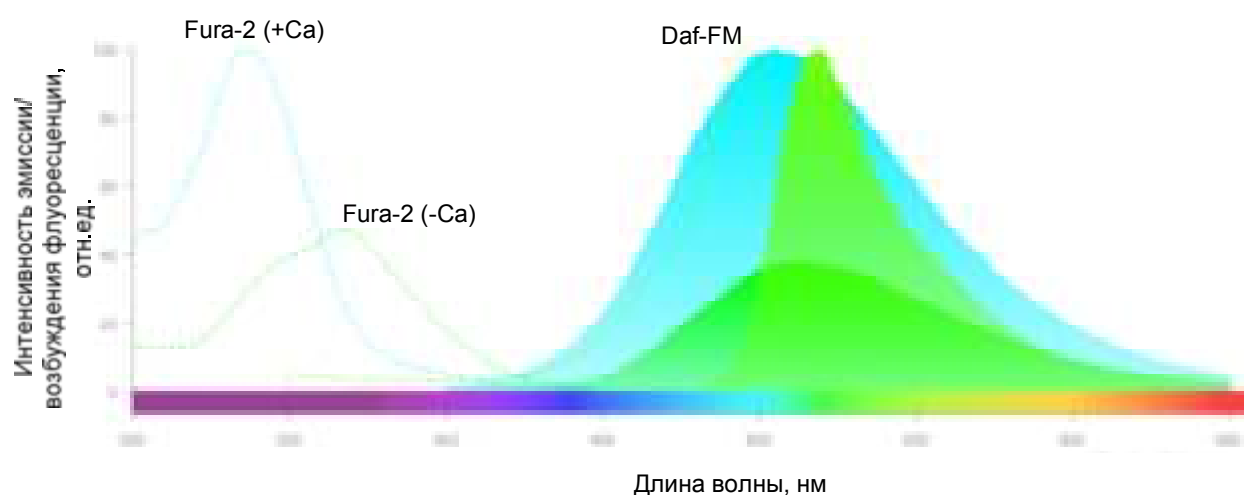


Рисунок 14. Спектры флуоресценции красителей Fura-2 и Daf-FM. Штриховыми линиями указаны спектры возбуждения флуоресценции. Сплошная заливка соответствует спектрам эмиссии флуоресценции. Подписями указано соответствие спектров возбуждения красителю и связанности красителя Fura-2 с ионом кальция. Спектры эмиссии по цвету соответствуют спектрам возбуждения. Графики построены в системе SpectroViewer, Thermofisher (<https://www.thermofisher.com/order/fluorescence-spectraviewer/#/>), дата обращения 18.06.2024).

1.14 Фазовая вейвлет-когерентность.

Для исследования синхронизации многоканальных сигналов как в частотном, так и во временном представлении одновременно с помощью вейвлет-преобразования в литературе используются 2 родственных метода: метод фазовой когерентности (Bandrivsky et al., 2004; Sheppard et al., 2012) и метод кросс-корреляции (Podtaev et al., 2008), причем в последнем источнике

указано, что они идентичны. Но несмотря на схожесть этих методов, они все таки различны. Метод фазовой когерентности основан на формуле:

$$\rho = \left| \left\langle e^{j(\phi_1 - \phi_2)} \right\rangle \right|, \quad (7)$$

где ρ - коэффициент фазовой когерентности, принимающий значения от 0 до 1, ϕ_1 и ϕ_2 - фазы исследуемых гармонических сигналов, т.е. $\phi = \omega t + \varphi$. Скобки $||$ означают модуль комплексного числа, а скобки $\langle \rangle$ усреднение значений (например, по времени). При сравнения фаз исследуемых сигналов одной и той же частоты, $\phi_1 - \phi_2 = \varphi_1 - \varphi_2$. В случае применения указанной выше формулы к результату комплексного вейвлет-преобразования (т.е. к результату фильтрации исследуемых сигналов вейвлет-фильтрами) коэффициент фазовой когерентности вычисляется следующим образом:

$$W_1(\omega, t) = a_1(\omega, t) + jb_1(\omega, t) = |W_1(\omega, t)|e^{j(\omega t + \phi_1(\omega, t))}, \quad (8)$$

$$W_2(\omega, t) = a_2(\omega, t) + jb_2(\omega, t) = |W_2(\omega, t)|e^{j(\omega t + \phi_2(\omega, t))}, \quad (9)$$

$$\rho(\omega) = \left| \left\langle e^{j(\phi_1 - \phi_2)} \right\rangle \right| = \left| \left\langle \frac{W_1(\omega, t)W_2^*(\omega, t)}{|W_1(\omega, t)||W_2(\omega, t)|} \right\rangle \right| = \left| \left\langle \cos \Delta\phi(\omega, t) + j \sin \Delta\phi(\omega, t) \right\rangle \right| = \sqrt{\left\langle \cos \Delta\phi(\omega, t) \right\rangle^2 + \left\langle \sin \Delta\phi(\omega, t) \right\rangle^2}, \quad (10)$$

$$\cos \Delta\phi(\omega, t) = \frac{a_1(\omega, t)a_2(\omega, t) + b_1(\omega, t)b_2(\omega, t)}{\sqrt{a_1^2(\omega, t) + b_1^2(\omega, t)}\sqrt{a_2^2(\omega, t) + b_2^2(\omega, t)}}, \quad (11)$$

$$\sin \Delta\phi(\omega, t) = \frac{b_1(\omega, t)a_2(\omega, t) - a_1(\omega, t)b_2(\omega, t)}{\sqrt{a_1^2(\omega, t) + b_1^2(\omega, t)}\sqrt{a_2^2(\omega, t) + b_2^2(\omega, t)}}, \quad (12)$$

$$\sin \Delta\phi(\omega, t) = \frac{b_1(\omega, t)a_2(\omega, t) - a_1(\omega, t)b_2(\omega, t)}{\sqrt{a_1^2(\omega, t) + b_1^2(\omega, t)}\sqrt{a_2^2(\omega, t) + b_2^2(\omega, t)}}, \quad (13)$$

где W_1 и W_2 - коэффициенты комплексного непрерывного вейвлет преобразования сигналов первого и второго канала с материнской функцией Морле (или аналогичной), а и b - действительная и мнимая часть соответствующего вейвлет коэффициента. Именно эти формулы приведены в работе (Bandrivskyu et al., 2004). По этим формулам видно, что при усреднении информация о *модуле* комплексного вейвлет-коэффициента полностью теряется, т.е. усреднение выглядит как векторное суммирование векторов единичной длины в комплексной плоскости (Рисунок 15). Такой

подход оказывается плодотворным в случае работы с сигналами, в которых сфазированные компоненты имеют постоянную, относительно высокую амплитуду и практически отсутствует высокоамплитудный не скоррелированный шум, иначе говоря, с процессами со *стационарным* колебательным режимом. При нестационарном колебательном режиме, например, при амплитудной модуляции сигналов, в периоды времени, пока амплитуда сигнала мала, вклад высокоамплитудного шума может полностью заглушить вклад полезного сигнала и вычисление фазы будет проведено со значительной ошибкой, т.е. коэффициент фазовой когерентности, при такой схеме вычисления, будет зависеть не только от степени когерентности сигналов разных каналов, но и от доли когерентного сигнала в суммарной мощности на данной частоте. Другими словами, для работы с нестационарными сигналами такой метод подходит плохо.

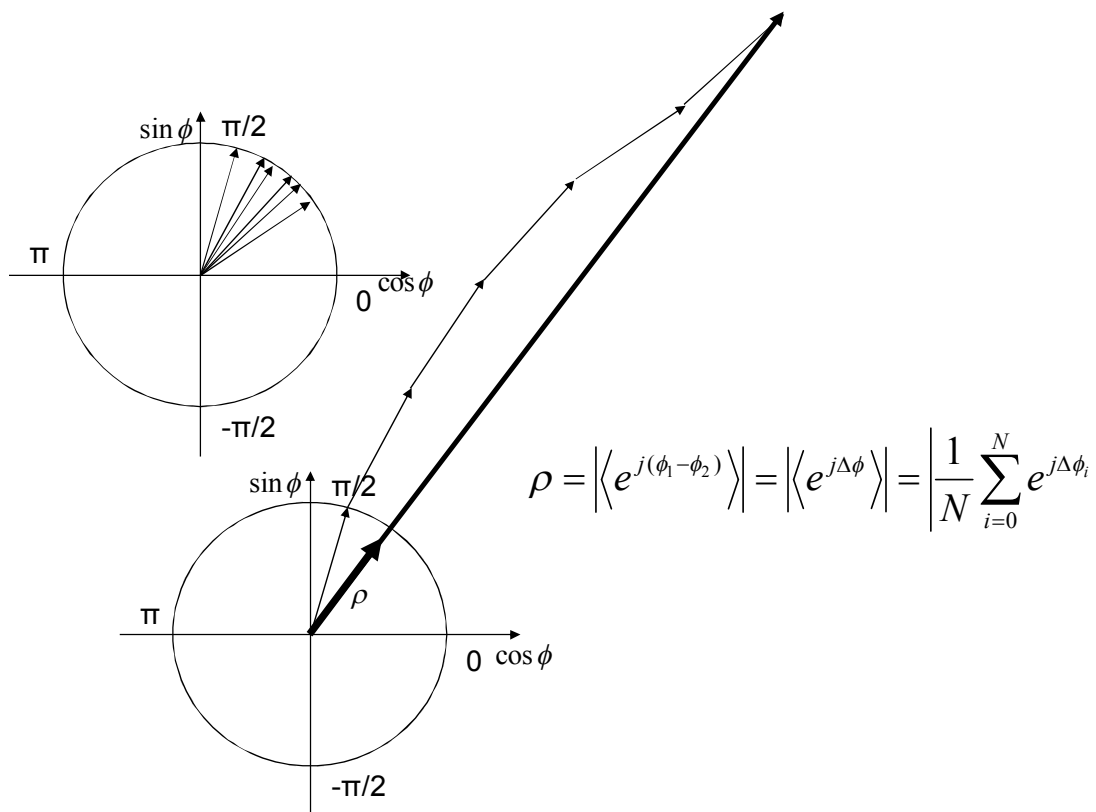


Рисунок 15. Векторная схема расчета фазовой вейвлет-когерентности. На рисунке в представлен расчет векторной суммы комплексных чисел с единичным модулем. Рисунок автора.

Метод кросс-корреляции (Podtaev et al., 2008) использует немного другую формулу, определяя коэффициент кросс-корреляции как:

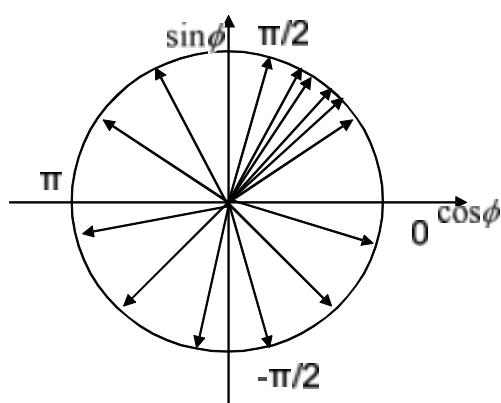
$$C(\omega) = \frac{\langle W_1(\omega, t) W_2^*(\omega, t) \rangle_t}{\sqrt{\langle W_1(\omega, t) W_1^*(\omega, t) \rangle_t \langle W_2(\omega, t) W_2^*(\omega, t) \rangle_t}} = \frac{\langle |W_1(\omega, t)| |W_2(\omega, t)| e^{j(\phi_1 - \phi_2)} \rangle}{\sqrt{\langle |W_1(\omega, t)|^2 \rangle \langle |W_2(\omega, t)|^2 \rangle}}, \quad (14)$$

$$\text{Re } C(\omega) = \frac{\langle a_1(\omega, t) a_2(\omega, t) + b_1(\omega, t) b_2(\omega, t) \rangle_t}{\sqrt{\langle a_1^2(\omega, t) + b_1^2(\omega, t) \rangle_t \langle a_2^2(\omega, t) + b_2^2(\omega, t) \rangle_t}}, \quad (15)$$

$$\text{Im } C(\omega) = \frac{\langle b_1(\omega, t) a_2(\omega, t) - b_2(\omega, t) a_1(\omega, t) \rangle_t}{\sqrt{\langle a_1^2(\omega, t) + b_1^2(\omega, t) \rangle_t \langle a_2^2(\omega, t) + b_2^2(\omega, t) \rangle_t}}. \quad (16)$$

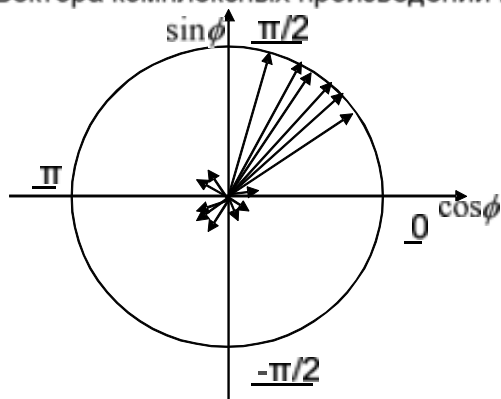
таким образом, усреднение выглядит как сложение векторов, *сохраняющих* информацию об амплитудной характеристике - модуле вейвлет-коэффициента (Рисунок 16). И в этом случае низкоамплитудный шум не окажет заметного влияния на результат, поскольку при сложении векторов, вектора с малым модулем но значительной ошибкой в фазе не внесут значительного вклада в результат интегрирования.

Вектора комплексных произведений в методе вейвлет-когерентности



$$\rho = \left| \left\langle e^{j(\phi_1 - \phi_2)} \right\rangle \right|$$

Вектора комплексных произведений в методе кросс-корреляции



$$C(\omega) = \frac{\left| \left\langle A_1 A_2 e^{j(\phi_1 - \phi_2)} \right\rangle \right|}{\left\langle A_1 A_2 \right\rangle}$$

Рисунок 16. Сравнение методов вейвлет-когерентности и кросс-корреляции по способу подсчета накопленной суммы комплексных произведений вейвлет-коэффициентов. Рисунок автора.

Также представляет интерес организация нормировки накопленной суммы, т.е. организация знаменателя в формуле для $C(\omega)$. В работе (Podtaev et al., 2008) в качестве нормировки используют произведение средне-квадратических отклонений модулей соответствующих вейвлет-коэффициентов. И снова возникает вопрос: а что если исследуемые сигналы достаточно нестационарны, или, например, в одном из анализируемых сигналов (или каналов) на исследуемой частоте присутствует устойчивый высокоамплитудный сигнал, никак не имеющий когерентного аналога во втором сигнале (канале). Иначе говоря, рассмотрим ситуацию, когда в какой-то момент времени в одном канале сигнал есть, а в другом канале сигнала нет. Очевидно, что в числителе в такой ситуации мы получим около нулевой результат при подсчете произведения $A_1 A_2 \exp(j(\phi_1 - \phi_2))$, однако, в

знаменателе мы получим достаточно большое значение средне-квадратического уровня модуля вейвлет-коэффициента для первого канала и около нулевой результат для $C(\omega)$. В таком случае кажется более адекватным вариант формулы для вычисления $C(\omega)$, представленный на нижнем рисунке (Рисунок 16). Т.е. для нормировки, в знаменателе, лучше использовать корреляцию модулей вейвлет-коэффициентов.

1.15 Метод биспектрального анализа с использованием лог-нормального вейвлет - преобразования.

Данный метод анализа является вариантом биспектрального анализа, первоначально предложенного для спектральных данных, получаемых с помощью преобразования Фурье (Hasselmann et al., 1963). Обобщенно смысл данного подхода можно рассмотреть в виде модификации подхода к вычислению вейвлет-когерентности, описанного в разделе 1.14. В формулах (14), (15) и (16) используются перемножение комплексных вейвлет-коэффициентов, вычисленных для разных сигналов (или разных каналов), но взятых в одной и той же точке времени и частоты (ω, t) . При биспектральном анализе (Newman et al., 2021) числитель данной формулы приобретает дополнительный член, а вся формула в целом приобретает вид зависимости от двух разных частот:

$$\Phi_1(t, \omega_1) = A_1(t, \omega_1)e^{j\phi_1}, \phi_1 = (\omega_1 t + \varphi_1). \quad (17)$$

$$\Phi_2(t, \omega_2) = A_2(t, \omega_2)e^{j\phi_2}, \phi_2 = (\omega_2 t + \varphi_2). \quad (18)$$

$$\Phi_3(t, \omega_1 + \omega_2) = A_3(t, \omega_1 + \omega_2)e^{j\phi_3}, \phi_3 = ((\omega_1 + \omega_2)t + \varphi_3). \quad (19)$$

$$\begin{aligned} \rho &= \int_{-\infty}^{\infty} \Phi_1(t, \omega_1) \Phi_2(t, \omega_2) \overline{\Phi_3(t, \omega_1 + \omega_2)} dt = \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} A_1 A_2 A_3 e^{j(\phi_1 + \phi_2 - \phi_3)} dt = \int_{-\infty}^{\infty} A_1 A_2 A_3 e^{j\Delta\phi} dt \end{aligned} \quad (20)$$

$$\Delta\phi = \varphi_1 + \varphi_2 - \varphi_3 - t(\omega_1 + \omega_2 - (\omega_1 + \omega_2)) = \varphi_1 + \varphi_2 - \varphi_3. \quad (21)$$

где ρ - это собственно вычисленный для частот ω_1 и ω_2 коэффициент биспектра, Φ_1 , Φ_2 , Φ_3 - это комплексные коэффициенты вейвлет-разложения,

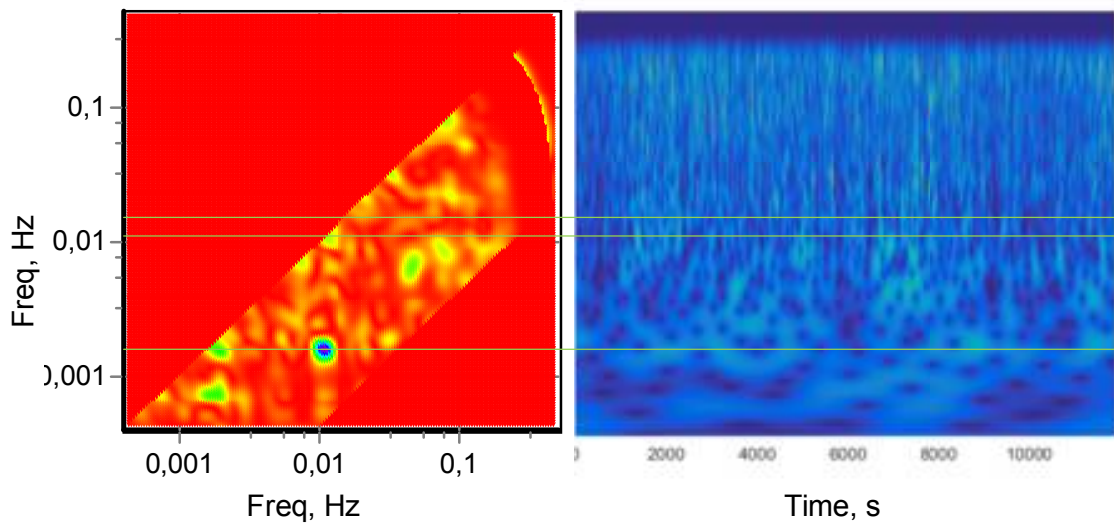


Рисунок 17. Биспектр и исходная карта вейвлет-коэффициентов времен жизни канала в открытом состоянии. Зелеными линиями показаны частоты, синхронизация которых необходима для появления точечного максимума на биспектре для частот 0,011 Гц и 0,0012 Гц. То есть дополнительно к указанным частотам на частоте 0,0122 Гц также должен быть процесс, синхронизованный с первыми двумя. Рисунок автора.

определенные в момент времени t и для частот ω_1 , ω_2 и $\omega_1 + \omega_2$, соответственно. Сравнивая формулы для биспектра и числитель формулы для кросскорреляции нельзя не заметить общий момент: сдвиг по фазе в

произведении получается за счет комплексного сопряжения членов, а зависящая от времени часть фазы автоматически обнуляется. В формуле для кросскорреляции для этого необходимо совпадение частот вейвлет-коэффициентов, в биспектре для этого используется определение третьего члена в виде коэффициента для суммы частот первых членов. Этот третий член, несмотря на получаемую некоторую асимметрию формулы, является очень интересным решением: он позволяет анализировать системы с нелинейным поведением, т.е. такие, отклик которых на сочетание воздействий не является суммой откликов на воздействия, входящие в сочетание. Иными словами, очевидно, что коэффициент биспектра становится нулевым для сигналов, в которых кроме сигналов с частотами ω_1 , ω_2 будут отсутствовать частоты $\omega_1 + \omega_2$ (см. Рисунок 17). Появление же таких частот является следствием перемножения гармонических сигналов внутри системы, т.е. модуляцией одного гармонического сигнала другим, что является следствием простой тригонометрической формулы:

$$\sin \varpi_1 t \sin \varpi_2 t = \frac{1}{2} (\cos(\varpi_1 - \varpi_2) - \cos(\varpi_1 + \varpi_2)) \quad (22)$$

Более подробно данная особенность биспектрального анализа изложена в разделе 3.2.3.

Биспектральный анализ, со спектральными данными, получаемыми с помощью обычного оконного преобразования Фурье в 90е годы 20 века активно применялся для анализа электроэнцефалограмм (Sigl & Chamoun, 1994), т.е. временных рядов, полученных при физиологических измерениях, поэтому возможность применения данного метода, но со спектральными данными, получаемыми с помощью вейвлет-преобразования, для анализа иных физиологических сигналов ограничена только достаточным частотным диапазоном исходной записи (3 декады, т.е. отношение минимальной частоты к максимальной, в содержащем реальную информацию частотном диапазоне, считаются достаточными) и качеством синхронизации при

регистрации физиологических данных. Последнее требование, зачастую, выполнить сложнее всего, в случае, когда различные физиологические параметры от одного объекта регистрируют одновременно, но не синхронно, т.е. не обеспечивая синхронизации на уровне аппаратных средств аналого-цифрового преобразования сигналов. Разработка метода биспектрального анализа, основанного на вейвлет-преобразовании была выполнена в научной группе Анетты Стефановской (Newman et al., 2021), которая с середины 90х годов 20 века занималась исследованиями ритмических процессов в микроциркуляторном русле с помощью лазерной доплеровской флоуметрии, т.е. также в интересах биологических исследований.

Вейвлет-преобразование чаще всего рассматривают как улучшенное оконное Фурье-преобразование, приводя в качестве примера комплексное непрерывное преобразование Морле:

$$\phi(t_i, \omega, k, t) = A \sin(\omega(t - t_i)) \exp\left(-\frac{\omega^2(t - t_i)^2}{2k}\right) = A \sin(2\pi \frac{(t - t_i)}{\tau}) \exp\left(-\frac{(t - t_i)^2}{2k\tau^2}\right), \quad (23)$$

$$\psi(t_i, \omega, k, t) = B \cos(\omega(t - t_i)) \exp\left(-\frac{\omega^2(t - t_i)^2}{2k}\right) = A \cos(2\pi \frac{(t - t_i)}{\tau}) \exp\left(-\frac{(t - t_i)^2}{2k\tau^2}\right), \quad (24)$$

$$\int_{-\infty}^{\infty} \phi(t_i, \omega, k, t) dt = 0, \int_{-\infty}^{\infty} \psi(t_i, \omega, k, t) dt = 0, \int_{-\infty}^{\infty} \phi^2(t_i, \omega, k, t) dt = 1, \int_{-\infty}^{\infty} \psi^2(t_i, \omega, k, t) dt = 1, \quad (25)$$

$$\Phi(t_i, \omega, k) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \phi(t_i, \omega, k) dt, \Psi(t_i, \omega, k) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \psi(t_i, \omega, k) dt, \quad (26)$$

$$M(t_i, \omega, k) = \sqrt{\Phi^2(t_i, \omega, k) + \Psi^2(t_i, \omega, k)}, \quad (27)$$

$$\varphi = \arctg\left[\frac{\Phi(t_i, \omega, k)}{\Psi(t_i, \omega, k)}\right]. \quad (28)$$

Формулы выше приведены для варианта записи без использования комплексной единицы. Формулы (23) и (24) задают ортогональную пару материнских функций. Формулы (25) – это нормировки по среднему уровню и мощности (среднеквадратическому отклонению), Формулы (26)

определяют процедуру преобразования в набор ортогональных коэффициентов, которые дают возможность вычислить модуль и фазу комплексных вейвлет коэффициентов по формулам (27) и (28). Следует отдельно остановиться на безразмерном параметре k . Этот параметр задает ширину частотного окна материнской вейвлет-функции. Чем этот параметр больше, тем шире частотное окно, т.е. тем хуже частотное разрешение, но тем уже окно во временном представлении и тем выше разрешение вейвлета по времени. При этом точность оценки полной фазы не меняется. Данный параметр позволяет адаптировать вейвлет под исходный сигнал и задачу исследователя.

Внимательно рассматривая процедуру получения вейвлет-коэффициентов (формулы (26)), легко увидеть, что это, по сути, фильтрация сигнала во временном представлении полосовым фильтром с узкой частотной характеристикой. В соответствии со свойствами преобразования Фурье, операции фильтрации во временном, и в частотном представлении эквивалентны и схема вычисления вейвлет-коэффициентов может быть осуществлена во временном представлении сигналов в виде:

$$W(t_i, \omega) = \int_{-\infty}^{\infty} y(t + \tau) \phi(\tau, \omega) d\tau \quad (29)$$

или в частотном представлении сигналов в виде:

$$\widehat{W}(f, \omega) = \widehat{y}(f) \widehat{\phi}(f, \omega) \quad (30)$$

Таким образом, вычисление вейвлет-коэффициентов может быть осуществлено следующим образом (см. Рисунок 18):

1. Исходный сигнал подвергается быстрому преобразованию Фурье.
2. Спектр Фурье умножается на частотный профиль вейвлет-фильтра.

Причем каждой исследуемой частоте соответствует свой профиль

3. Обратное преобразование дает временной ряд комплексных вейвлет-коэффициентов для каждой заданной частоты.

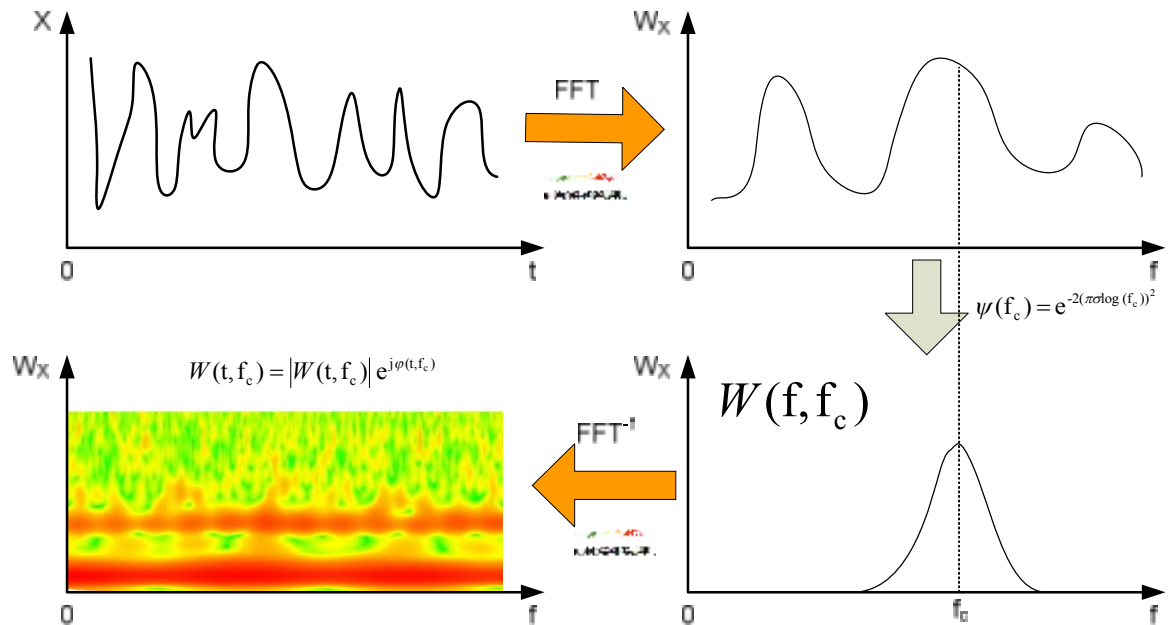


Рисунок 18. Схема вычисления вейвлет-коэффициентов с помощью быстрого преобразования Фурье. Рисунок автора.

Учитывая, что алгоритмы прямого и обратного преобразования Фурье поддаются ускорению с помощью параллельных вычислений на современных видеокартах, данный подход, несмотря на кажущуюся сложность, выглядит весьма многообещающе.

Для определения коэффициентов разложения исходных сигналов по частоте и времени, используемых для вычисления биспектров, можно использовать любой вариант непрерывного комплексного вейвлет-разложения, однако авторы (Newman et al., 2021) предложили использовать лог-нормальный вейвлет, а котором следует остановиться подробнее.

Спектр вейвлет-фильтра для вейвлета Морле представляет собой функцию Гаусса (см. Рисунок 19). Т. е. в линейной шкале частот это симметричная функция, ширина которой пропорциональна центральной частоте.

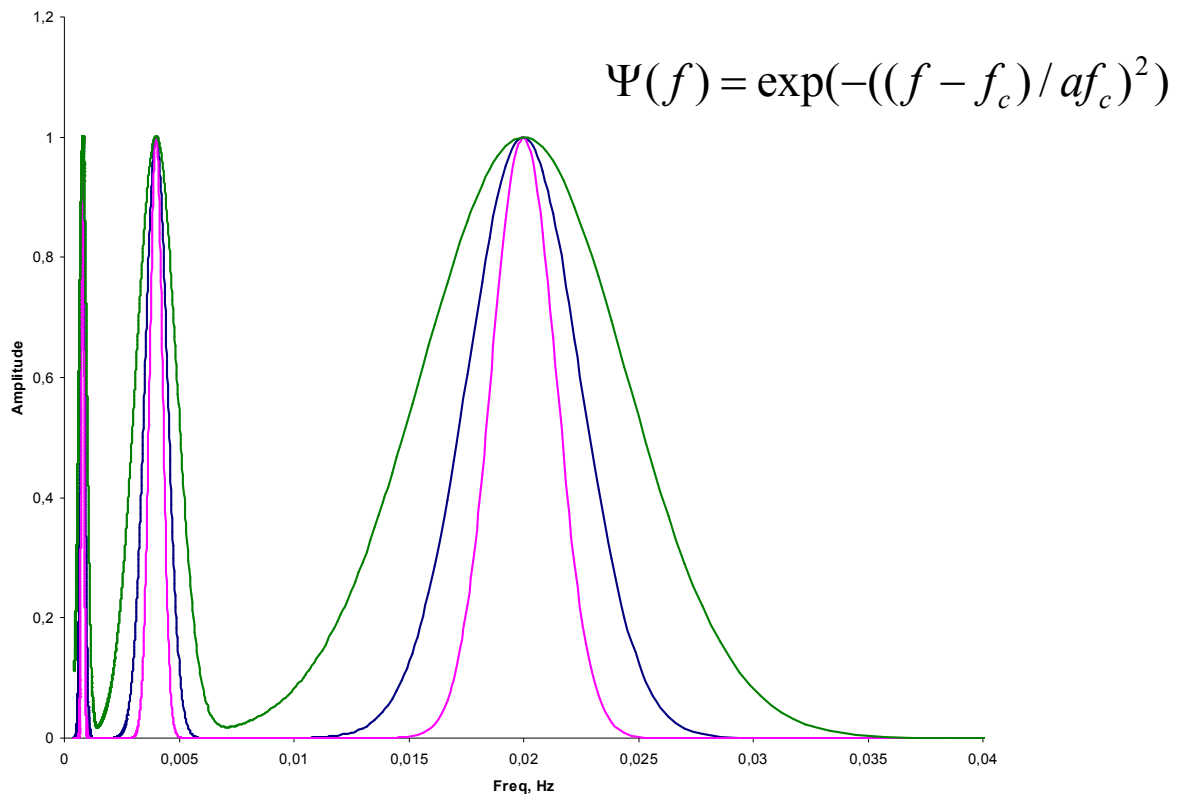


Рисунок 19. Частотный отклик вейвлет-фильтра Морле с линейной шкалой по частоте. Рисунок автора.

Однако при анализе спектральных характеристик в широком частотном диапазоне более информативной является логарифмическая шкала по частоте, и там данный график становится не таким симметричным, зато видна замечательная особенность фильтра: постоянство относительной ширины фильтра при изменении центральной частоты (см. Рисунок 20).

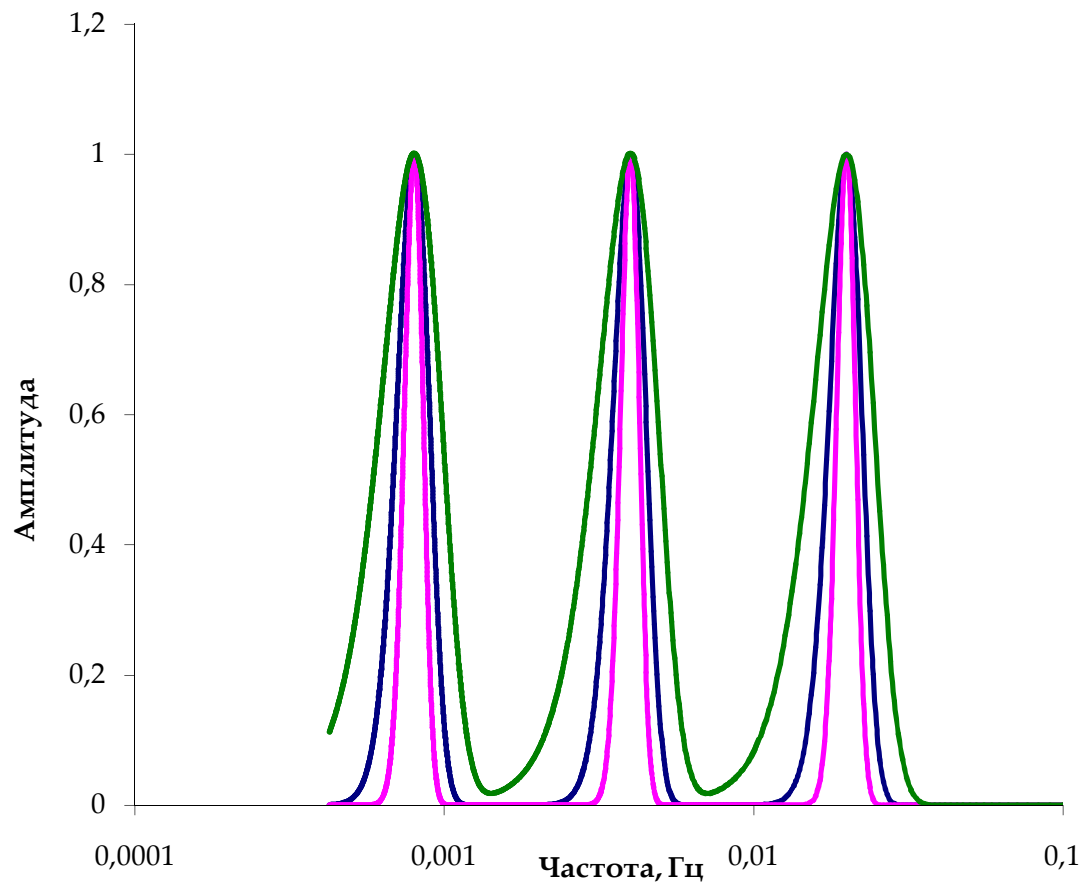


Рисунок 20. Частотный отклик вейвлет-фильтра Морле с логарифмической шкалой по частоте. Рисунок автора.

Однако, равнозначным в спектральном анализе является представление в виде длины волны и здесь асимметрия формы фильтра становится еще более очевидной (см. Рисунок 21).

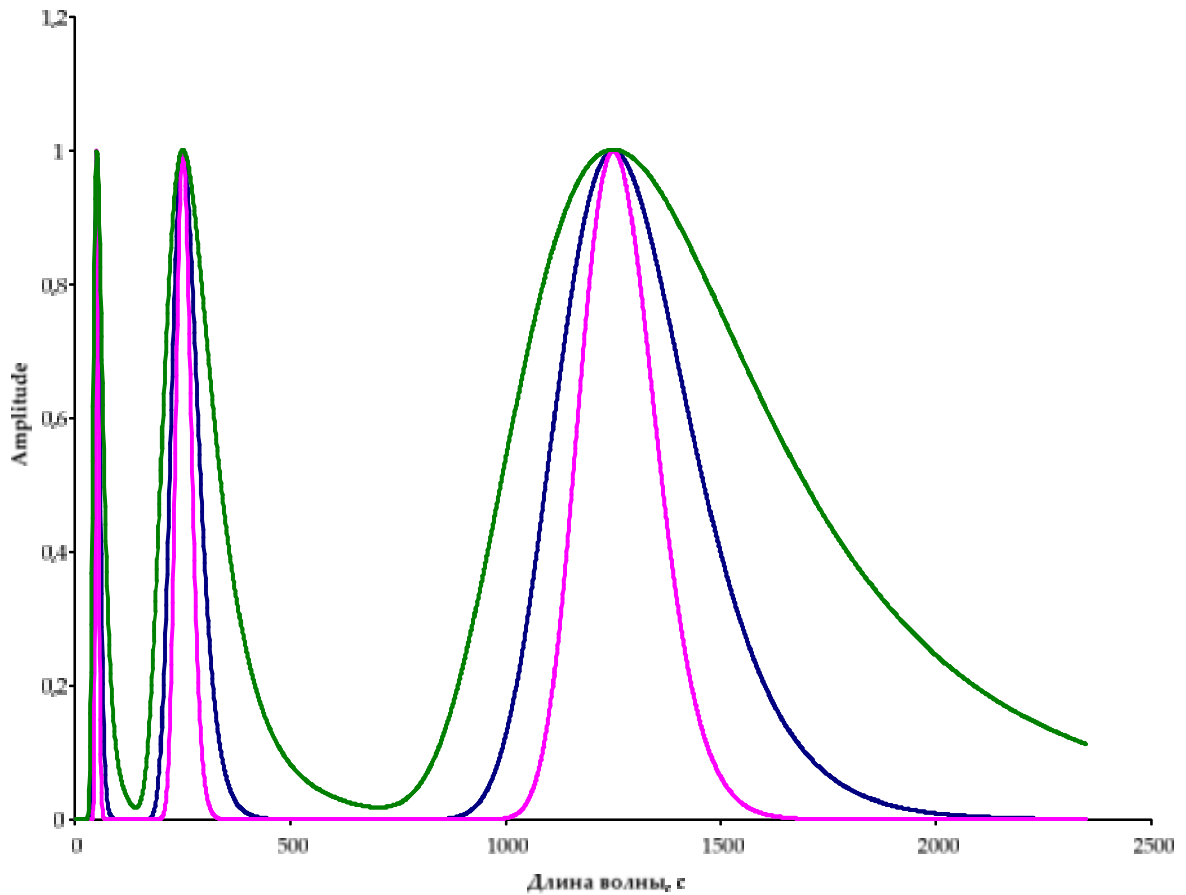


Рисунок 21. Частотный отклик вейвлет-фильтра Морле с шкалой по длине волны. Рисунок автора.

Такая асимметрия приводит к ухудшению локализации колебательных процессов в сторону длинных волн. Для симметрирования вейвлета относительно представления частота/длина волны, предложен вейвлет с симметричной в логарифмическом масштабе частотной характеристикой: лог-нормальный вейвлет, частотный отклик фильтра которого имеет вид гауссиана в логарифмическом масштабе как частот, так и длин волн (см. Рисунок 22):

$$\psi(f) = e^{-2(\pi \log(f))^2} = e^{-2(\pi \log(1/f))^2} \quad (31)$$

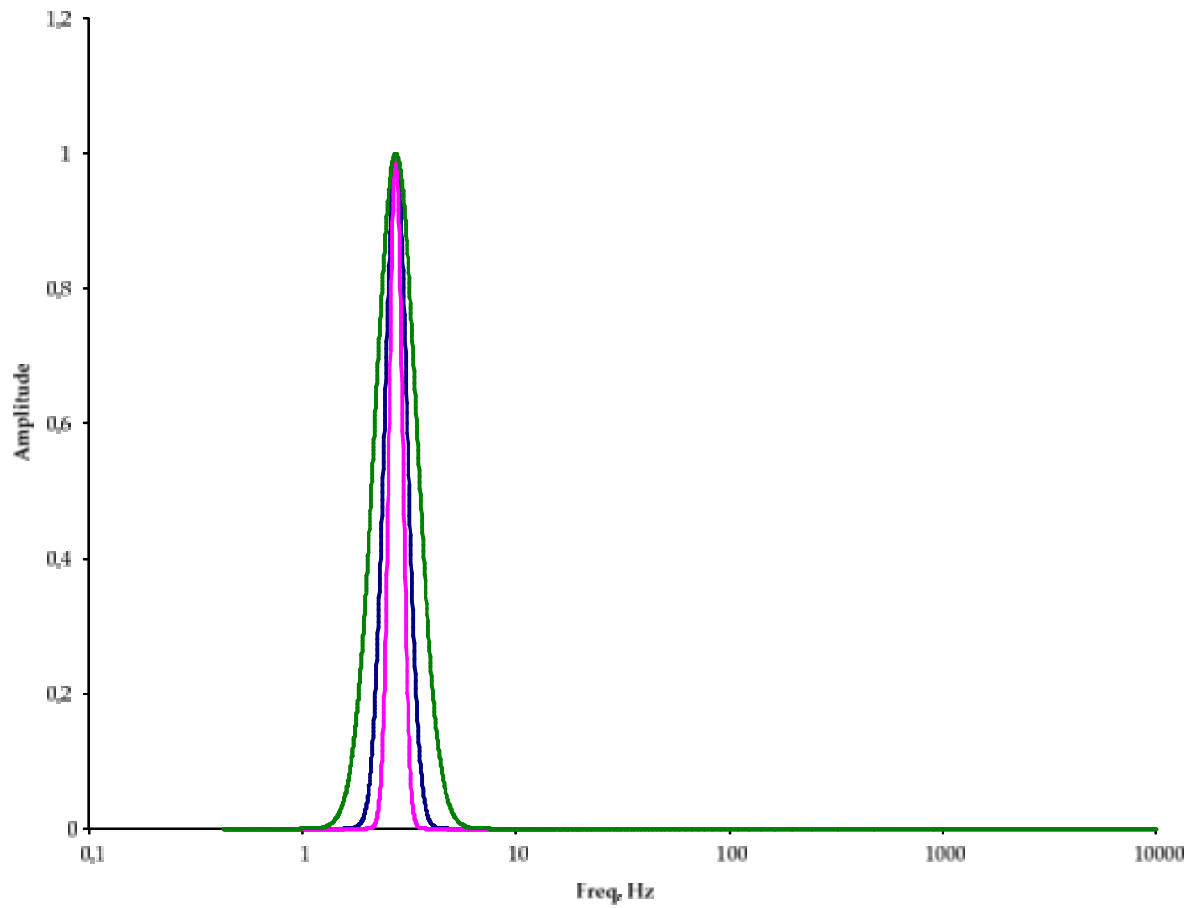


Рисунок 22. Частотный отклик лог-нормального вейвлет-фильтра с логарифмической шкалой по частоте. Рисунок автора.

2 Методы

2.1 Метод культивирования клеток эндотелия кровеносных сосудов мыши, фенотипическая характеристика клеток³

Клетки сосудов мыши выделяли из сердца и легких ферментативным методом (Weber et al., 2011). Суспензию клеток разделяли при помощи магнитной сепарации с использованием антител против ICAM-2 (культура эндотелиальных клеток: ICAM-положительные клетки культивировали на среде DMEM/F-12 с добавлением 10% FBS (ThermoFisher Scientific, США), и 0,1 мкг/мл ростовой добавки для эндотелиальных клеток (ECGS, Sigma (в одних случаях Сигма, в других Sigma-Aldrich) , США) на планшетах с адгезивной поверхностью. Клетки использовали для экспериментов через 5-7 суток культивирования при образовании 70-80% монослоя. Для фенотипической характеристики клетки фиксировали 4% PFA, проводили пермеабиллизацию 0,1% Triton X-100 в течение 5 мин, затем окрашивали антителами против CD31 (Abcam, США) и вторичными поликлональными антителами козы к IgG кролика, конъюгированными с меткой AlexaFluor488 (Thermo Fisher Scientific, США). Флуоресценцию анализировали при помощи микроскопа Leica DM2500 с увеличением 40× (Рисунок 23). Получено, что первичная культура эндотелиальных клеток микрососудов мыши представляет собой довольно гомогенную популяцию с жизнеспособностью около 96% (Рисунок 23).

³ По материалам статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Serov D.A., Voronina D.Yu., Astashev M.E., Tankanag A.V. Effect of hyperglycemia on oscillations in calcium and nitric oxide concentrations in mouse skin endotheliocytes // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 4. – С. 166-198. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-4-166-198

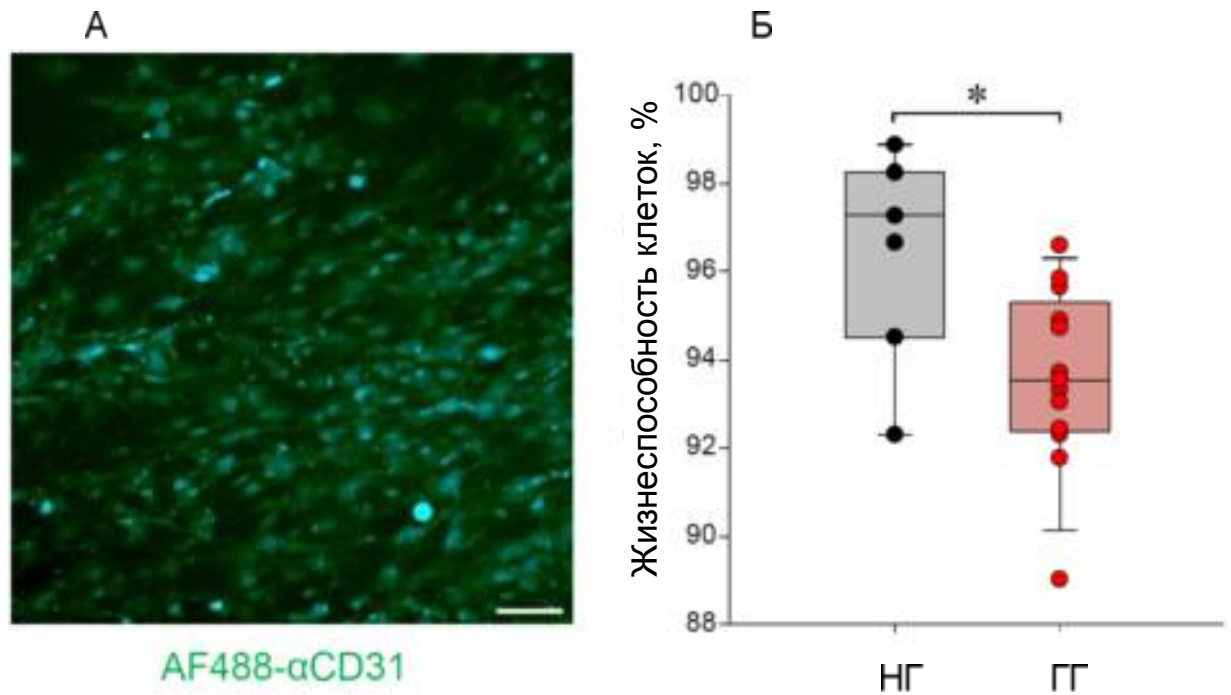


Рисунок 23. Характеристика полученной культуры микрососудистых эндотелиальных клеток кожи мыши. Микрофотография клеток, окрашенных антителами к CD31 AF488 (зеленый псевдоцветный) и ядерным красителем Hoechst 33342 (синий псевдоцветный) (А), жизнеспособность клеток оценивали по флуоресценции Hoechst 3342 и PI при 17,5 (нормогликемия, НГ) или 35 мМ глюкозы (гипергликемия, ГГ) (Б). Размер шкалы составляет 100 мкм. Рисунок из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Serov D.A., Voronina D.Yu., Astashev M.E., Tankanag A.V. Effect of hyperglycemia on oscillations in calcium and nitric oxide concentrations in mouse skin endotheliocytes // *Opera medica et physiologica*. – 2024. – Т. 11, № 4. – С. 166-198. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-4-166-198

2.2 Методы регистрации сигналов

В случаях регистрации аналоговых сигналов (метод локальной фиксации потенциала – пЭТЧ-метод, регистрация локальных полевых потенциалов – ЭЭГ, регистрация физиологических параметров у мышей) использовалась разработанная автором система многоканальной синхронной регистрации на базе платы аналогово-цифрового преобразования L791 (L-Card, Россия) и модифицированной автором программы WinEDR(John Dempster, University of Strathclyde, UK). Регистрация одиночных калиевых

каналов пЭтЧ-методом производилась по стандартной методике, описанной в работе (Гелетюк, Казаченко, 1983). Использовали усилитель с преобразователем ток-напряжение на микросхеме ОРА129 (BurrBroun, США), блок аналоговой фильтрации и усиления (ИБП РАН, Россия). Регистрация микроизображений клеток с синхронным анализом динамики изменения флуоресценции двух зондов Fura2-AM и DAF-FM проводилась с помощью разработанной автором автоматизированной установки для микрофлуоресцентного анализа на основе модифицированного для работы в УФ части спектра микроскопа Motic AE31T (Рисунок 24А) с флуоресцентным осветителем (Рисунок 24Б) на основе светодиодов 340 нм, 380 нм, 460 нм (Серов и др., 2019), а также модифицированной автором программы (Рисунок 24Е) WinFluor (John Dempster, University of Strathclyde, UK). Измерение электрических характеристик образцов растений с помощью электроимпедансной спектроскопии производили с помощью портативного измерителя импеданса, разработанного автором на базе модуля (Рисунок 24В) измерения AD5933 (Astashchev et al., 2022). Приготовление селеновых наночастиц производили методом лазерной абляции (Gudkov et al., 2020). Импульсная флуориметрия (Рисунок 24Д) и методы анализа динамики флуоресценции пигментов фотосистемы растений описаны в работе (Astashchev et al., 2024). Регистрацию полевых потенциалов головного мозга (Рисунок 24Ж), определение позиций электродов производили, как описано в работах (Astashcheva et al. 2015; Astasheva et al. 2016, Astasheva et al. 2018).

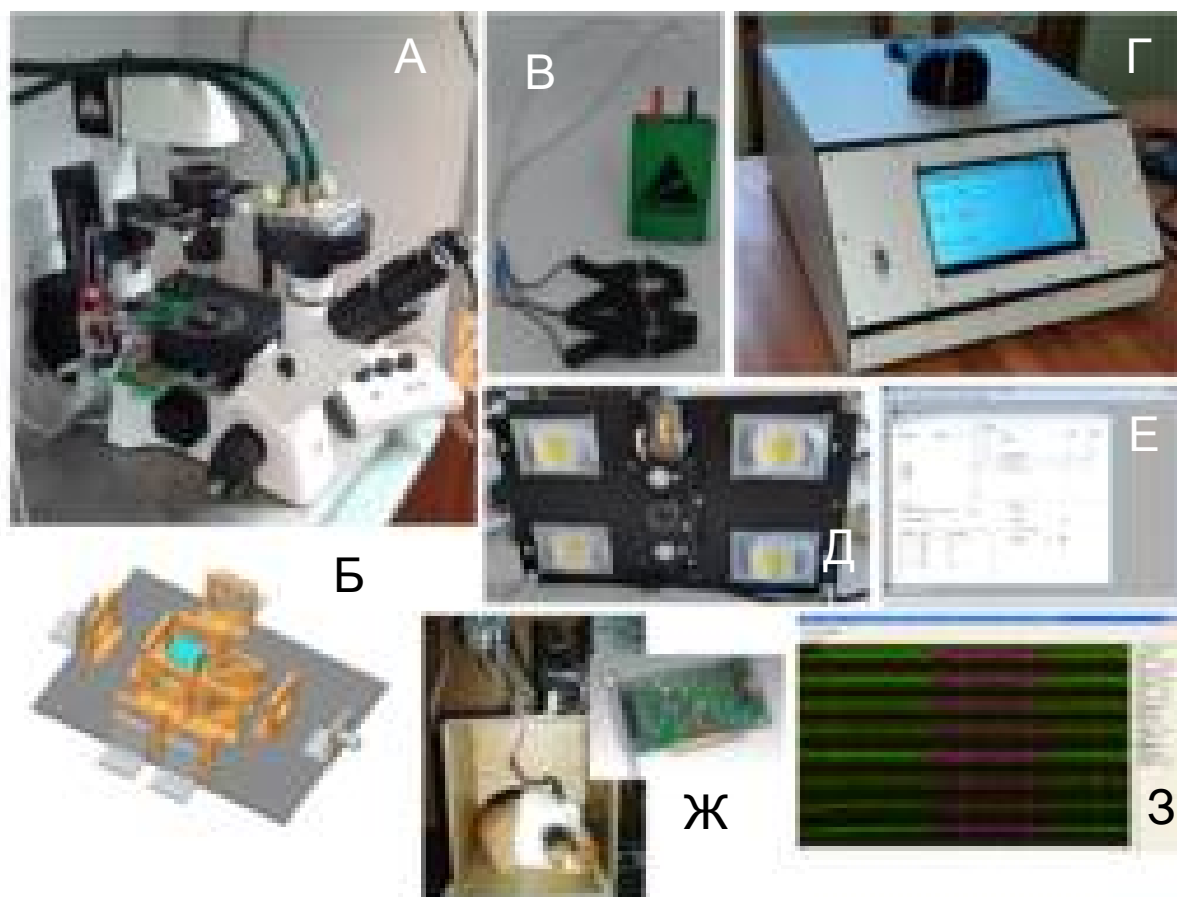


Рисунок 24. – Используемые в работе авторские аппаратные и программные средства изучения ритмических процессов в объектах разного уровня организации. А - микрофлуориметрическая система для регистрации динамики внутриклеточных мессенджеров со светодиодным возбуждением флуоресценции. Б - оптическая схема светодиодного осветителя на 4 длины волны, используемая в микрофлуориметрической системе. В - электро-импедансометр для исследования сосудистой системы растений. Г - трехканальный хемилуминометр. Д - импульсная флуориметрическая система для исследования состояния фотосинтетического аппарата растений. Е - интерфейс модифицированной автором программы WinFluor. Ж - вид установки для регистрации ЭЭГ. З - программное обеспечение для анализа многоканальных записей с помощью вейвлет-преобразования, вейвлет-когерентности, биспектрального анализа. Рисунок автора.

2.3 Метод регистрации тока одиночного канала⁴

Эксперименты были проведены на неидентифицированных нейронах, выделенных из левого и правого париеальных ганглиев *Lymnaea st.* (пресноводный моллюск большой прудовик) после умеренного расщепления ганглионарного кольца с помощью протеолитического фермента проназа Е в концентрации 3,5 мг/мл. Наружный раствор содержал (в мМ) NaCl 95, KCl 1,6, CaCl₂ 4, MgCl₂ 1,5, HEPES 5, pH 7,4 (общая концентрация Cl 100 мМ), обеспечивался непрерывный проток раствора через камеру с помощью гравитационной системы подачи раствора. Отрыв фрагмента с одиночным каналом осуществляли в растворе, содержащем (в мМ) KCl 100, HEPES 5, pH 7,2. Ток регистрировали и оцифровывали с помощью патч-кламп усилителя AM-Systems (США), интерфейса Digidata 1200 В и программного обеспечения pClamp6 (Axon Instruments Inc., США), или интерфейса LCard L-791 (L-Card, Москва) и модифицированного программного обеспечения WinEDR (J. Dempster, Glasgow, UK).

2.4 Метод микрофлуоресцентной регистрации со светодиодным осветителем

Исследование динамики внутриклеточных концентраций таких мессенджеров, как ионы кальция часто осуществляется с помощью флуоресцентных зондов (селективных флуоресцентных красителей), способных изменять спектральные характеристики поглощения квантов света, необходимых для возбуждения флуоресценции, при нековалентной ассоциации или диссоциации целевого вещества. Также существуют зонды, изменяющие спектральные характеристики при химической модификации посредством целевого вещества (NO, АФК). Одним из самых

⁴ По материалам статей автора из списка публикаций по материалам диссертации: Gorbacheva E. V., Ershova V. S., Astashev M. E., Vulfius C. A. Two Subtypes of Nicotinic Acetylcholine Receptors in *Lymnaea stagnalis* Neurons Control Chloride Conductance // Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. – 2018. – Т. 12, № 3. – С. 261-267. DOI: 10.1134/s1990747818030042; Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., Simakin A.V., Yusim V.A., Tankanag A.V. Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

распространенных зондов для визуализации изменений цитоплазматической концентрации кальция является Fura2-AM (Thermofisher, USA). Этот зонд способен проникать внутрь клетки и запереться в цитоплазме с помощью механизма отщепления эфира -AM посредством мембранного фермента фосфолипазы. Растворенная в цитоплазме Fura2 представляет собой 4х валентную кислоту, способную селективно связывать ионы двухвалентных щелочных металлов, и по этой характеристике напоминает такие широко применяемые хелаторы двухвалентных катионов, как EDTA, EGTA и ВАРТА. Спектр поглощения данного красителя зависит от того, связан ли он с ионом щелочного двухвалентного металла (преимущественно Ca^{2+}): при отсутствии иона пик поглощения красителя равен 380нм, после связывания иона пик поглощения смещается к 340нм (Gryniewicz et al., 1985). Регистрация флуоресценции происходит на длине волны около 520нм. Такая зависимость спектральных характеристик стала основой ратиометрической методики измерения концентрации кальция, при которой концентрация оценивается по отношению интенсивностей флуоресценции полученных при использовании света с длинами волн 340 и 380нм:

$$[\text{Ca}^{2+}] \sim \frac{I_{340}}{I_{380}}. \quad (32)$$

Измеренная таким образом концентрация свободного иона кальция (в цитоплазме, в случае использования Fura2-AM) слабо зависит от температуры (Grodén, 1991) При этом регистрируемая интенсивность флуоресценции зависит от нескольких трудно контролируемых факторов: чувствительности камеры в конкретном месте матрицы, параметра виньетирования конкретной точки изображения в микроскопе, интенсивности освещения осветителем. Первые два фактора не изменяются со временем, и при вычислении концентрации кальция компенсируются и не влияют на результат. Последний фактор имеет свойство изменяться со временем при использовании дуговых ламп (ртутных, ксеноновых), что приводит к увеличению шумов и появлению артефактов при длительных

измерениях - исследование низкочастотных колебаний до 0,002 Гц заставляет регистрировать сигналы непрерывно до 20 минут. Эта проблема побудила нас разработать систему микрофлуоресцентной регистрации со светодиодным осветителем (Асташев, 2017).

Анализ данных, которые модифицированная автором программа WinFluorXE (Dempster, 2025) сохраняет в формате многостраничного TIFF файла, осуществлялся в программе анализа изображений ImageJ (сборка Fiji) (Schindelin et al., 2012)

2.5 Метод регистрации и анализа электроэнцефалограмм у морских свинок⁵

Все эксперименты с лабораторными животными проводились в соответствии с нормативно-правовым актом Министерства здравоохранения РФ №199-н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики, международно-правовыми нормами указанных в Европейской конвенции ETS №123 «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» и руководством по работе с лабораторными животными ИБК РАН №57.30.12.2011. Все эксперименты проведены в соответствии с протоколами, одобренными комитетом по этике Института биофизики клетки РАН (№12306, 2006). Животные были адаптированы к конвенциональным условиям и получали питье и корм *accessu libero*.

Эксперименты проведены на бодрствующих морских свинках (самцы и самки массой от 450 до 540 г). За неделю до экспериментов оперированные животные получали атропина сульфат (0,4 мг/кг внутривентриально) перед наркозом (золетил 18 мг/кг и ксилазин 12 мг/кг), после чего на них наносили лидокаин (2%). оперативная зона. Для внеклеточной регистрации

⁵ По материалам статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astasheva E. V., Astashev M. E., Kichigina V. F. Oscillatory Activity and Cross-Frequency Interactions in the Hippocampus and Connected Brain Structures during Sensory Information Processing // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2018. – Т. 48, № 6. – С. 758-763. DOI: 10.1007/s11055-018-0627-z

потенциалов локального поля нихромовые микропровода диаметром 150 мкм помещали в восемь структур с использованием стереотаксических координат (Rapisarda & Vacchelli, 1977): префронтальные и энторинальные поля неокортекса, гиппокампа (поле CA1), зубчатой извилины, медиального перегородочного ядра, латеральное перегородочное ядро, супрамаммилярное ядро (СМ) и центральное ядро миндалины (СА). Над проекцией медиальной септальной области располагали направляющую иглу 26G для введения препаратов в эту структуру. Референтный электрод ввинчивался в затылочную кость.

За неделю до экспериментов оперированные животные получали энрофлоксацин в течение трех дней один раз в день. Во избежание инфекций направляющую иглу для введения препаратов закрывали стерилизованным мандреном, а иглу для микроинфузий всегда стерилизовали. Как показал гистологический анализ, животных с инфекцией не было.

Всего для экспериментального исследования было имплантировано двадцать одно животное. Два животных были выброшены из-за неправильной установки электродов или игл, три животного потеряли электроды во время записи, а одна морская свинка умерла через 15 дней после инъекции глутамата (до появления явных патологических признаков). Таким образом, для анализа были отобраны 15 животных с успешной имплантацией электродов и игл.

В экспериментах регистрировали локальные полевые потенциалы (ЛПП) с выделением ритмического компонента в трех полосах частот – тета (4–8), альфа (9–12) и гамма (30–80 Гц), в отсутствие новых внешних стимулов (состояние спокойного бодрствования в привычной обстановке) и во время подачи сенсорных сигналов (вспышек света с частотой 0.3 Гц). Во время экспериментов, длящихся около получаса, и проводимых на каждой свинке 1 раз в неделю, животное находилось в естественной позе в вентилируемом боксе, слегка ограничивающем его движения. Опыты начинали с

регистрации спонтанной активности в течение 5 дней, затем включали тесты с применением сенсорных стимулов. Каждый опыт состоял из адаптивного периода (10 мин), регистрации фоновой активности (контроль, 7 мин) и активности, вызванной ритмической вспышкой (опыт, 7 мин). Всего на каждом животном было проведено по 5 экспериментов.

Для регистрации ЛПП применяли 8-ми канальную установку, состоящую из: 1) персонального компьютера под управлением MS Windows XP, 2) универсальной платы ЦАП/АЦП сбора данных L791 (LCard, Москва, Россия), 3) программного пакета LGraph2 (LCard, Москва, Россия), 4) пакета драйверов LComp. Для сбора и анализа данных в цифровой форме был разработан специальный набор программ в среде программирования Lazarus. Данные собирались с оверсемплингом с частотой 5 кГц, усилением платы 64 (диапазон $\pm 0,15\text{В}$) и разрешением 14 бит в дифференциальном режиме входного коммутатора платы. Для согласования высокого выходного сопротивления электрода и входного усиления платы ЦАП/АЦП применялся самодельный буферный повторитель на базе прецизионного маломощного операционного усилителя ОРА376. Регистрация проводилась без фильтрации по низкой или высокой частоте, т.е. по постоянному току. Данные сохранялись в стандартных, для программы LGraph2 форматах .dat и .par. Дальнейший анализ проводили в программном обеспечении, разработанном автором. Выделение необходимого частотного диапазона проводилось при постобработке цифровых сигналов. Затем записи анализировались с помощью быстрого преобразования Фурье для получения амплитудно-частотных характеристик в заданных диапазонах частот. Для получения межканальных корреляций был разработан пакет комплексного непрерывного вейвлет-анализа. Использовался вейвлет Морле в комплексной форме.

С помощью специальных макросов Excel, разработанных автором, были получены наборы файлов .xls в виде электронных таблиц и проведен

статистический анализ. В результате для каждой записи был получен файл в формате MS Excel в виде стандартизированной таблицы значений. Быстрое преобразование Фурье использовалось только для оценки положения пиковой частоты (Гц) и ее спектральной мощности (относительные единицы, о.е.) в определенных диапазонах частот. Для выявления структурных взаимосвязей рассчитывалась кросс-корреляционная функция; его максимум (с учетом возможного фазового сдвига) принимался за коэффициент взаимной корреляции (Ccr). В итоге был создан файл в формате MS Excel в виде стандартизированной таблицы значений для каждой записи. Для визуализации временного и частотного распределения ритмических компонентов ЛПП в диапазоне 2–250 Гц использовалось комплексное вейвлет-преобразование Морле. Частоты отображались в гиперболической шкале, поскольку спектр создавался в линейной шкале периодов (в единицах времени, т.е. обратных частот).

При анализе полученных групп данных (контроль и опыт) использовали однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) с применением поправки Бонферрони. Все вычисления проводили в программе Origin7.0 SR (OriginLab Corporation, США).

В вентилируемом боксе животных слегка ограничивали в движениях. Ящик был достаточно большим, чтобы животные чувствовали себя комфортно в естественном сидячем положении во время экспериментов, которые длились около 2 часов. Из своих ящиков животные наблюдали почти постоянную визуальную картину; звуковой фон не изменился. Одновременно регистрировались локальные полевые потенциалы (ЛПП) восьми корковых и подкорковых структур, упомянутых выше, у трех групп животных: (1) интактных (без каких-либо манипуляций), (2) при повторных инъекциях физиологического раствора (0,9%) в медиальную септальную область. для контроля механического воздействия на ткань перегородки («контроль») и (3) с инъекциями L-глутамата (2,5 мкМ) («глутамат»). Препараты вводили в

дорсальную часть медиальной перегородки в объеме 1 мкл в течение 1 мин. В каждой экспериментальной группе было по пять животных.

Запись была сделана в первой половине дня. В день эксперимента использовали только одно животное.

Базовые уровни ЛПП записывались в начале каждого эксперимента в течение пяти дней. Затем в медиальную септальную область вводили препараты в течение 30–35 (в некоторых специальных экспериментах до 60–80) дней. Записи были получены за 10 минут до введения глутамата и затем в течение 1,5 часов после ежедневных инъекций глутамата.

По окончании экспериментов, для контроля локализации отводящих электродов производили электролитическую маркировку мест отведения активности путем пропускания в течение 20 с слабого тока (1 мА) через кончик электрода. В анализ взяты только те животные, у которых электроды находились в заданных структурах-мишенях.

После окончания каждой серии экспериментов животных подвергали глубокому наркозу и перфузии физиологическим раствором, который затем заменяли 4% раствором параформальдегида. Размещение электродов и игл контролировали с помощью окраски по Нисслю. Окраску Тимма использовали для визуализации возможности аномалии волокон гиппокампа (прорастание мшистых волокон как маркер эпилептогенеза).

Различия между группами («интактная», «контрольная» и «глутаматная») определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Все расчеты проводились с использованием программы SigmaPlot 11 (США).

2.6 Методы получения наночастиц селена и плазмоактивированной воды для воздействия на биологические образцы⁶

Методы синтеза наночастиц металлов и их производных оксиды многочисленны и включают химические, физико-химические и вещественные соединения. Методы химического синтеза включают осаждение, термическое разложение, химическое осаждение из газовой фазы, низкотемпературный синтез, золь-гель метод, микроэмульсионный синтез и синтез с использованием полимера в качестве матрицы. Физико-химические методы включают электрохимические, гидротермальные и сонохимические методы. Физическими методами синтеза являются лазерная абляция в растворителе или газе, микроволны, ультразвуковой метод, электрокоррозионное диспергирование и электрический взрыв двух скрученных проводов. Биологический эффект наночастиц зависит от условий синтеза наночастиц, их размера и формы. Как правило, антимикробная активность наночастиц возрастает с уменьшением их размера. Круглые или звездообразные НЧ часто наиболее эффективны против как антибактериальные агенты.

Наночастицы Se были получены в воде с использованием процесса лазерной абляции. Для облучения твердотельной мишени Se использовались

⁶ По материалам статей автора из списка публикаций по теме диссертации: Gudkov S. V., Shafееv G. A., Glinushkin A. P., Shkirin A. V., Barmina E. V., Rakov, II, Simakin A. V., Kislov A. V., Astashev M. E., Vodeneev V. A., Kalinitchenko V. P. Production and Use of Selenium Nanoparticles as Fertilizers // ACS Omega. – 2020. – Т. 5, № 28. – С. 17767-17774. DOI: 10.1021/acsomega.0c02448; Gudkov S.V., Sarimov R.M., **Astashev M.E.**, Pishchalnikov R.Yu., Yanykin D.V., Simakin A.V., Shkirin A.V., Serov D.A., Konchekov E.M., Gusein-zade N.G., Lednev V.N., Grishin M.Ya., Sdvizhenskii P.A., Pershin S.M., Bunkin A.F., Ashurov M.Kh., Aksenov A.G., Chilingaryan N.O., Smirnov I.G., Pavkin D.Yu., Hort D.O., Moskovskii M.N., Sibirev A.V., Lobachevsky Ya.P., Dorokhov A.S., Izmailov A.Yu. Modern physical methods and technologies in agriculture. // Phys. Usp. – 2024. – Vol. 67, P. 194–210. DOI: 10.3367/UFNe.2023.09.039577; Gudkov S. V., Shafееv G. A., Glinushkin A. P., Shkirin A. V., Barmina E. V., Rakov, II, Simakin A. V., Kislov A. V., Astashev M. E., Vodeneev V. A., Kalinitchenko V. P. Production and Use of Selenium Nanoparticles as Fertilizers // ACS Omega. – 2020. – Т. 5, № 28. – С. 17767-17774. DOI: 10.1021/acsomega.0c02448; 14. Kuzin A., Solovchenko A., Khort D., Filippov R., Lukanin V., Lukina N., Astashev M., Konchekov E. Effects of Plasma-Activated Water on Leaf and Fruit Biochemical Composition and Scion Growth in Apple // Plants. – 2023. – Т. 12, № 2. DOI: 10.3390/plants12020385.

следующие лазеры: волоконный иттербиевый лазер с длиной волны от 1060 до 1070 нм, частотой следования импульсов 20 кГц, длительностью импульса 80 нс и средней мощностью 20 Вт, а также лазер на парах меди с длинами волн 510,6 и 578,2 нм и средней мощностью 200 Вт. средняя мощность составляет 8 Вт. В первой серии исследований мишень Se подвергалась лазерному облучению в неподвижной водной среде. Во второй серии исследований использовался проточный клеточный реактор. Этот тип реактора обеспечивает снижение экранирующего действия только что созданных наночастиц при лазерном облучении мишени. Скорость образования наночастиц Se составляла около 0,8 мг/мин в негазированной воде и 2,4 мг/мин в проточном клеточном реакторе. (57) Размер образующихся наночастиц Se определяли с помощью аналитической измерительной центрифуги DC24000 (CPS Instruments). Морфология наночастиц была определена с помощью просвечивающего электронного микроскопа Carl Zeiss 200FE с учетом спектроскопии потерь энергии электронов.

Наночастицы Se, полученные путем абляции объемной мишени Se в негазированной воде с помощью мощного волоконного лазера, имеют относительно большие размеры, около 700-800 нм. Полученные наночастицы были почти монодисперсными по размеру и массе. Это связано с тем, что Se является хрупким материалом, и при “классической” абляции удаляемые частицы состоят из мелких частиц. Это частицы, отделяющиеся от мишени в результате теплового удара. Последние частицы крупнее и должны использоваться для испытаний. Для уменьшения размера частиц был применен процесс лазерной фрагментации. Отдельные частицы расплавлялись под действием лазерного импульса, и, таким образом, средний размер отдельных частиц постепенно уменьшался. Постепенное уменьшение среднего размера отдельных частиц соответствует высокой вероятности проявления вышеупомянутого антиоксидантного потенциала наночастиц Se в

растительных продуктах. Основная доля наночастиц Se после фрагментации составляет менее 100 нм.

С начала 20-го века физика электрических разрядов как источника низкотемпературной плазмы при атмосферном давлении дала развитие плазменным технологиям, использовалась при разработке систем энергоснабжения и технологиях очистки питьевой воды и воздуха. Значительный прогресс в разработке технологий для создания эффективных систем генерации низкотемпературной плазмы был достигнут в начале 1990-х годов. В результате появились новые области применения, включая сельское хозяйство, безопасность пищевых продуктов и охрану окружающей среды. Активированные плазмой растворы были получены двумя способами: путем микроволновой обработки с помощью магнетрона в атмосфере окружающего воздуха и с помощью тлеющего разряда в электрохимической ячейке без диафрагмы. В первом случае в магнетроне использовался импульс длительностью 105 мс с частотой 50 Гц и мощностью 2 кВт. Средняя мощность микроволнового излучения составляла 10,5 Вт, а удельная потребляемая энергия на 1 см³ воды - 189 Дж/см³. Во втором случае в электрохимической ячейке на активный платиновый электрод подавалось напряжение 200-300 В от генератора, работающего на частоте 440 кГц. В результате контакта электрода с раствором происходило образование плазмы. В обоих случаях растворы обрабатывали в течение часа при постоянном перемешивании. Растения и семена обрабатывали в течение 30-60 минут после приготовления плазмоактивированных растворов, их поскольку доставка к месту выращивания растений и приготовление растворов для полива/обработки занимали около 30 минут. При этом обработка всех растений/семян заняла не более 30 минут. Предварительные эксперименты показали, что физико-химические параметры поверхностно-активного вещества за это время практически не изменились.

3 Результаты и обсуждение

3.1 Разработка измерительного оборудования для регистрации временных рядов биологических объектов

3.1.1 Флуоресцентная система для одновременной регистрации цитозольных концентраций иона кальция и продукции оксида азота⁷

Для модификации был выбран инвертированный флуоресцентный микроскоп Motic AE31E. В качестве управляющей программы ПК была выбрана программа WinFluorXE V.3.8.7. (Dempster, 2025), которая позволяет проводить микрофлуорометрические исследования в автоматическом режиме. Программа совместима с наиболее распространенными научными цифровыми камерами и системами изменения полосы возбуждения. Управление дополнительным оборудованием (источники освещения, электростимуляторы, аппликационные системы, электрофизиологическое оборудование) программа осуществляет через универсальные блоки ввода/вывода аналоговых и цифровых сигналов фирмы National Instruments (USA). В работе использован блок NI USB-6343.

Управляющий контроллер моторизованного микроскопа построен на базе стандартной схемы управления 3D-принтерами RepRap, состоящей из микроконтроллерной платы Arduino Mega2560, коммутационной платы RAMPS 1.4 (**Таблица 6**) и шести плат драйверов шаговых двигателей A4988 [411]. Контроллеры Arduino реализуют концепцию "электронных конструкторов":

- 1) совместимые с Arduino электронные блоки, реализующие самые различные функции, стыкуются с контроллером и друг с другом без пайки,

⁷ По материалам публикации автора: Асташев М. Е. Open-source установка для микрофлуоресцентного Ca²⁺-анализа // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация : сборник статей Международной конференции / Под ред. Зинченко В. П. Б. А. В. – Т. 1 – Пушино, 22–25 мая 2017 года. , 2017. – С. 397-403.

- 2) электронные блоки комплектуются библиотеками программных процедур, обеспечивающих простую интеграцию блоков в программу микроконтроллера

Это обеспечивает низкий порог вхождения пользователей в среду программируемых контроллеров, при минимальном опыте в схемотехнике и программировании.

В разработанной нами программе микроконтроллера реализованы следующие функции:

- 1) управление шаговыми моторами препаратоводителя в координатах X-Y и фокусировкой микроскопа (Z) (3 шаговых мотора);
- 2) управление колесом смены фильтров возбуждения (1 шаговый мотор);
- 3) имитация управляющего TTL интерфейса блока смены фильтров Sutter Instrument Lambda 10-2 (для совместимости с базовой версией WinFluorXE);
- 4) управление Fast-step аппликационной системой и ее установкой в рабочее положение (2 шаговых мотора);
- 5) имитация управляющего TTL интерфейса блока быстрой смены растворов Fast-step Warner Instruments SF-77B (для совместимости с базовой версией WinFluorXE);
- 6) управление XYZ шаговыми моторами с блока дистанционного управления;
- 7) управление яркостью осветителя проходящего света;
- 8) термостатирование препарата и растворов системы перфузии;
- 9) управление всеми функциями микроскопа из программы WinFluorXE по протоколу ModBus (для чего WinFluorXE нами была модифицирована);
- 10) зарезервированы ресурсы для дальнейшего доукомплектования системы датчиками газов (O₂, CO₂) и клапанами подачи газовых смесей.

Таблица 6. Распределение входов/выходов контроллера Arduino Mega2560 в сравнении с назначением этих контактов в 3D принтере.

Оборудование 3D-принтера	Контакты Arduino MEGA2560	Оборудование микроскопа
Шаговый мотор X-координаты	Шаг D5 Направление D55 (A1) Включение D38	Шаговый мотор привода предметного столика X-координата
Шаговый мотор X-координаты	Шаг D5 Направление D61 (A7) Включение D56 (A2)	Шаговый мотор привода предметного столика Y-координата
Шаговый мотор Z-координаты	Шаг D5 Направление D48 Включение D62 (A8)	Шаговый мотор привода фокусировочного микровинта
Шаговый мотор привода экструдера	Шаг D5 Направление D28 Включение D24	Шаговый мотор привода револьвера смены фильтра возбуждения флуоресценции
Шаговый мотор привода 2-го экструдера	Шаг D5 Направление D34 Включение D30	Шаговый мотор привода установки системы аппликации
Вспомогательный разъем AUX-4	Шаг D5 Направление D44 Включение D42	Шаговый мотор системы аппликации Fast-step
Нагреватель стола	D10	Нагреватель термостата раствора для перфузии
Нагреватель экструдера	D8	Осветитель проходящего

		света
Нагреватель 2-го экструдера	D9	Нагреватель термостата образца
Датчик температуры стола	A13	Датчик температуры термостата
Датчик температуры экструдера	A14	Датчик температуры образца
Датчик температуры экструдера	A15	Датчик температуры перфузионного раствора
Концевой датчик нуля X	D3	Концевой датчик нуля X
Концевой датчик нуля Y	D14	Концевой датчик нуля fast- step
Концевой датчик максимума X	D2	Концевой датчик нуля установки fast-step в рабочее положение
Концевой датчик максимума Y	D15	Концевой датчик нуля X
Концевой датчик нуля Z	D18	Датчик колеса фильтров
Концевой датчик максимума Z	D19	Концевой датчик нуля Z
Вспомогательный разъем AUX-4	D32	Сигнал PS/2 clock выносного пульта управления (Мышь)
Вспомогательный разъем AUX-4	D47	Сигнал PS/2 data выносного пульта управления (Мышь)
Вспомогательный разъем AUX-4	D45	Сигнал датчика положения револьвера объективов
Вспомогательный разъем AUX-4	D43	Сигнал датчика положения револьвера объективов

Вспомогательный разъем AUX-4	D41	Сигнал датчика положения револьвера объективов

Светодиодный 4х-полосный флуоресцентный осветитель (Рисунок 25) обеспечивает быструю смену полосы возбуждения флуоресценции (340нм, 380нм, 488нм и 625нм). В осветителе используются светодиоды фирмы Thorlabs M340D3, M375D2, M490D3 и белый светодиод 3Вт (Cree, USA). Совмещение излучения светодиодов в единую коллимированную оптическую ось осуществили с помощью дихроических зеркал Thorlabs DMLP505R, DMLP425R и зеркала Semrock Di01-R355. С помощью интерференционных фильтров ET340х, ET380х (Chroma, USA), D480/30х (Motic, Испания) и FEL0450 (Thorlabs, США) спектр излучения соответствующих светодиодных источников был адаптирован для дихроических зеркал флуоресцентных кубиков микроскопа. Система управления светодиодным осветителем была разработана для выполнения следующих задач: стабилизация тока светодиода с точностью не хуже 1%, в выключенном состоянии ток через светодиод должен полностью прерываться, система управления осветителем должна быть совместима системой управления через TTL линии осветителя Sutter Lambda 10-2 (поддержка которого есть в WinFluorXE). Электронная схема блока управления приведена на Рисунок 26. В схеме использованы прецизионные операционные усилители OP2177 (Analog Devices, США), 8ми канальный 12ти битный ЦАП AD5328(Analog Devices, США), 8ми канальный дешифратор 74hc137 (Toshiba, Япония) и изолятор ADUM1400 (Analog Devices, США). Такой подбор компонентов обеспечивает высокую точность поддержания тока светодиода во включенном состоянии. Для полного выключения светодиода оказалось недостаточно обнуления управляющего напряжения, генерируемого ЦАП, т.к. минимального тока в несколько микроампер оказалось достаточно, чтобы светодиод продолжал излучать

свет. Поэтому была применена оригинальная схема выключения светодиода посредством шунтирования его полевым транзистором (IRF3704, Infineon, Германия) с малым (9 мОм) сопротивлением канала в открытом состоянии. При таком подходе, пока светодиод должен быть выключен, транзистор открывается и пропускает через себя весь ток, устанавливаемый стабилизатором. При этом напряжение на транзисторе оказывается менее 0,1В и недостаточно для зажигания светодиода, т.к. энергия квантов испускаемых светодиодом прямо зависит от падения напряжения на р-п переходе светодиода. При необходимости включения светодиода транзистор закрывается и ток течет через светодиод. Такая схема позволяет достаточно быстро включать и выключать светодиод (около 10мкс), а также обеспечивает мягкую переходную характеристику при включении и выключении. Важной модификацией системы освещения стала также установка дихроического зеркала Semrock FF506-Di03-25x36 во флуоресцентном кубике. Это зеркало отличается от стандартного зеркала Chroma T400lp из комплекта Chroma 79001 - ET - Fura 2 сдвинутой в более длинноволновую сторону спектральной характеристикой, но при этом, его гарантированное окно отражения в коротковолновой области захватывает 340нм. Это дает возможность реализовать 3х полосную синхронную регистрацию: 340нм, 380нм и 480нм, т.е. регистрацию Fura2-AM и DAF-FM одновременно.

Электромеханический привод препаратоводителя обеспечивает перемещение биологического образца, размещенного на столике микроскопа, и осуществляется парой взаимно перпендикулярных линейных приводов, линейный шаг позиционирования 25мкм. Ход линейной подачи ограничен 30мм, что достаточно для поиска объекта в стандартной чашке Петри 40мм. Все детали препаратоводителя, кроме линейных приводов напечатаны на 3D-принтере из ABS пластика.

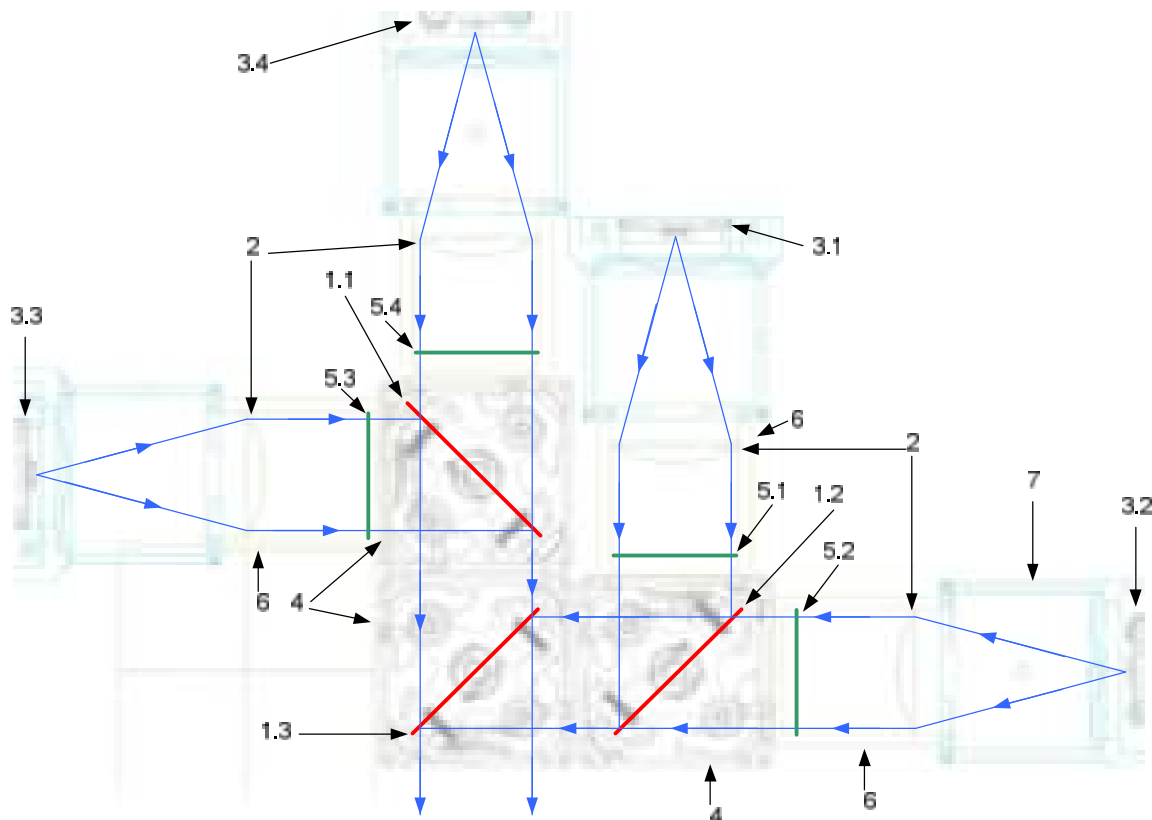


Рисунок 25. Схема 4-х канального светодиодного осветителя, собранного на базе компонентов Thorlabs. 1 - дихроические зеркала. 1.1 - 505нм (DMLP505R Thorlabs), 1.2 - 355нм (Di01-R355 Semrock), 1.3 - 425нм (DMLP425R Thorlabs). 2 - плосковыпуклая линза 25мм диаметром, F=40мм, кварц (LA4306 Thorlabs). 3 - светодиоды. 3.1 - 340 нм (M340D3 Thorlabs), 3.2 - 375 нм (M375D2 Thorlabs), 3.3 - 490 нм (M490D3 Thorlabs), 3.4 - белый светодиод 3Вт (Cree). 4 - кубический держатель для зеркала (CM1-DCH/M Thorlabs). 5 - интерференционные фильтры. 5.1 - 340 нм (ET340x Chroma), 5.2 - 380 нм (ET380x Chroma), 5.3 - 480 нм (D480/30x Motic), 5.4 - longpass 450нм (FEL0450 Thorlabs). 6- труба (SM1L15 Thorlabs). 7 - пластиковый адаптер для крепления светодиода в сборе с охладителем. Рисунок автора.

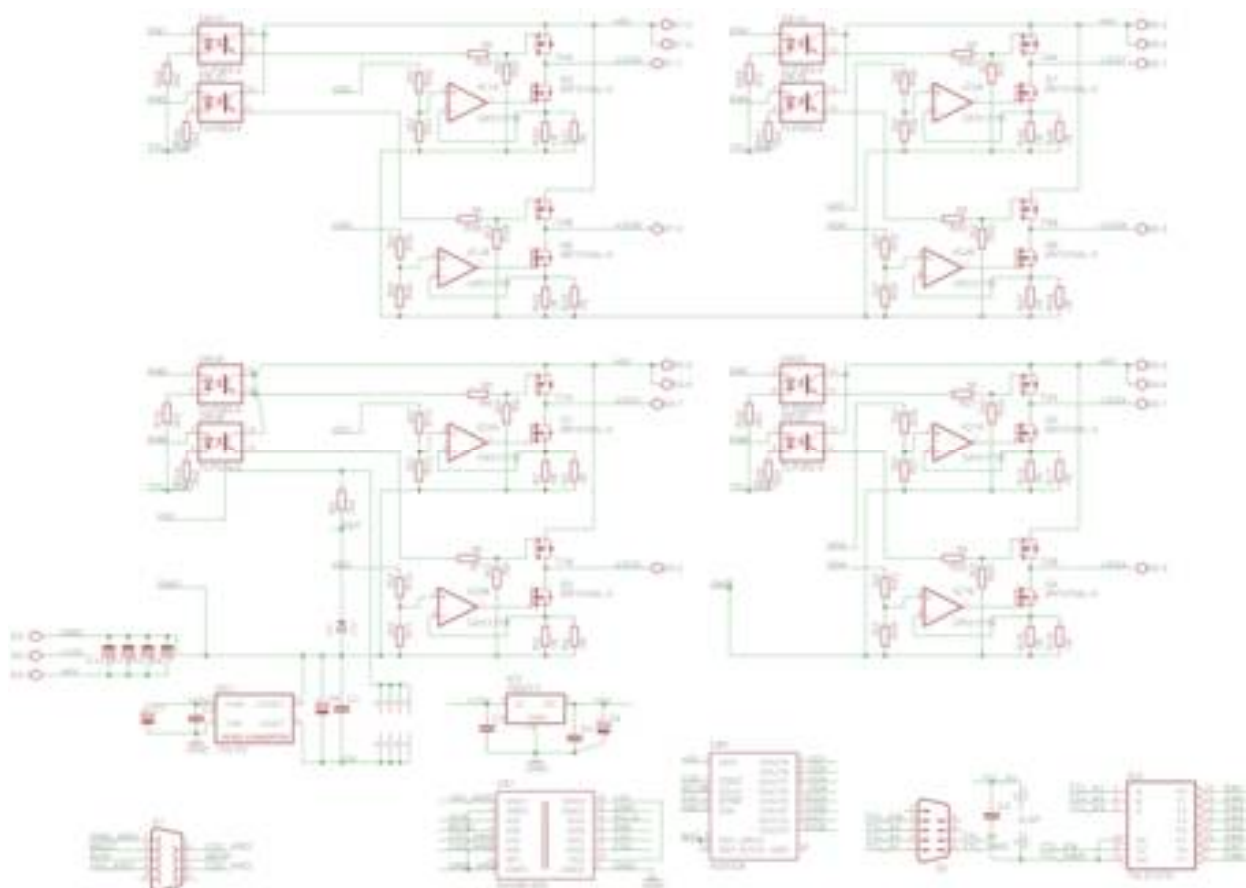


Рисунок 26. Принципиальная схема блока управления осветителем микроскопа. Рисунок автора.

Термостат образца и перфузионного раствора позволяет поддерживать заданную температуру препарата, размещенного в чашке Петри $\varnothing 40\text{мм}$, с точностью $0,1^\circ\text{C}$, что очень важно для исследования метаболических внутриклеточных сигнальных путей. Нагреватель и датчик температуры встроены в препаратоводитель, кроме того, предусмотрен погружной датчик температуры для образца и нагреватель с датчиком в держателе емкости для перфузионного раствора. Задание целевой температуры и считывание текущих значений осуществляется в модифицированной программе WinFluorXE. В первой версии использовали полупроводниковые датчики температуры - термисторы Honeywell B57861-S. Затем для измерения температуры в камере использовали прецизионный платиновый термистор Honeywell 700-102BAA-B00 и микросхемы

MAX31865. Такое решение обеспечивает высокоточное измерение температуры (ошибка менее $0,1^{\circ}\text{C}$).

Цифровая камера является ключевым элементом системы. Программа WinFluorXE поддерживает камеры следующих производителей: Andor Technology Ltd., Princeton Instruments, QImaging, PCO AG, Hamamatsu, Thorlabs. Однако, предоставляемые автором программы исходные тексты программы позволяют подключать практически любую цифровую камеру, укомплектованную библиотекой функций. Нами была выбрана камера SDU-285 (СпецТелеТехника, Москва). Данная камера построена на базе матрицы SONY CCD ICX285AL, которая используется во многих камерах для микроскопии. В камере реализовано охлаждение матрицы до -40°C , внутренний объем камеры вакуумирован. Мы модифицировали WinFluorXE, добавив поддержку данной камеры (и всех других камер производства СпецТелеТехника).

Поддержка электрофизиологического оборудования является особенностью программы WinFluorXE. John Dempster, автор программы, добавил возможность синхронизированных с флуоресцентными электрофизиологических измерений, аналогичную WinEDR и WinWCP. Поэтому наша установка имеет возможность проведения электрофизиологических и флуоресцентных исследований как совместно, так и отдельно, причем, для этого используется единая программа ПК, одна система сбора данных ЦАП/АЦП, это очень удобно и обеспечивает высокую синхронность проводимых исследований, что было нами использовано в исследованиях действия кардиотоксинов (Averin et al., 2019).

Разработанная нами система заменяет целый набор дорогостоящего оборудования импортного производства (см. **Таблица 7**):

Таблица 7. Сравнительный анализ стоимости Open-source системы с ближайшими доступными коммерческими аналогами. В скобках указана ориентировочная стоимость. По материалам публикации автора: Асташев М. Е. Open-source установка для микрофлуоресцентного Ca^{2+} -анализа // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация : сборник статей Международной конференции / Под ред. Зинченко В. П. Б. А. В. – Т. 1 – Пущино, 22–25 мая 2017 года. , 2017. – С. 397-403.

Наименование	Open-source установка	Фирменное оборудование
Система управления	Arduino Mega2560 (\$8) Ramps 1.4 (\$3) Драйвер A4988 x 6 шт. (\$5)	Temperature Controller TC-344C (\$2830)
Система сбора данных	NI USB-6343 (\$2055)	Digidata 1550B0 и pCLAMP 10 (\$13500)
Колесо смены фильтров	Шаговый мотор (\$5)	Thorlabs FW102C (\$1120)
Препаратоводитель	Шаговый мотор x 2шт (\$20)	Thorlabs MLS203-1 (\$6960)
Камера	SDU-285 (\$1600)	Motic Moticam Pro 285A (\$5000)

Сравнение затрат на компоненты установки со стоимостью аналогичного научного оборудования показывает восьмикратное снижение затрат, что соответствует оценкам, сделанным в книге (Pearce, 2014).

Вышеописанная система оказалась весьма производительной и удобной и к настоящему моменту отработала около 6 лет и более 3000 рабочих часов.

Чтобы обеспечить возможность использования микроскопа в совместных экспериментах с электрофизиологическими методами (пэтч-метод) и культивированием клеток, были использованы алгоритмы управления шаговыми моторами генерирующие минимальные механические вибрации, а в электрических схемах предусмотрены фильтры электромагнитных помех.

3.1.2 Прибор для электроимпедансной спектроскопии ветвей растений⁸

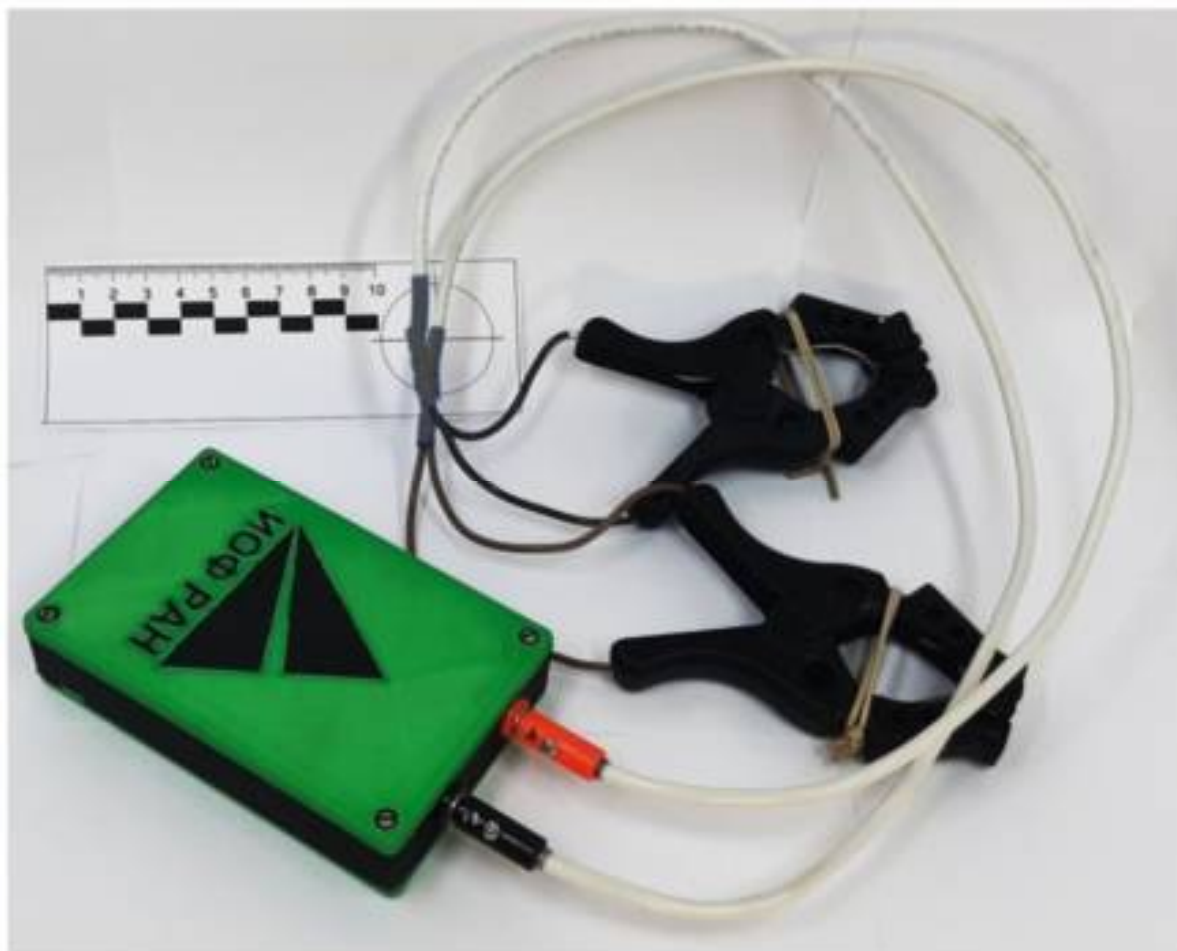


Рисунок 27. Внешний вид прибора для измерения комплексного сопротивления (импеданса). Из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310

Комплексное сопротивление (импеданс) измерялось с помощью разработанного автором устройства (Рисунок 27) на базе микросхемы

1. ⁸ По материалам статей автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310

AD5933 (Analog Devices) и контроллера ATmega328 (Microchip) в составе модуля Arduino Nano V3.0, стандартно сопряженного через интерфейс Шина I2C в соответствии с техническим описанием на микросхему AD5933 (Рисунок 28). Интерфейс с компьютером создается модулем Bluetooth HC-05. Устройство питается от двух литий-ионных аккумуляторов типа 18650, соединенных последовательно. Для расширения диапазона измеряемых сопротивлений в операционном усилителе AD8606 (Analog Devices, США) реализован повторитель напряжения и преобразователь ток-напряжение в соответствии с эталонным дизайном AD5933. В отличие от аналогичных устройств, описанных ранее в литературе [(Al-Ali et al., 2017)], разработанное нами устройство имеет функцию автокалибровки и защиты разрядов статического напряжения в транспортировочном режиме, а также функцию температурной компенсации измерений. Для измерения температуры используется датчик DS18B20 (Dallas Semiconductor, Даллас, Техас, США). Функция автокалибровки и защиты состоит из электромагнитного реле К1 и резистора R8 сопротивлением 68 кОм. Во время процедуры калибровки резистор R8 подключают ко входам измерительной схемы и производят то же сканирование диапазона частот, что и при обычном измерении. Процедура деления комплексных результатов измерений растительных образцов на комплексные результаты измерений резистора реализована в программном обеспечении микроконтроллера. Также нами разработаны контактные язычки для соединения штоков диаметром до 45 мм с металлическими контактными площадками из листового электротехнического никеля. Микросхема AD5933 выводит результаты измерений в виде пары целых чисел, пропорциональных действительной и мнимой составляющим тока через тестовый образец.

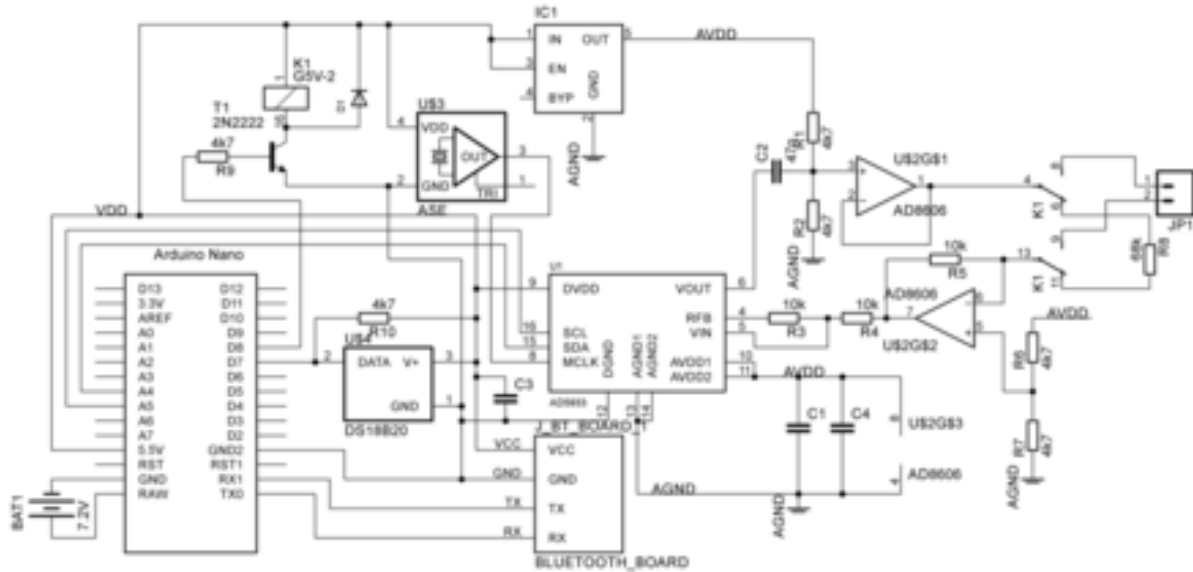


Рисунок 28. Принципиальная схема устройства для измерения комплексного сопротивления (импеданса). Из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310

Измерения проводились с целью определения зависимости импеданса от частоты приложенного к образцу напряжения. Для этого была получена серия комплексных данных для ряда частот от 2 кГц до 10 кГц с шагом 1 кГц и от 20 кГц до 100 кГц с шагом 10 кГц. Такая сетка частот позволила, с одной стороны, максимально использовать заложенную в AD5933 автоматизацию процедуры измерения, а с другой стороны, сэкономить время измерения в диапазоне частот от 20 до 100 кГц.

Процедура измерения заключалась в предварительной калибровке измерителя резистором 68 кОм, для чего входная часть AD5933 подключалась к резистору с помощью реле, а затем собственно измерение тестового образца, при котором входная часть AD5933 подключалась к резистору с помощью реле. AD5933 был подключен к входным клеммам устройства с помощью того же реле с двумя контактами коммутационной группы. С учетом калибровки расчет нормализованных данных проводился непосредственно в ATmega328 по формуле деления комплексных чисел. Результат измерения передавался с контроллера на компьютер по протоколу

RS232 в виде таблицы чисел с тремя столбцами: частота, действительная составляющая тока и мнимая составляющая тока. В полевых условиях использовались компактные портативные устройства на операционной системе Android, а данные передавались через Bluetooth.

3.1.3 Прибор для импульсной флуориметрии фотосинтетических пигментов растений

Для осуществления длительных экспериментов по исследованию ритмических компонентов в физиологических системах растений нами была разработана система непрерывной регистрации флуоресценции фотосинтетических пигментов в растениях, находящихся в вегетационной камере. Отличия нашей системы от известных РАМ - флуориметров фирмы Waltz следующие:

1. высокий уровень стабилизации тока светодиодных осветителей, используемых для возбуждения флуоресценции, для обеспечения насыщающего светового воздействия и для роста растений, для исключения частотных артефактов,
2. контроль системы на предмет генерации низкочастотных артефактов,
3. возможность многосуточной непрерывной регистрации основных параметров флуоресценции (базового уровня флуоресценции и пикового уровня флуоресценции при насыщении электрон-транспортной цепи),
4. синхронизация регистрации основных параметров флуоресценции с управлением ростовым источником света.

В общем, разработанная нами система использует стандартную идеологию анализа результатов измерений с помощью импульсной флуориметрии (Schreiber, 2004). Подбор источника света для возбуждения флуоресценции осуществлялся по измеренному нами (флуориметр Jasco FP-8350, Япония) спектру флуоресценции листа яблони (Рисунок 29). В

результате, для возбуждения флуоресценции выбрали светодиод ближней ультрафиолетовой области с максимумом излучения 409 нм (Рисунок 30). Для регистрации эмиссии флуоресценции необходимо оптически отфильтровать видимый диапазон светового излучения от ~670 нм и далее в длинноволновую область инфракрасного диапазона. Для этого использовали недорогой оптический фильтр из цветного стекла HB650 с граничной длиной волны пропускания 650 нм (Рисунок 31). В качестве приемника использовали обычный кремниевый фотодиод (ФД-263, СССР). Такое сильное разнесение диапазонов испускания источника и чувствительности фотоприемника обеспечивает хорошее выделение флуоресцентного сигнала на фоне засветки рассеянным излучением и дневным солнечным светом. Дополнительное улучшение соотношения сигнал/шум обеспечивается импульсным режимом возбуждения флуоресценции и оконным (по времени) режимом регистрации флуоресцентного ответа.

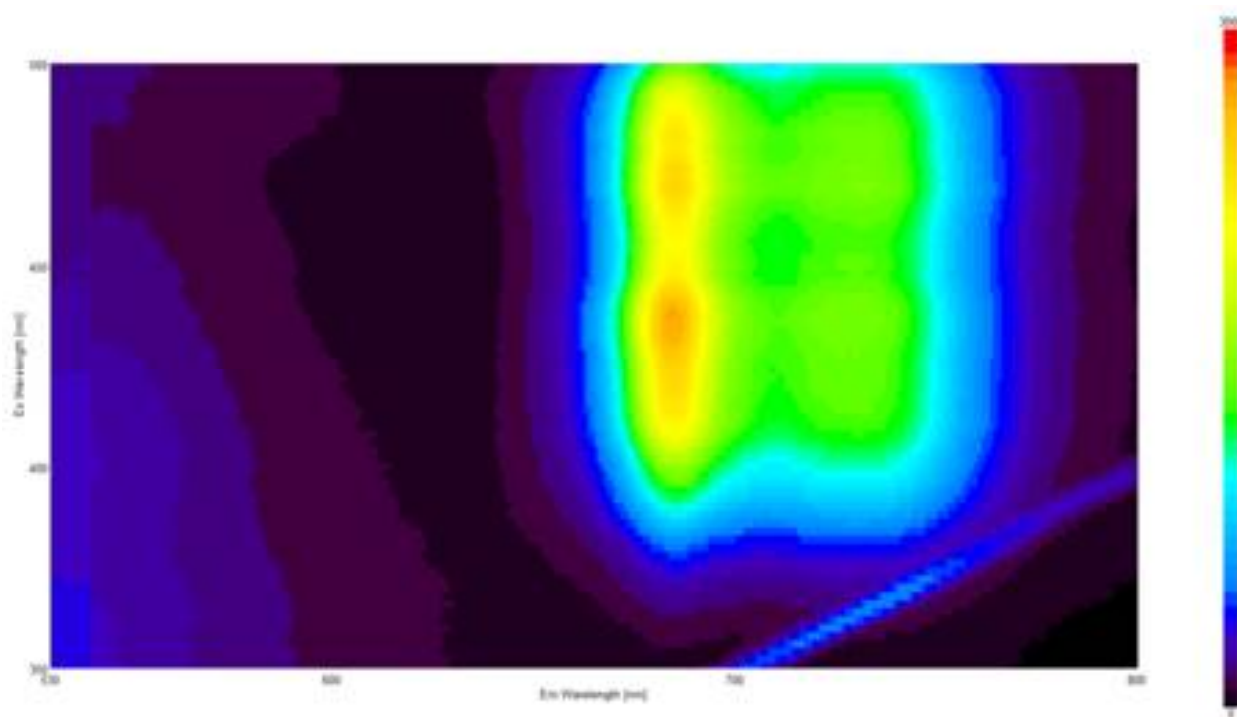


Рисунок 29. Двумерный спектр флуоресценции листа яблони зарегистрированный нами с помощью флуориметра Jasco FP-8300. Рисунок автора. Данные получены лично.

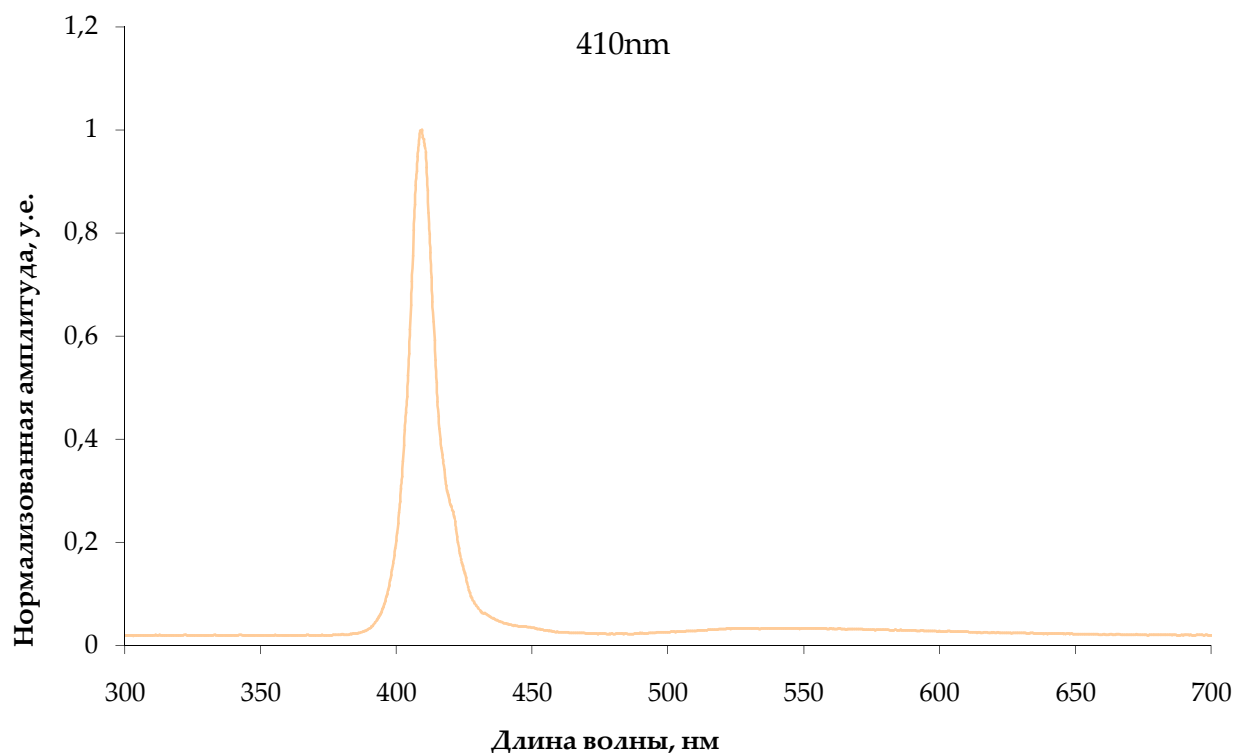


Рисунок 30. Спектр излучения светодиода, выбранного для возбуждения флуоресценции. Спектр измерен нами с помощью спектрометра Ocean Optics USB2000+. Рисунок автора. Данные получены лично.

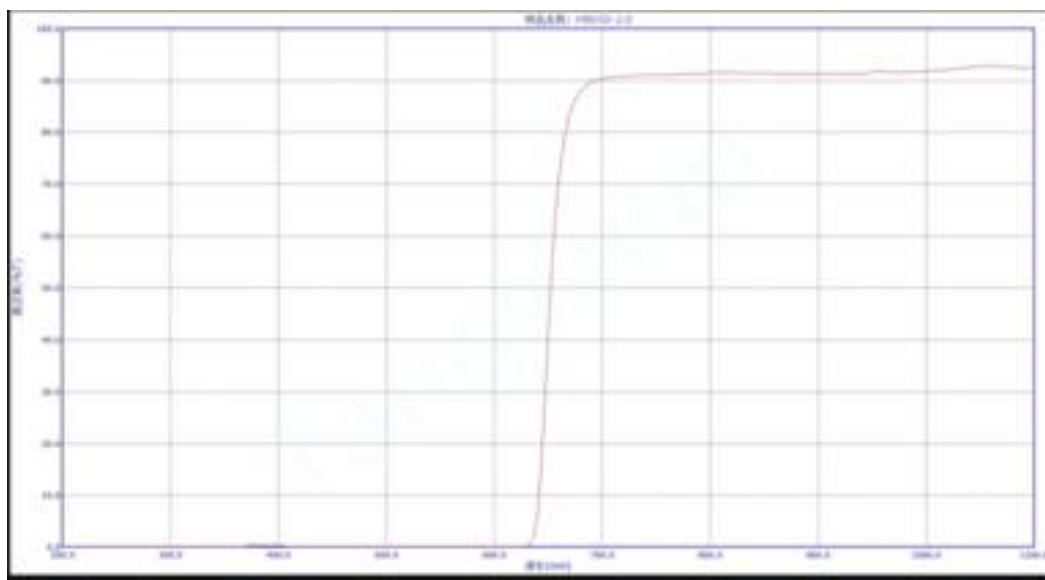


Рисунок 31. Спектр пропускания фильтра HB650, который является Low-pass фильтром с граничной длиной волны пропускания 650нм. Данные производителя. Источник рисунка: сайт. - URL: <https://optolongoptics.en.made-in-china.com/product/tGAYFfOrVxcl/China-Longpass-650-Nm-Long-Optical-Pass-Filter-Optical-Longpass-Filter.html> дата обращения 25.07.2024.

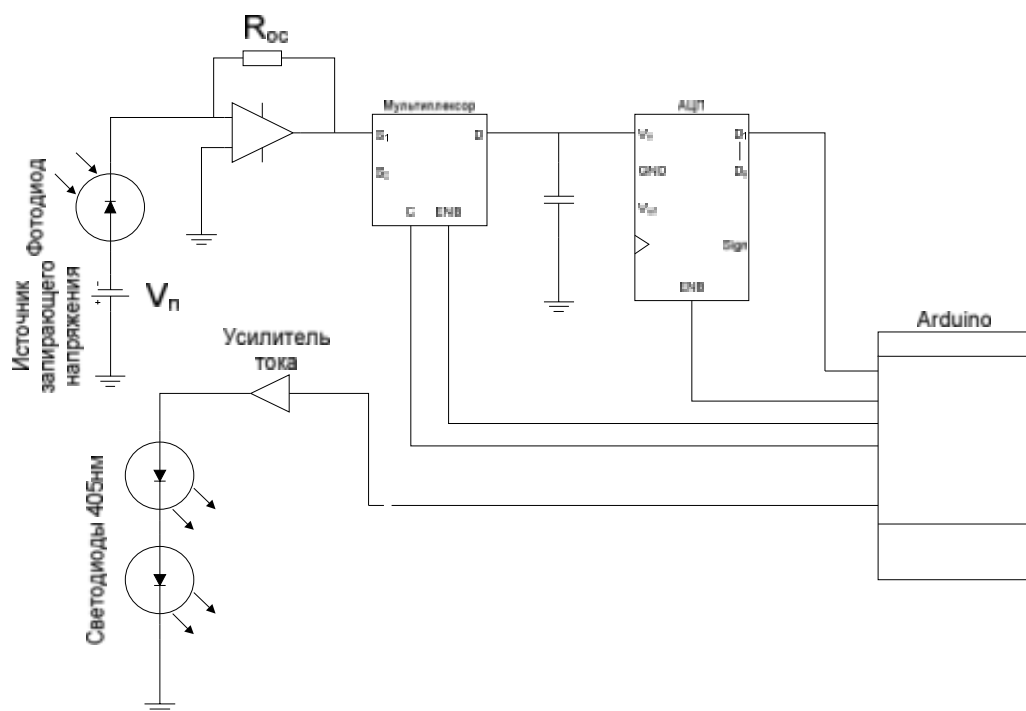


Рисунок 32. Структурная схема устройства контроля фотосинтетической активности. Рисунок автора.

Электронная часть устройства контроля фотосинтетической активности обеспечивает генерацию коротких (длительность 1-2 мкс) импульсов тока для питания ультрафиолетового светодиода возбуждения флуоресценции и синхронизированной регистрации амплитуды тока через фотодиод (Рисунок 32). В состав электронной схемы входят:

1. источник запирающего напряжения фотодиода, формирующий отрицательное напряжение величиной -12В (значение рекомендовано производителем) для уменьшения темнового тока фотодиода,
2. трансимпедансный усилитель фототока на базе операционного усилителя,
3. высокоскоростной мультиплексор HEF4066 для захвата выходной амплитуды трансимпедансного усилителя, соответствующей флуоресцентному ответу,
4. аналого-цифровой преобразователь (используется встроенный в АТМega8),
5. мощный усилитель тока для питания светодиодов возбуждения флуоресценции.
6. Микроконтроллер АТМega328.

В целях разделения высокочувствительных цепей, цифровых цепей и цепей с большими импульсными токами, электронная схема была разделена на 2 отдельных модуля (Рисунок 33).

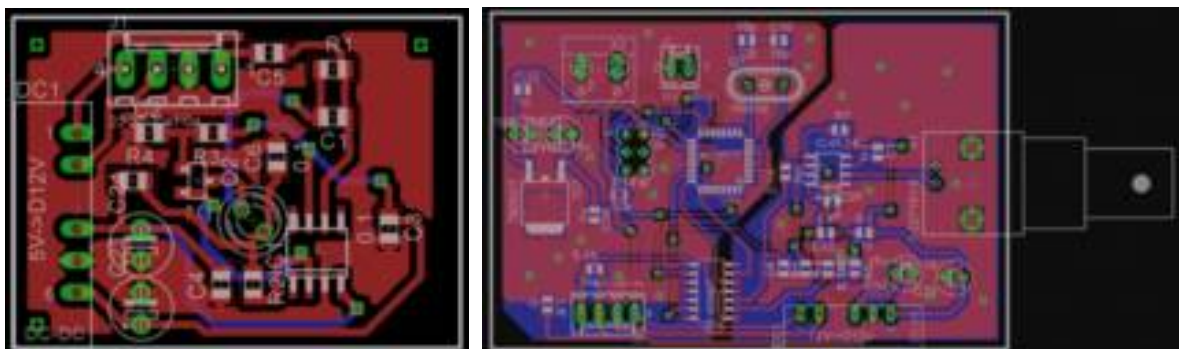


Рисунок 33. Рисунок печатных плат для предварительного усилителя тока фотодиода (слева) и схемы регистрации и управления (справа) устройства контроля фотосинтетической активности. Рисунок автора.



Рисунок 34. Устройство контроля фотосинтетической активности (черная коробка по центру фотографии), установленное в интеллектуальную систему управления освещением для повышения продуктивности сельскохозяйственных растений на основе данных о состоянии их фотосинтетического аппарата. Рисунок автора.

Все электронные блоки были установлены в корпус размерами 160x80x45 мм, который, в свою очередь, был смонтирован на алюминиевую пластину размерами 970x570x2 мм, вместе с белыми светодиодами для обеспечения ростового света и импульсного освещения для насыщения электрон-транспортной цепи фотосинтетического аппарата. Были использованы светодиоды двух типов: стандартные белые осветительные светодиоды, смонтированные на самоклеящуюся ленту (общая установленная

электрическая мощность 72 Вт при напряжении 24 В и токе 3А), и светодиоды Sunlike (общая установленная мощность 80 Вт при напряжении 31В и токе 2,6А) (Рисунок 34).

Для передачи данных об интенсивности флуоресценции из устройство контроля фотосинтетической активности в управляющий персональный компьютер использовали интерфейс USB и специально разработанную программу для ПК под управлением MS Windows.

3.2 Разработка математических методов анализа временных рядов

3.2.1 Метод распределения популяции клеток по динамике транзистентных сигналов

Большая часть динамических сигналов изменения внутриклеточной концентрации представляет собой транзистентные сигналы, т.е. кратковременное увеличение концентрации с последующим восстановлением до исходного уровня. Чаще всего соотношение времени наблюдения транзистентных сигналов к общему времени регистрации не превышает 10%. Подобные кратковременные сигналы встречаются в астрофизике (Šimberová & Suk, 2013) и в процессах кавитации при лазерном пробое (Baimler et al., 2020). Для таких динамических сигналов в астрофизике принят подход (Šimberová & Suk, 2013), заключающийся в исследовании последовательности измерений динамических характеристик, как набора индивидуальных независимых измерений (что, строго говоря, не так) и исследования их статистических характеристик: моментов. Формула для вычисления момента n -го порядка имеет вид:

$$\mu_n = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^n \quad (33)$$

где $\bar{x}$ - среднее ряда данных, N - количество данных. Общеизвестен смысл второго момента - это среднеквадратическое отклонение, применяемое как мера размаха ряда данных, или погрешности измерений. В случае, если данные хорошо описываются нормальным распределением, второй момент пропорционален ширине распределения. Моменты более высоких порядков также имеют геометрический смысл для описания формы распределения. Третий момент позволяет вычислить безразмерную величину асимметрии распределения:

$$S = \frac{\mu_3}{\mu_2^{3/2}} \quad (34)$$

Данная величина показывает насколько асимметрично распределение. В случае измерений цитозольной концентрации кальция в клетках данная величина варьирует около 0 в случае отсутствия транзиентных сигналов, т.е. регистрации шумовой кривой, и становится больше нуля при их появлении. Четвертый момент позволяет оценить безразмерную величину эксцесса распределения, т.е. островершинности или плосковершинности распределения:

$$Ex = \frac{\mu_4}{\mu_2^2} - 3. \quad (35)$$

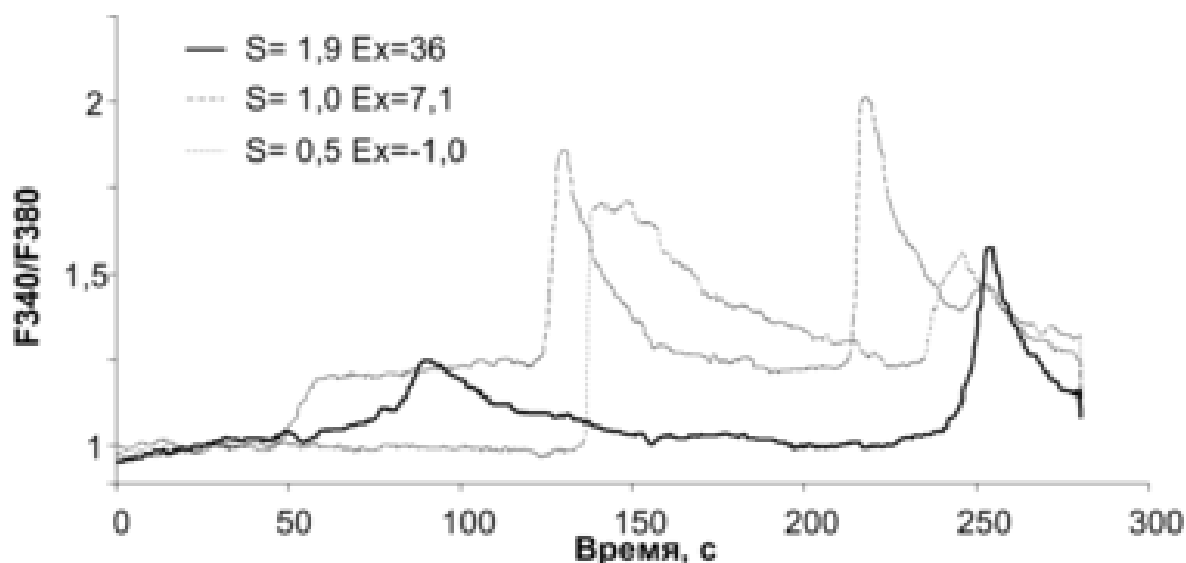


Рисунок 35. Примеры временных рядов измерения цитозольной концентрации кальция в одиночных нейтрофилах мыши ратиометрическим методом с длинами волн возбуждения флуоресценции 340нм и 380нм после добавления в среду в момент 0с 10мкМ АТФ. Указаны значения симметрии и эксцесса для данных клеток. Анализ распределения клеточной популяции с помощью статистических моментов высокого порядка. Из статьи автора в сборнике: Цитометрический подход / М. Е. Асташев, Д. А. Серов, И. В. Тихонова [и др.] // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация, Серпухов, 20–24 мая 2019 года / Под редакцией В.П. Зинченко, А.В. Бережнова. Том 1. – Серпухов: Типография Пятый Формат, 2019. – С. 395-400.

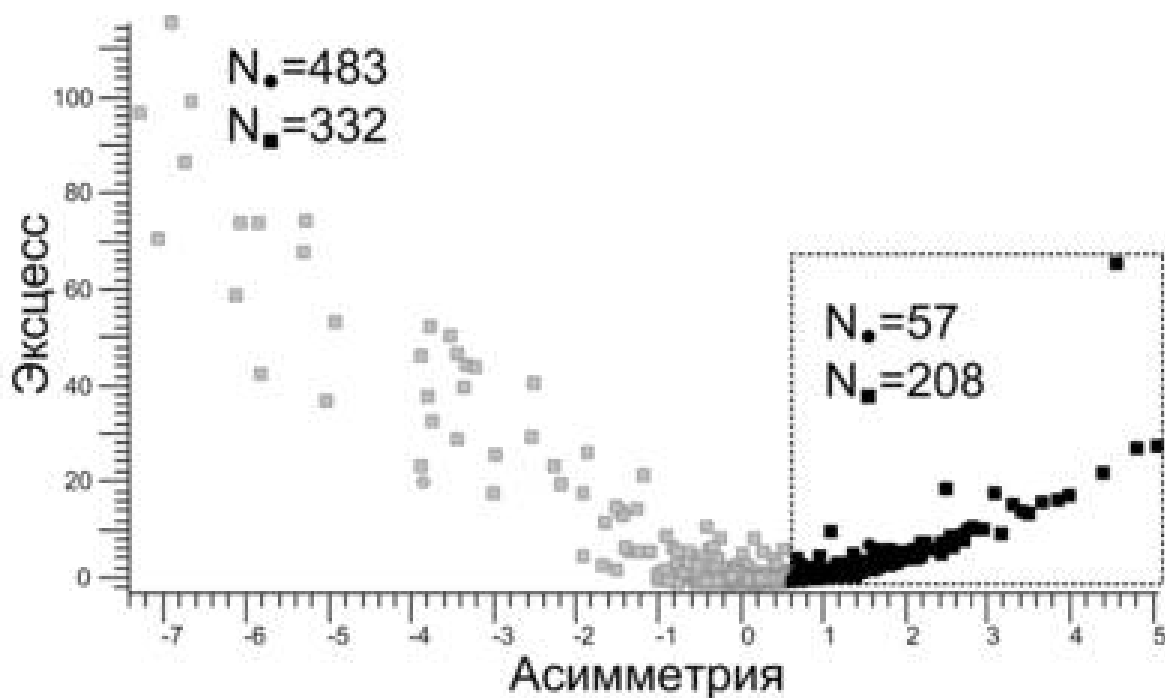


Рисунок 36. Распределение популяции клеток по значениям асимметрии и эксцесса до (●) и после (■) воздействия АТФ. Исследовано 540 клеток. Черные точки - клетки попавшие в область отбора с $S > 0.6$ и $Ex > 0$. Область отбора обозначена пунктирной линией. Из статьи автора в сборнике: Цитометрический подход / М. Е. Асташев, Д. А. Серов, И. В. Тихонова [и др.] // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация, Серпухов, 20–24 мая 2019 года / Под редакцией В.П. Зинченко, А.В. Бережнова. Том 1. – Серпухов: Типография Пятый Формат, 2019. – С. 395-400.

В случае измерений цитозольной концентрации кальция в клетках данная величина варьирует около 0 в случае отсутствия какой-либо Ca^{2+} - динамики, и принимает небольшие положительные значения при появлении транзистентных сигналов. В случае же появления медленных изменений базового уровня цитоплазматического $[Ca^{2+}]_i$ Ex принимает положительные значения более 10.

Нами была разработана автоматизированная процедура для распределения популяции клеток на подгруппы путем оценки различий в динамике изменения яркости флуоресценции в индивидуальных клетках по величине статистических моментов временных рядов третьего и четвертого порядка:

1)Выделяли области интереса (ROI) автоматически по усредненному изображению канала 380нм с помощью процедуры Analyze Particles ПО ImageJ. С целью анализа клеток с различным уровнем окрашивания (светимости в канале 380нм) процедуру Analyze Particles проводили несколько раз при различных уровнях порога светимости. Это приводило к появлению в итоговом наборе ROI дубликатов. Для полученного набора ROI сохраняли координаты X и Y каждого ROI.

2)Получали ратиометрический стек путем деления стека 340нм на стек 380нм процедурой Image Calculator. Этот стек анализировался процедурой Multimeasure для получения временных рядов изменения цитозольной концентрации кальция для ранее полученного набора ROI.

3)Сохраняли две текстовые таблицы: координаты X и Y центра каждого ROI и временные ряды изменения цитозольной концентрации кальция для каждого ROI.

4)Таблицы загружали в разработанное нами ПО. Все дальнейшие шаги осуществлялись с помощью этого ПО.

5)Анализировали таблицу координат X и Y ROI с целью поиска и удаления дубликатов.

6)При необходимости загружали второй комплект таблиц для возможности сравнения параметров клеток в различных стеках. Во втором комплекте таблиц также удаляли повторы.

7)Находили соответствие клеток в первом и втором комплекте с учетом возможных подвижек предметного столика.

8)Строили двумерные гистограммы распределения симметрии и эксцесса для выделения групп клеток.

9)Анализировали группы клеток с определением процента клеток в каждой группе, средних значений параметров для каждой группы.

Таким образом, на базе микрофлуориметрической регистрации динамики изменения внутриклеточных посредников, впервые был

реализован *цитометрический подход* к анализу распределения популяций клеток. В дальнейшем нами был использован и способ анализа данных, принятый в цитометрии, заключающийся в построении мультипараметрических гистограмм для популяции клеток и выделении субпопуляций путем "гейтирования".

3.2.2 Адаптация метода фазовой вейвлет-когерентности для анализа ритмов с разными частотами в одноканальном сигнале.

Для сравнения различных методов оценки когерентности нами были подготовлены динамические данные с заведомо нестационарным колебательным процессом. Для этого была собрана простая схема генерации коротких электромагнитных импульсов малой длительности и амплитуды из конденсатора, неоновой лампы и резистора. Регистрацию динамики сигнала проводили с помощью цифрового осциллографа Аурис В-424 (Минск, РБ)

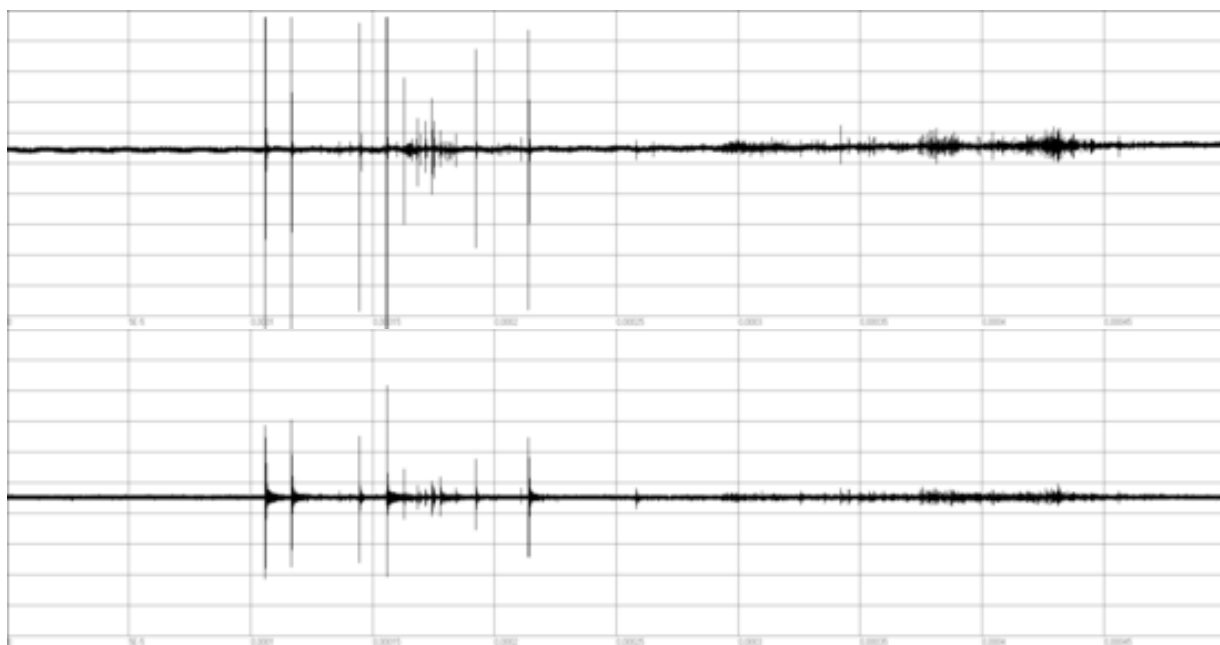


Рисунок 37. Пример записи нестационарного колебательного процесса - радиосигнала, полученного в результате разряда конденсатора через неоновую лампу. По оси абсцисс время в секундах, по оси ординат напряжение в вольтах. Рисунок автора.

подключив к двум каналам осциллографа простейшие дипольные антенны, разнесенные на 1 метр друг от друга. В результате получили записи, представленные на Рисунок 37.

Частота данного колебательного процесса зависит от емкости конденсатора и индуктивности, образованной петлей соединительных проводов. Частота разрядов зависит от сопротивления резистора, через который осуществлялся заряд конденсатора. Момент разряда определяется как напряжением на конденсаторе, так и случайными внешними процессами, например, пролетом частиц космического излучения. В целом данный процесс можно охарактеризовать как крайне нестационарный колебательный процесс с более-менее фиксированной центральной частотой. Результат комплексного вейвлет анализа данного сигнала в виде время-частотной карты модуля вейвлет-коэффициентов представлен на Рисунок 38. На карте очень хорошо видны паттерны регистрируемого колебательного процесса. Видно, что в процессе колебаний генерируется набор колебательных мод, с периодами 18 и 44 нс (если брать максимальные амплитуды колебаний). Однако, при этом также видны устойчивые колебания, явно к моделируемому нами процессу не относящиеся. На карте для 1го канала видна ровная полоса, соответствующая частоте 63кГц и, вероятнее всего, появившаяся в результате наводки от какого-то импульсного источника питания. Далее нами были проанализированы параметры когерентности и корреляции данных сигналов по формулам, представленным выше. Корреляция модулей вейвлет коэффициентов, оцененная по формуле корреляции Пирсона составила 0,90 при анализе колебаний с периодом 44 нс и 0,98 при анализе колебаний с периодом 18 нс. При анализе когерентности по формулам из (Bandrivskyu et al., 2004), показатель ρ составил 0,19 при анализе колебаний с периодом 44 нс и 0,35 при анализе колебаний с периодом 18 нс. Как видно, результаты достаточно низкие, учитывая, что мы точно знаем, что колебательные процессы на этих частотах есть и они точно взаимосвязаны

(имеют один источник). Причина таких низких показателей в нестационарности сигнала, т.е. в скважности. Применение формулы представленной на Рисунок 16 дает параметр кросскорреляции 0,83 при анализе колебаний с периодом 44 нс и 0,95 при анализе колебаний с периодом 18 нс. Таким образом, использование коэффициента когерентности для анализа нестационарных сигналов может приводить к занижению результатов.

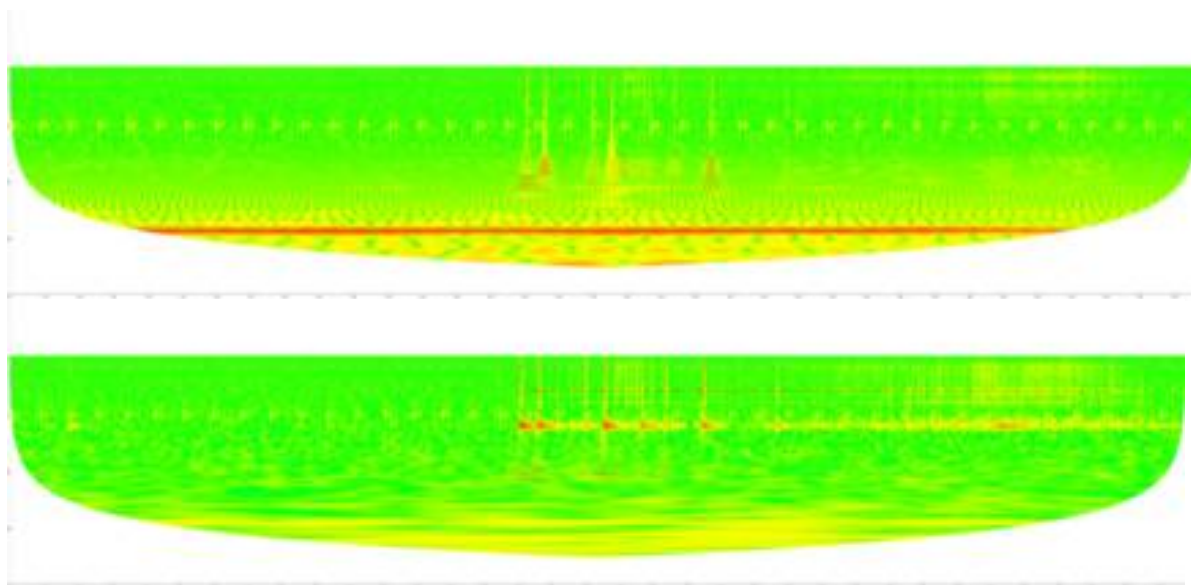


Рисунок 38. Модуль вейвлет-коэффициентов разложения сигналов, представленных на Рисунок 37. Рисунок автора.

Методы вейвлет-когерентности и вейлет-кросскорреляции подразумевают получение зависимости коэффициентов кросскорреляции и когерентности от частоты, производя свертку по временной зависимости вейвлет-коэффициентов. При необходимости эту свертку можно производить с определенным окном, получая зависимости коэффициентов от времени. Они приспособлены для выявления исследования синхронизации многоканальных сигналов. Однако на их основе можно предложить метод для исследования межчастотной синхронизации в одноканальном сигнале, для выявления фазовых взаимосвязей в сигналах, представляющих собой

композицию нескольких частот, например, гармоник, с одним источником. Обозначим фазы двух гармонических компонент одного и того же сигнала как

$$\phi_1 = \omega_1 t + \varphi_1, \quad (36)$$

$$\phi_2 = \omega_2 t + \varphi_2, \quad (37)$$

при этом интерес для нас, как и в предыдущем случае представляет разность

$$\Delta\phi = \phi_1 - \phi_2 = (\phi_1 - \omega_1 t) - (\phi_2 - \omega_2 t). \quad (38)$$

Коэффициент кросс-корреляции для двух частот будет иметь вид:

$$C(\omega_1, \omega_2) = \frac{\langle W(\omega_1, t) W^*(\omega_2, t) \rangle_t}{\sqrt{\langle W_1(\omega, t) W_1^*(\omega, t) \rangle_t \langle W_2(\omega, t) W_2^*(\omega, t) \rangle_t}} = \frac{\langle |W(\omega_1, t)| |W(\omega_2, t)| e^{j((\phi_1 - \omega_1 t) - (\phi_2 - \omega_2 t) + \Delta\omega t)} \rangle}{\sqrt{\langle |W(\omega_1, t)|^2 \rangle \langle |W(\omega_2, t)|^2 \rangle}}, \quad (39)$$

т.е. вычисление коэффициента кросс-корреляции осуществляется после виртуальной "остановки" волнового процесса путем вычитания идеального набега фазы со скоростью, соответствующей частоты ω . Ключевым моментом при этом является точное установление соотношения частот, чтобы исключить проскальзывание одного волнового процесса относительно другого, что требует процедуры подбора малого параметра $\Delta\omega$, иллюстрация процесса подбора параметра представлена на рисунке ниже (Рисунок 39).

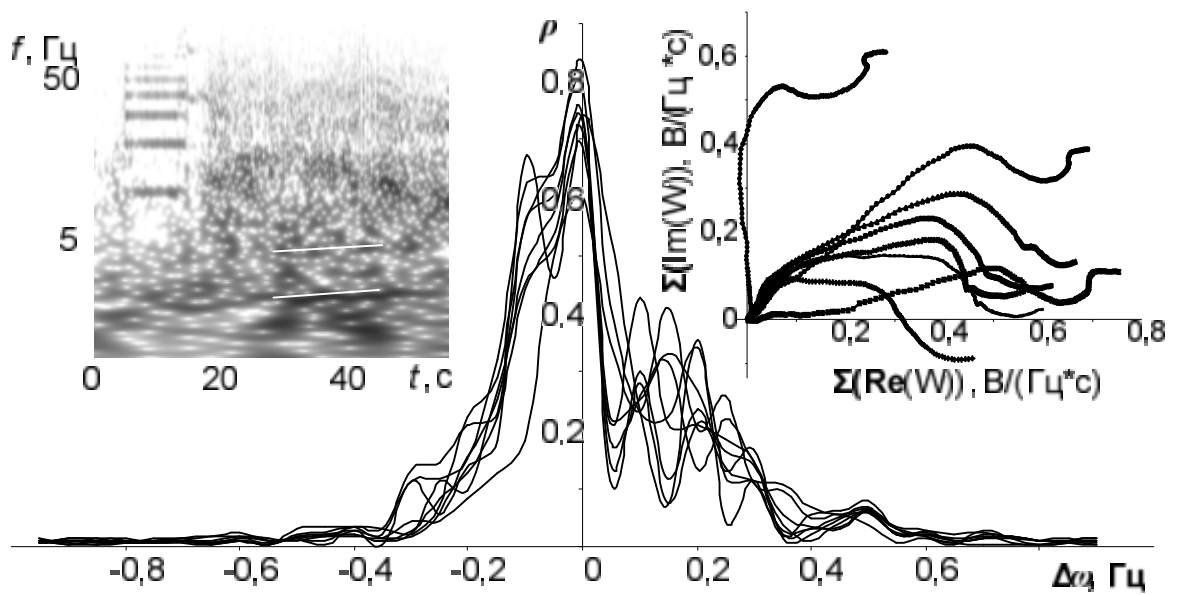


Рисунок 39. Подбор параметра $\Delta\omega$. Представлена зависимость $\rho(\Delta\omega)$. На врезке слева вейвлет-разложение записи ЭЭГ со следами гармоник частоты зрительной стимуляции, белые линии обозначают ритмические полосы, когерентность которых исследуется. Рисунок автора.

3.2.3 Применение биспектрального анализа для исследования нелинейных процессов передачи сигнала. Поиск приемника и передатчика⁹

Основой биспектрального анализа является вычисление интегральных комплексных корреляционных характеристик на основе формул (Newman et al., 2021):

$$\Phi_1(t, \omega_1) = A_1(t, \omega_1)e^{j\phi_1}, \phi_1 = (\omega_1 t + \varphi_1). \quad (40)$$

$$\Phi_2(t, \omega_2) = A_2(t, \omega_2)e^{j\phi_2}, \phi_2 = (\omega_2 t + \varphi_2). \quad (41)$$

$$\Phi_3(t, \omega_1 + \omega_2) = A_3(t, \omega_1 + \omega_2)e^{j\phi_3}, \phi_3 = ((\omega_1 + \omega_2)t + \varphi_3). \quad (42)$$

$$\rho_{123}(\omega_1, \omega_2) = \int_{-\infty}^{\infty} \Phi_1(t, \omega_1) \Phi_2(t, \omega_2) \overline{\Phi_3(t, \omega_1 + \omega_2)} dt = \quad (43)$$

$$= \int_{-\infty}^{\infty} A_1 A_2 A_3 e^{j(\phi_1 + \phi_2 - \phi_3)} dt = \int_{-\infty}^{\infty} A_1 A_2 A_3 e^{j\Delta\phi} dt$$

$$\Delta\phi = \varphi_1 + \varphi_2 - \varphi_3 - t(\omega_1 + \omega_2 - (\omega_1 + \omega_2)) = \varphi_1 + \varphi_2 - \varphi_3. \quad (44)$$

где ρ_{123} - это собственно вычисленный для частот ω_1 и ω_2 и для трех синхронно зарегистрированных сигналов коэффициент биспектра, Φ_1, Φ_2, Φ_3 - это комплексные коэффициенты вейвлет-разложения, определенные в момент времени t и для частот ω_1, ω_2 и $\omega_1 + \omega_2$, соответственно. При рассмотрении более частного случая анализа двух сигналов, очевидно, что можно предложить два варианта вычисления биспектра:

$$\rho_{121}(\omega_1, \omega_2) = \int_{-\infty}^{\infty} \Phi_1(t, \omega_1) \Phi_2(t, \omega_2) \overline{\Phi_1(t, \omega_1 + \omega_2)} dt, \quad (45)$$

$$\rho_{122}(\omega_1, \omega_2) = \int_{-\infty}^{\infty} \Phi_1(t, \omega_1) \Phi_2(t, \omega_2) \overline{\Phi_2(t, \omega_1 + \omega_2)} dt, \quad (46)$$

⁹ По материалам статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., Knyazeva I. V., Dorokhov A. A., Simakin A. V., Gudkov S. V. Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685

причем, очевидно, что эти формулы не симметричны относительно перестановки сигналов. Эта асимметрия позволяет решить проблему определения источника и приемника сигнала. Рассмотрим простую схему передачи сигнала состоящую из двух узлов "1" и "2":

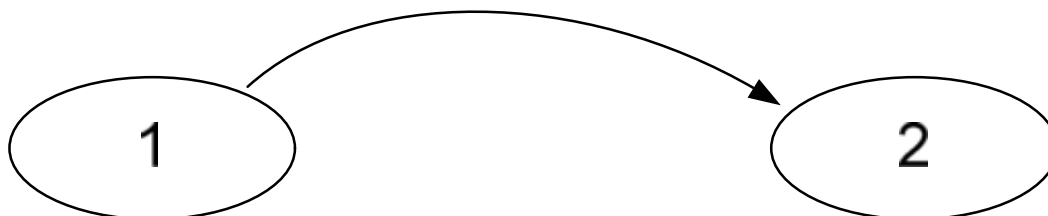


Рисунок 40. Простая схема передачи сигнала в физиологической системе. Рисунок из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685

В качестве узлов могут выступать одиночные клетки при регистрации культуры эндотелиоцитов методом микрофлуорометрического анализа цитозольной концентрации кальция, отдельные структуры головного мозга при исследовании активности методом электро-энцефалографии или даже различные участки конечностей экспериментального животного при исследовании системных процессов в микроциркуляторном русле.

Предположим, что

1. обеспечена синхронная регистрация сигналов от узлов "1" и "2",
2. в каждом узле есть свой независимый генератор гармонических колебаний с частотами ω_1 и ω_2 , соответственно,
3. есть канал передачи сигнала от узла "1" к узлу "2", причем в узле "2" происходит линейное суммирование колебаний "1" и "2",
4. происходит аналоговое нелинейное преобразование сигнала на этапе регистрации в каждом узле.

Графически схема формирования, передачи и преобразования сигналов будет выглядеть как:

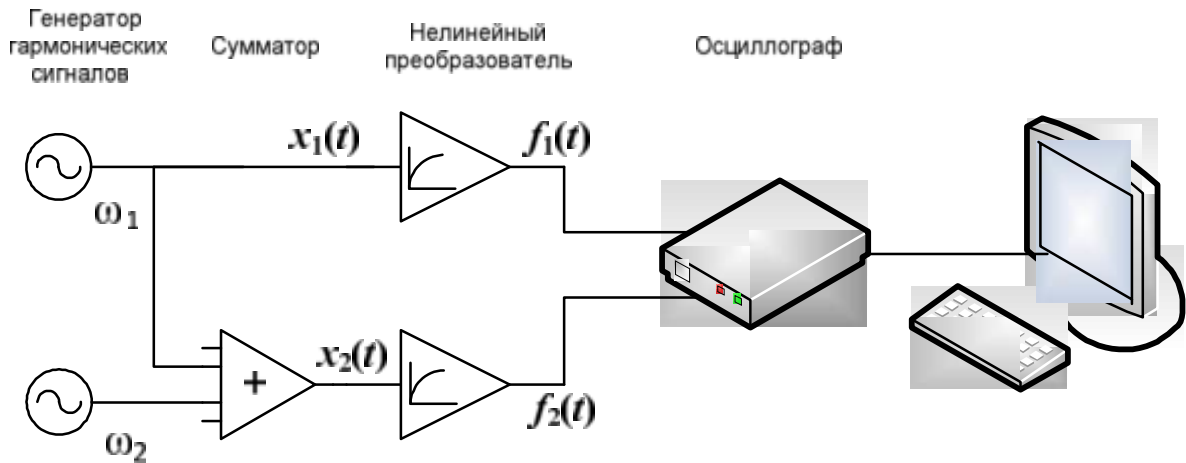


Рисунок 41. Схема формирования, передачи и преобразования сигналов для рисунка 37. Рисунок из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685

На уровне генераторов каждого узла, сигналы выглядят как :

$$A_1 \sin \omega_1 t, \quad (47)$$

$$A_2 \sin \omega_2 t, \quad (48)$$

где A_1 и A_2 амплитуды соответствующих сигналов,

На входах нелинейных преобразователей сигналы выглядят как:

$$x_1(t) = A_1 \sin \omega_1 t, \quad (49)$$

$$x_2(t) = kA_1 \sin \omega_1 t + A_2 \sin \omega_2 t, \quad (50)$$

где k - коэффициент передачи сигнала от первого узла до второго.

Нелинейность преобразователя учтем в виде разложения в ряд Тейлора до квадратичного члена вида:

$$f(x_i) = x_i + Bx_i^2, \quad (51)$$

здесь постоянной составляющей сигнала мы пренебрегли, и тогда сигнал, регистрируемый от первого узла будет иметь вид:

$$f_1(t) = A_1 \sin \omega_1 t + B_1 A_1^2 \sin^2 \omega_1 t = A_1 \sin \omega_1 t + \frac{A_1^2 B_1}{2} - \frac{A_1^2 B_1}{2} \cos(2\omega_1 t), \quad (52)$$

т.е. в сигнале, регистрируемом от первого узла за счет нелинейности передаточной функции будет появляться также и вторая гармоника основного сигнала. Конечно, в реальной системе возможны такие нелинейные функции преобразования сигнала, которые потребуют учета членов ряда Тейлора более высокого порядка, соответственно и появятся более высокие гармоники.

Сигнал, регистрируемый от второго узла, будет содержать гораздо более богатый спектр колебаний:

$$\begin{aligned} f_2(t) &= kA_1 \sin \omega_1 t + A_2 \sin \omega_2 t + B_2 (kA_1 \sin \omega_1 t + A_2 \sin \omega_2 t)^2 = \\ &= kA_1 \sin \omega_1 t + A_2 \sin \omega_2 t + B_2 (k^2 A_1^2 \sin^2 \omega_1 t + A_2^2 \sin^2 \omega_2 t + 2kA_1 A_2 \sin \omega_1 t \sin \omega_2 t) = \\ &= kA_1 \sin \omega_1 t + A_2 \sin \omega_2 t + k^2 A_1^2 B_2 \sin^2 \omega_1 t + A_2^2 B_2 \sin^2 \omega_2 t + \\ &+ kA_1 A_2 B_2 (\cos(\omega_1 - \omega_2)t - \cos(\omega_1 + \omega_2)t), \end{aligned} \quad (53)$$

т.е. в сигнале, регистрируемом от второго узла за счет нелинейности передаточной функции будут появляться вторые гармоники основных сигналов, а также сигналы с частотой, равной сумме и разности основных частот.

Для дальнейшего описания полезно составить таблицу амплитуд гармоник для двух сигналов:

Таблица 8. Вейвлет-коэффициенты частотных компонентов для схемы, представленной на рисунке 38. Таблица из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685

Частота	$\Phi_1(t, \omega)$	$\Phi_2(t, \omega)$
ω_1	$A_1 \exp(j\omega_1 t)$	$kA_1 \exp(j\omega_1 t)$
$2\omega_1$	$A_1^2 B_1 \exp(j(2\omega_1 t + \pi/2))/2$	$k^2 A_1^2 B_2 \exp(j(2\omega_1 t + \pi/2))/2$
ω_2	0	$A_2 \exp(j\omega_2 t)$
$2\omega_2$	0	$A_2^2 B_2 \exp(j(2\omega_2 t + \pi/2))/2$
$\omega_1 + \omega_2$	0	$kA_1 A_2 B_2 \exp(j((\omega_1 + \omega_2)t - \pi/2))$
$\omega_1 - \omega_2$	0	$kA_1 A_2 B_2 \exp(j((\omega_1 - \omega_2)t + \pi/2))$

Таким образом, в сигнале, регистрируемом с первого узла мы увидим два пика, а в сигнале, регистрируемом со второго узла шесть пиков! В первом узле измерение уровня нелинейных искажений возможно с помощью обычных коэффициентов нелинейных (КНИ) или гармонических искажений (КГИ), и легко показать, что КНИ и КГИ будут иметь простую линейную зависимость от параметра B_1 . Собственно, для такого случая эти коэффициенты и были придуманы. Однако, во втором узле ситуация более сложная, и применение КНИ или КГИ не поможет разобраться. При анализе данных сигналов с помощью биспектрального анализа, собственно и проявляется все преимущества последнего! Далее для упрощения, будем биспектры, вычисляемые для одного сигнала, например ρ_{111} , будем называть соло-биспектрами, а биспектры, вычисляемые для сравнения двух сигналов, например ρ_{121} - кросс-биспектрами. При вычислении соло-биспектра только для первого сигнала мы получим ненулевые значения только для частоты ω_1 :

$$\begin{aligned}\rho_{111}(\omega_1, \omega_1) &= \int_{-\infty}^{\infty} \Phi_1(t, \omega_1) \Phi_1(t, \omega_1) \overline{\Phi_1(t, 2\omega_1)} dt = \int_{-\infty}^{\infty} (A_1 e^{j\omega_1 t})^2 \frac{1}{2} A_1^2 B_1 e^{j2\omega_1 t + \pi/2} dt = \\ &= \frac{A_1^4 B_1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} e^{j(2\omega_1 t - 2\omega_1 t - \pi/2)} dt = \frac{A_1^4 B_1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-j\pi/2} dt = \frac{A_1^4 B_1}{2} e^{-j\pi/2} \int_{-\infty}^{\infty} dt.\end{aligned}\quad (54)$$

Данная оценка получена простым перемножением амплитуд соответствующих гармоник первого сигнала.

При вычислении соло-биспектра только для второго сигнала мы получим ненулевые значения для частот ω_1 и ω_2 , так как в сигнале присутствуют их гармоники и сигналы с суммой частот:

$$\begin{aligned}\rho_{222}(\omega_1, \omega_1) &= \int_{-\infty}^{\infty} \Phi_2(t, \omega_1) \Phi_2(t, \omega_1) \overline{\Phi_2(t, 2\omega_1)} dt = \int_{-\infty}^{\infty} (kA_1 e^{j\omega_1 t})^2 \overline{k^2 A_1^2 B_1 e^{j2\omega_1 t + \pi/2}} dt = \\ &= \frac{k^4 A_1^4 B_1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} e^{j(2\omega_1 t - 2\omega_1 t - \pi/2)} dt = \frac{k^4 A_1^4 B_1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-j\pi/2} dt = \frac{k^4 A_1^4 B_1}{2} e^{-j\pi/2} \int_{-\infty}^{\infty} dt,\end{aligned}\quad (55)$$

$$\begin{aligned}\rho_{222}(\omega_2, \omega_2) &= \int_{-\infty}^{\infty} \Phi_2(t, \omega_2) \Phi_2(t, \omega_2) \overline{\Phi_2(t, 2\omega_2)} dt = \int_{-\infty}^{\infty} (A_2 e^{j\omega_2 t})^2 \overline{A_2^2 B_2 e^{j2\omega_2 t + \pi/2}} dt = \\ &= \frac{A_2^4 B_2}{2} \int_{-\infty}^{\infty} e^{j(2\omega_2 t - 2\omega_2 t - \pi/2)} dt = \frac{A_2^4 B_2}{2} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-j\pi/2} dt = \frac{A_2^4 B_2}{2} e^{-j\pi/2} \int_{-\infty}^{\infty} dt,\end{aligned}\quad (56)$$

$$\begin{aligned}\rho_{222}(\omega_1, \omega_2) &= \int_{-\infty}^{\infty} \Phi_2(t, \omega_1) \Phi_2(t, \omega_2) \overline{\Phi_2(t, \omega_1 + \omega_2)} dt = \int_{-\infty}^{\infty} kA_1 e^{j\omega_1 t} (A_2 e^{j\omega_2 t})^2 \overline{kA_1 A_2 B_2 e^{j(\omega_1 + \omega_2)t - \pi/2}} dt = \\ &= k^2 A_1^2 A_2^2 B_2 \int_{-\infty}^{\infty} e^{j(\omega_1 t + \omega_2 t - \omega_1 t - \omega_2 t + \pi/2)} dt = k^2 A_1^2 A_2^2 B_2 \int_{-\infty}^{\infty} e^{j\pi/2} dt = k^2 A_1^2 A_2^2 B_2 e^{j\pi/2} \int_{-\infty}^{\infty} dt.\end{aligned}\quad (57)$$

При вычислении кросс- биспектров для определения взаимосвязи сигналов получим следующие ненулевые случаи:

$$\begin{aligned}\rho_{121}(\omega_1, \omega_1) &= \int_{-\infty}^{\infty} \Phi_1(t, \omega_1) \Phi_2(t, \omega_1) \overline{\Phi_1(t, 2\omega_1)} dt = \int_{-\infty}^{\infty} A_1 e^{j\omega_1 t} kA_1 e^{j\omega_1 t} \overline{\frac{1}{2} A_1^2 B_1 e^{j2\omega_1 t + \pi/2}} dt = \\ &= \frac{kA_1^4 B_1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} e^{j(2\omega_1 t - 2\omega_1 t - \pi/2)} dt = \frac{kA_1^4 B_1}{2} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-j\pi/2} dt = \frac{kA_1^4 B_1}{2} e^{-j\pi/2} \int_{-\infty}^{\infty} dt,\end{aligned}\quad (58)$$

$$\begin{aligned}\rho_{122}(\omega_1, \omega_1) &= \int_{-\infty}^{\infty} \Phi_1(t, \omega_1) \Phi_2(t, \omega_1) \overline{\Phi_2(t, 2\omega_1)} dt = \int_{-\infty}^{\infty} A_1 e^{j\omega_1 t} kA_1 e^{j\omega_1 t} \overline{\frac{1}{2} k^2 A_1^2 B_2 e^{j2\omega_1 t + \pi/2}} dt = \\ &= \frac{k^3 A_1^4 B_2}{2} \int_{-\infty}^{\infty} e^{j(2\omega_1 t - 2\omega_1 t - \pi/2)} dt = \frac{k^3 A_1^4 B_2}{2} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-j\pi/2} dt = \frac{k^3 A_1^4 B_2}{2} e^{-j\pi/2} \int_{-\infty}^{\infty} dt,\end{aligned}\quad (59)$$

$$\begin{aligned}\rho_{122}(\omega_1, \omega_2) &= \int_{-\infty}^{\infty} \Phi_1(t, \omega_1) \Phi_2(t, \omega_2) \overline{\Phi_2(t, \omega_1 + \omega_2)} dt = \int_{-\infty}^{\infty} A_1 e^{j\omega_1 t} A_2 e^{j\omega_2 t} \overline{kA_1 A_2 B_2 e^{j(\omega_1 + \omega_2)t - \pi/2}} dt = \\ &= kA_1^2 A_2^2 B_2 \int_{-\infty}^{\infty} e^{j(\omega_1 t + \omega_2 t - \omega_1 t - \omega_2 t + \pi/2)} dt = kA_1^2 A_2^2 B_2 \int_{-\infty}^{\infty} e^{j\pi/2} dt = kA_1^2 A_2^2 B_2 e^{j\pi/2} \int_{-\infty}^{\infty} dt.\end{aligned}\quad (60)$$

Нормировку кросс-биспектров выполним путем деления на соответствующие модули биспектров для сигналов:

$$\frac{\rho_{121}(\omega_1, \omega_1)}{\sqrt[3]{\rho_{111}^2(\omega_1, \omega_1)\rho_{222}(\omega_1, \omega_1)}} \approx \frac{A_1 k A_1 A_1^2 B_1}{2^3 \sqrt{\frac{A_1^8 B_1^2}{4} \frac{k^4 A_1^4 B_2}{2}}} = \sqrt[3]{\frac{B_1}{kB_2}}, \quad (61)$$

$$\frac{\rho_{122}(\omega_1, \omega_1)}{\sqrt[3]{\rho_{111}(\omega_1, \omega_1)\rho_{222}^2(\omega_1, \omega_1)}} \approx \frac{A_1 k A_1 k^2 A_1^2 B_2}{2^3 \sqrt{\frac{A_1^4 B_1}{2} \frac{k^8 A_1^8 B_2^2}{4}}} = \sqrt[3]{\frac{kB_2}{B_1}}, \quad (62)$$

$$\begin{aligned} \frac{\rho_{122}(\omega_1, \omega_2)}{\sqrt[3]{\rho_{111}(\omega_1, \omega_1)\rho_{222}(\omega_1, \omega_1)\rho_{222}(\omega_1, \omega_2)}} &\approx \frac{A_1 A_2 k A_1 A_2 B_2}{\sqrt[3]{\frac{A_1^4 B_1}{2} \frac{k^4 A_1^4 B_2}{2} k^2 A_1 A_2 A_1 A_2 B_2}} = \\ &= \sqrt[3]{\frac{4 A_2^4 B_2}{k^3 A_1^4 B_1}}, \end{aligned} \quad (63)$$

таким образом, по соотношению амплитуд пиков на карте биспектра можно оценить (хотя бы в терминах "больше-меньше") коэффициент передачи сигнала k и соотношение нелинейных членов B , т.е. анализ пиковых значений нормированных кросс-биспектров дает возможность оценить степень нелинейности в анализируемой системе по присутствию в сигнале соответствующих гармоник, а также структуру аналоговой обработки и передачи сигнала в анализируемой системе по коэффициенту. Проще говоря, наличие пика на карте биспектра говорит не только о том, что в сигнале есть соответствующие частотные компоненты, но и указывает на то, что присутствует периодический сигнал с частотой, равной сумме частот положения пика, причем все эти частотные компоненты имеют постоянные, относительно друг друга сдвиги фазы. Доступ к оценке коэффициента передачи сигнала k позволяет в анализируемой системе выделять условные "приемники" и "передатчики" сигналов.

3.3 Исследование ритмической активности на молекулярном уровне

3.3.1 Взаимосвязь и нелинейная динамики активационного и инактивационного процессов в динамике ионного канала¹⁰

Как было указано в Обзоре литературы, в многолетней практике анализа токов одиночных ионных каналов, регистрируемых с помощью метода локальной фиксации потенциала с фрагмента мембраны, после получения последовательностей времен жизни канала в открытом и закрытом состоянии, приняты два подхода:

1. Анализ распределений времен жизни с целью определения констант скорости конформационных переходов для определения параметров Марковских моделей (Рисунок 10) (Linaro & Giugliano, 2022). Или вероятностей нахождения канала в открытом состоянии.
2. Анализ последовательностей времен жизни как временных рядов с целью выявления эффектов долговременной памяти, фрактальных свойств с помощью преобразования Фурье (Kazachenko et al., 2001) или методов анализа фрактальных параметров (Brazhe et al., 2004; Kazachenko et al., 2007; Kazachenko et al., 2004).

К сожалению ни первый, ни второй подход не отвечают на два вопроса:

1. Связаны ли друг с другом процессы перехода канала из открытого в закрытое состояние и обратно (структурно, такая связь возможна)?
2. Существуют ли в активности канала медленные периодические или резонансные процессы, которые могли бы проявляться в модуляции клеточных процессов или быть их источником?

Для ответа на эти вопросы нами была проанализированы последовательности времен жизни калиевых каналов с помощью биспектрального анализа,

¹⁰ По материалам статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., Simakin A.V., Yusim V.A., Tankanag A.V. Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

базирующегося на непрерывном комплексном вейвлет-преобразовании с использованием лог-нормального вейвлета [248]. Последовательности времен жизни выделяли из исходной записи по простому пороговому алгоритму с уровнем порога 50% от амплитуды открытого состояния канала (Рисунок 42).

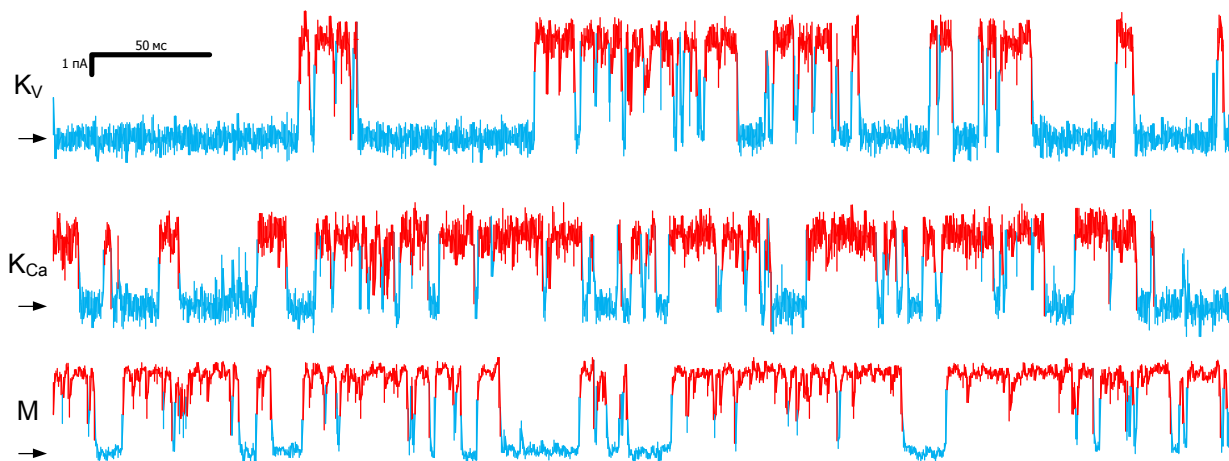


Рисунок 42. Исходные записи токов потенциалозависимого (K_v), кальций-зависимого и модельного каналов. Цветом обозначены открытые (красным) и закрытые (синим) состояния канала. Потенциал 20мВ. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

На первом этапе необходимо рассмотреть самый простой вариант синхронизации - это когерентность процессов открывания и закрывания канала. Как видно по описанию процесса вычисления коэффициента когерентности в разделе 1.14, для получения высокой когерентности необходимо сохранение постоянного сдвига фазы в двух исследуемых сигналах на определенной частоте. Учитывая, что вычисление фазы вейвлет - коэффициента никак не связано с получаемым модулем этого же самого коэффициента, фаза вычисляется в любом случае. Однако, очевидно, что при малой величине модуля (т.е. при отсутствии в данной точке времени-частоты устойчивых колебаний), получаемое значение фазы не имеет

информативного смысла. Поэтому для анализа коэффициента когерентности важно сопоставлять его с картами модулей вейвлет-коэффициентов, так как это представлено на иллюстрации ниже (см. Рисунок 43). Красный цвет на картах модулей вейвлет-коэффициентов (см. Рисунок 43 А и Б) соответствует наличию устойчивых колебаний, и действительно для периодов около 1000 периодов открывания-закрывания (что соответствует периоду колебаний около 11 секунд) наблюдаются полосы красного цвета, соответствующие устойчивым колебаниям. При этом на графике сдвига фазы (см. Рисунок 43 В) видно также полосу одинакового цвета, что соответствует постоянному сдвигу. Это говорит о наличии когерентности у последовательностей открытых и закрытых времен жизни для периода 11 секунд в этом канале.

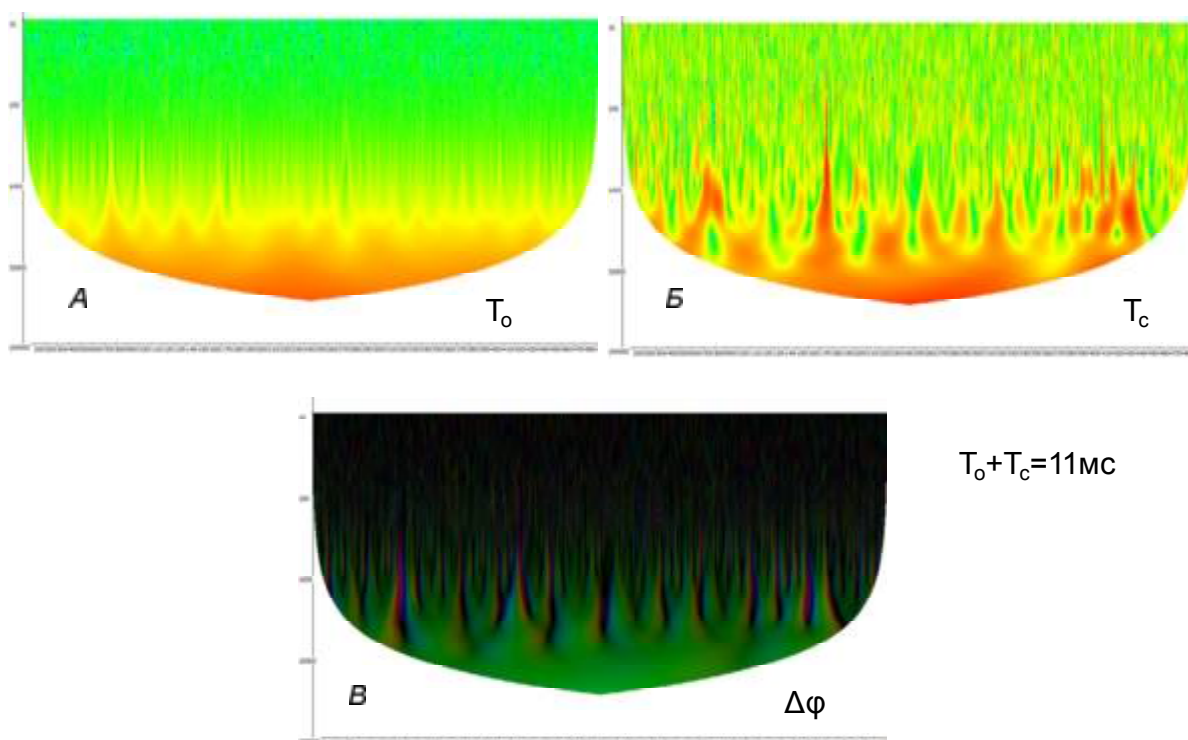


Рисунок 43. Когерентность в активности потенциалозависимого калиевого канала из нейрона прудовика *Lymnaea st.* А - коэффициенты вейвлет-разложения последовательности открытых времен жизни, Б - коэффициенты вейвлет-разложения последовательности закрытых времен жизни, В - сдвиг фазы вейвлет - коэффициентов открытых времен относительно закрытых времен. Для всех графиков: по оси абсцисс номер события, по оси ординат период колебаний в единицах штук событий. Яркость цвета на графике В - это корреляция модулей вейвлет-коэффициентов. Среднее время цикла открывания-закрывания канала 11 мс. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

3.3.2 Биспектральный анализ динамики ионного канала¹¹

Сложно себе представить, чтобы взаимосвязи в динамике воротного канала, обеспечивающие когерентность процессов открывания и закрывания ионных каналов, представленные выше, были абсолютно линейным процессом. Кроме того, когерентность определяется для фиксированной частоты, и не отражает межчастотные взаимосвязи. Для анализа межчастотных и нелинейных эффектов мы применили биспектральный анализ. Как видно на картах биспектра одиночного потенциалозависимого калиевого канала из нейронов прудовика (Рисунок 44) и кальций-зависимого канала из клеток Vero (Рисунок 45), какого-либо одиночного, ярко выраженного пика нет. Видна диффузная, распределенная по всему исследованному диапазону характерных времен, картина локальным максимумов показателей биспектра, что подтверждает установленную ранее персистентную динамику, или, другими словами, долговременную память в активности воротного механизма ионного канала.

¹¹ По материалам статьи автора: Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., Simakin A.V., Yusim V.A., Tankanag A.V. Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

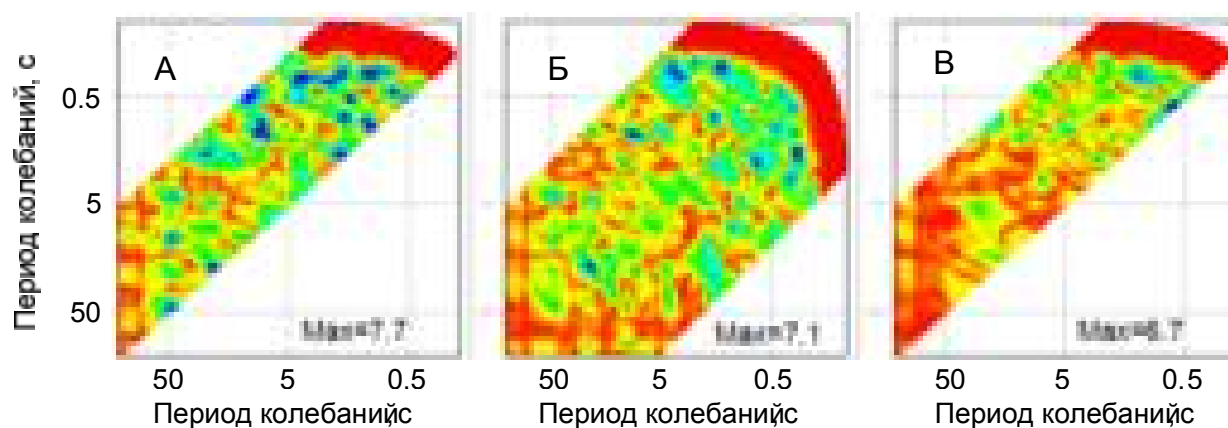


Рисунок 44. Биспектр K_v -канала. Представлен репрезентативный пример биспектров для записи потенциалозависимых калиевых каналов из нейронов прудовика *Lymnaea st.* Слева (А) - биспектр для открытых времен жизни, справа (В) - биспектр закрытых времен жизни, по центру (Б) - анализ кросс-биспектров открытых и закрытых времен. Указаны максимальные значения показателей биспектров. Трансmemбранный потенциал 10 мВ. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

Карты биспектра смоделированного ионного канала, демонстрирующего персистентную динамику, аналогичную природным ионным каналам (Гриневич & Асташев, 2019), демонстрирует также и похожее распределение пиков на карте биспектра. Однако, интересным вопросом, является наличие зависимости параметров карты биспектра от внешних воздействий на канал, например, влияние трансmemбранного потенциала. Самым доступным параметром, характеризующим целиком карту биспектра является пиковое значение биспектра (при соответствующих амплитудных нормировках) такие пиковые значения обозначены на всех картах биспектра канала (Рисунок 44, Рисунок 45, Рисунок 46). Видно, что эти параметры составляют около 7 для потенциалозависимого канала, около 10 для кальций-зависимого канала и модельного канала.

Максимальные значения показателей биспектра для природных каналов представлены на рисунке Рисунок 47.

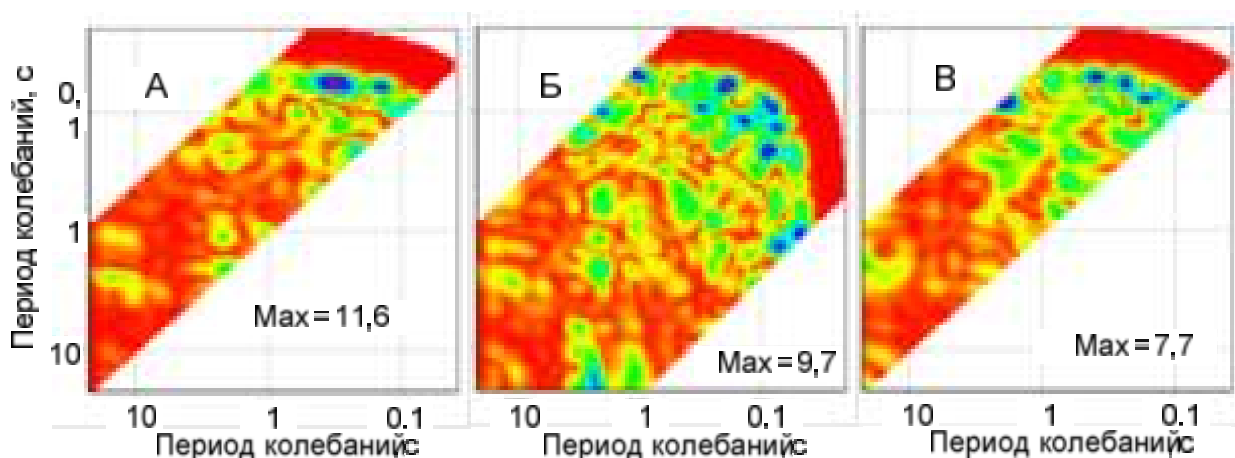


Рисунок 45. Биспектры K_{Ca} -канала. Представлен репрезентативный пример биспектров для записи потенциалозависимых калиевых каналов из нейронов прудовика *Lymnaea st.* Слева (А) - биспектр для открытых времен жизни, справа (В) - биспектр закрытых времен жизни, по центру (Б) - анализ кросс-биспектров открытых и закрытых времен. Указаны максимальные значения показателей биспектров. Трансмембранный потенциал 30 мВ. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

Зависимость от трансмембранного потенциала проще всего получить для модельного канала (симуляция модельной системы несравненно проще эксперимента). В результате симуляций были получены ряды данных, аналогичных записям трансмембранного тока при регистрации одиночного ионного канала, далее были выделены времена жизни модельного канала в открытом и закрытом состоянии, проведено логарифмирование значений, и проведен биспектральный анализ с поиском пика на карте биспектра. Зависимость максимальных значений биспектра от трансмембранного потенциала приведены на рисунке Рисунок 48, а совмещение этих данных с

аппроксимацией квадратичной функцией и сравнением с вероятностью нахождения канала в открытом состоянии на рисунке Рисунок 49.

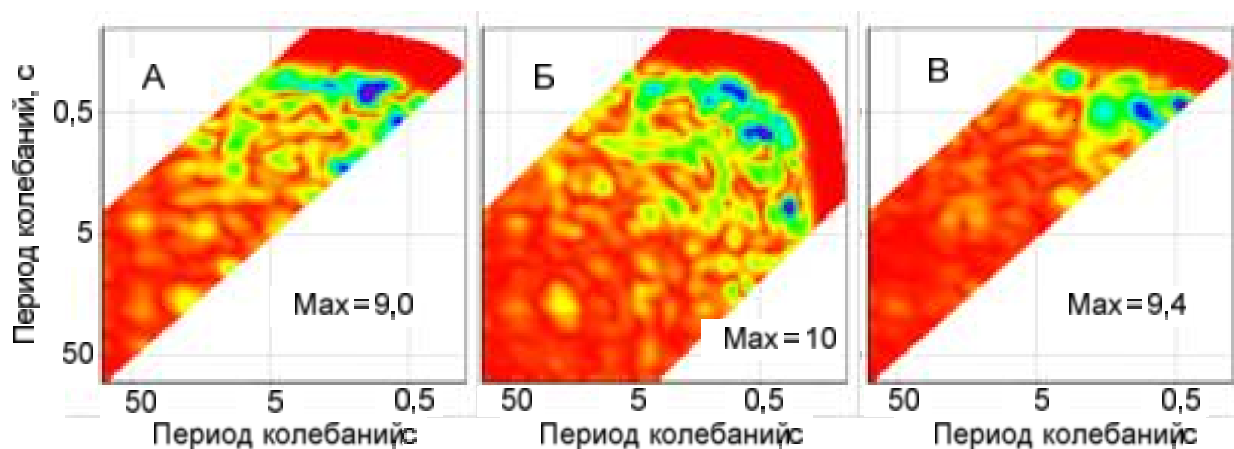


Рисунок 46. Биспектры модельного канала. Представлены репрезентативные примеры биспектров для двух записей, динамика получена по модели, учитывающей наполнение водой устья канала (Гриневич & Асташев, 2019). Слева (А) - биспектр для открытых времен жизни, справа (В) - биспектр закрытых времен жизни, по центру (Б) - анализ кросс-биспектров открытых и закрытых времен. Указаны максимальные значения показателей биспектров. Трансмембранный потенциал 10 мВ. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

На рисунке Рисунок 49 видно, что в области потенциалов 0-40 мВ наблюдается монотонное увеличение максимальных показателей биспектра при увеличении потенциала. Принципиальную связь различных параметров модельного канала между собой можно оценить, построив корреляционную матрицу, представленную в таблице Таблица 9. В таблице видно, что наблюдается корреляция показателей биспектра для закрытых времен жизни $\rho_{\text{сcc}}$ и вероятности нахождения канала в открытом состоянии P_o , а также и трансмембранного потенциала V_m . Аналогичные пары параметров обнаруживают высокую корреляцию для природных каналов (Рисунок 47, Таблица 10).

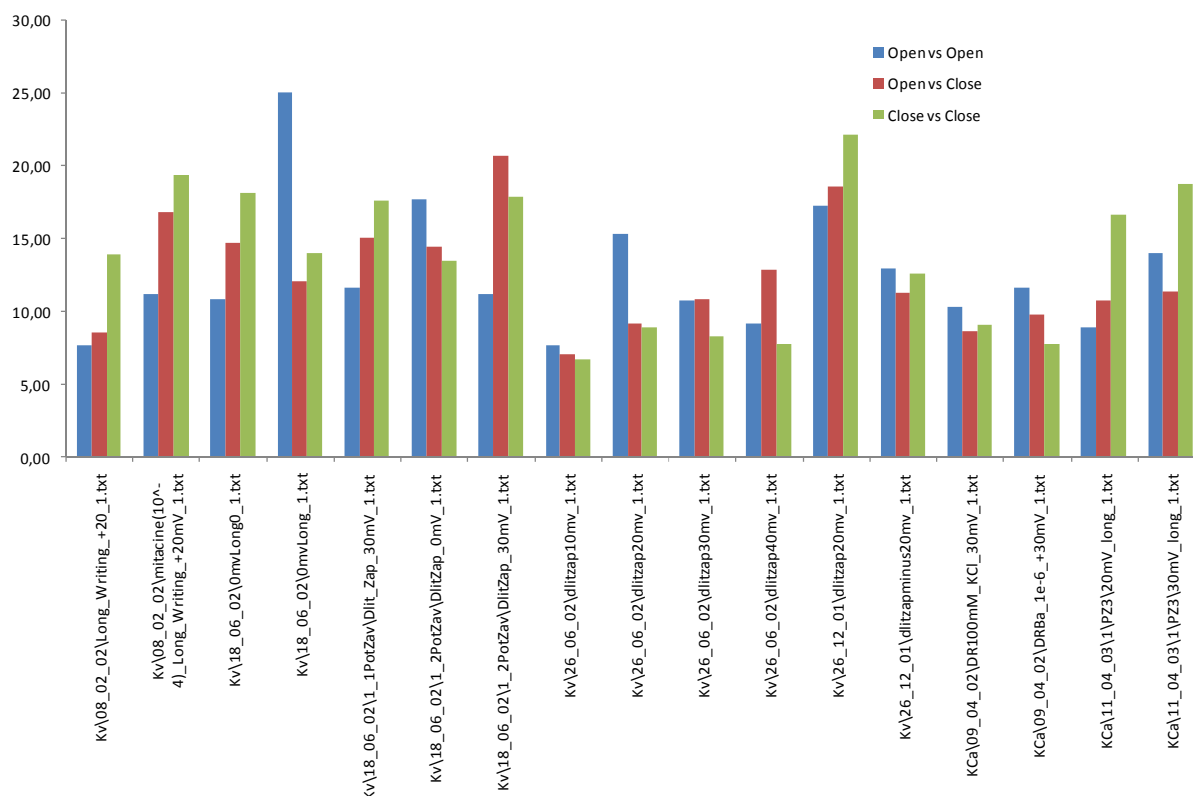


Рисунок 47. Максимальные значения биспектра природных каналов, полученные при анализе рядов данных времен жизни канала в открытом состоянии (Open vs Open), в закрытом состоянии (Close vs Close) и при анализе перекрестного показателя биспектра для оценки синхронизации рядов данных времен жизни канала в открытом и закрытом состоянии (Open vs Close). Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

Таблица 9. Корреляция параметров модельного ионного канала. Построено по данным из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

[illegible]

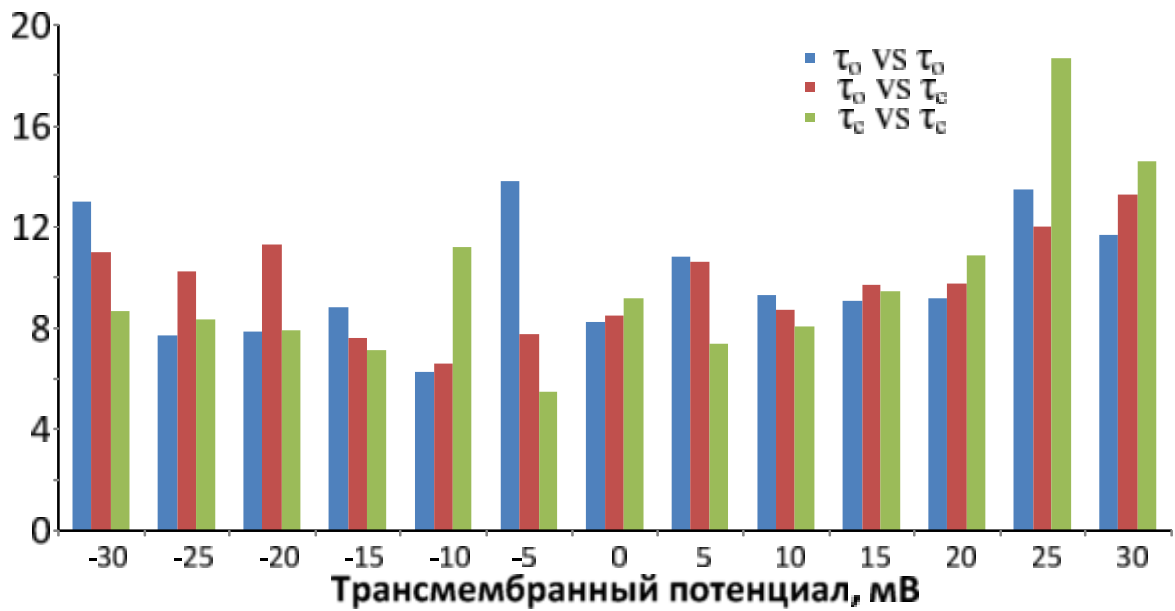


Рисунок 48. Максимальные значения биспектра модельного канала, полученные при различных значениях трансмембранного потенциала, полученные при анализе рядов данных времен жизни канала в открытом состоянии (τ_0 vs τ_0), в закрытом состоянии (τ_c vs τ_c) и при анализе перекрестного показателя биспектра для оценки синхронизации рядов данных времен жизни канала в открытом и закрытом состоянии (τ_0 vs τ_c). Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

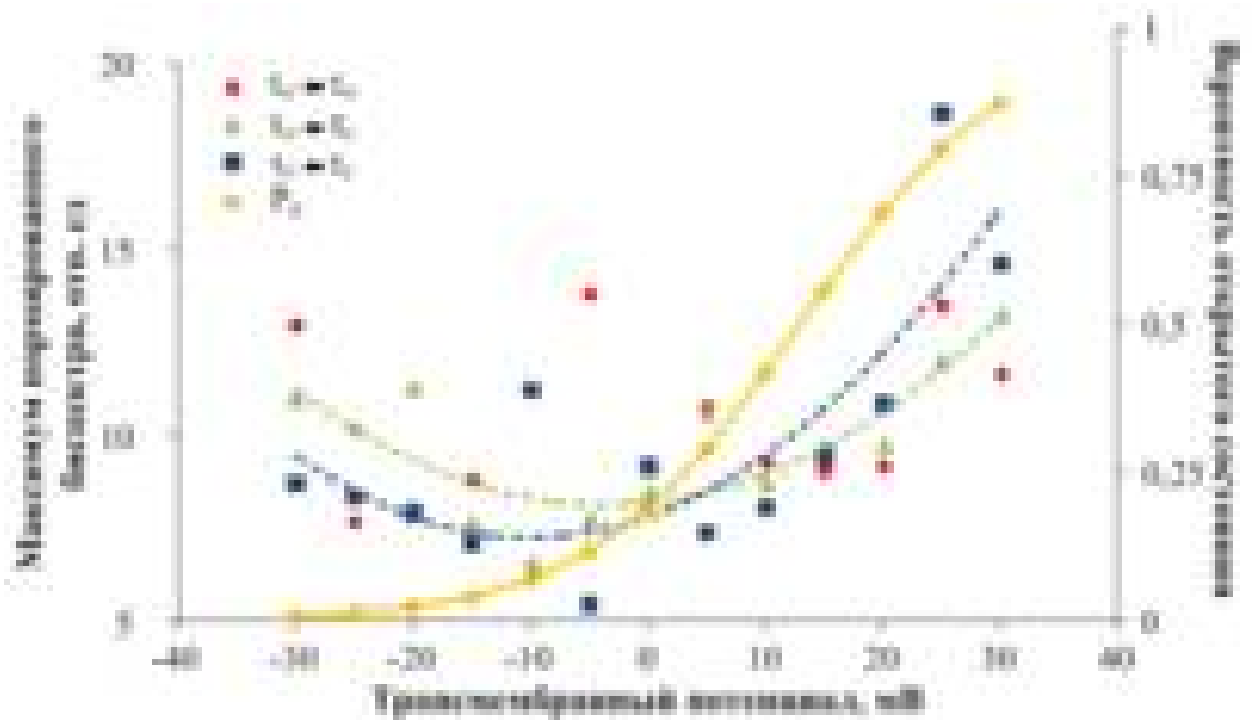


Рисунок 49. Зависимость максимального показателя биспектра для указанных сравнений последовательностей времен жизни и вероятности открытого состояния P_o от трансмембранного потенциала V_m у модели ионного канала. Рисунок адаптирован из статьи автора по теме диссертации: Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

Таблица 10. Корреляция параметров природных K_v и K_{Ca} ионных каналов. Построено по данным из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

	ρ_{ooo}	ρ_{oco}	ρ_{ccc}	V_m	τ_{o+c}	τ_o	τ_c	P_o
ρ_{ooo}	1,00	0,28	0,27	-0,38	-0,36	0,02	-0,37	0,39
ρ_{oco}		1,00	0,70	0,05	-0,64	0,05	-0,66	0,65
ρ_{ccc}			1,00	-0,11	-0,85	0,01	-0,86	0,72
V_m				1,00	0,38	-0,11	0,36	-0,37
τ_{o+c}					1,00	0,17	0,97	-0,73
τ_o						1,00	-0,08	0,40
τ_c							1,00	-0,84

Выделив из всего набора записей природных каналов, записи с разными потенциалами, полученными на одном и том же канале (Рисунок 50), также видна монотонная зависимость пикового показателя биспектра для закрытых времен жизни от потенциала. Нормированный на показатель нулевого потенциала показатель, демонстрирует достоверное отличие показателя биспектра для закрытых времен жизни, полученного при 20 мВ, поэтому наличие такой зависимости можно считать доказанным (Рисунок 51).

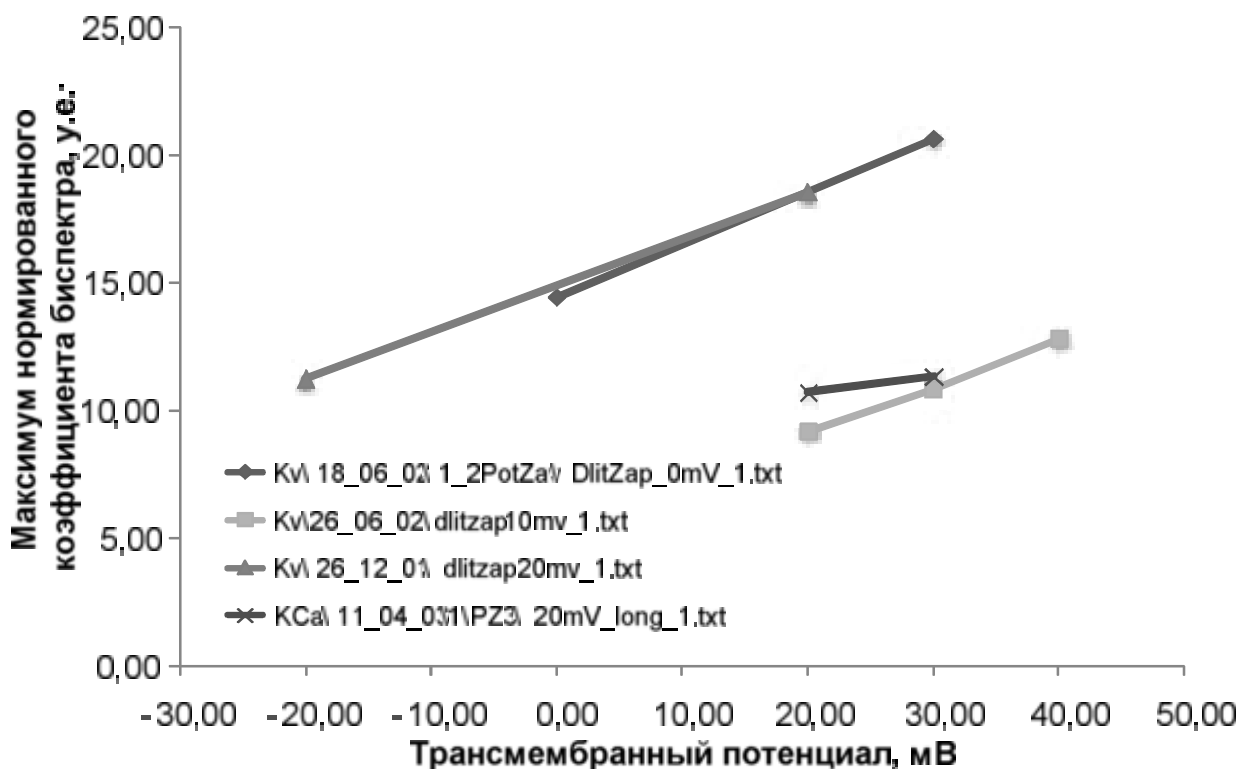


Рисунок 50. Зависимость максимума нормированного коэффициента биспектра от V_m у природных ионных каналов. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

Как было указано в разделе 1.11.3 Обзора литературы, сами по себе концентрационные зависимости лиганд-рецепторных взаимодействий носят нелинейный характер, и способны обеспечить нелинейную функцию передачи сигнала, обеспечивающую генерацию высших гармоник и субгармоник сигнала в биологическом объекте. Наличие зависимости показателя биспектра от трансмембранного потенциала может свидетельствовать об увеличении нелинейных искажений в

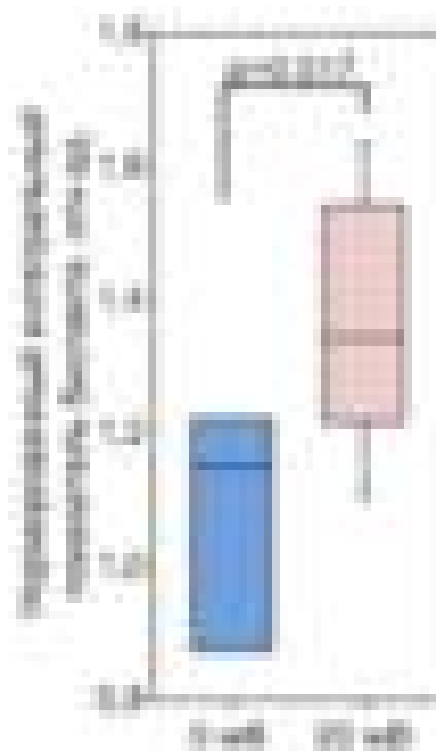


Рисунок 51. Зависимость максимального показателя биспектра от трансмембранного потенциала от V_m у природных ионных каналов. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.

инактивационном процессе канала при увеличении механических напряжений в структуре ионного канала при смещении трансмембранного потенциала (а значит и сильном смещении сенсора напряжения в ионном канале) далеко от потенциала покоя. Таким образом, приведенные в данном разделе данные говорят о том, что и внутри самой глобулы белкового комплекса ионного канала существуют механизмы нелинейной трансформации конформационных движений сегментов структуры белка.

3.4 Исследование ритмической активности на клеточном уровне

3.4.1 Анализ транзистентных сигналов в неэлектровозбудимых клетках. Цитометрический подход¹²

Синхронизация ритмических процессов на уровне клеток хорошо изучена в электровозбудимых клетках (Kononov et al., 2012), однако характерные времена этих колебаний достаточно малы (в пределах нескольких секунд), хотя и могут быть увеличены при возбуждении ГАМК-эргических нейронов (Зинченко et al., 2017). Однако, в неэлектровозбудимых клетках (нейтрофилах и эндотелиоцитах) нами были исследованы как устойчивые, так и неустойчивые (Safronova et al., 2021) (аритмические) колебательные процессы.

Интересной особенностью, проявившейся у невозбудимых клеток, был факт изменения процента клеток, проявлявших активность в популяции. При исследовании активности нейтрофилов, процент клеток, проявлявший Ca^{2+} - активность изменялся от 15% до 63% (Safronova et al., 2016). Однако процент клеток определяли путем ручного подсчета. Также и в макрофагах в ответ на аппликацию агонистов пуриновых рецепторов P2X, изменения цитозольной концентрации кальция могут наблюдаться всего у 20% клеток (Aminin et al., 2016), попадающих в поле зрения микрофлуориметрической системы. При этом, важным параметром клеточной популяции является не только амплитудно-динамические параметры временных рядов изменения яркости флуоресценции ион-чувствительного зонда, но и процентное отношение числа клеток с наблюдаемыми изменениями к численности всей наблюдаемой популяции. Обычный подход, включающий ручное выделение областей интереса (ROI) на основе экспертной оценки динамики изменения

¹² По материалам статей автора из списка публикаций по материалам диссертации: Serov D. A., Astashev M. E., Tikhonova I. V., Safronova V. G. The Influence of Exogenous ATP on Functional Responses of Murine Bone Marrow Granulocytes // *Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. – 2020. – Т. 14, № 1. – С. 34-43. DOI: 10.1134/s1990747819060096; 15. Serov D. A., Astashev M. E., Tikhonova I. V., Safronova V. G. The Influence of Exogenous ATP on Functional Responses of Murine Bone Marrow Granulocytes // *Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. – 2020. – Т. 14, № 1. – С. 34-43. DOI: 10.1134/s1990747819060096

яркости флуоресценции (Safronova et al., 2016) в стеке изображений приведет к искажению получаемых численных результатов.

Обычные транзистентные сигналы одиночных нейтрофилов в ответ на аппликацию 10мкМ АТФ представлены на иллюстрации (Рисунок 35). На рисунке видно, что процесс увеличения $[Ca^{2+}]_i$ не синхронизован в различных клетках, присутствует лаг-период, длительность которого может быть различна, поэтому стандартный амплитудно-временной анализ динамических рядов затруднен. Учитывая очевидный опосредованный внутриклеточной сигнализацией клетки путь передачи сигнала, связь между амплитудой наблюдаемых сигналов и, например, концентрацией агониста вообще может отсутствовать.

С помощью описанной выше процедуры, нами были определены (Рисунок 36) распределения клеток по значениям асимметрии и эксцесса до и после действия 10мкМ АТФ. На рисунке (Рисунок 36) видно характерное подковообразное распределение клеток, наблюдающееся всегда. Вершина подковы, с малыми отклонениями от нуля как асимметрии, так и эксцесса, характерна для клеток, которые не проявляют Ca^{2+} -мобилизующей активности. Отрицательные значения асимметрии с высокими значениями эксцесса характерны для клеток с непрерывным монотонным увеличением цитозольной концентрации кальция ("натекающие" клетки). Клетки, обнаруживающие транзистентные изменения цитозольной концентрации кальция характеризуются значениями асимметрии более 0,6 и положительного эксцесса. Для анализа всех представленных данных мы использовали одни и те же пороговые значения асимметрии $S > 0.6$ и эксцесса $E_x > 0$. Для выделения соответствующих клеток применена процедура, принятая в клеточной цитометрии, а именно назначение области отбора (gating).

В популяции гранулоцитов до воздействий присутствовали клетки со спонтанной кальциевой активностью (Рисунок 52а) и без нее (Рисунок 52б).

Распределение значений $F340/F380$ в клетках без исходной кальциевой активности имело вид симметричных пиков и характеризовалось величинами $As \leq 0.6$ и $Ex \approx 0$ (Рисунок 52*с*). Клетки, генерирующие кальциевые спайки, характеризовались распределениями $F340/F380$ со значениями $As > 0.6$ и $Ex > 0$.

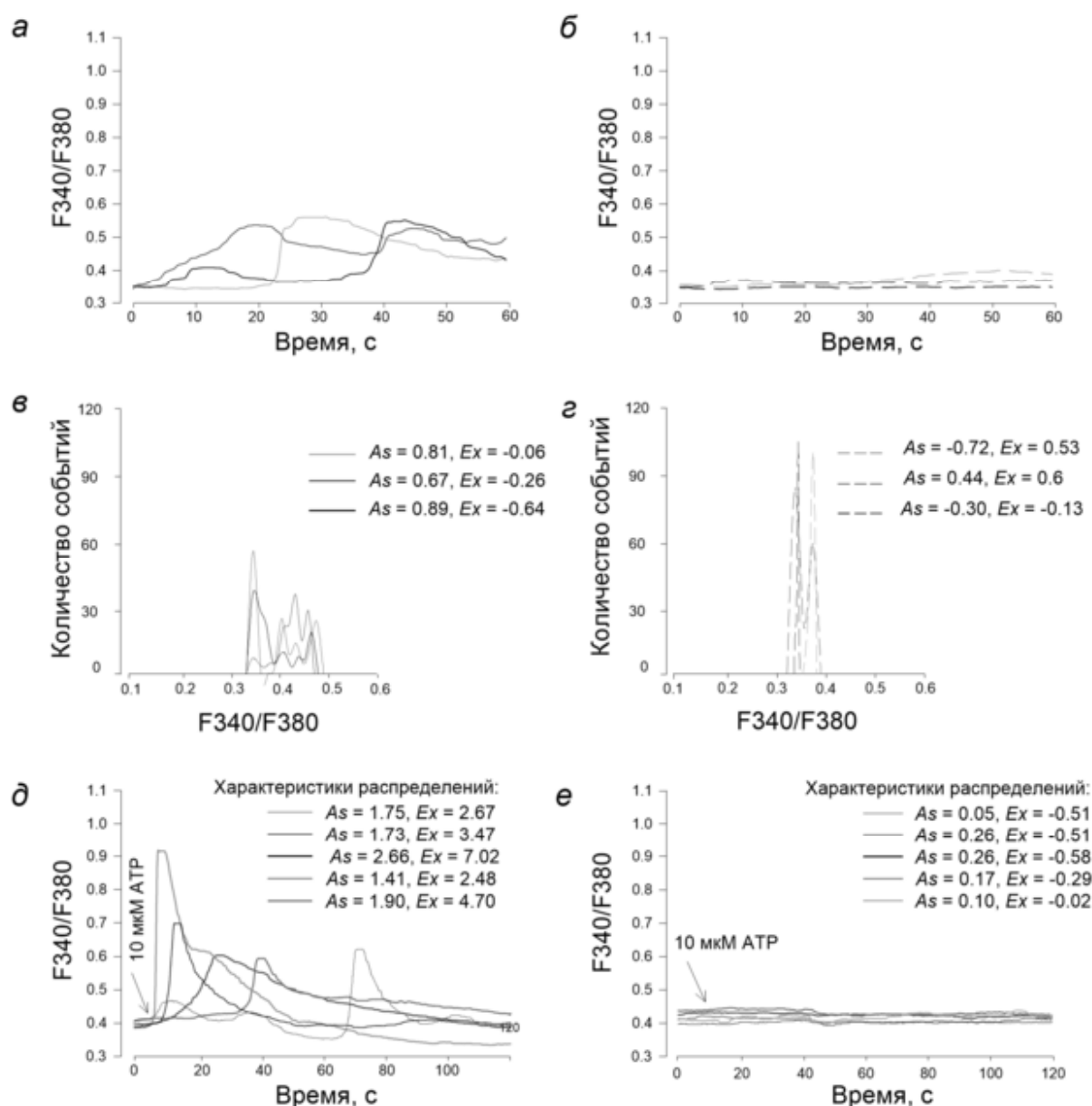


Рисунок 52. Кальциевая активность в популяции гранулоцитов костного мозга мыши и ее анализ. Примеры записей F340/F380 клеток со спонтанной кальциевой активностью (а) и без нее (б). Примеры распределений значений F340/F380 по частоте встречаемости для активных (в) и неактивных (г) клеток. Примеры записей F340/F380 одиночных клеток, ответивших (д) или не ответивших (е) кальциевыми спайками на 10 мкМ АТФ (момент добавки отмечен стрелкой). В блоках в, г, д, е указаны значения асимметрии (As) и эксцесса (Ex) для распределения значений F340/F380 по частоте встречаемости. Адаптировано из статьи автора по теме диссертации Serov D. A., Astashev M. E., Tikhonova I. V., Safronova V. G. The Influence of Exogenous ATP on Functional Responses of Murine Bone Marrow Granulocytes // Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. – 2020. – Т. 14, № 1. – С. 34-43. DOI: 10.1134/s1990747819060096

Распределения F340/F380 активных клеток были шире по сравнению с распределениями неактивных клеток и имели форму множественных пиков (Рисунок 52в).

Таким образом, по значениям As , отражающим форму распределения F340/F380, можно оценивать наличие кальциевых спайков в каждой отдельной клетке. Часть клеток отвечала генерацией Ca^{2+} -спайка на добавление раствора Хенкса и/или реагировала на последующую аппликацию 10 мкМ АТФ (Рисунок 52д). Ответы клеток не были синхронными и происходили с лаг-периодом, длительность которого варьировала. В популяции присутствовали клетки, не отвечающие на добавку АТФ (Рисунок 52е).

Во всех экспериментальных условиях распределение клеток в координатах As и Ex имело подковообразную форму (пример на Рисунок 53а). Клетки, не проявлявшие Ca^{2+} -мобилизующей активности, находились в основании “подковы”, характеризовались значениями Ex и As , близкими к 0. Отрицательные значения As со значениями $Ex > 10$ характерны для клеток с непрерывным монотонным увеличением $[Ca^{2+}]_i$ (“натекающие” клетки). При дальнейшем анализе указанные клетки не учитывались (Рисунок 53а). Клетки, ответившие на 10 мкМ АТФ кальциевыми спайками, идентифицировали по значениям $As > 0.6$ и $Ex > 0$. Статистический анализ показал, что до каких-либо воздействий кальциевая активность присутствует в среднем у $17.1 \pm 2.7\%$ клеток (Рисунок 53б). На добавку раствора Хенкса реагировали $23.0 \pm 2.5\%$ гранулоцитов. Доля гранулоцитов, ответивших на 10 мкМ АТФ, составляла $35.2 \pm 4.0\%$, что было статистически выше количества активных клеток при базовых условиях или при добавке раствора Хенкса ($n = 5$, $p < 0.05$). Полученные данные указывают на присутствие субпопуляции гранулоцитов с высокой чувствительностью к АТФ.

Далее мы проанализировали полученные данные в координатах As_1As_2 , т.е. для каждой клетки были сопоставлены значения асимметрии после

добавки раствора Хенкса без АТФ и в его присутствии (Рисунок 53в). Были выделены четыре субпопуляции клеток: 1) без Ca^{2+} -активности в ходе всего эксперимента; 2) генерирующие Ca^{2+} -спайки в ответ на добавку раствора Хенкса (механическое воздействие); 3) генерирующие Ca^{2+} -спайки в ответ на 10 мкМ АТФ; 4) генерирующие Ca^{2+} -спайки в ответ на АТФ и добавку раствора Хенкса. Оказалось, что к первой группе относится $53.1 \pm 8.2\%$ клеток, ко второй – $16.9 \pm 2.5\%$, к третьей – $23.4 \pm 4.9\%$, к четвертой – $6.7 \pm 1.5\%$ (Рисунок 53г).

Нами исследовано влияние преинкубации клеток с селективным агонистом нАХР, никотина, на Ca^{2+} -мобилизирующую активность изолированных нейтрофилов мыши в ответ на АТФ. Для анализа использованы изображения, полученные при большом поле зрения микроскопа (использовали объектив Motic CCIS Plan FLUOR PL UC FL 10X/0.30). Это позволяло получить для анализа данные об активности 300-800 отдельных клеток.

На графике (Рисунок 52д) видно, что аппликация 10 мкМ АТФ приводит к существенному увеличению субпопуляции клеток с наблюдающейся Ca^{2+} -мобилизирующей активностью. Достоверно показано, что АТФ увеличивает количество активных клеток в $2,6 \pm 1,0$ ($P > 0,05$). Преинкубация клеток с никотином в течение 10 минут устраняет ответ клеток на аппликацию 10 мкМ АТФ (Серов и др., 2019).

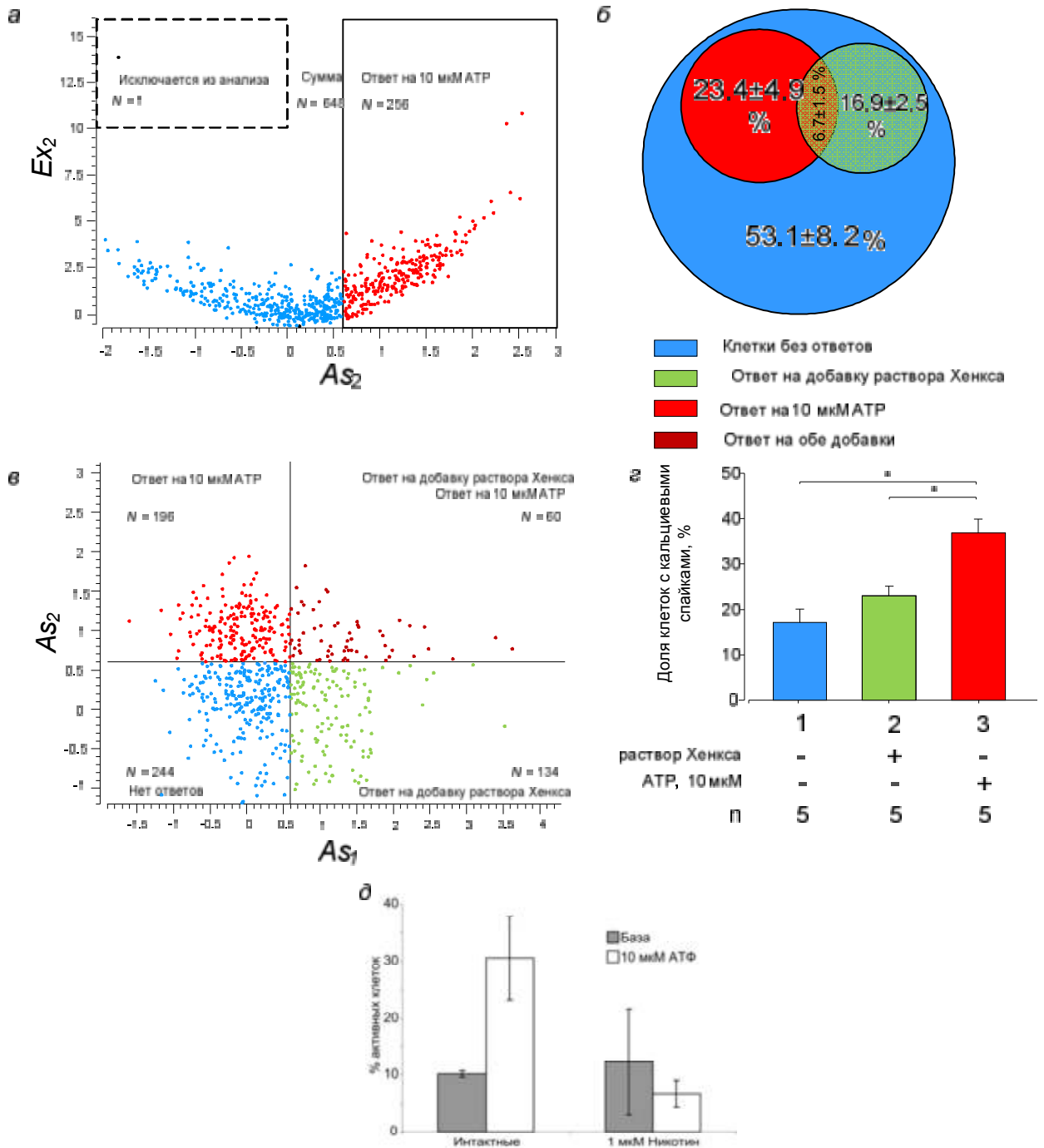


Рисунок 53. Анализ гетерогенности популяции гранулоцитов костного мозга мыши. **а** – Двумерная гистограмма распределения клеток по асимметрии As_2 и эксцессу Ex_2 , рассчитанных для распределений F340/F380 клеток в присутствии 10 мкМ АТФ. Отображены параметры клеток после подачи 10 мкМ АТФ. Выделенная сплошной линией область – клетки с характеристиками $As > 0.6$ и $Ex > 0$. Выделенная пунктиром область – клетки с характеристиками $As \leq 0$ и $Ex > 10$, N – количество клеток, попавших в выделенные области. **б** – Среднее значение доли клеток с кальциевыми спайками в популяции при базовых условиях (1), после добавки раствора Хенкса (2) или в присутствии 10 мкМ АТФ (3), $p < 0.05$, $n = 5$. **в** – Двумерная гистограмма

распределения клеток в системе координат As1 (подача раствора Хенкса) и As2 (10 мкМ АТФ): слева внизу ($As1 \leq 0.6$, $As2 \leq 0.6$) – неактивные клетки; справа снизу ($As1 > 0.6$, $As2 \leq 0.6$) – клетки, ответившие кальциевыми спайками только на добавку раствора Хенкса; слева сверху ($As1 \leq 0.6$, $As2 > 0.6$) – клетки, ответившие только на 10 мкМ АТФ; справа сверху ($As1 > 0.6$, $As2 > 0.6$) – клетки, ответившие на обе добавки. N – количество клеток в каждой из четвертей (всего 634 клетки). г – Диаграмма, отражающая усредненное соотношение гранулоцитов костного мозга мыши по чувствительности к 10 мкМ АТФ и/или механическому воздействию (добавка раствора Хенкса). В каждом образце анализировали не менее 500 клеток. д – Влияние преинкубации клеток с никотином на процентное соотношение клеток при действии 10 мкМ АТФ. Адаптировано из статьи автора по теме диссертации Serov D. A., Astashev M. E., Tikhonova I. V., Safronova V. G. The Influence of Exogenous ATP on Functional Responses of Murine Bone Marrow Granulocytes // *Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. – 2020. – Т. 14, № 1. – С. 34-43. DOI: 10.1134/s1990747819060096.

Таким образом, популяция гранулоцитов костного мозга неоднородна по способности клеток генерировать кальциевые спайки в ответ на АТФ. Согласно результатам работы, АТФ участвует в регуляции активности гранулоцитов костного мозга: экзогенный АТФ вызывает генерацию кальциевых спайков в $35.2 \pm 4.0\%$ клеток и в 2 раза усиливает адгезионные свойства; эндогенный АТФ, вероятно, регулирует интенсивность дыхательного взрыва по механизму (Серов и др., 2019), вовлекающему цитоскелет (Рисунок 54).

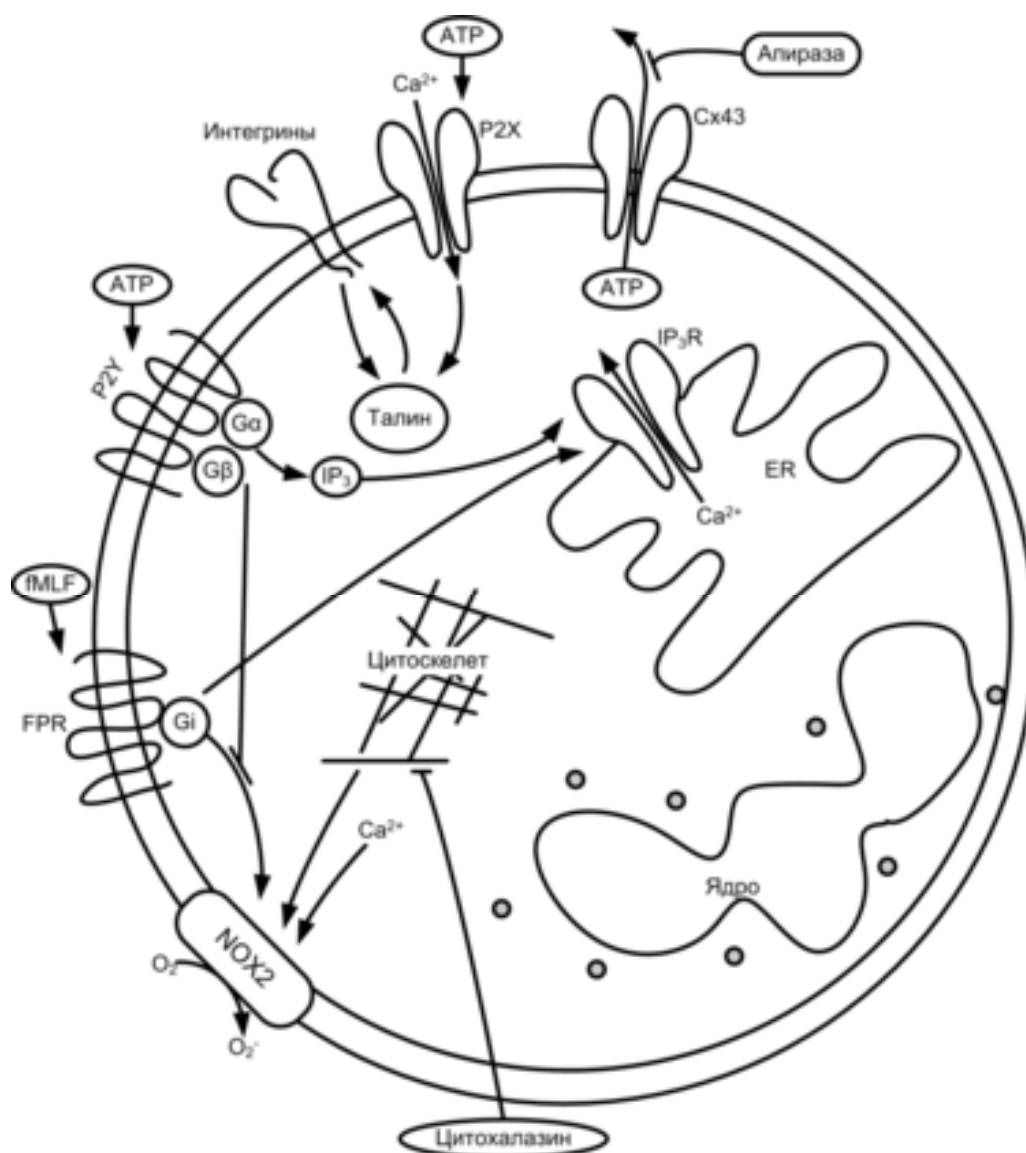


Рисунок 54. Схематическое представление компонентов АТФ-зависимых сигнальных путей в гранулоцитах костного мозга. Адаптировано из статьи автора по теме диссертации Serov D. A., Astashev M. E., Tikhonova I. V., Safronova V. G. The Influence of Exogenous ATP on Functional Responses of Murine Bone Marrow Granulocytes // Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. – 2020. – Т. 14, № 1. – С. 34-43. DOI: 10.1134/s1990747819060096

В популяции гранулоцитов содержатся клетки с разной чувствительностью к АТФ. Неоднородность клеток по чувствительности к АТФ проявлялась не только в наличии или отсутствии кальциевого ответа, но отражалась на временных характеристиках ответов (Рисунок 52d). Часть клеток отвечала на АТФ с незначительной задержкой после подачи стимула,

другая часть – с задержкой около минуты. Кальциевые ответы в течение первых секунд после добавки АТФ, вероятно, вызваны активацией ионотропных рецепторов семейства P2X (Karmakar et al., 2016). Кальциевые спайки, возникшие с задержкой после добавки АТФ, возможно, обусловлены активацией метаботропных рецепторов семейства P2Y либо внутриклеточного сигнального каскада, запускаемого входом ионов кальция через рецепторы семейства P2X (Wang et al., 2017). Предположение основано на экспериментальном определении экспрессии рецепторов семейств P2X и P2Y в гранулоцитах (Bao et al., 2015; Chen et al., 2006; Karmakar et al., 2016; Uhl et al., 2016; Wang et al., 2017). Разнородность гранулоцитов по чувствительности к АТФ, возможно, объясняется присутствием в популяции клеток с разным набором и уровнями экспрессии рецепторов семейств P2X и/или P2Y. Также могут играть роль другие факторы, в частности, экспрессия поверхностных маркеров зрелости (Bao et al., 2015; Grieshaber-Bouyer & Nigrovic, 2019). Идентификация типов рецепторов, регулирующих функциональные ответы гранулоцитов мыши, требует дальнейших исследований.

Мы впервые применили автоматизированный алгоритм поиска клеток с кальциевыми спайками в популяции на основе анализа статистических моментов третьего и четвертого порядков. Данный подход снижает время, затрачиваемое на обработку данных, и исключает субъективную интерпретацию анализируемых сигналов, что зачастую происходит при выборе клеток вручную.

Обнаруженная нами группа гранулоцитов, отвечающая кальциевыми спайками на добавку раствора Хенкса, вероятно, обладает высокой чувствительностью к напряжению сдвига, что усиливает адгезию нейтрофилов к эндотелию и эндотелиальной трансмиграции (Cinamon et al., 2004). Напряжение сдвига вызывает увеличение экспрессии CD11b/CD18 на нейтрофилах человека и изменение их морфологии, а также усиливает

эффект фактора активации тромбоцитов на указанные параметры (Mitchell et al., 2014).

Наличие лаг-периода в кальциевых ответах (рис. 1) свидетельствует в пользу участия ассоциированных с G-белками рецепторов P2Y1 и/или запуска внутриклеточных сигнальных каскадов ионами Ca^{2+} , поступившими в клетку через рецепторы P2X.

3.4.2 Влияние внешних химических стимулов на функциональные ответы невозбудимых клеток¹³

Мы обнаружили (Рисунок 59) изменение количества эндотелиоцитов с осцилляциями цитозольного кальция при действии ряда химических стимулов: ацетилхолина, инсулина, блокатора NO-синтазы, а также от температуры. Поскольку как «дыхательный взрыв», так и дегрануляция гранулоцитов зависят от уровня цитоплазматического кальция (Immler et al., 2018), мы оценили влияние наночастиц селена (НЧ Se) и их комбинации с IgG на кальциевую активность гранулоцитов. В контроле около 10% гранулоцитов образовывали кратковременные подъемы концентрации цитозольного кальция (Рисунок 55a,e). Добавление наночастиц селена как с добавлением антител, так и без него не изменило количество клеток с ответом на кальций (Рисунок 55e). Добавление IgG уменьшило количество клеток с кратковременными подъемами цитозольной концентрацией кальция по сравнению с контролем (Рисунок 55e). Добавление индуктора «дыхательного взрыва» W-белка (Wp) увеличило количество клеток с кальциевым ответом в три раза (Рисунок 55a, e) по сравнению с контролем. Добавление НЧ Se уменьшило количество клеток, реагирующих на Wp,

¹³ По материалам статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Khabatova V. V., Serov D. A., Tikhonova I. V., Astashev M. E., Nagaev E. I., Sarimov R. M., Matveyeva T. A., Simak A. V., Gudkov S. V. Selenium Nanoparticles Can Influence the Immune Response Due to Interactions with Antibodies and Modulation of the Physiological State of Granulocytes // *Pharmaceutics*. – 2022. – Т. 14, № 12. DOI: 10.3390/pharmaceutics14122772; Serov D.A., Khabatova V.V., Tikhonova I.V., Reut V.E., Pobedonostsev R.V., **Astashev M.E.** Study of the Effects of Selenium Nanoparticles and Their Combination with Immunoglobulins on the Survival and Functional State of Polymorphonuclear Cells // *Opera Medica Physiol.* – 2022. – Т. 9, № 4. – С. 137-159. DOI: 10.24412/2500-2295-2022-4-137-159

примерно на 10% (Рисунок 55b,f). IgG не влиял на реакцию гранулоцитов на кальций на Wp (Рисунок 55c,f). Комбинация НЧ Se + IgG имела тот же эффект, что и НЧ Se (Рисунок 55d,f). Таким образом, НЧ Se способны существенно модулировать иммуногенный ответ гранулоцитов на фоне индукции IgG. Обычно полагают, что такие эффекты связаны с влиянием на механизмы регуляции клеточной сигнализации.

В контроле около 10% гранулоцитов генерировали кальциевые спайки (Рисунок 55a,д), что согласуется с данными наших предыдущих исследований и исследований других авторов (Jaconi et al., 1988; Safronova et al., 2021; Serov et al., 2020). Повышение концентрации цитоплазматического кальция в ответ на Wp хорошо описано в литературе и является одним из механизмов его активности. Активация FPR в ответ на Wp приводит к повышению уровня цитоплазматического кальция по следующему сигнальному пути: активация GPCR, активация PLC- β , гидролиз PIP2 до IP3 и открытие кальциевых каналов IP3R на эндоплазматическом ретикулуме (Dahlgren et al., 2020; Forsman & Dahlgren, 2010). Мы обнаружили способность НЧ Se блокировать кальциевые ответы, индуцированные Wp, в гранулоцитах мыши. Катионы Se⁺ способны ингибировать IP3-зависимое высвобождение кальция из цитоплазматической сети (Uğuz & Nazıroğlu, 2012; Zheng et al., 2005).

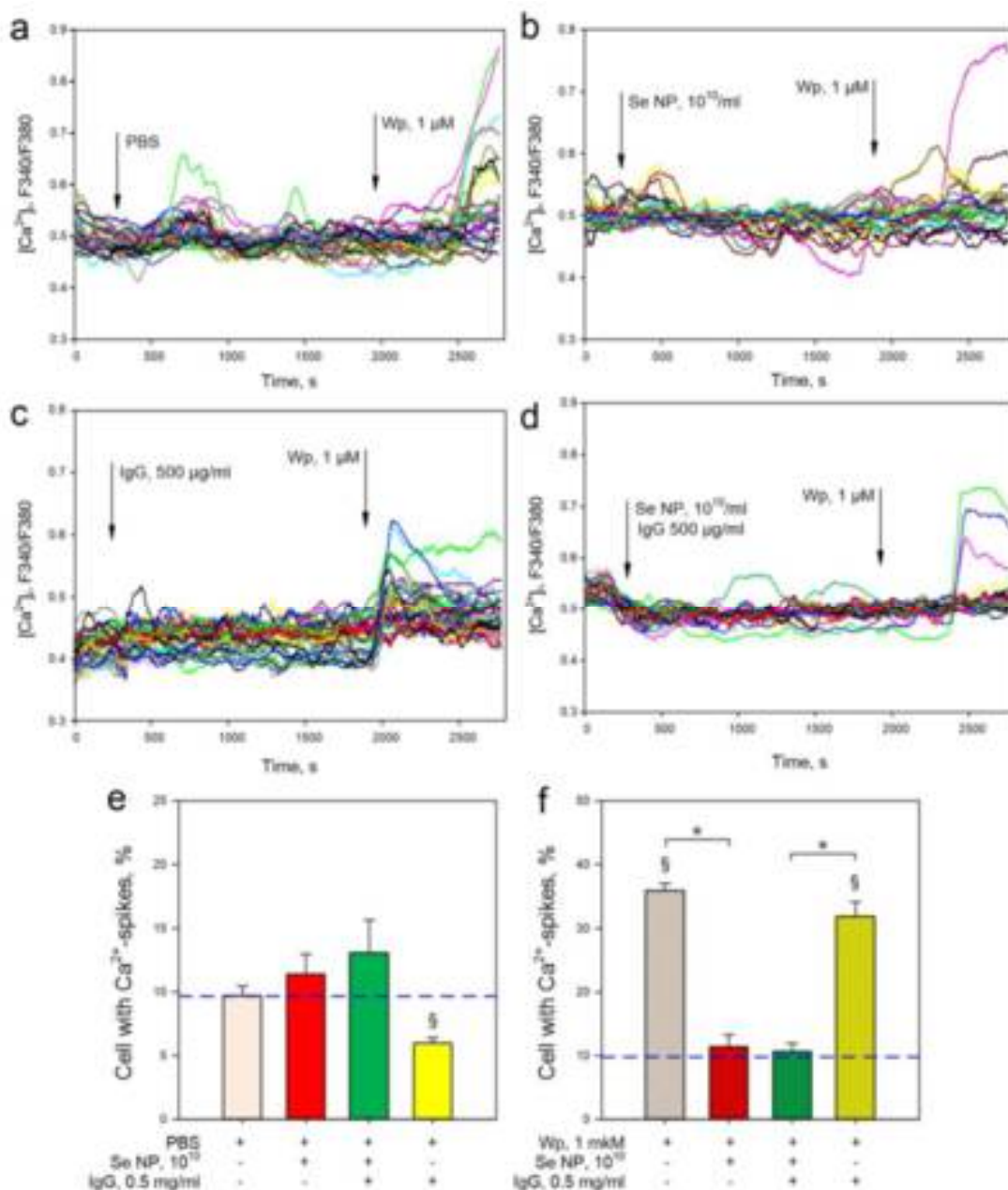


Рисунок 55. Оценка доли гранулоцитов с кратковременными кальциевыми ответами. Примеры клеточных ответов (~30) в случайно выбранных участках поля зрения на фоне PBS (контроль) (а), НЧ Se (б), комбинации НЧ Se и IgG (в) и IgG (г) с последующим добавлением 1 мкМ Wp. Доля клеток с ответом на кальций сразу после добавления PBS (контроль), НЧ Se, IgG или комбинации НЧ Se и IgG (е). Доля клеток с кальциевым ответом на добавку 1 мкМ Wp после 20-минутной инкубации с указанными агентами (ф). На панелях (д, е) показаны средние данные для всех ячеек в поле зрения. В каждом варианте исследование проводили на шести образцах клеток; в каждой анализировали не менее 200 клеток. Данные представлены как среднее $\pm$ SE. § — $p < 0,05$ по сравнению с PBS (синяя пунктирная линия), * — $p < 0,05$ между указанными вариантами. Достоверность различий оценивали

с помощью критерия Манна–Уитни. Для каждого варианта проведено шесть независимых экспериментов ($n = 6$). Рисунок из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Khabatova V. V., Serov D. A., Tikhonova I. V., Astashev M. E., Nagaev E. I., Sarimov R. M., Matveyeva T. A., Simakin A. V., Gudkov S. V. Selenium Nanoparticles Can Influence the Immune Response Due to Interactions with Antibodies and Modulation of the Physiological State of Granulocytes // *Pharmaceutics*. – 2022. – Т. 14, № 12. DOI: 10.3390/pharmaceutics14122772.

3.4.3 Исследование низкочастотных ритмических компонент в неэлектровозбудимых клетках¹⁴

Как отмечено в Обзоре литературы (1.2 и 1.3), многие физиологические системы организма обладают ритмической кинетикой в области 0,001-0,1 Гц. В частности, в микроциркуляторном русле, в этом диапазоне активны (Рисунок 56) эндотелиальные, нейрогенные и миогенные осцилляции (Astashev et al., 2019). Существуют указания на то, что эти ритмы управляются некими локальными механизмами (Söderström et al., 2003), т.е. нельзя исключать, что их источником являются внутриклеточные процессы клеток, формирующих микрососуды или прилегающих к микрососудам.

¹⁴ 17. По материалам статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Serov D.A., Voronina D.Yu., Astashev M.E., Tankanag A.V. Effect of hyperglycemia on oscillations in calcium and nitric oxide concentrations in mouse skin endotheliocytes // *Opera medica et physiologica*. – 2024. – Т. 11, № 4. – С. 166-198. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-4-166-198

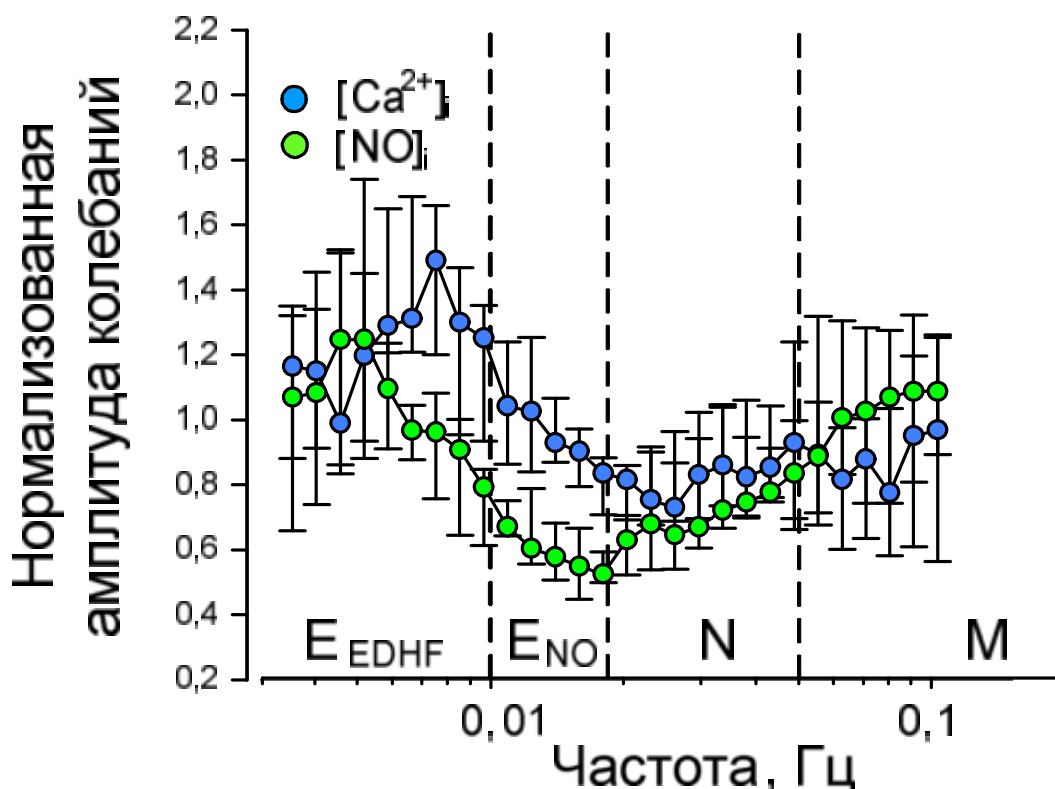


Рисунок 56. Усредненные нормализованные АЧХ колебаний динамики цитозольной концентрации кальция и продукции NO в культивируемых эндотелиоцитах микрососудов мыши. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Serov D.A., Voronina D.Yu., Astashev M.E., Tankanag A.V. Effect of hyperglycemia on oscillations in calcium and nitric oxide concentrations in mouse skin endotheliocytes // *Opera medica et physiologica*. – 2024. – Т. 11, № 4. – С. 166-198. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-4-166-198

Одним из возможных кандидатов являются эндотелиоциты, выстилающие стенки микрососудов, поскольку известно, что они способны продуцировать вазоактивные вещества и генерировать спонтанные колебания (Balke, 1996). Для проверки этой гипотезы нами был проведен цикл работ по исследованию ритмических компонент в динамике внутриклеточных мессенджеров в культивируемых эндотелиоцитах мыши (Serov et al., 2022). Для этих исследований очень пригодилась возможность синхронной регистрации Fura2-AM и DAF-FM в разработанной нами системе светодиодной трехволновой имиджинг-системе микрофлюориметрии. Для изучения

механизмов формирования колебательных режимов, наблюдаемых в микроциркуляторном русле лабораторных животных, нами были проведены исследования периодических сигналов во внутриклеточной сигнализации на первичной культуре эндотелиоцитов микрососудов мыши. Для этого регистрировали цитозольные концентрации кальция и продукции NO с помощью флуоресцентных зондов Fluo-3, Fura2-AM и DAF-FM (Рисунок 51). Для обеспечения условий, приближенных к физиологическим, в экспериментальной камере во все время регистрации сигналов поддерживали температуру 37 °C и скорость перфузии 1 мл/мин. Для проверки гипотезы о температурном источнике колебаний также была проведена серия экспериментов с колебательным режимом изменения температуры и скорости потока. Для этого изменяли температуру держателя перфузионной камеры с клетками в пределах 37 ± 1 °C и температуру проточного подогревателя раствора, подаваемого в камеру, в пределах 37 ± 2 °C. Эндотелиоциты выращивали в культуральных флаконах до конфлюэнтности 80-100%, затем снимали с помощью раствора, содержащего трипсин-ЭДТА, переносили на стекла и культивировали в течение 15 дней. Затем проводили нагрузку флуоресцентными зондами по описанным ранее протоколам. Примеры записей динамики продукции NO приведены на спектрограмме (Рисунок 56).

Регистрацию флуоресцентных сигналов от эндотелиоцитов мыши, окрашенных одновременно двумя красителями Fura-2 AM и DAF-FM проводили синхронно при последовательном освещении образца светодиодами с длинами волн 340, 380 и 490 нм непрерывно в течение 20 минут. Примеры записей регистрации осцилляций цитозольной концентрации кальция и продукции оксида азота приведены на рисунке (Рисунок 57). Далее сигналы анализировали с помощью вейвлет-преобразования.

В результате были получены спектрограммы осцилляций цитозольной концентрации кальция и продукции оксида азота (Рисунок 56). Как на спектрограммах изменения цитозольной концентрации кальция, так и на спектрограммах изменения продукции NO видно падение амплитуды осцилляций в диапазонах эндотелиальной (0,007-0,016 Гц для кальция, 0,011-0,013 Гц для продукции NO), и нейрогенной (0,032-0,04 Гц для кальция, 0,034-0,042 Гц для продукции NO) активности при ритмическом изменении температуры с частотой 0,02 Гц. Это неожиданный результат, т.к. ожидалось усиление колебаний на частоте вынуждающего ритма при ритмическом изменении температуры. Совпадение границ частотных интервалов колебаний цитозольной концентрации кальция и продукции NO указывает на прямую связь их колебательных режимов, а также на возможность управления низкочастотной осцилляционной активностью в эндотелиоцитах посредством внешних вынуждающих колебаний температуры.

Результат с уменьшением амплитуды в низкочастотной области сохранялся в виде тенденции при регистрации флуоресценции клеток, окрашенных Fura2-AM (n=4). В силу методических сложностей одновременная регистрация двух зондов Fura2-AM и DAF-FM обеспечивает недостаточную точность измерения кальциевого сигнала, и усложненная схема эксперимента оправдана только для кроссчастотного анализа сигналов цитозольного кальция и продукции NO. При усреднении разностей спектров, полученных при стабильной температуре и при вынуждающих колебаниях с частотой 0,02 Гц, наблюдается снижение амплитуды колебаний на частотах, отличающихся от вынуждающей (Рисунок 92). Для устранения возможного артефакта часть данных получена при измерении флуоресценции поля вначале в режиме колебаний температуры, а затем в режиме стабильной температуры.

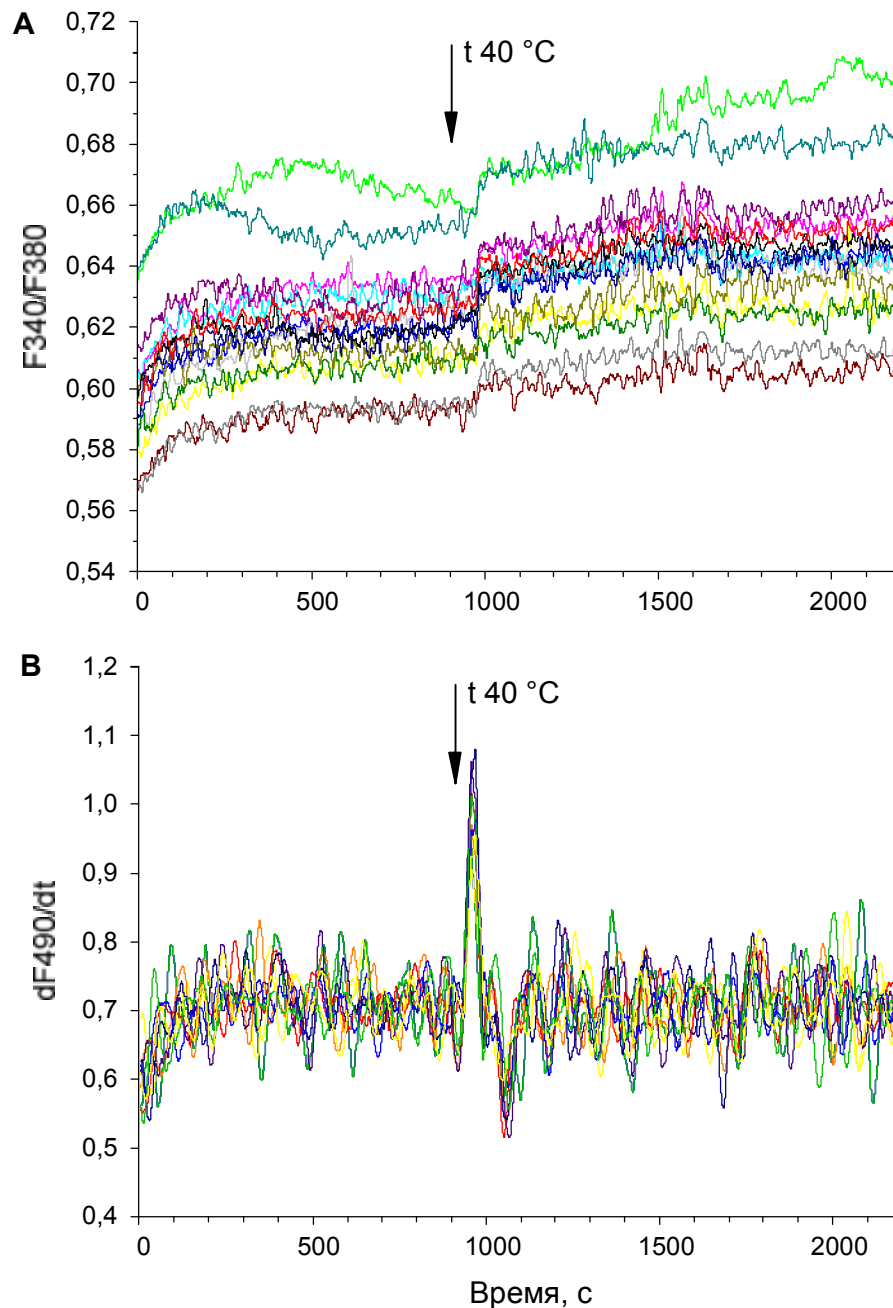


Рисунок 57. Примеры записей динамики концентрации Ca^{2+} (F_{340}/F_{380}) (A) и скорости продукции NO ($d\text{NO}/dt$) (B) в эндотелиоцитах мыши. Показаны записи клеток со случайно выбранной части поля зрения. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Serov D.A., Voronina D.Yu., Astashev M.E., Tankanag A.V. Effect of hyperglycemia on oscillations in calcium and nitric oxide concentrations in mouse skin endotheliocytes // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 4. – С. 166-198. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-4-166-198

Уменьшение колебательной активности в одном низкочастотном диапазоне (в данном случае, эндотелиальном) при увеличении колебаний в другом диапазоне (миогенном) также совпадает с эффектами перераспределения амплитуд колебаний кожной микроциркуляции под действием различных наркозов у животных (Astashev et al., 2018).

В результате, в динамике цитозольного $[Ca^{2+}]_i$ и продукции $[NO]_i$ в эндотелиоцитах мышцы нами были обнаружены устойчивые осцилляции с пиком АЧХ равным 0,01 Гц (Serov et al., 2022). При этом были отмечены следующие особенности:

- 1) В нормальных условиях (температура 37°C, нормоксия) в культивируемых эндотелиоцитах микрососудов мышцы наблюдаются колебания как в динамике цитозольного кальция, так и в динамике продукции $[NO]_i$ (Рисунок 56).
- 2) Процент клеток, демонстрирующих колебания, составляет 12% (межквартильный диапазон 7-37) для $[Ca^{2+}]_i$ и 6% (межквартильный диапазон 2-6) для продукции NO.
- 3) Пиковые значения осцилляций цитозольного Ca^{2+} и продукции NO лежат в диапазоне эндотелиального ритма, характерного для колебаний скорости микрососудистого кровотока (Рисунок 58).
- 4) Различные провокационные тесты (изменение температуры, гипоксия) блокируют осцилляции цитозольного Ca^{2+} и продукции NO (Serov et al., 2022) (Рисунок 58, Рисунок 59А).
- 5) В популяции эндотелиоцитов наблюдаются группы клеток, проявляющих высокую степень корреляции амплитуд колебаний (т.е. колебания в клетках происходят на одних частотах в одно и то же время) и одновременно высокую когерентность (т.е. сохранение сдвига фаз) колебаний.

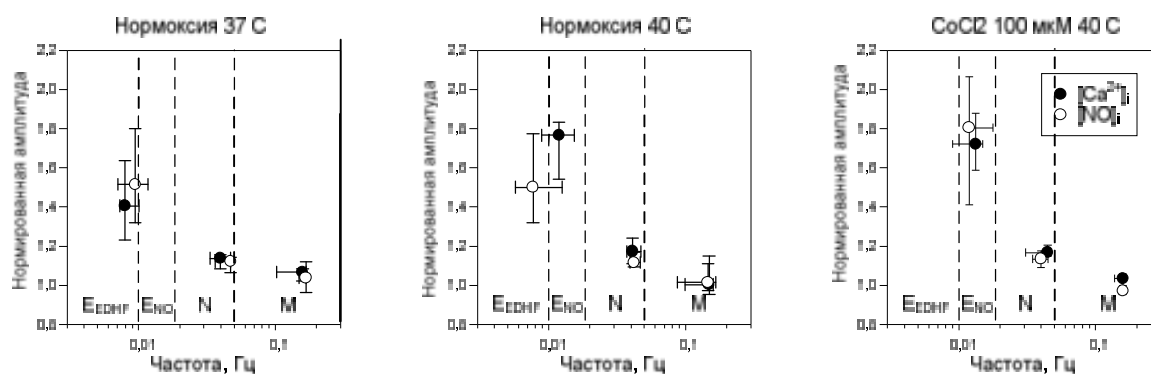


Рисунок 58. Средние пиковые значения АЧХ динамики цитозольного кальция и продукции NO при изменении температуры и гипоксических условиях в культивируемых эндотелиоцитах микрососудов мыши. Рисунок автора.

Рассмотрим эти особенности подробнее.

Наличие у невозбудимых клеток устойчивых колебаний указывает на реализацию в клетках одного из трех возможных механизмов:

- 1) В каждой отдельной клетке, демонстрирующей осцилляцию, запускается свой собственный осциллятор, состоящий из линий задержки и усилительных каскадов, охваченных положительной обратной связью. Возможная последовательность: $[Ca^{2+}]_i \rightarrow NO \rightarrow \text{цГМФ} \rightarrow \text{PKG} \rightarrow \text{CD38} \rightarrow \text{RyR} \rightarrow [Ca^{2+}]_i$.
- 2) Осциллятор включает как минимум две клетки, с внутриклеточными механизмами усиления сигнала, механизм передачи сигнала через внеклеточный химический сигнал (трансмисмиттер) и диффузионный промежуток, который, вероятнее всего, и выполняет роль линии задержки. Следует отметить, что речь идет о частотах около 0,01Гц, или периоде 100 секунд, что весьма ограничивает возможный набор механизмов, обеспечивающих такие времена на клеточном уровне (Рисунок 59).
- 3) Возможна реализация также механизма фильтрации посредством внутриклеточных механизмов ограниченного частотного диапазона из широкополосного шумоподобного сигнала.

Для проверки 3-го механизма нами был проведен эксперимент с осциллирующим внешним стимулом - температурой. В результате, при действии периодических колебаний температуры на частоте 0,02 Гц мы обнаружили подавление осцилляций на частоте эндотелиального ритма (0,007 Гц), т.е. мы обнаружили эффект, напоминающий принцип подавления боковых частота в регенеративном приемнике (Armstrong, 1915). Это указывает на то, что механизм полосовой фильтрации, скорее всего не реализуется.

С другой стороны, наличие синхронизованных клеток, указывает на реализацию второго механизма, при этом, появляется возможность оценить среднее расстояние между клетками и таким образом, оценить время диффузии (Рисунок 59Б). Конечно, такая оценка имеет некоторые технологические ограничения: мы использовали только клетки, попадающие в поле зрения объектива $\times 10$ (1,5x1 мм), что дает нам искусственное ограничение сверху, кроме того, данные для осцилляций получены в условиях "плоской модели", т.е. для слоя клеток, адгезированных на стекле в виде разрозненного (конфлюэнтность около 10%) монослоя, без сложной структуры ткани, без межклеточного матрикса, что должно заметно исказить результаты и единственным вариантом, отвечающим этой модели является непосредственно диффузия веществ вдоль русла микрососуда. Для построения графика (Рисунок 59Б) рассчитывали показатель когерентности

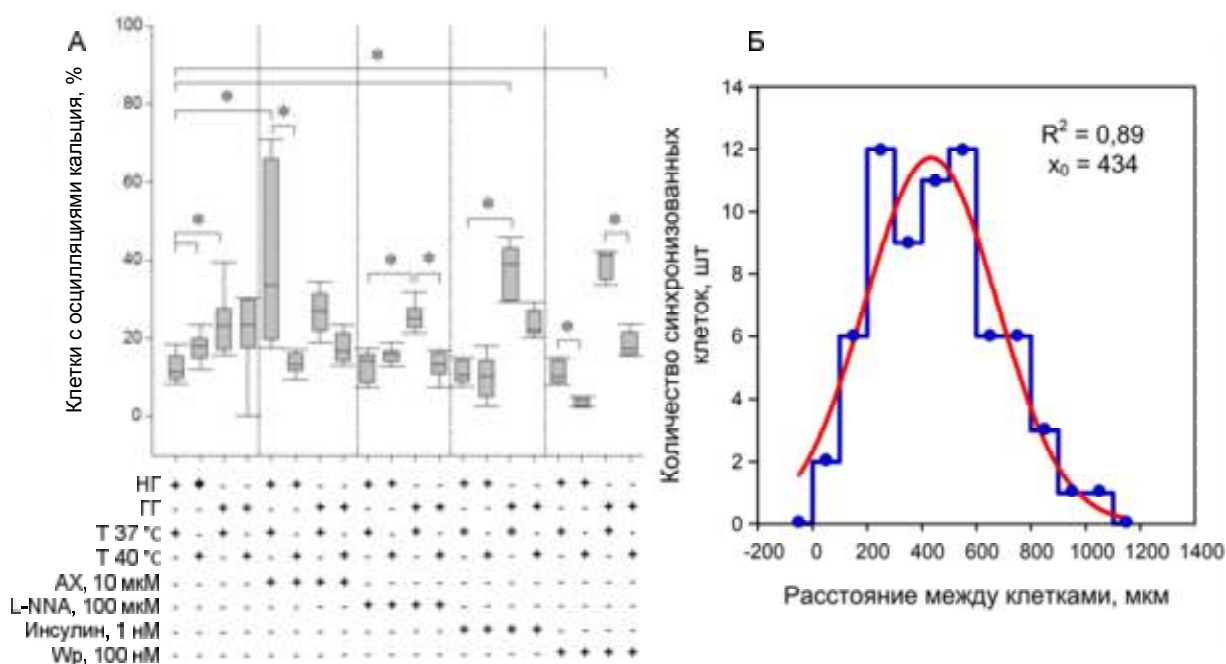


Рисунок 59. Влияние химических стимулов и диффузии на осцилляции концентрации цитоплазматического кальция в эндотелиальных клетках. А - соотношение клеток с колебаниями концентрации цитоплазматического кальция в эндотелиальных клетках микрососудов кожи мышей при различном воздействии. * - $p < 0,05$ ($n = 8$). Однофакторный дисперсионный анализ Крускала-Уоллиса с последующим множественным сравнением с использованием критерия Даннетта. Б - оценка среднего расстояния между синхронизированными клетками. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Serov D.A., Voronina D.Yu., Astashev M.E., Tankanag A.V. Effect of hyperglycemia on oscillations in calcium and nitric oxide concentrations in mouse skin endotheliocytes // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 4. – С. 166-198. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-4-166-198

для всех клеток в поле зрения по принципу "каждая с каждой". Тем не менее мы получили характерное расстояние около 400мкм. Время распространения сигнала на этом расстоянии равно половине от периода, т.е. 50с. Коэффициент диффузии можно оценить по формуле :

$$x = \sqrt{4Dt}$$

$$D = \frac{x^2}{4t}, \quad (64)$$

где x - характерное расстояние, t - время, D - коэффициент диффузии. Оценка для коэффициента диффузии составляет $0,8 \cdot 10^{-9} \text{ м}^2/\text{с}$, что по порядку

величины (Таблица 11) совпадает с большей частью относительно крупных молекул (этиловый спирт, уксусная кислота, фенол, глицерин), однако необходимо помнить, что это скорее оценка снизу, в которой не учтены времена трансдукции сигнала в клетке, что приведет к уменьшению времени диффузии и, соответственно, к увеличению коэффициента диффузии.

Таблица 11. Таблица коэффициентов диффузии органических анионов при бесконечном разведении в воде при температуре 20°C. Адаптировано из (Lide, 2006)

Органический анион	$D_i \cdot 10^{-5} \text{ [cm}^2/\text{s]}$
Ацетат-	1.089
Бензоат-	0.863
Бутират-	0.868
Цитрат-3	0.623
Дигидрогенцитрат-	0.799
Гидрогеноксалат-	1.070
Изовалерат-	0.871
Лактат-	1.033
Малат-2	0.783
Малеат-2	0.824
Оксалат-2	0.987
Фенилацетат-	0.815
о-Фталат-2	0.696
m- Фталат -2	0.728
Пивалат-	0.849
Салицилат-	0.959
Сукцинат-2	0.783

3.4.4 Применение метода биспектрального анализа для оценки синхронизации колебаний внутриклеточных сигнальных молекул в эндотелиоцитах¹⁵

Примеры динамических рядов изменения цитоплазматической концентрации кальция и скорости продукции NO были приведены ранее (Рисунок 57). Метод биспектрального анализа позволяет эффективно оценивать наличие и степень синхронизации колебательных процессов (Рисунок 60E, F) как и классические методы вейвлет-когерентности и кросс-корреляции (Рисунок 65 C, D). Примечательно, что в случае высокой когерентности метод биспектрального анализа выявляет более четкие границы частотных диапазонов, в которых происходят синхронизованные колебания, в отличие от классической вейвлет-когерентности (Рисунок 60C, E). Кроме того, при биспектральном анализе лучше видно, происходит ли синхронизация на одной частоте или нескольких.

Дополнительным преимуществом биспектрального анализа является более широкий динамический диапазон количественных данных. Коэффициенты вейвлет-когерентности и кросс-корреляции могут принимать значения в интервале от 0 до 1. Коэффициент биспектрального анализа может быть выше 1 (пример, Рисунок 60 E). Это позволяет более точно характеризовать степень синхронизации в разных условиях и находить более тонкие различия между экспериментальными условиями.

¹⁵ По материалам статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., Knyazeva I. V., Dorokhov A. A., Simakin A. V., Gudkov S. V. Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685

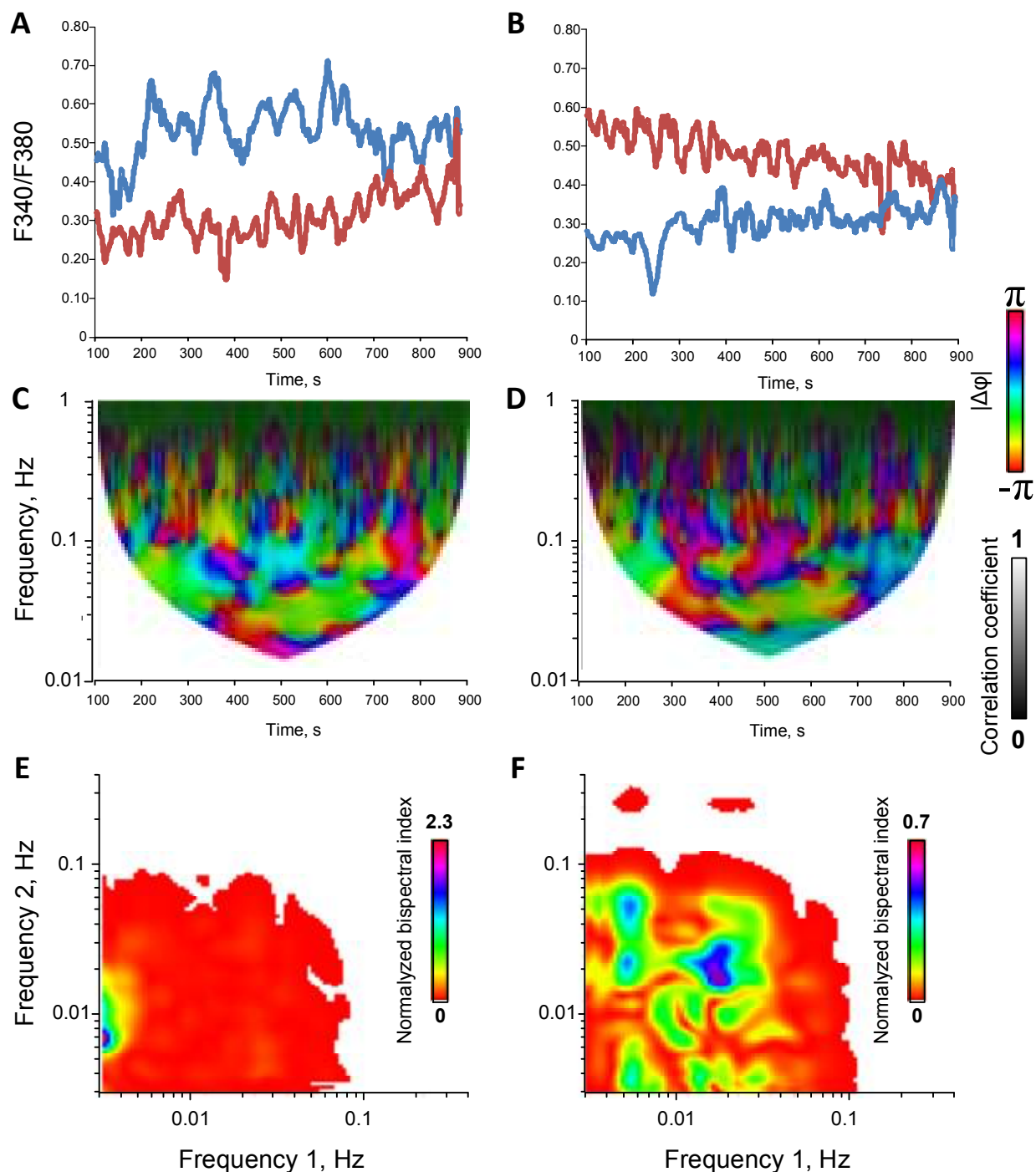


Рисунок 60. Примеры динамических записей изменений F340/F380 в единичных клетках (A, B), карт вейлет-когерентности (C, D) и карт биспектров (E, F) рассчитанных для динамических рядов F340/F380 для синхронизированных (A, C, E) и не синхронизированных (B, D, F) эндотелиальных клеток. Рисунок из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral

Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685

Для количественного описания степени синхронизации клеток между собой нами был выбран максимальный нормированный показатель биспектра. Для проверки сохранения синхронизации между клетками после температурного стресса нами были построены матрицы величин биспектральных коэффициентов между разными парами клеток (Рисунок 61).

Нами было обнаружено, что температурный стресс в части клеток снижал синхронизацию осцилляций Ca^{2+} , а в части клеток - увеличивал (Рисунок 61 А). При этом, наблюдается гетерогенность клеток по синхронизации между собой. Нами наблюдались три группы клеток. Первая – клетки синхронизованные с большим числом других клеток (красные горизонтальные или вертикальные линии, Рисунок 61). Клетки с низкой синхронизацией с другими клетками (синие и голубые горизонтальные и вертикальные линии). Клетки умеренно синхронизованные друг с другом: зеленые и желтые области.

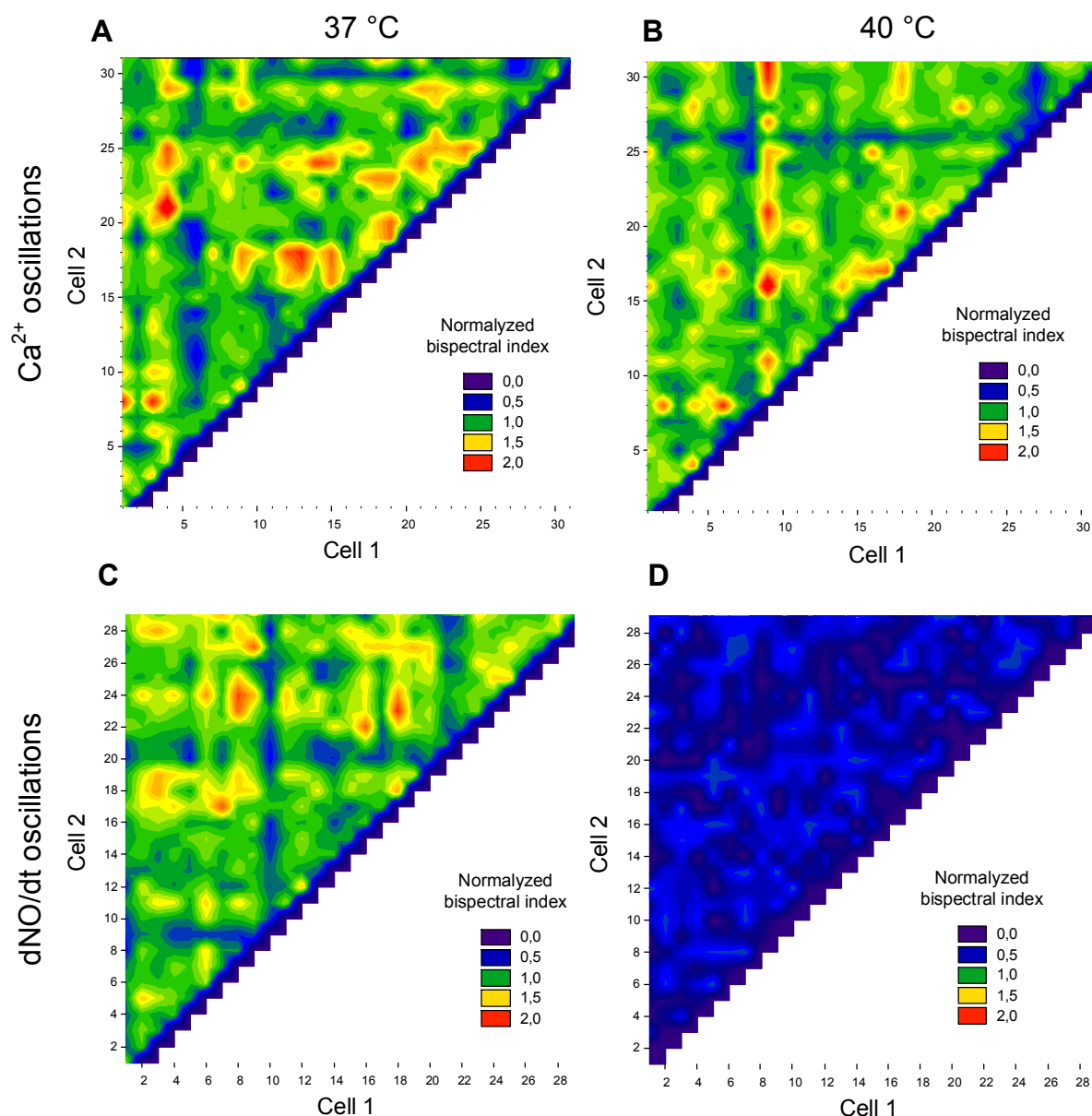


Рисунок 61. Примеры карт распределение пар клеток по величине максимальных нормированных модулей биспектров колебаний цитозольной концентрации кальция (А, В) и скорости продукции NO (С, D) при физиологической температуре (А, С) и тепловой пробе 40 °С (В, D). Рисунок из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685

Ранее нами была обнаружена гетерогенность клеток по способности к генерации как кальциевых транзистентных сигналов, так и осцилляций цитозольного кальция и продукции NO (Serov et al., 2021; Tsetlin et al., 2021). Однако, гетерогенность клеток по способности к синхронизации колебаний цитозольной концентрации кальция и продукции NO была обнаружена нами впервые. Наши результаты косвенно согласуются с данными о значительной гетерогенности клеточных популяций внутри одной культуры. При этом, клетки, синхронизованные по колебаниям концентрации Ca могут быть не синхронизованными по колебаниям продукции NO и наоборот.

При стрессовом воздействии в виде нагрева было обнаружено изменение числа клеток с колебаниями цитозольной концентрации Ca^{2+} и продукции NO (Рисунок 61, В, D). Для выполнения количественной оценки степени синхронизации клеток нами был применен метод пороговой дискриминации по нормированному максимальному показателю биспектра с порогом >1 . В качестве характеристик синхронизации клеток были выбраны доля синхронизованных клеток и среднее значение нормированного максимального показателя биспектра для всей проанализированной популяции (Рисунок 62)

Нами обнаружена зависимость как доли синхронизованных клеток так и усредненного показателя биспектра от температуры окружающей среды, концентрации глюкозы и типа внутриклеточного посредника (Рисунок 62).

Для колебаний концентрации цитозольного кальция доля синхронизованных клеток и усредненный максимальный показатель биспектра увеличивались на треть с ростом температуры от 37 до 40 °C. Для колебаний продукции NO наблюдалась обратная картина. Дополнительный нагрев резко снижал число синхронизированных клеток и усредненный максимальный показатель биспектра. Гипергликемия отменяла эффекты тепловой пробы на характеристики синхронизации клеток по колебаниям цитозольного кальция и продукции оксида азота.

Дополнительный интерес представляет оценка синхронизации колебаний разных посредников, поскольку, это позволяет оценить степень взаимосвязи внутриклеточных сигнальных путей между собой в разных условиях.

В случае синхронизации «Ca²⁺ - NO» наблюдалась сходная картина с синхронизацией «NO - NO» (Рисунок 62), что указывает на функциональную связь сигнальных путей, вовлекающих цитозольный кальций и NO, в ответах клеток на гипертермию.

Примечательно, что величины максимального биспектрального коэффициента зависят от того, в какой последовательности выполнять анализ сигналов т.е. $\rho(\omega_1, \omega_2) \neq \rho(\omega_2, \omega_1)$. По асимметрии результатов биспектрального анализа было сказано выше. Таким образом, биспектральный метод позволяет определять «направление» синхронизации, то есть какая клетка из пары является «передатчиком», а какая «приемником» синхронизирующей частоты. Для этого мы построили серию матриц величин биспектрального коэффициента в зависимости от «направления» анализа: от колебаний продукции NO к колебаниям Ca²⁺ или от колебаний Ca²⁺ с колебаниями продукции NO (**Рисунок 63 А, В**).

Из полученных матриц видно, что часть клеток значительно синхронизована по направлению «Ca²⁺ → NO» (красные области наверху **Рисунок 63 А**), но при этом, эти же клетки, слабо синхронизованы по направлению «NO → Ca²⁺» (соответствующие синие области на **Рисунок 63 В**). Верно и обратное утверждение. Примечательно, что клеток с ярко выраженной синхронизацией в обоих «направлениях NO → Ca²⁺ и Ca²⁺ → NO» нами на данном этапе анализа не было обнаружено. Следовательно, клеточная популяция эндотелиоцитов гетерогенна по тому, какие сигнальные пути участвуют в их синхронизации: Ca²⁺- или NO-зависимые.

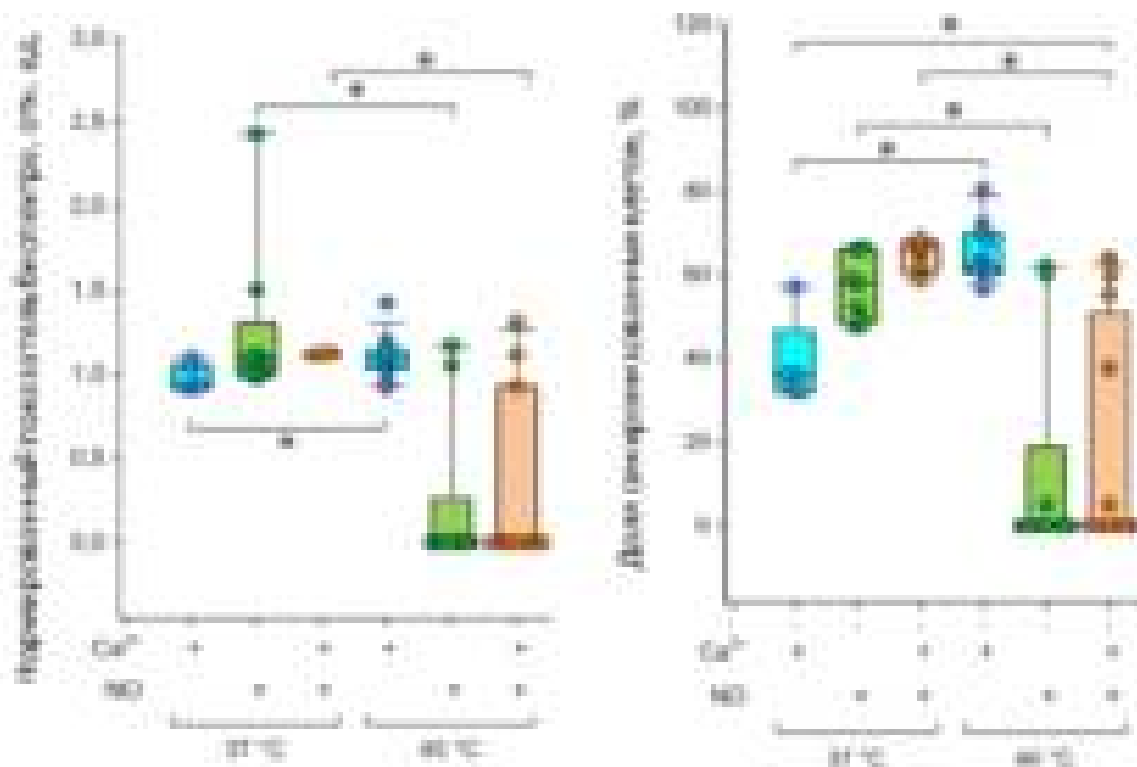


Рисунок 62. Сравнение средних показателей биспектра с графиком доли синхронизированных клеток при усреднении по всей анализируемой популяции клеток. Анализируемые ряды (цитозольная концентрация кальция и/или продукция оксида азота) указаны снизу графиков. График отражает основной механизм уменьшения среднего показателя биспектра для продукции NO: полное выключение части клеток из синхронной генерации. * - $p < 0.05$ ANOVA Крускала-Уоллиса, $N \geq 5$ с последующим тестом Tukey (не менее 5 независимых измерений). Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685.

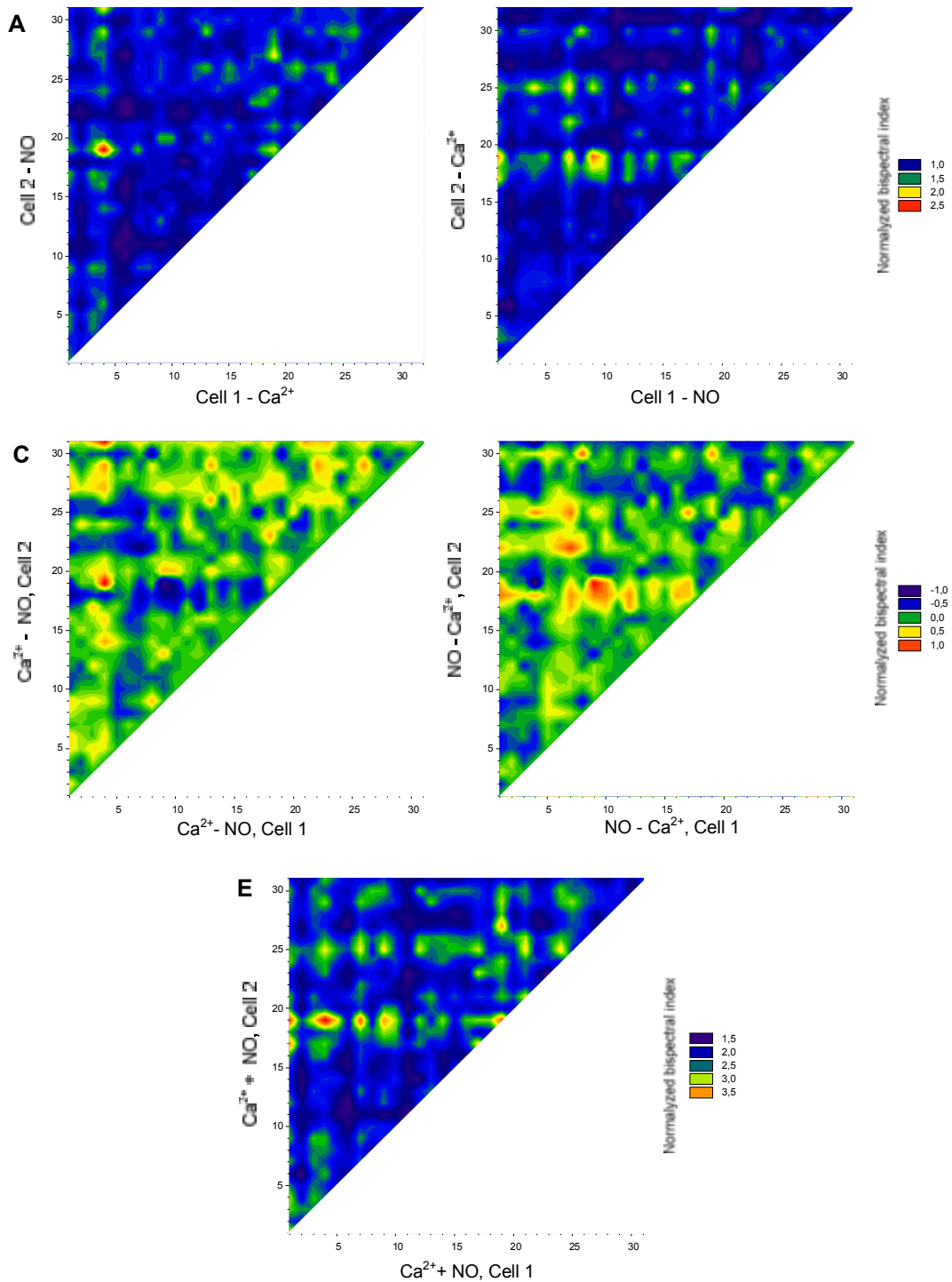


Рисунок 63. Оценка управления синхронизацией Ca^{2+} - и NO-зависимых сигнальных путей в эндотелиоцитах. Матрицы синхронизации колебаний концентрации «в направлении $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{NO}$ » (A) или «в направлении $\text{NO} \rightarrow \text{Ca}^{2+}$ » (B). Матрицы разностей нормированных максимальных показателей биспектра для колебаний цитозольного Ca^{2+} и продукции NO (C) или продукции NO и цитозольного Ca^{2+} (D). Матрица сумм нормированных максимальных показателей биспектра для колебаний продукции NO и цитозольного Ca^{2+} (E). Адаптировано из

статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // *Biology*. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685.

Помимо общей количественной оценки возможен также количественный анализ соотношения потенциальных путей управления синхронизацией колебаний концентраций внутриклеточных посредников в каждой конкретной клетке. Наглядно «перевес» между синхронизацией по динамике цитозольной концентрации Ca^{2+} или продукции NO клетками выглядит в виде разности величин максимального биспектрального коэффициента. Пример такой оценки показан ниже (**Рисунок 63 С, D**). Из полученных матриц видно, что клеточная популяция может быть разделена на три субпопуляции: первая – клетки с преобладающей синхронизацией осцилляций по Ca^{2+} -зависимым путям (красные и желтые области, **Рисунок 63 С**), вторая – клетки с преобладающей синхронизацией осцилляций по NO-зависимым путям (красные и желтые области, **Рисунок 63 D**). Отдельно стоит отметить, что в первой и второй субпопуляциях наблюдается реципрокное взаимоотношение сигнальных путей. Например, между парами с сильной синхронизацией колебаний цитозольного Ca^{2+} синхронизация колебаний продукции NO выражена значительно слабее или не выражена вовсе. Для клеток со значительной синхронизацией осцилляций продукции NO, синхронизация по Ca^{2+} значительно ослаблена.

Для получения дополнительной информации мы вычислили суммы нормированных максимальных биспектральных коэффициентов (**Рисунок 63 E**). Если предположить, что все клетки синхронизованы одним сигнальным путём из двух, что суммы нормированных максимальных биспектральных коэффициентов у разных клеток должны были иметь близкие значения. Однако, мы видим значительную в 3 и более раз гетерогенность клеток по

суммам биспектральных коэффициентов. Наблюдаемое явление можно имеет несколько объяснений. Первое – существует субпопуляция клеток с выраженными Ca^{2+} - и NO-зависимыми синхронизациями, но одна из них несколько превалирует, что отражается в матрицах разностей. Второе – клетка может быть «приёмником» по одному направлению, например «NO → Ca^{2+} » и «передатчиком» по другому « Ca^{2+} → NO» (средняя сумма), «приемников» по обоим направлениям (низкая сумма), и «передатчиком» по обоим направлениям, но для разных пар синхронизаций.

Помимо оценки степени синхронизации и «направления передачи» синхронизации, метод биспектрального анализа может применяться для количественной оценки частот и амплитуд синхронных колебаний в разных экспериментальных условиях (**Рисунок 64** и Таблица 12)

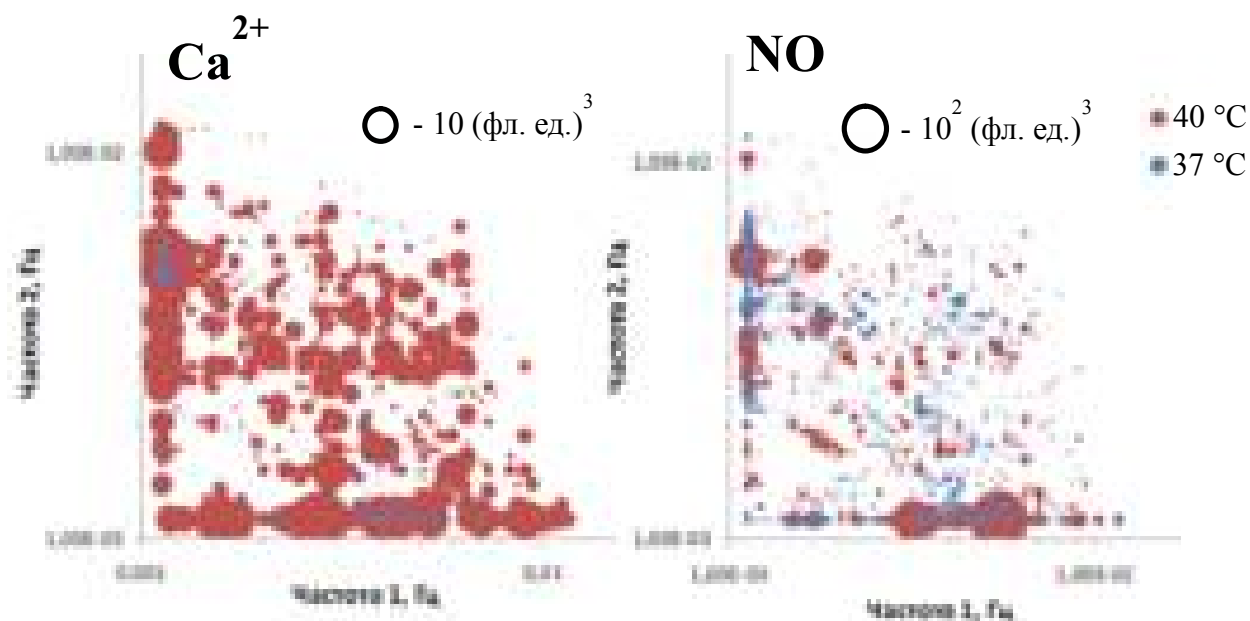


Рисунок 64. Анализ положения пиков на картах биспектров для динамики цитозольного Ca^{2+} и продукции NO при изменении температуры у культивируемых эндотелиоцитов. Биспектры в данном случае не подвергались нормировке по среднему для всей карты значению. Черные кружки обозначают масштаб амплитуд пиков. Рисунок с изменениями из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685.

В частности, нами обнаружено, что при гипертермии происходит увеличение первой и второй частот синхронных колебаний продукции NO и цитозольного Ca^{2+} соответственно по сравнению с контролем. Гипертермия также значительно увеличивали частоту синхронных колебаний, что выражалось в росте абсолютных значений биспектральных коэффициентов в ~20 раз для колебаний Ca^{2+} и ~2 раза для колебаний продукции NO (Таблица 12).

Таблица 12. Амплитудно-частотные характеристики пиков синхронизованных колебаний цитозольного Ca^{2+} или продукции NO для проанализированной клеточной популяции при разных температурах. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685.

№	Внутриклеточный посредник	Цитозольный Ca^{2+}		Продукция NO	
		37	40	37	40
	Температура, °C				
	Характеристика				
1	Частота 1, Гц $\times 10^{-3}$	2,2 (1,2; 4,2)	2,4 (1,1; 3,9)	1,9 (1,1; 3,9)	3,0* (1,6; 4,6)
2	Частота 2, Гц $\times 10^{-3}$	1,7 (1,2; 3,6)	2,8* (1,4; 3,9)	2,5 (1,3; 4,2)	2,5 (1,6; 4,6)
3	Значение биспектра, отн. ед.	8 (5, 13)	116* (69; 170)	51 (29; 84)	93* (60; 146)

* - $p < 0,05$ от 37 °C, по критерию Манна-Уитни (для каждого варианта проанализировано не менее 400 пар клеток).

Несмотря на все достоинства метода биспектрального анализа имеет несколько недостатков. Первый – это затраты на вычислительные мощности. Особенно это требование растет при увеличении числа анализируемых клеток по квадратичному закону. Второй – это большое количество значительно варьирующих данных в виде трехмерной матрицы, для которых трудно найти единый алгоритм анализа. В настоящей работе мы применили алгоритм автоматизированного поиска максимального значения

биспектрального коэффициента с определением X и Y координат данного пика в каждой карте биспектра. Для снижения вариации данных мы нормировали показатели биспектра на среднее значение показателя по всей карте.

Таким образом, мы получили матрицы нормированных максимальных значений показателей биспектра, которые и позволили нам выполнить дальнейший анализ полученных данных. Если пики на биспектральной карте хорошо локализованы, то можно посоветовать выделение регионов интереса (ROI) на биспектральных картах и выполнение их последующего более тщательного анализа (усреднение, поиск медианных значений, построение диаграмм распределения, интегралов по частотам и т.д.), применение методов теории графов и т.д. Адекватность этих подходов для конкретных решения наших задач мы планируем проверить в дальнейших исследованиях.

3.5 Исследование ритмической активности на уровне тканей

3.5.1 Исследование ритмических процессов в фотосинтетическом аппарате растений¹⁶

Состояние фотосинтетического аппарата растения влияет на продуктивность растения за счет эффективности преобразования энергии фотонов видимого диапазона в энергию химических связей при синтезе углеводов. Как было сказано в "Обзоре литературы", физиология растения сильно подвержена ритмике, задаваемой солнечными сутками. Для исследования иных ритмов у относительно интактного растения требуется разработка неинвазивных методов непрерывной регистрации физиологических параметров растения. Нами были разработаны два прибора для исследований такими методами как метод импедансометрии (полное описание аппаратного решения см. в (Astashev et al., 2022) и разделе 3.1.2) и метод импульсной флуориметрии (аппаратное решение см. в разделе 3.1.3). Первый метод нельзя назвать полностью неинвазивным, т.к. при длительных экспериментах возникают проблемы с высыханием электродов и нам не удалось добиться записи длительностью более часа. С методом импульсной флуориметрии ситуация проще. Нами была поставлена цель: обеспечить регистрацию флуоресцентного ответа с периодом около 10 с (соответственно мы ограничили частотный диапазон сверху величиной 0,05Гц) и длительностью более 2 суток в относительно стабильных условиях. Для этого экспериментальную установку мы смонтировали в ростовой камере с полностью искусственным освещением, с контролем температуры и

¹⁶ По материалам статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Burmistrov D. E., Yanykin D. V., Grishin A. A., Knyazeva I. V., Dorokhov A. S., Gudkov S. V. Application of Bispectral Analysis to Assess the Effect of Drought on the Photosynthetic Activity of Lettuce Plants *Lactuca sativa* L // *Mathematical and Computational Applications*. – 2024. – Т. 29, № 5. DOI: 10.3390/mca29050093; Shurygin B., Chivkunova O., Solovchenko O., Solovchenko A., Dorokhov A., Smirnov I., Astashev M. E., Khort D. Comparison of the Non-Invasive Monitoring of Fresh-Cut Lettuce Condition with Imaging Reflectance Hyperspectrometer and Imaging PAM-Fluorimeter // *Photonics*. – 2021. – Т. 8, № 10. – С. 425. DOI: 10.3390/photonics8100425.

влажности. В качестве объекта был выбран салат Латук (*Lactuca sativa*). Использовали растения высотой 20см и весом зеленой массы около 300 гр. При этом растение целиком попадало в конус измерения фотодиода. Длительность измерений была ограничено, преимущественно, изменением геометрии растения за счет его роста.

Интервал измерения в 10с допускает использовать в качестве оцениваемого параметра только базовый уровень флуоресценции, т.к. использование насыщающих вспышек с такой частотой приведет к избыточной засветке растения.

Результат измерения базового уровня флуоресценции в течении 2 суток представлен на Рисунок 65. На рисунке видно, что в начале "светового дня" происходит кратковременный подъем уровня флуоресценции более чем в два раза и затем уровень стабилизируется на относительно стабильном уровне, примерно на 20% выше "ночного" уровня. При выключении света в конце "светового дня" уровень быстро возвращается к "ночному" уровню. Вейвлет-преобразование данного сигнала (см. Рисунок 66) показывает наличие только откликов от процесса реакции на включение света в начале светового дня

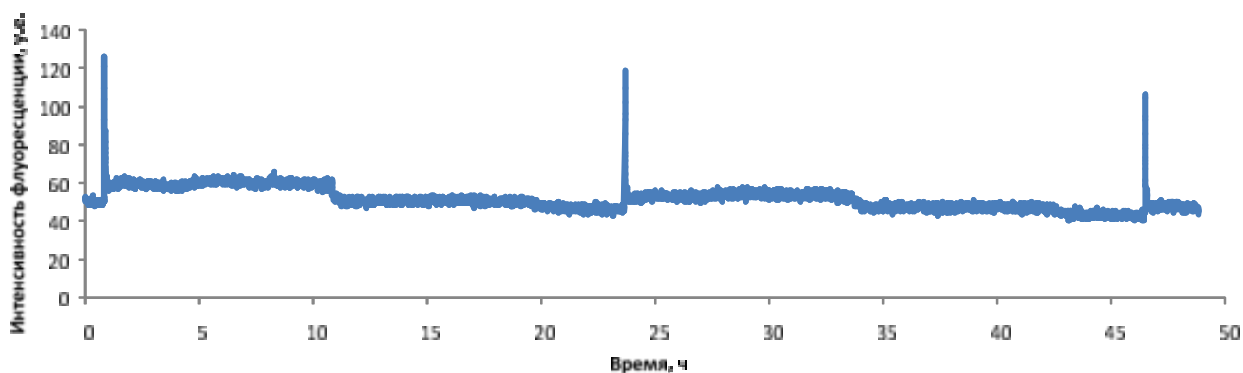


Рисунок 65. Фрагмент записи базового уровня флуоресценции длительностью около 2 суток при работе ростового света. Рисунок автора.

и низкочастотный процесс с частотой около $1,5 \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}$ (что соответствует периоду около 80000 с, что соответствует световому дню и вполне объяснимо. Таким образом, обычный спектральный анализ никакой

ритмической активности в данном сигнале не демонстрирует. При этом применение биспектрального анализа дает замечательный результат (см. Рисунок 67). Для контроля отсутствия артефактов измерительной системы мы измерили флуоресценцию белого листа бумаги, который дает широкополосный флуоресцентный сигнал за счет флуоресценции волокон целлюлозы и оксида титана. На биспектре этой записи (Рисунок 40А) по диагонали никаких заметных ненулевых значений нет. Анализ записи базовой флуоресценции растения с Рисунок 65 дает заметный ненулевой результат в области частот $3 \cdot 10^{-5}$ Гц, что обусловлено суточной периодичностью ($86400 \text{ с} = 1,15 \cdot 10^{-5} \text{ Гц}$) (Рисунок 67Б). При этом там же заметно пятно в области 10^{-4} Гц, природа которого не понятна. Для выяснения этого вопроса исходная запись была разделена на две: в первой были собраны исключительно ночные участки (Рисунок 67В) и исключительно дневные участки (Рисунок 67Г). Необходимо отметить, что редактирование записи путем вырезания отдельных участков корректно анализируется биспектральным анализом при соблюдении одного условия: длина оставшихся в записи сплошных отрезков должна быть вдвое больше

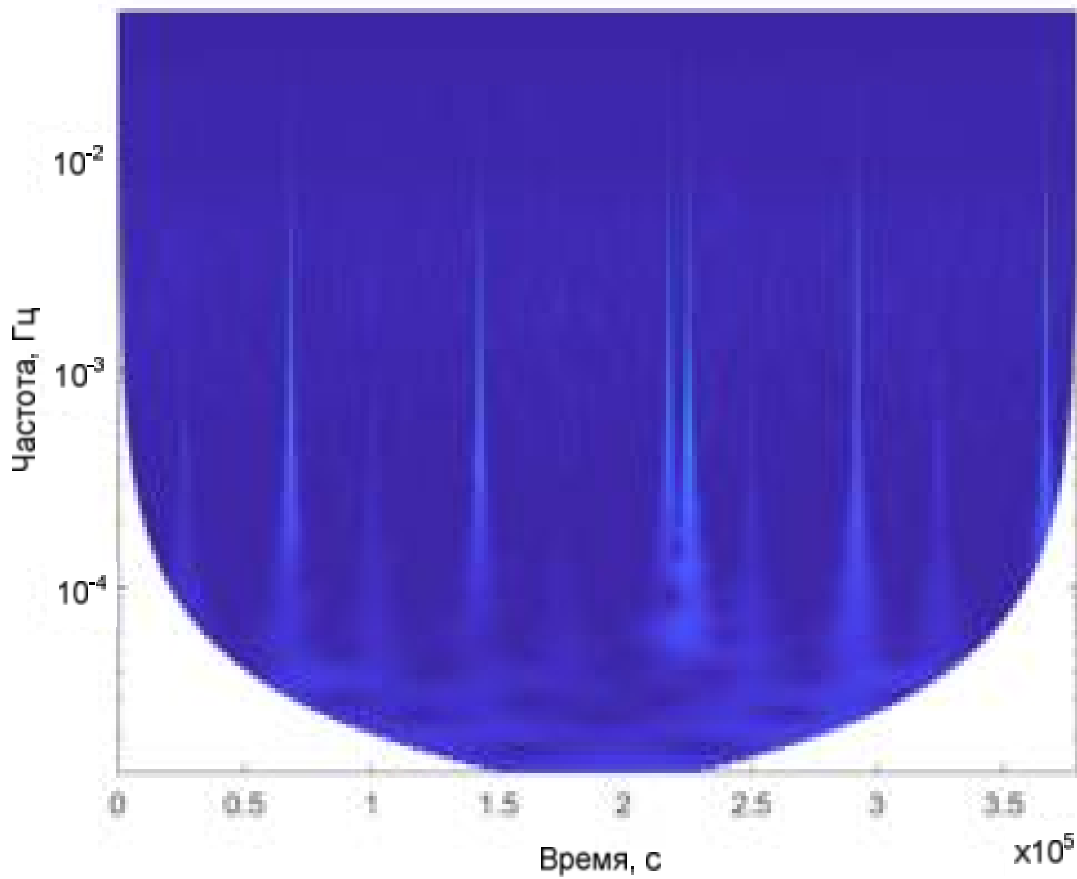


Рисунок 66. Вейвлет-преобразование базового уровня флуоресценции растения с помощью комплексного лог-нормального вейвлета. Рисунок автора.

максимального периода анализа. В случае разделения дневных и ночных участков длина участков получается порядка 12 ч, что соответствует периоду 43200 с или частоте $2 \cdot 10^{-5}$ Гц, предельная частота анализа будет $4 \cdot 10^{-5}$ Гц, что соответствует карте, изображенной на Рисунок 67В и Г. На биспектральной карте ночных участков (но не днем) хорошо видно пятно в области 10^{-4} Гц. Учитывая, что система регистрации в ночные периоды не отличается от дневной, плюс в дневное время добавляется еще внешнее освещение (как еще один возможный источник артефактов), наличие пятна в области 10^{-4} Гц явно вызвано изменениями флуоресценции в пигментах

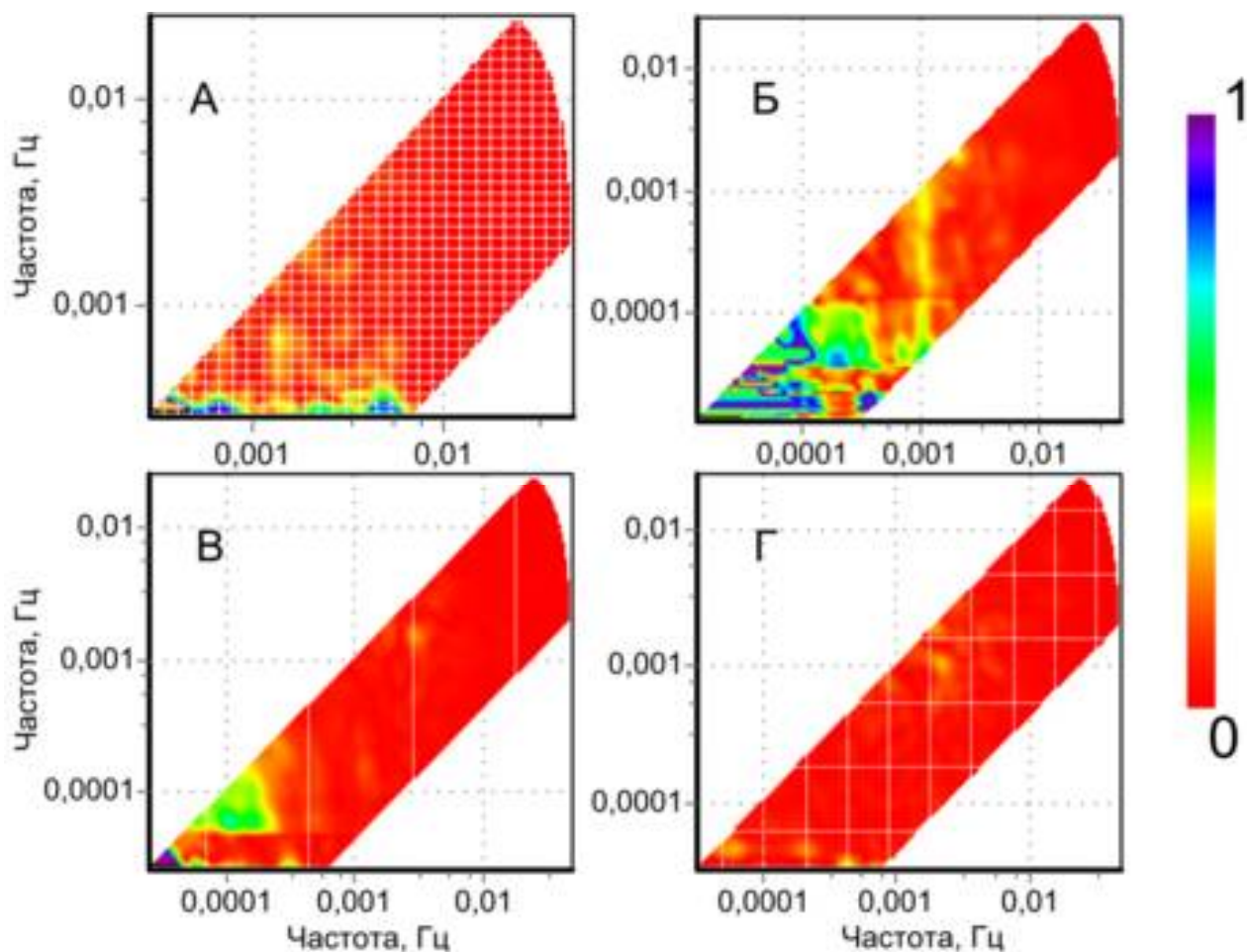


Рисунок 67. Результат биспектрального анализа записей флуоресценции листа белой бумаги и растения в одинаковых условиях. А - анализ записи флуоресценции с листа белой бумаги в качестве контроля. Б - анализ записи базового уровня флуоресценции растения, вейвлет -карта которого представлена на Рисунок 66. В - анализ участков записи, сделанных без ростового света. Г - анализ участков записи, сделанных при включенном ростовом свете. Для адекватного сравнения, все карты представлены в одном цветовом масштабе, в котором за единицу взято максимальное значение на карте Б. Рисунок автора.

растения в ночной период. Для корректного сравнения амплитуд можно построить график зависимости величины диагональных (это коэффициенты полученные при одинаковых частотах, т.е. $\rho(\omega_1, \omega_1)$) коэффициентов биспектрального анализа от частоты Рисунок 68.

Данный факт генерации у растений ритмов нуждается в дополнительной проверке, но несмотря на предварительный характер этих результатов, он показывает высочайшую чувствительность биспектрального анализа и

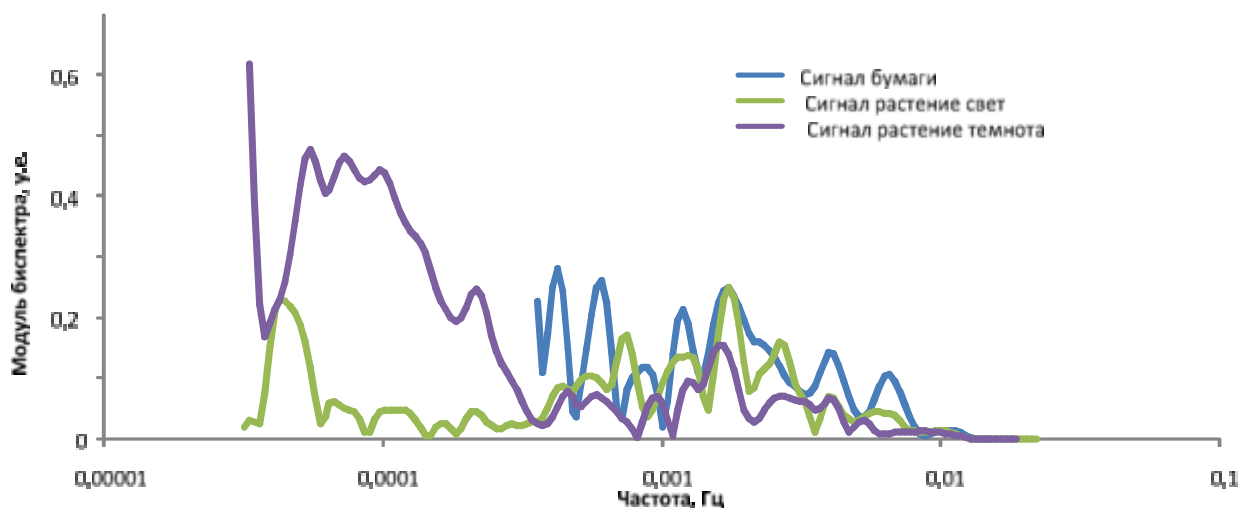


Рисунок 68. Зависимость диагональных элементов матрицы биспектрального анализа от частоты для записей флуоресценции листа белой бумаги и растения в условиях с ростовым освещением и без него. Рисунок автора.

нелинейный характер трансляции в физиологических системах растений периодических сигналов. Сам по себе этот факт открывает интересные возможности для применения биспектрального анализа как сенсора нелинейного механизма генерации второй гармоники в сложных физиологических системах.

Поскольку обнаруженный выше ритм (10000 секунд) оказался достаточно далек от периода включения насыщающего света (900 секунд в представленных выше экспериментах), мы проверили гипотезу о том, что возможен резонансный режим возбуждения обнаруженного выше ритма, а также, возможность его модуляции при стрессовых условиях. Для этого была проведена серия экспериментов с салатом в следующем варианте дизайна эксперимента: растения устанавливали в экспериментальную камеру без доступа внешнего освещения, ростовой свет не включали, период включения

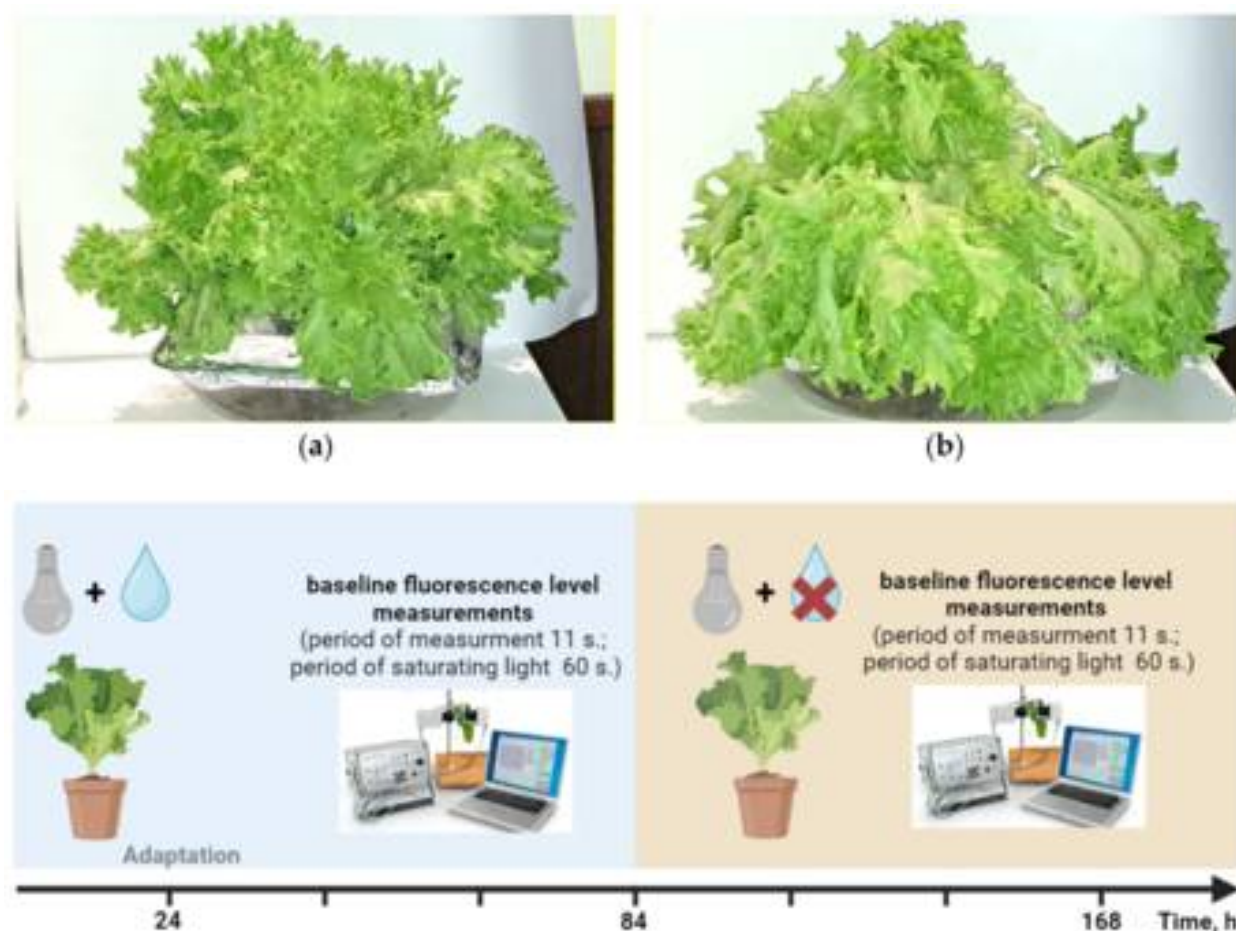


Рисунок 69. Фотографии растительных образцов в нормальном (а) и подсушенном (b) состоянии в горшке. Внизу схема дизайна эксперимента. Рисунок из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Burmistrov D. E., Yanykin D. V., Grishin A. A., Knyazeva I. V., Dorokhov A. S., Gudkov S. V. Application of Bispectral Analysis to Assess the Effect of Drought on the Photosynthetic Activity of Lettuce Plants *Lactuca sativa* L // Mathematical and Computational Applications. – 2024. – Т. 29, № 5. DOI: 10.3390/mca29050093.

Восьмичасовой фрагмент исходной записи флуоресценции

насыщающего света был установлен в 1 час и включался круглосуточно, период измерения флуоресценции 10 секунд. Разработанный нами импульсный флуориметр оказался подходящим инструментом для регистрации длительных по времени сигналов, соответствующих базовому уровню флуоресценции пигментов фотосистемы растения. Эксперименты проводили в затемненном помещении. В качестве образцов использовали растения салата латук (*Lactuca sativa*) в горшке. Размер растения составлял

25 см в высоту. Прибор размещали сбоку от растения, на расстоянии 12 см от ближайшего листа (см. Рисунок 69). Эксперимент с одним образцом проводили в течении 6 дней в 2 этапа. В первые 3 дня растению обеспечивали необходимый полив. При этом проводили регистрацию базового уровня флуоресценции с периодом измерения 11 секунд. В последующие 3 дня растение не обеспечивали поливом и также проводили регистрацию базового уровня флуоресценции с периодом измерения 11 секунд. В результате от каждого растения получали 2 записи длиной около 23 тысяч измерений (Рисунок 70).

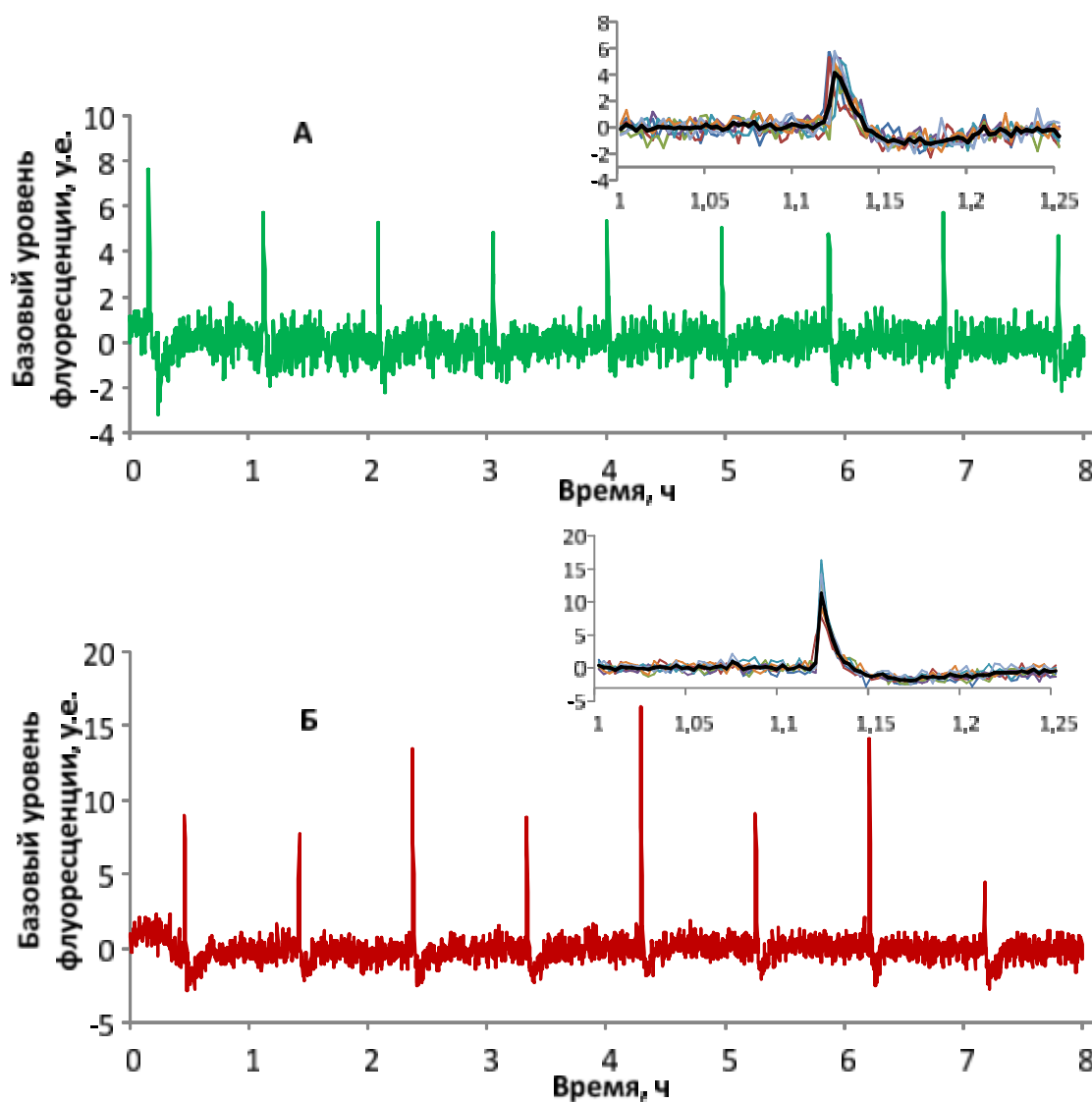


Рисунок 70. Примеры записей базового уровня флуоресценции в круглосуточном режиме без ростового освещения. А - запись флуоресценции растения с нормальным поливом. Б - запись растения в

условиях засухи. На врезках - выровненные по началу импульса насыщающего освещения 7 последовательных реакций на насыщающий импульс. Черная линия на врезках - усредненное значение. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Burmistrov D. E., Yanykin D. V., Grishin A. A., Knyazeva I. V., Dorokhov A. S., Gudkov S. V. Application of Bispectral Analysis to Assess the Effect of Drought on the Photosynthetic Activity of Lettuce Plants *Lactuca sativa* L // *Mathematical and Computational Applications*. – 2024. – Т. 29, № 5. DOI: 10.3390/mca29050093.

Восьмичасовой фрагмент исходной записи флуоресценции, зарегистрированной от растения в нормальных условиях, представлен на рисунке (см. Рисунок 70). На записи момент реакции на насыщающую вспышку пропущен, и регистрируется только самый конец реакции, но интересно, что после восстановления уровня флуоресценции до базового уровня наблюдается процесс тушения, т.е. уровень снижается ниже базового уровня на время порядка 180 секунд в нормальных условиях.

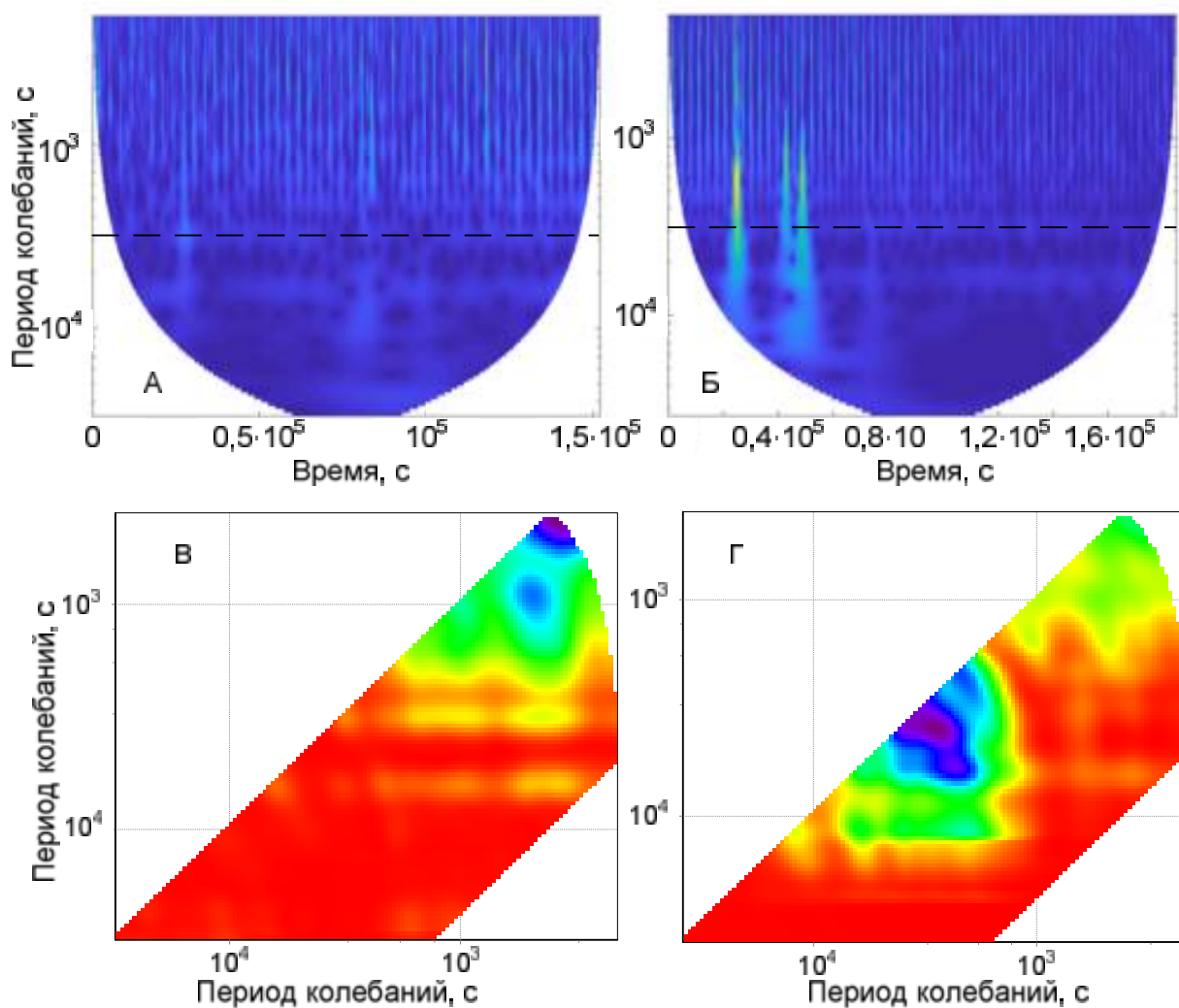


Рисунок 71. Вейвлет-коэффициенты записей базового уровня флуоресценции в круглосуточном режиме без ростового освещения. А - запись флуоресценции растения с нормальным поливом. Б - запись растения в условиях засухи. Штриховая линия - период колебаний, соответствующий 1 часу. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Burmistrov D. E., Yanykin D. V., Grishin A. A., Knyazeva I. V., Dorokhov A. S., Gudkov S. V. Application of Bispectral Analysis to Assess the Effect of Drought on the Photosynthetic Activity of Lettuce Plants *Lactuca sativa* L // *Mathematical and Computational Applications*. – 2024. – Т. 29, № 5. DOI: 10.3390/mca29050093.

При сравнении исходных записей, полученных от одного и того же растения в нормальных условиях (см. Рисунок 83 А) и в условиях засухи (см. Рисунок 83 Б) каких то принципиальных отличий на данных записях не видно, за исключением большей амплитуды переходных сигналов на рисунке Б и

более медленного выхода (около 300 секунд) на исходный уровень при засухе (Б). Эффект защитного тушения флуоресценции (Lavaud et al., 2002), очевидно модифицируется. На графиках вейвлет - коэффициентов (Рисунок 71А и Б) хорошо видны линии, соответствующие периоду 1 час, а также удвоенному и половинному периоду. Заметных отличий нет. Однако на графиках биспектров есть существенная разница. В случае анализа данных здорового растения (Рисунок 71В) биспектральный анализ выделяет только высокочастотную область в районе 1000 с периода колебаний. Однако, на графике биспектра для растения в стрессовых условиях засухи появляется пятно, соответствующее периоду 3600 с, т.е. одному часу, т.е. проявляется ритм насыщающих вспышек. Нами были получены записи от нескольких растений (3 здоровых растения и 6 растений в стрессовых условиях), для анализа были выделены коэффициенты биспектра для совпадающих частот.

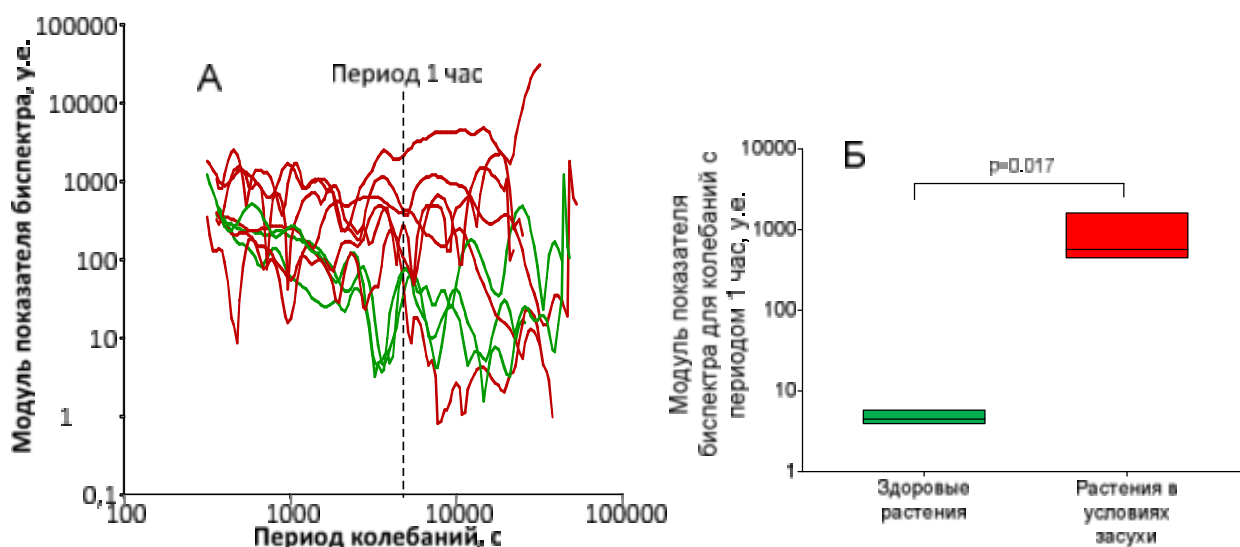


Рисунок 72. График зависимости коэффициентов биспектра от частоты (А) и сравнение коэффициентов биспектра для периода 3600 с у здоровых растений и растений в состоянии стресса (Б). Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Burmistrov D. E., Yanykin D. V., Grishin A. A., Knyazeva I. V., Dorokhov A. S., Gudkov S. V. Application of Bispectral Analysis to Assess the Effect of Drought on the Photosynthetic Activity of Lettuce Plants *Lactuca sativa* L // Mathematical and Computational Applications. – 2024. – Т. 29, № 5. DOI: 10.3390/mca29050093.

На графике зависимости этих коэффициентов от частоты (Рисунок 72 А) хорошо видно, что для периода 3600 секунд (1 час) для здоровых растений (сплошные линии) наблюдается провал, а для растений в стрессовых условиях (пунктирные линии) наблюдаются повышенные значения, проверка гипотезы о различии этих значений (Рисунок 72 Б) дает достоверное отличие с вероятностью ошибки $p=0,017$. Это позволяет утверждать, что биспектральный анализ позволяет выявить состояние стресса у растений, и что в состоянии стресса растение модифицирует флуоресцентный сигнал пигментов, что формирует вторую гармонику реакции на насыщающую вспышку. Данный результат позволяет использовать непрерывную регистрацию флуоресценции для выявления патологических или стрессовых состояний растений непосредственно в открытом или закрытом грунте.

3.5.2 Электроимпедансная спектроскопия при анализе состояния стеблей: теория и эксперимент¹⁷

Сосудистая система растений выполняет в основном две функции — доставляет ресурсы к органам растений и служит системой дальней связи (Lucas et al., 2013; Notaguchi & Okamoto, 2015). Особенности сосудистой системы растений также можно изучать с помощью электроимпедансной спектроскопии. Для решения этих задач транспортную систему можно представить в виде комбинации сопротивлений и конденсаторов. Флоэма и ксилема, обладающие относительной проводимостью, разделены слоем камбия с низкой проводимостью. Кроме того, измерения электрического

¹⁷ По материалам статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // *Sensors*. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310; Kuzin A., Solovchenko A., Khort D., Filippov R., Lukanin V., Lukina N., **Astashev M.**, Konchekov E. Effects of Plasma-Activated Water on Leaf and Fruit Biochemical Composition and Scion Growth in Apple // *Plants*. – 2023. – Т. 12, № 2. DOI: 10.3390/plants12020385; Shumeyko S.A., Yanykin D.V., Paskhin M.O., Lukanin V.I., Zakharov D.A., Astashev M.E., Pishchalnikov R.Y., Sarimov R.M., Ashurov M.K., Ashurov E.M. The Effect of Liquids Activated by Plasma Generated with a Microwave Plasmatron and High-Frequency Glow Discharge on Cotton Plant Development. // *Plants*. – 2025. – Т. 14, № 3. – С. 304. DOI: 10.3390/plants14030304.

импеданса можно проводить неинвазивно на относительно молодых побегах, поэтому факторы стресса можно обнаружить даже на ранних стадиях развития растений. Как правило, применение электроимпедансной спектроскопии связано с необходимостью организации специальных лабораторных условий для проведения измерений.

Измерение импеданса образцов ветвей деревьев диаметром 6–30 мм и длиной 100–500 мм осуществлялось путем подключения прибора к коре исследуемой ветки через электролитические перемычки, которые представляли собой прямоугольные кусочки ватных дисков размером 10×30 мм и толщиной 2 мм, смоченные 5% раствором бикарбоната натрия в дистиллированной воде. Качество контактов оценивали по стабильности показаний проводимости, каждый образец измеряли не менее 5 раз. В качестве стресс-воздействия использовали высушивание растений, контроль восстановления сосудистой системы при прививке и обработку растений плазма-активированной водой.

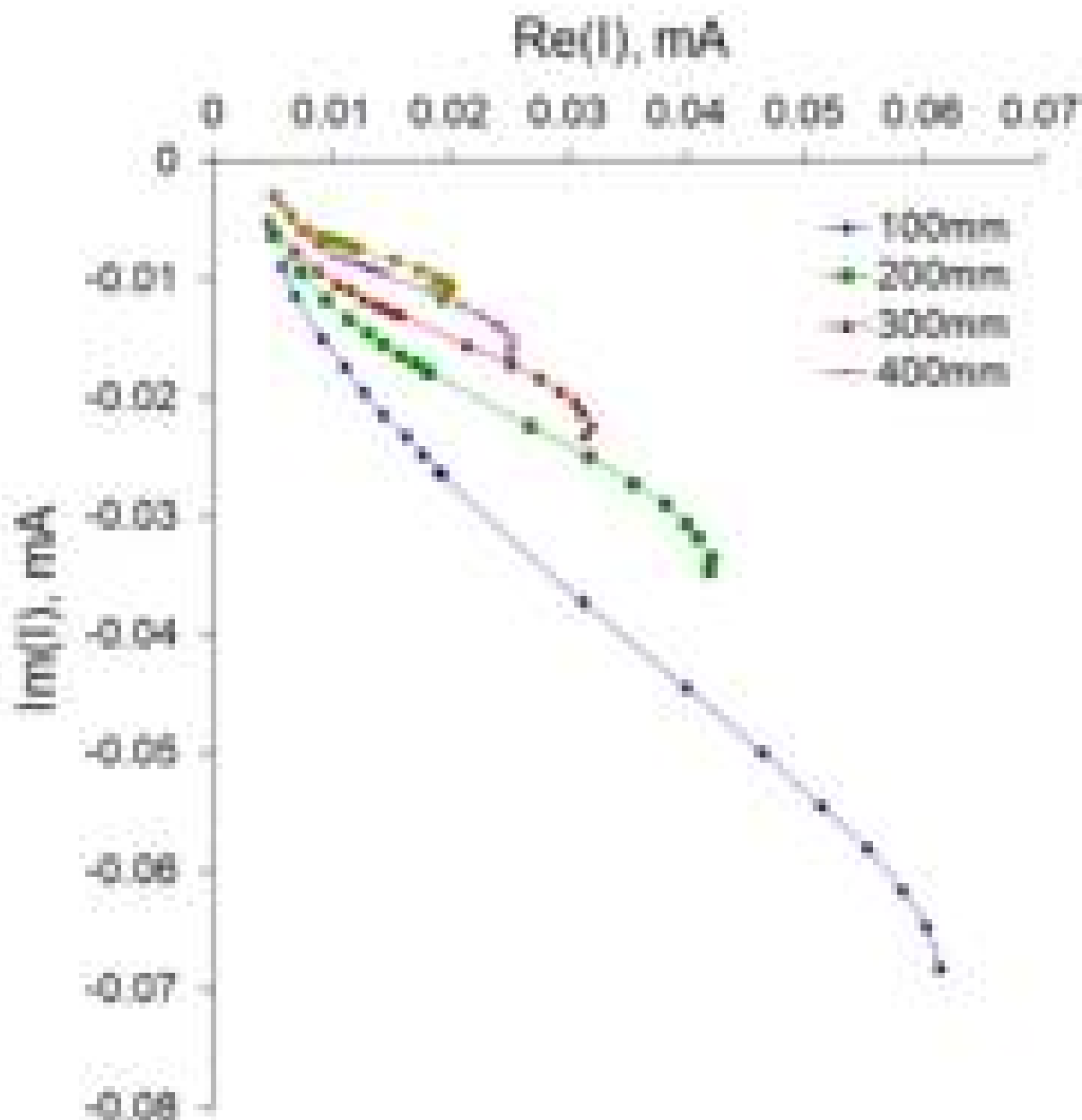


Рисунок 73. Диаграмма Найквиста для образцов (ветка яблони) разной длины. Все образцы имели диаметр 23 мм. Количество образцов в каждой экспериментальной группе — 5, количество повторений измерений — 5. Данные представлены в виде средних значений. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.

Электроимпедансная спектроскопия является альтернативой традиционным методам анализа состояния растений благодаря своей высокой чувствительности и быстрому реагированию (Masot et al., 2010).

Электроимпедансная спектроскопия позволяет анализировать свойства тканей растения путем подачи переменных электрических сигналов (напряжения или тока) различной частоты и измерения соответствующих выходных электрических сигналов (тока или напряжения). Отношение сигнала напряжения к сигналу тока называется импедансом и зависит от частоты. Импеданс можно записать в прямоугольных координатах (65) или в полярных координатах (66).

$$Z = R + jX, \quad (65)$$

$$Z = |Z|e^{j\varphi} \begin{cases} |Z| = \frac{|v(t)|}{|i(t)|}, \\ \varphi = 2\pi f \Delta t; \end{cases} \quad (66)$$

где R — активное сопротивление, X — реактивное сопротивление, $|Z|$ — модуль импеданса, φ — фаза, $|v(t)|$ — модуль переменного напряжения, а $|i(t)|$ — это модуль переменного тока. Модуль рассчитывался как отношение сигнала напряжения к сигналу тока, а фаза определялась по сдвигу между этими сигналами.

В нашем методе используются два электрода для подачи переменного напряжения известной амплитуды к интересующей области, измерения действительной и мнимой составляющих тока в цепи и расчета электрического импеданса. В этой биполярной системе поляризация электродов может привести к систематической ошибке измерения напряжения между двумя электродами. Это связано с процессами электролиза и электрохимической модификации материала электродов. В результате на границе между двумя контактами электрод-образец возникают паразитные емкостные сопротивления, что приводит к паразитному падению напряжения. Одним из способов устранения этого является проведение нескольких измерений путем изменения частоты тока сигнала. Мы получили графики Найквиста в зависимости от длины, измерив образец ветки длиной 100, 200, 300, 400 и 500 мм (Рисунок 73). На рисунке видно, что

графики (с некоторыми особенностями) соответствовали низкочастотной части стандартного графика для RC-фильтра верхних частот. Сдвиг графика по оси действительных чисел на частоте 2 кГц позволяет оценить сопротивление утечки на поверхность коры, а основную емкостную составляющую оценить с помощью аппроксимации модуля импеданса, которую мы выполнили далее.

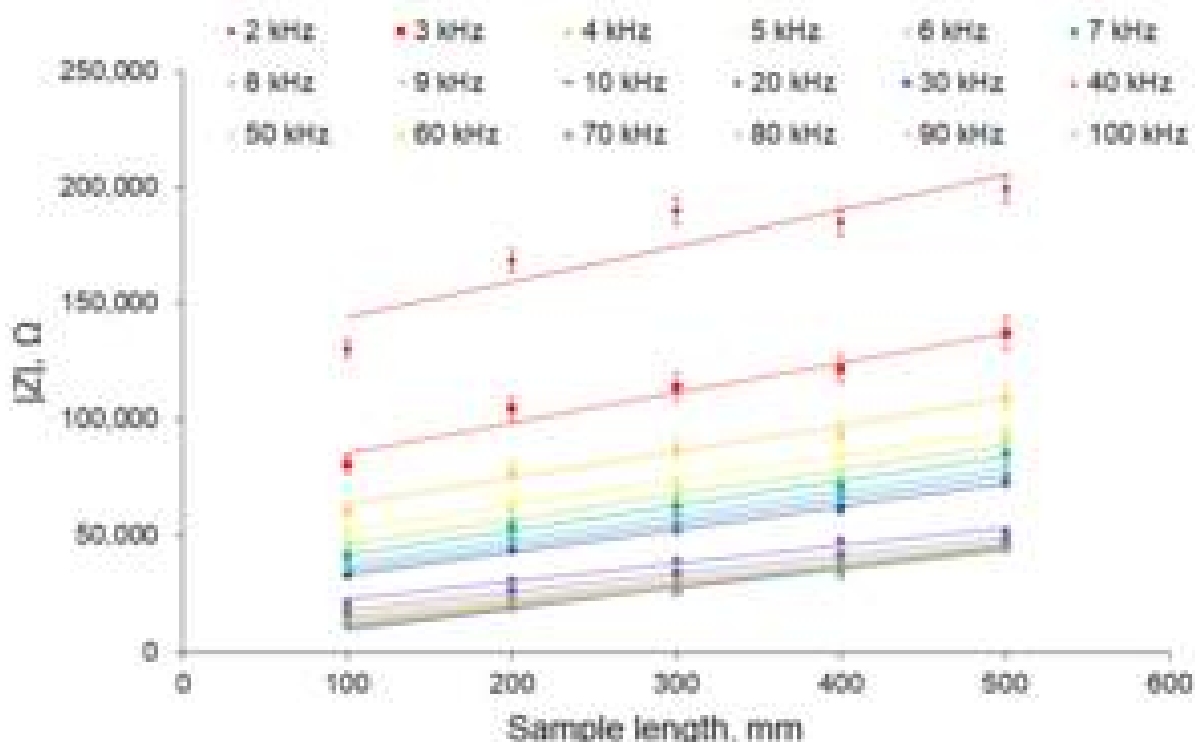


Рисунок 74. Зависимость модуля импеданса образцов яблок от длины образца для разных частот. Количество образцов – 5, количество повторений измерений – 5. Данные представлены в виде средних значений и стандартных ошибок. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // *Sensors*. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.

На Рисунок 74 видна линейная зависимость модуля импеданса от длины, а наклон графиков в целом сохранился для всех исследованных частот; однако был хорошо виден сдвиг, который для частоты 2 кГц составлял около 120 кОм и стремился к нулю с увеличением частоты. Если выполнить линейную регрессию (Рисунок 75) для каждой частоты, то можно

получить значение наклона (наклона) и смещения при нулевой длине (смещения) (Таблица 13).

Таблица 13. Наклон и смещение линейной функции получены путем аппроксимации зависимости модуля импеданса от длины образца и емкости, образуемой точками соединения электродов и непроводящими слоями образца. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.

Частота, кГц	Наклон, Ом/мм	Смещение, Ом	Ёмкость конденсатора, Ф
2	153	128499	$6,19 \cdot 10^{-10}$
3	129	72777	$7,29 \cdot 10^{-10}$
4	114	52060	$7,646 \cdot 10^{-10}$
5	105	42445	$7,50 \cdot 10^{-10}$
6	107	35896	$7,39 \cdot 10^{-10}$
7	106	31166	$7,30 \cdot 10^{-10}$
8	103	27541	$7,22 \cdot 10^{-10}$
9	101	25014	$7,07 \cdot 10^{-10}$
10	99	22916	$6,95 \cdot 10^{-10}$
20	78	14902	$5,34 \cdot 10^{-10}$
30	77	10410	$5,10 \cdot 10^{-10}$
40	77	7790,6	$5,11 \cdot 10^{-10}$
50	77	6106,3	$5,21 \cdot 10^{-10}$
60	79	4697,1	$5,65 \cdot 10^{-10}$
70	80	3681,2	$6,18 \cdot 10^{-10}$
80	81	2879,9	$6,91 \cdot 10^{-10}$

Наклон регрессии -0,9213 очень близок к -1, что говорит о том, что мы имеем дело с гиперболической зависимостью, а это означает, что частотная зависимость импеданса в основном определяется конденсатором емкостью около 0,65 мкФ, включенным последовательно с исследуемый образец. Этот конденсатор формируется из контактных площадок электродов и изолирующего слоя под корой растения. Зная размер электрода (3 см²) и полагая диэлектрическую проницаемость древесины около 3,5 (Torgovnikov & Torgovnikov, 1993) и принимая во внимание, что в схеме 2 электрода, т.е. двойной слой, то толщину d этого слоя можно оценить по формуле (67): $d=9$ мкм.

$$C = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon S}{2d}. \quad (67)$$

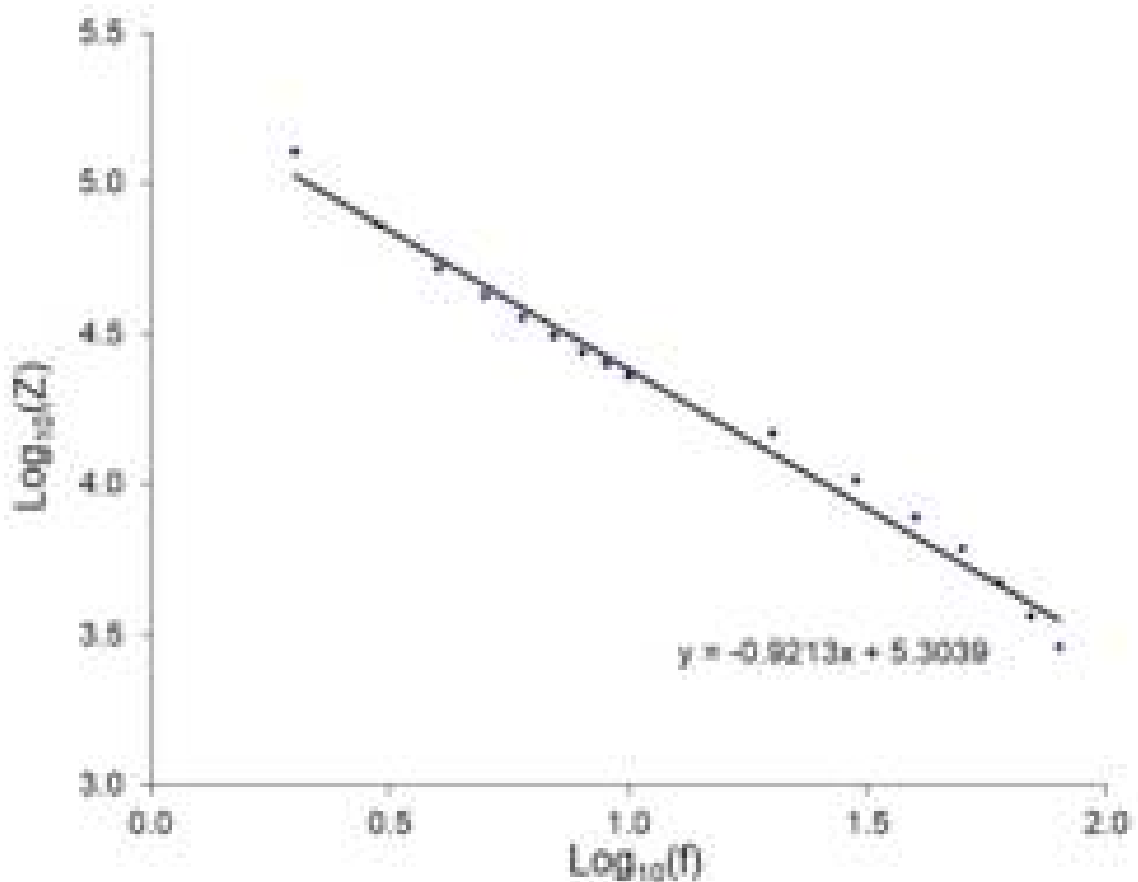


Рисунок 75. Зависимость логарифма смещения импеданса на «нулевой длине» образца от логарифма частоты с помощью линейной регрессии. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.

Эту емкость можно компенсировать вычитанием импеданса вида:

$$Z = \frac{1}{j2\pi fC} \text{ ,} \quad (68)$$

Результат показан на рисунке (Рисунок 76), на котором видно, что начальное смещение практически компенсировано, а получившиеся графики гораздо лучше согласуются с законом Ома.

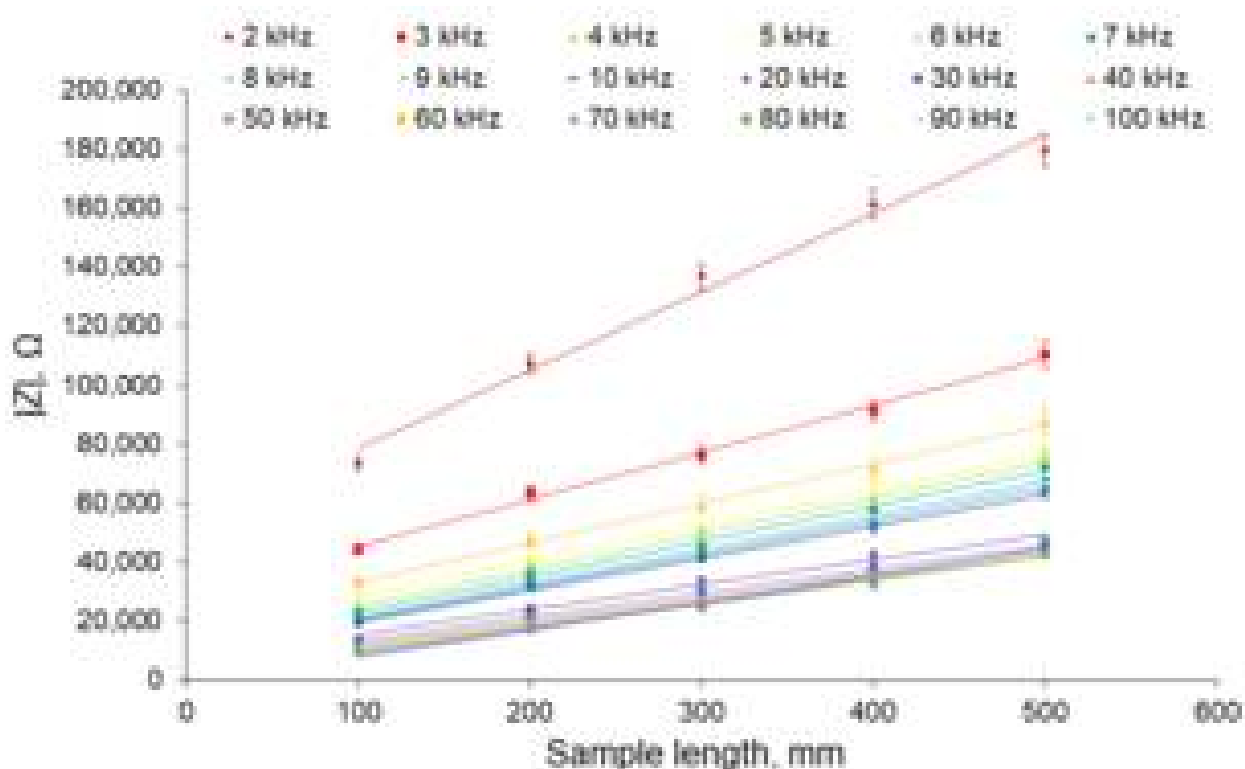


Рисунок 76. Зависимость модуля импеданса от длины образца для разных частот после компенсации емкостного перехода электродов. Образцы - ветви яблони диаметром 23 мм. Количество образцов – 5, количество повторений измерений – 5. Данные представлены в виде средних значений и стандартных ошибок. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.

Для определения температурной зависимости импеданса ветвей растения были проведены измерения при температурах 4, 23 и 36 градусов Цельсия. Таким образом, были смоделированы изменения внешних условий. Усредненные данные трех независимых измерений трех ветвей длиной 300 мм и диаметром от 12 до 16 мм представлены на рисунке (Рисунок 77). Видно, что проводимость увеличивается с ростом температуры.

Рисунок 77 показывает, что проводимость имеет температурную зависимость. Линейная регрессия по температуре позволяет оценить скорость изменения проводимости с температурой по формуле (1997):

$$\sigma(T) = \sigma_{300}(1 + \alpha(T - 300K)), \quad (69)$$

где $\sigma(T)$ — проводимость при температуре T , σ_{300} — проводимость при 300 К, α — коэффициент температурной зависимости. При определении наклона линейной регрессии в диапазоне высоких частот 20–90 кГц (для устранения влияния емкостных составляющих) $\alpha=0,014\text{--}0,017\text{ К}^{-1}$, что совпадает с нормальным значением для малых ионов (водорода, гидроксила) (1997). Компенсация такой резкой температурной зависимости потребовала установки в прибор датчика температуры для уличных условий. В результате мы в устройстве установили цифровой датчик DS18B20.

Зависимость модуля импеданса от частоты для различной длины образца (Рисунок 78) показывает, что на низких частотах импеданс близок к импедансу флюиды, а с увеличением частоты ток через конденсатор C_c увеличивается, а на высоких частотах мы видим сопротивление двух параллельных резисторов R_p и R_x .

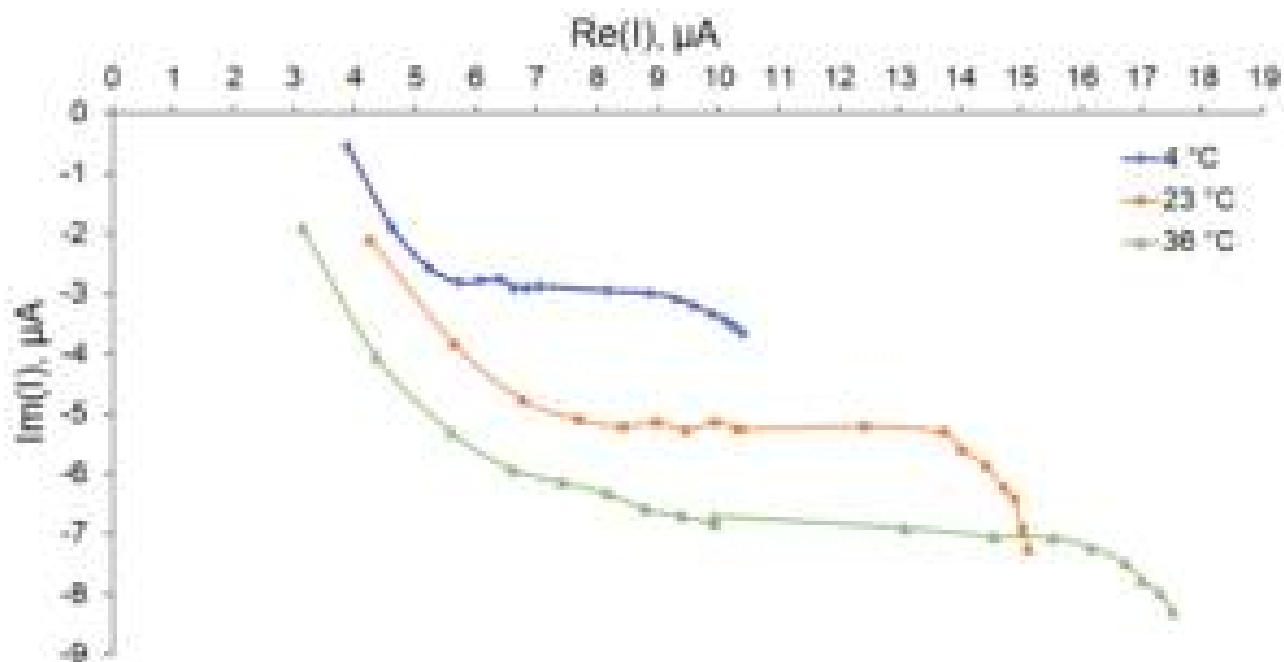


Рисунок 77. График Найквиста для температурной зависимости импеданса ветвей яблони. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.

Для определения проводимости ксилемы и флоэмы яблони строили зависимость импеданса от частоты сигнала, компенсируя емкость контактных площадок электродов и изолирующего слоя под корой растения. На рисунке (Рисунок 78) видно, что на частоте 2 кГц импеданс велик и далее асимптотически уменьшается с ростом частоты. Мы полагаем, что на низких частотах импеданс близок к импедансу флоэмы, а с увеличением частоты ток через изолирующий слой камбия увеличивается и на высоких частотах мы видим импеданс двух параллельных проводящих слоев: флоэмы и ксилемы.

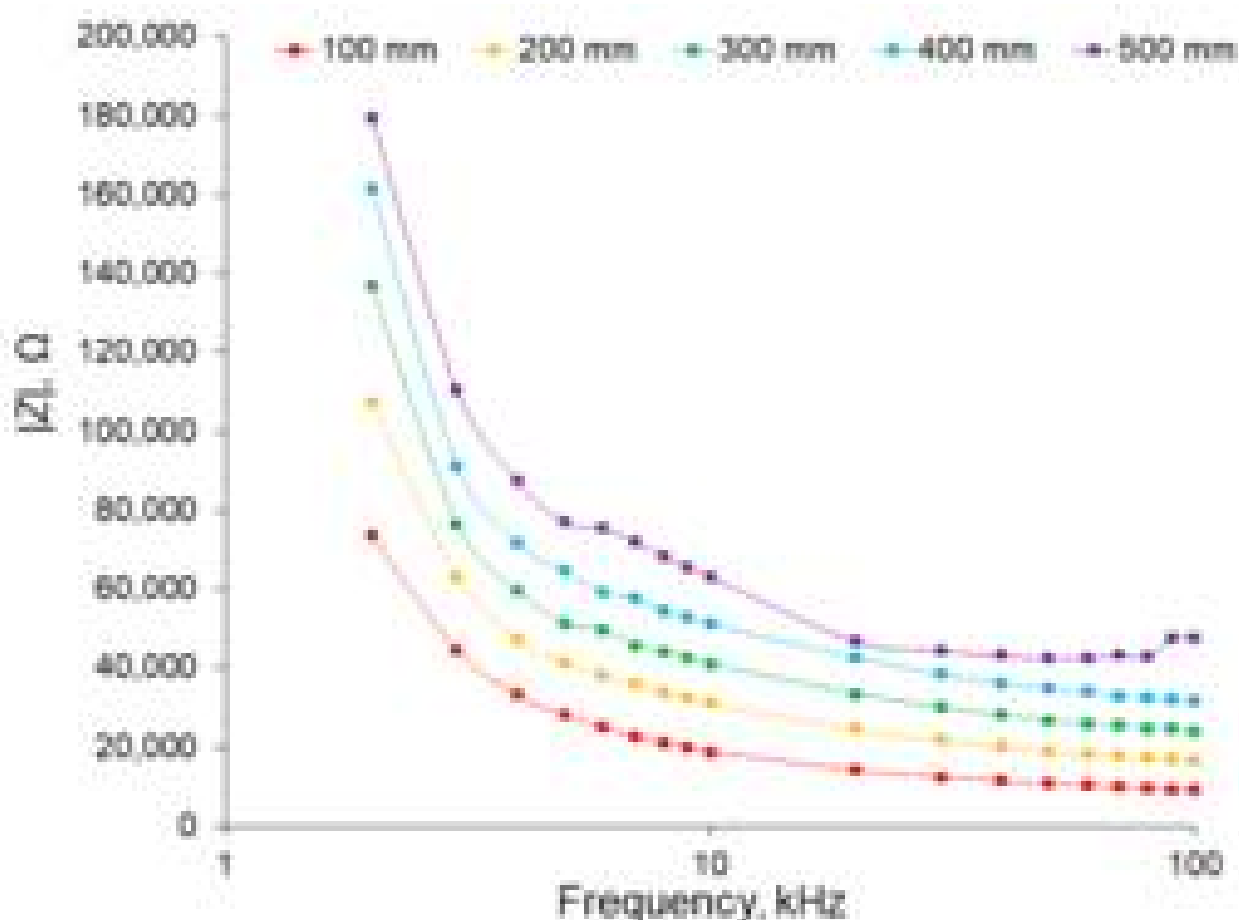


Рисунок 78. Зависимость модуля импеданса от частоты для образцов различной длины после компенсации емкостного перехода электродов. Яблоня диаметром 23 мм. Количество образцов в каждой экспериментальной группе — 5, количество повторений измерений — 5. Данные представлены в виде средних значений. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // *Sensors*. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.

Линейное сопротивление на частоте 2 кГц составляет 266 Ом/мм, а на частоте 100 кГц около 82 Ом/мм. Соответственно, удельное сопротивление флоэмы можно принять равным 266 Ом/мм, а удельное сопротивление ксилемы – 119 Ом/мм.

Для оценки удельного сопротивления измерялись ветви различного диаметра. Мы обнаружили, что линейная зависимость импеданса от обратного диаметра наблюдается только для частоты 3 кГц, что указывает на проводимость в слое постоянной толщины, площадь которого линейно

увеличивается с диаметром, что соответствует предварительному преобладающая проводимость во флоэме. Если вычесть проводимость флоэмы из общей наблюдаемой проводимости, можно построить зависимость импеданса камбий-ксилемной цепи от обратного диаметра (рис. 10).

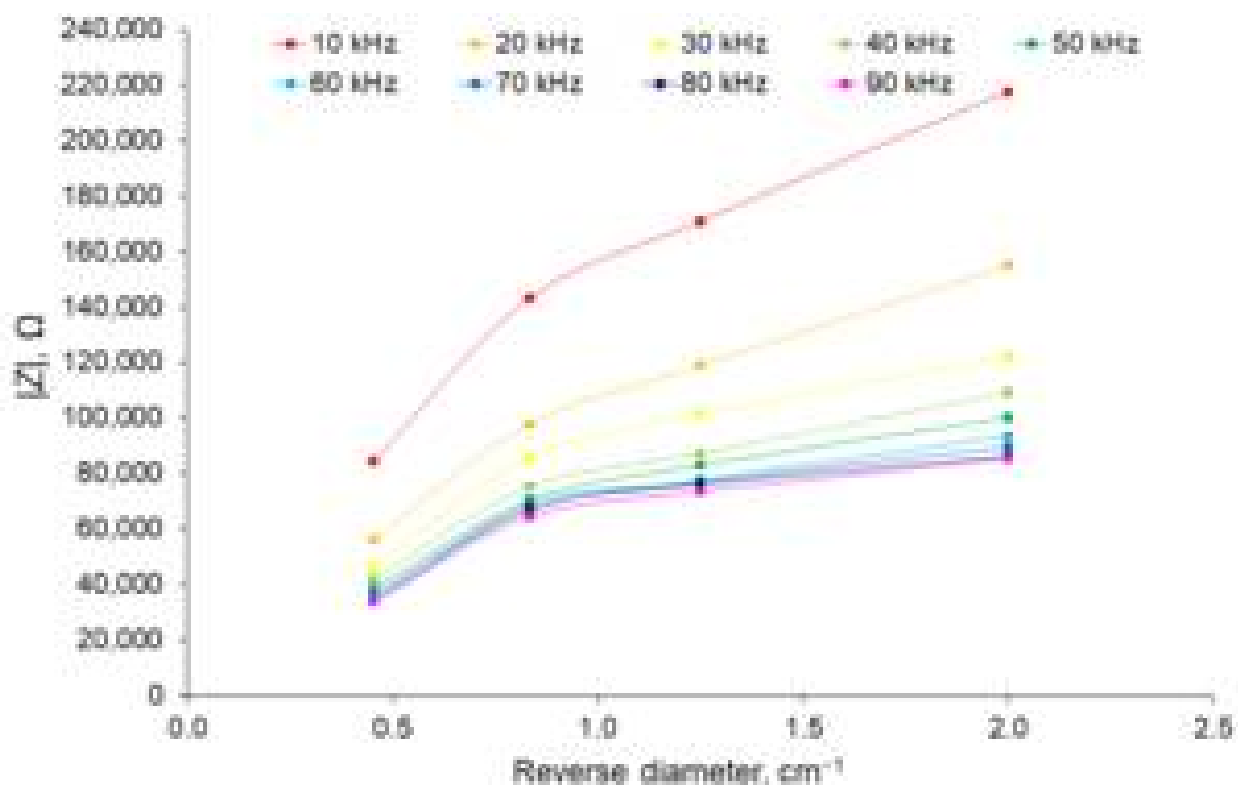


Рисунок 79. Зависимость модуля импеданса камбий-ксилемной цепи от обратного диаметра образца для высокочастотной области. Количество образцов в каждой экспериментальной группе — 5, количество повторений измерений — 5. Данные представлены в виде средних значений. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: *Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.*

Для камбий-ксилемной цепи в высокочастотной области наблюдается бимодальная зависимость с изломом характеристики в районе 1,2 см⁻¹. По-видимому, это происходит в результате того, что ветви малого диаметра, соответствующие диапазону обратного диаметра 1,2–2,0 см⁻¹ (диаметр 0,5–0,8 см), не одревесневают и обладают проводимостью по всей внутренней

части стебля. до глубины души. В диапазоне обратных диаметров 0,48–1,20 см–1 (диаметр 0,8–2,2 см) проводимость ксилемы обеспечивается слоем постоянной толщины.

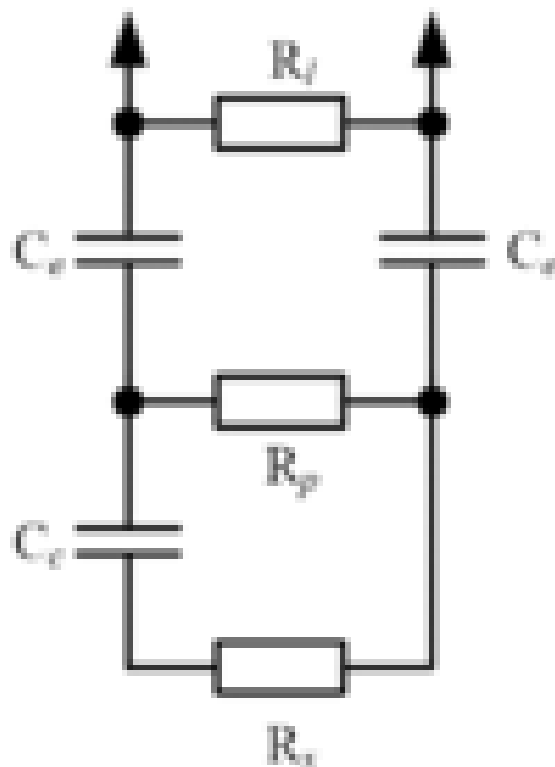


Рисунок 80. Электрическая модель участка ветки дерева, подключенного к измерителю импеданса. R_l — сопротивление утечки, формирующее ток утечки по поверхности коры, R_p — сопротивление флоэмы, R_x — сопротивление ксилемы, C_e — конденсаторы, образованные точками соединения электродов и непроводящими слоями склеренхимы, перидермы и эпидермиса. C_c — конденсатор, образованный непроводящим слоем камбия, стрелки — точки крепления к измерительной аппаратуре. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.

Использование электроимпедансной спектроскопии в диапазоне частот от 100 Гц до 100 кГц позволяет работать в диапазоне, соответствующем концу α -дисперсии и широкому спектру β -дисперсии, и, следовательно, эффективно выявлять биоимпедансные различия в образцах. На низких частотах ток

протекает через внеклеточную жидкость, поскольку компоненты слоев клеточных мембран и органелл (белки, макромолекулы и другие компоненты) успевают поляризоваться и тем самым препятствуют прохождению через них электрического тока, действуя как емкостные компоненты. В более высокочастотном диапазоне емкость снижается, что снижает электрическое сопротивление ткани (Magar et al., 2021; Zhao et al., 2017).

По результатам и строению стебля растения модель среза ветки дерева при измерении импеданса можно представить в виде электрической схемы (Рисунок 80). Здесь R_l – сопротивление утечки, образует сдвиговое сопротивление вдоль вещественной оси на низких частотах (2 кГц), R_p – сопротивление флоэмы, R_x – сопротивление ксилемы, C_e – конденсаторы, образованные точками соединения электродов и не-проводящие слои склеренхимы, перидермы и эпидермиса. C_c представляет собой конденсатор, образованный непроводящим слоем камбия между ксилемой и флоэмой.

В простейшем случае сопротивление участка проводника определяется по формуле:

$$R = \rho l / S, \quad (70)$$

где ρ – удельное сопротивление материала, l – длина исследуемого участка, S – площадь поперечного сечения. Таким образом, формула устойчивости флоэмы имеет вид:

$$R = \rho_p l / (2\pi D h), \quad (71)$$

где ρ_p – удельное сопротивление флоэмы, l – длина узла между электродами, D – диаметр узла, h – толщина флоэмы. Мы предполагаем, что для ксилемы формула устойчивости такова:

$$R = 2\rho_x l / (\pi D^2), \quad (72)$$

где ρ_x – удельное сопротивление ксилемы, l – длина узла между электродами, D – диаметр узла. Мы полагаем, что R_l , C_c и C_e не зависят от геометрии узла. Целевую функцию для минимизации процедуры мы предполагаем как:

$$F = \sum_{l,f} \left(\left(\operatorname{Re}(Z_M(l, f)) - \operatorname{Re}(Z_E(l, f)) \right)^2 + \left(\operatorname{Im}(Z_M(l, f)) - \operatorname{Im}(Z_E(l, f)) \right)^2 \right) \quad (73)$$

где $Z_M(l, f)$ — расчетный импеданс модели, $Z_E(l, f)$ — экспериментальные данные. Поиск цели осуществлялся с помощью внутренней одноименной функции `MSExcels` итеративно для всех параметров (кроме d). Параметры найденного решения приведены в таблице 3, а расчетное сопротивление в зависимости от длины - на рисунке (Рисунок 81). Сравнивая Рисунок 73 и Рисунок 81, видно, что основными особенностями поведения импеданса при изменении частоты и длины ветви являются воспроизведенный. Это указывает на корректность предложенной нами модели. Кроме того, порядок величины тот же, что и емкость электродов, оцененная путем подбора модели и оценки той, которую мы сделали ранее путем аппроксимации модуля импеданса.

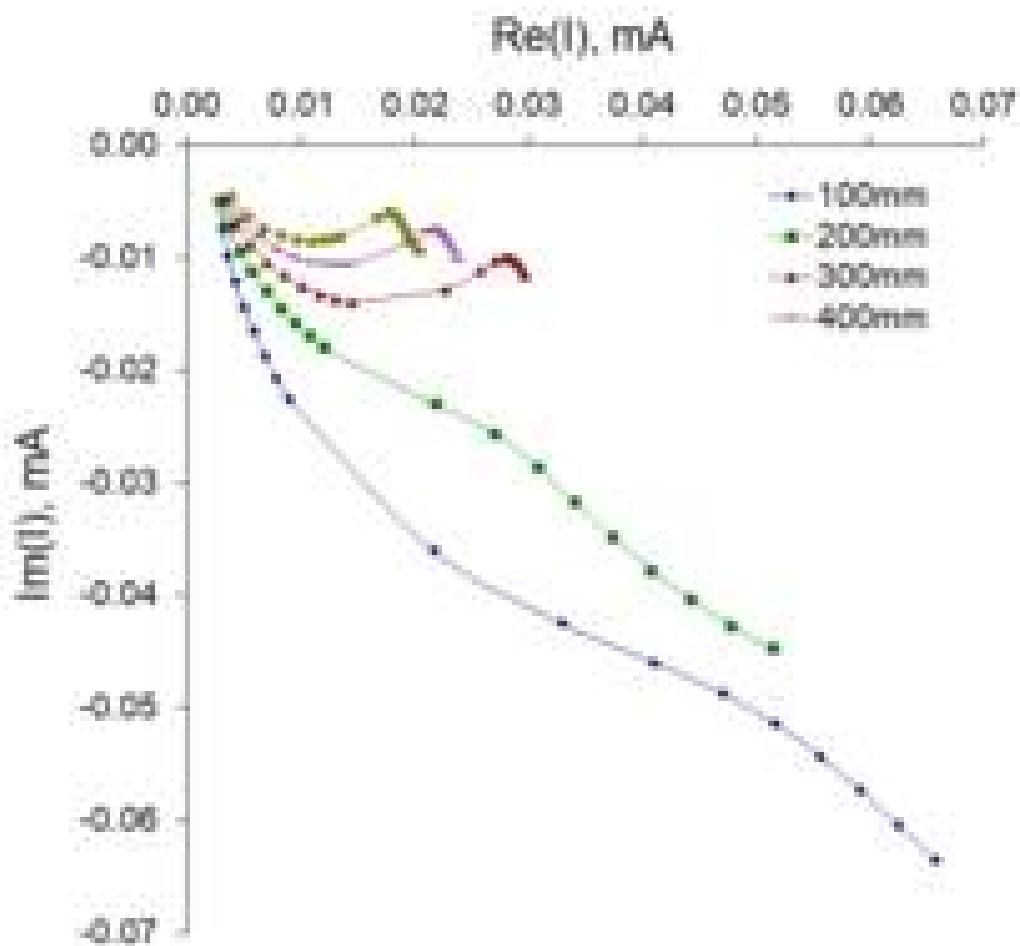


Рисунок 81. График Найквиста для модельных ветвей диаметром 23 мм различной длины. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.

Таблица 14. Параметры модели. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.

Параметр, размерность	Значение
R_l , Ом	40000
C_e , Ф	$3.97 \cdot 10^{-10}$
ρ_p , Ом м	29.7
P_f , Ом м	19.3
C_c , Ф	$7.17 \cdot 10^{-10}$
D , м	0.023
d , м	0.002

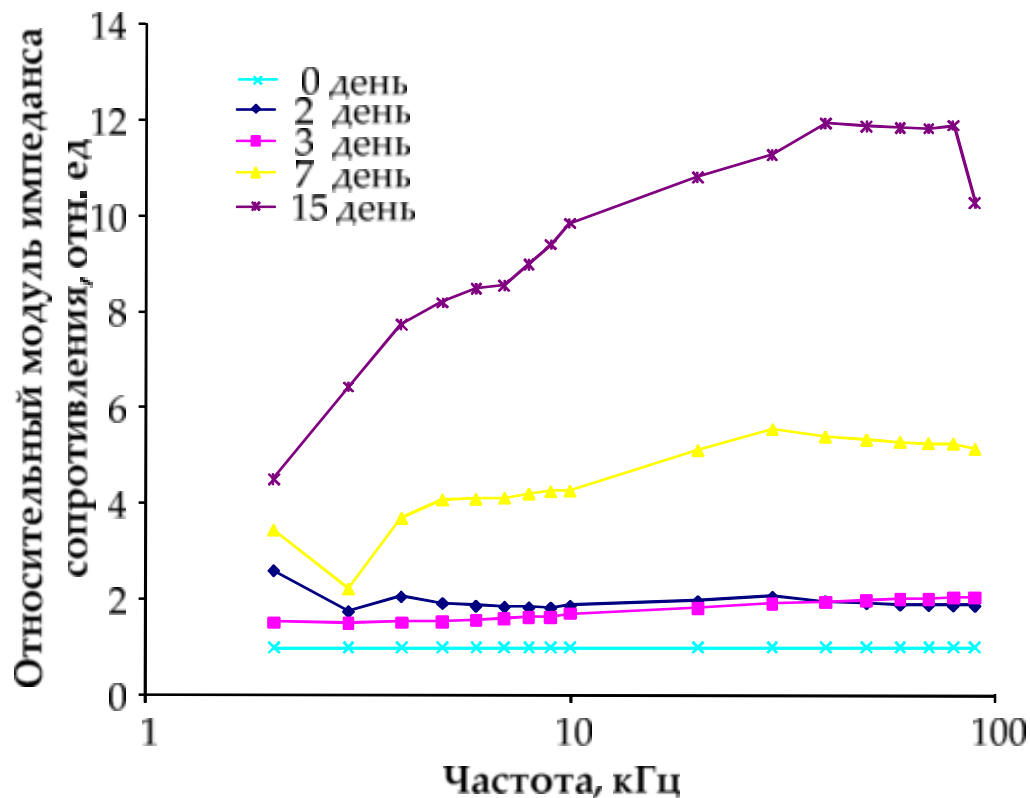


Рисунок 82. Зависимость относительного (нормировка на значения нулевого дня) модуля импеданса стебля салата на 2, 3, 7, 15 день. Рисунок автора.

При высыхании количество воды в растении падает и даже при сохранении общего количества солей, образующих электролиты, ввиду уменьшения активности и степени диссоциации, т.е. уменьшение удельной проводимости ткани происходит как по причине уменьшения количества носителей заряда, так и их подвижности. Электро-импедансная спектроскопия хорошо демонстрирует эти изменения в области низких частот (Рисунок 82). На высоких частотах изменения еще более заметные, и объяснить это можно только приняв во внимание уменьшение емкостных связей, которые в модели (Рисунок 80) обозначены как C_e и C_c . Это уменьшение емкостных компонент, скорее всего, связано с увеличением неэлектропроводящего зазора между отдельными сосудистыми каналами ввиду уменьшения общего объема воды в растении при сушке. В целом по графику видно, что на 3й день сушки по импедансу видны заметные изменения, соответственно, период измерения в 3 дня был выбран для флуориметрических измерений как предельный период относительно стабильного состояния растения.

3.6 Исследование ритмической активности на уровне физиологических систем

Колебания, или ритмы, центральной нервной системы играют ключевую роль в выполнении многочисленных когнитивных функций. Эти колебания способствуют оперативным и адаптируемым изменениям в синаптических контактах нейронов в различных структурах мозга. (Fries, 2005; Womelsdorf et al., 2007).

До недавнего времени вопросу о том, как синхронизируются различные типы колебаний при обработке поступающей в мозг информации, уделялось мало внимания. Целью настоящего исследования является анализ амплитуды и корреляции ритмической активности в тета-, альфа- и гамма-диапазонах у животных в двух поведенческих состояниях: во время спокойного бодрствования и во время восприятия сенсорных сигналов. Локальные полевые потенциалы (ЛПП) регистрировались в восьми структурах головного мозга (корковых и подкорковых). Полученные нами данные показывают, что значительное число областей мозга проявляют повышенную ритмическую активность в исследованных частотных диапазонах во время предъявления сенсорных стимулов. Основным результатом этого исследования является наблюдение значительного повышения фазовой когерентности всех ритмов как в корковых, так и в подкорковых структурах во время обработки сенсорной информации. Предполагается, что усиление когерентности колебаний в различных областях мозга необходимо для всесторонней оценки сигналов, поступающих из окружающей среды, и их регистрации в системе памяти.

Известно, при осуществлении когнитивных процессов происходит взаимодействие между популяциями нейронов в разных областях мозга, причем ритмы, обеспечивают синхронизацию и динамическую координацию пространственно разделенных, но функционально связанных популяций нейронов (Başar et al., 2001; Fries, 2005; Igarashi et al., 2014; Womelsdorf et al.,

2007). Осцилляции осуществляют амплитудную модуляцию возбудимости отдельных клеток, обеспечивая необходимый уровень активации нервных клеток (Fries, 2005; Volgushev et al., 1998). Ритмы включены в осуществление следующих функций: ориентация организма в пространстве и времени (Monaco et al., 2011; O'Keefe & Recce, 2004; Wang et al., 2014), выбор области интереса, память, принятие решений (Benchenane et al., 2011; Buzsáki & Watson, 2022; Vinogradova, 1995), а также сложных процессов вокализации у животных (Behroozmand et al., 2015) и речи у человека (Hyafil et al., 2015). Было показано, что как низкочастотные (дельта, тета, альфа), так и высокочастотные (гамма, риппл) ритмы функционально участвуют в процессах обучения и запоминания (Buzsáki, 2006; Buzsáki & Wang, 2012; Colgin, 2011; Jensen et al., 2002; Sridharan & Knudsen, 2015; Wang, 2010; Zheng et al., 2016). Тета ритм (4-8 Гц) хорошо идентифицируется при реализации когнитивных функций у человека, и как следствие, является наиболее изученным ритмом (Cantero et al., 2003; Grunwald et al., 2001; Mitchell et al., 2008; Tesche & Karhu, 2000). У животных также выявлена высокая корреляция между амплитудой тета-ритма и когнитивными функциями у животных (Asaka et al., 2005; Galey et al., 1983; Gray, 1972; Hennevin et al., 1989; Landfield, 1977; Wetzel et al., 1977). Модуляция альфа-ритма (9-12 Гц) связана с задачами восприятия, обработки и реакции на внешние сигналы (звуковые, световые, тактильные) (Dustman & Beck, 1965; Jensen et al., 2007; Nunn & Osselton, 2007). К функциональной роли гамма ритма в основном относят выполнение общих вычислительных процессов, подразумевающих внимание (Jutras et al., 2009), удержания важной и новой информации в памяти, при этом, медленный альфа ритм осуществляет подавление несущественных сигналов (Jensen et al., 2002; Palva et al., 2005; Sauseng et al., 2009).

Несмотря на то, что интерес к исследованию ритмов ЦНС не ослабевает, до сих пор мало известно, могут ли различные ритмы в структурах мозга

синхронизироваться во время обработки внешних сигналов, и как эта синхронизация может осуществляться. Кроме того, неизвестно, как изменения в выражении ритмической активности в разных областях мозга влияют на взаимодействие этих структур.

Хотя существование и значимость колебаний в корковых структурах хорошо изучены, о ритмической активности в подкорковых областях известно немного. У бодрствующих морских свинок во время покоя регистрировались локальные полевые потенциалы в восьми структурах мозга синхронно. В корковых областях (префронтальная и энторинальная кора, гиппокамп, зубчатая фасция) и подкорковых (медиальная и латеральная септальная области, центральное ядро миндалины и супрааммилярное ядро) наблюдались различные типы колебаний: дельта (0,5–4 Гц), тета (4–8 Гц), альфа (10–12 Гц), гамма (40–80 Гц) и высокочастотные колебания (рипл, 100–200 Гц). Во всех исследованных структурах низкочастотные колебания (дельта и тета) были более выраженными, чем высокочастотные. Структурные связи в разных диапазонах ритмической активности проявлялись по-разному. В целом они были более интенсивными при более сильных колебаниях, но при этом также наблюдались и исключения из этого правила. Ежедневное введение L-глутамата в течение примерно месяца в медиальную область перегородки привело к значительным изменениям в тета-, гамма- и высокочастотных ритмах в большинстве исследованных структур мозга, а также были обнаружены явные признаки эпилептогенеза: эпилептиформная активность, судорожные проявления и образование aberrantных волокон в гиппокампе. Также изменились показатели вейвлет-когерентности между некоторыми структурами мозга: они значительно уменьшились между энторинальной корой и гиппокампом в тета-ритме и между медиальной перегородкой и центральной миндалиной в гамма-ритме. Синхронные ритмы являются ключевым фактором, определяющим временную согласованность нейронной активности в мозге (Wang, 2010).

Низкочастотные (дельта, тета и альфа) и высокочастотные (гамма и пульсации) колебания активно изучаются в настоящее время (Buzsáki, 2006; Buzsáki & Watson, 2022). Недавние исследования показали, что ритмическая активность играет важную роль в когнитивных процессах (Buzsáki & Watson, 2022; Wang, 2010).

Кроме того, не до конца понятны особенности ритмической активности при нейродегенеративных заболеваниях. Височная эпилепсия — это наиболее часто встречающаяся форма трудноизлечимой эпилепсии. Многие люди, страдающие от височной эпилепсии, не реагируют на медикаментозное лечение. Это заболевание обычно рассматривают как неврологическое расстройство, которое затрагивает определённые области мозга, включая гиппокамп и связанные с ним участки. До сих пор не до конца понятны причины возникновения и развития височной эпилепсии. В частности, неясно, какую роль играет медиальная септальная область (диагональная полоса комплекса Брока) в развитии этого заболевания.

В медиальной септальной области находятся холинергические, ГАМКергические и глутаматергические нейроны, которые передают сигналы в гиппокамп (Colom et al., 2005; Henderson et al., 2001; Sotty et al., 2003; Tóth et al., 1997). Также в этой области есть локальные контуры, состоящие из ГАМКергических и глутаматергических интернейронов (Colom et al., 2005; Colom & Garrido-Sanabria, 2007; Henderson et al., 2001; Wu et al., 2003). Медиальная септальная область имеет многочисленные связи с различными участками мозга (Leranth et al., 1999; Risold & Swanson, 1997), что позволяет септальным клеткам регулировать активность этих участков. Важно отметить, что септальный вход в гиппокамп необходим для выполнения когнитивных функций гиппокампа, таких как регуляция внимания, обучение и память. Это связано с тем, что септальный вход обеспечивает генерацию тета-ритма (Buzsáki, 2002; Vinogradova, 1995).

В предыдущих исследованиях было продемонстрировано, что ежедневное введение антагониста ГАМК-А бикукуллина в медиальную септальную область на протяжении длительного времени приводит к возникновению эпилептоформной активности в гиппокампе и появлению судорог [87]. Это свидетельствует о том, что изменения в ГАМКергической системе медиальной септальной области могут способствовать развитию височной эпилепсии. Роль других нейромедиаторных систем, таких как глутаматергическая и холинергическая, в медиальной септальной области пока остаётся неясной. Исследования показали, что тета-активность в эпилептическом мозге нарушена как в медиальной септальной области (Popova et al., 2008), так и в гиппокампе (Colom et al., 2006; Kitchigina & Butuzova, 2009; Manseau et al., 2005; Marcelin et al., 2009). Эти данные указывают на то, что во время эпилептогенеза происходят изменения в сети септогиппокампа и тета-колебаниях. Эти данные свидетельствуют о том, что сеть септогиппокампа и тета-ритм в ней изменяются в процессе эпилептогенеза. Вопрос о том, изменяются ли в эпилептическом мозге другие диапазоны активности, крайне важен для понимания механизмов височной эпилепсии.

Задачей данной части работы был анализ изменений в экспрессии и корреляционных характеристиках тета-, альфа- и гамма-ритмов в различных структурах мозга при воздействии сенсорных сигналов и после повторных инъекций L-глутамата в медиальную септальную область, а также изменения в ритмической активности мозга в различных ритмах (дельта, тета, альфа, гамма и рипплз) в различных корковых и подкорковых структурах. Кроме того, мы хотели определить, как эти структуры взаимодействуют друг с другом в норме и после сенсорного и фармакологического воздействия с целью установления общих мотивов в изменении ритмической активности с точки зрения трансформации периодических сигналов при переходе

центральной нервной системы от покоя к состоянию адаптации после внешнего сенсорного или фармакологического раздражения.

3.6.1 Осцилляторная активность и кросс-частотные взаимодействия во время обработки сенсорной информации в мозге¹⁸

Исследование локальных полевых потенциалов и последующий анализ с использованием вейвлет-преобразования позволили обнаружить наличие колебаний как низкой частоты (тета- и альфа-ритмы), так и высокой (гамма-ритмы) во всех изученных кортикальных и субкортикальных структурах. Выраженность ритмической активности в различных диапазонах фоновых локальных полевых потенциалов незначительно отличалась в разных структурах. Средние значения вейвлет-мощности для различных типов колебаний в восьми структурах представлены на графике (Рисунок 83). В ходе сенсорной стимуляции было отмечено повышение активности в низкочастотных диапазонах в большинстве структур головного мозга (Рисунок 83 и Рисунок 84).

¹⁸ По материалам авторской статьи: Astasheva E. V., Astashev M. E., Kichigina V. F. Oscillatory Activity and Cross-Frequency Interactions in the Hippocampus and Connected Brain Structures during Sensory Information Processing // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2018. – Т. 48, № 6. – С. 758-763. DOI: 10.1007/s11055-018-0627-z.

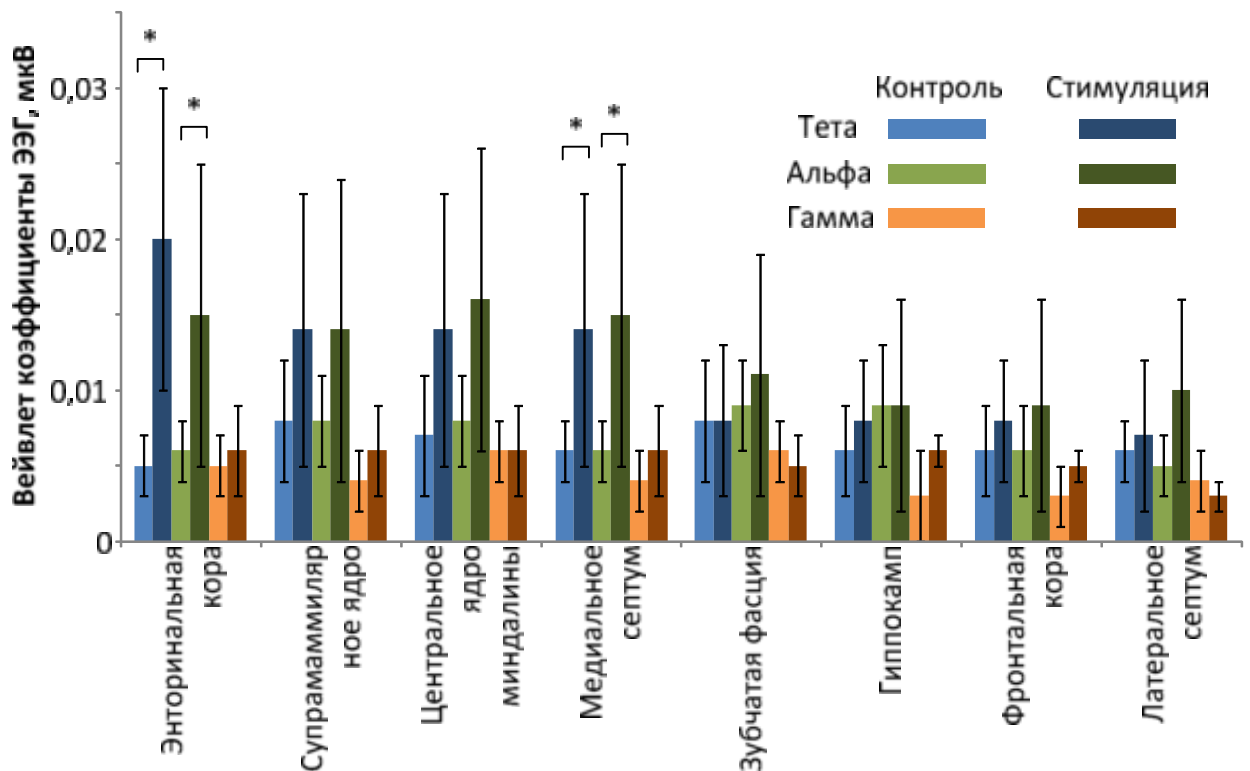


Рисунок 83. Средние коэффициенты вейвлет-мощности для осцилляций у контрольной группы животных и после сенсорной стимуляции в характерных частотных диапазонах в восьми структурах. Приведены средние и стандартное отклонение. Достоверные отличия $p < 0.05$ (ANOVA), $n=10$. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E. V., Kichigina V. F., Astashev M. E. Oscillatory Activity and Cross-Frequency Interactions in the Hippocampus and Connected Brain Structures during Sensory Information Processing // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2018. – Т. 48, № 6. – С. 758-763. DOI: 10.1007/s11055-018-0627-z.

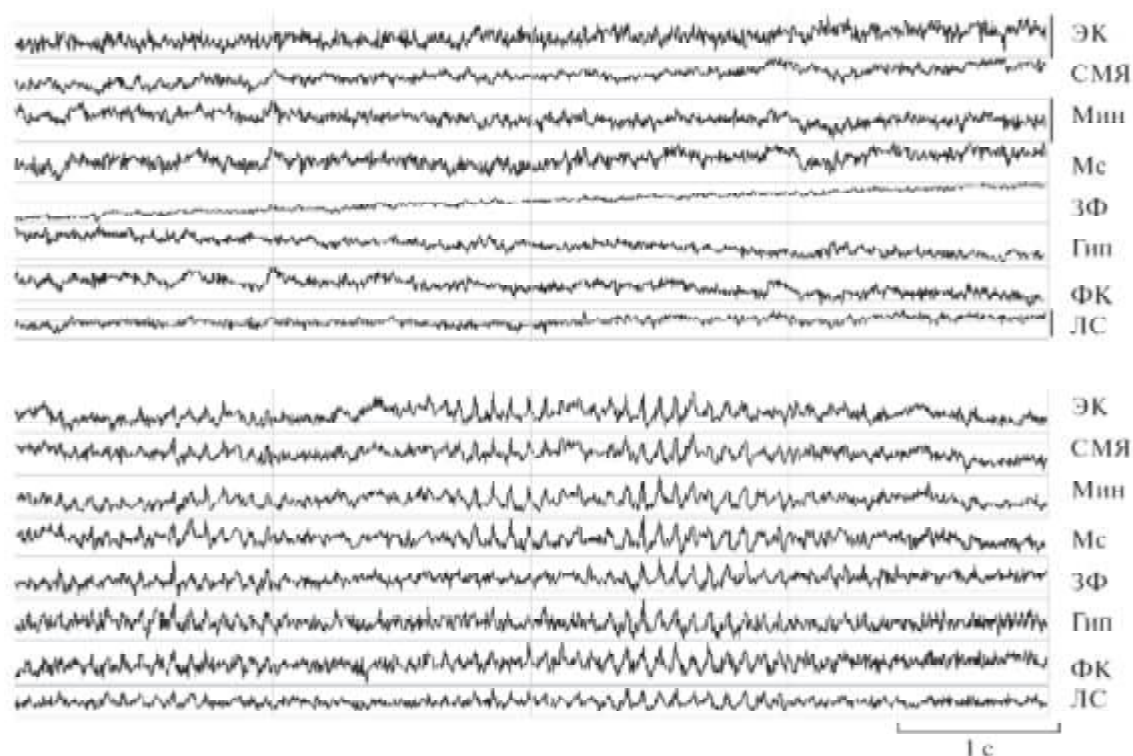


Рисунок 84. Локальные полевые потенциалы ЭЭГ в восьми структурах мозга во время сенсорной стимуляции. Вверху - активность до воздействия, Внизу - после воздействия. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E. V., Kichigina V. F., Astashev M. E. Oscillatory Activity and Cross-Frequency Interactions in the Hippocampus and Connected Brain Structures during Sensory Information Processing // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2018. – Т. 48, № 6. – С. 758-763. DOI: 10.1007/s11055-018-0627-z.

Анализ показал, что наиболее значительное влияние на выраженность тета-ритма оказала стимуляция в энторинальной коре, где мощность тета-волн увеличилась с $0,005 \pm 0,002$ до $0,02 \pm 0,01$ отн. ед. ($P < 0,001$). В то же время в зубчатой фассии и латеральной септальной области значимых изменений в выраженности тета-ритма для всех проб не было обнаружено (см. Рисунок 85). В ходе исследования было выявлено увеличение альфа-осцилляций в энторинальной коре и медиальной септальной области, а также незначительное увеличение в латеральной септальной области. В гиппокампе (поле СА1) альфа-ритм не показал значимых изменений. При подаче светового стимула гамма-ритм не всегда увеличивался. В некоторых структурах мозга, таких как энторинальная кора, гиппокамп, фронтальная

кора, супраамилярное ядро и медиальная септальная область, гамма-ритм становился более выраженным. В других областях, таких как центральное ядро миндалины, гамма-ритм оставался неизменным. В некоторых областях, таких как зубчатая фасция и латеральная септальная область, гамма-ритм даже снижался.

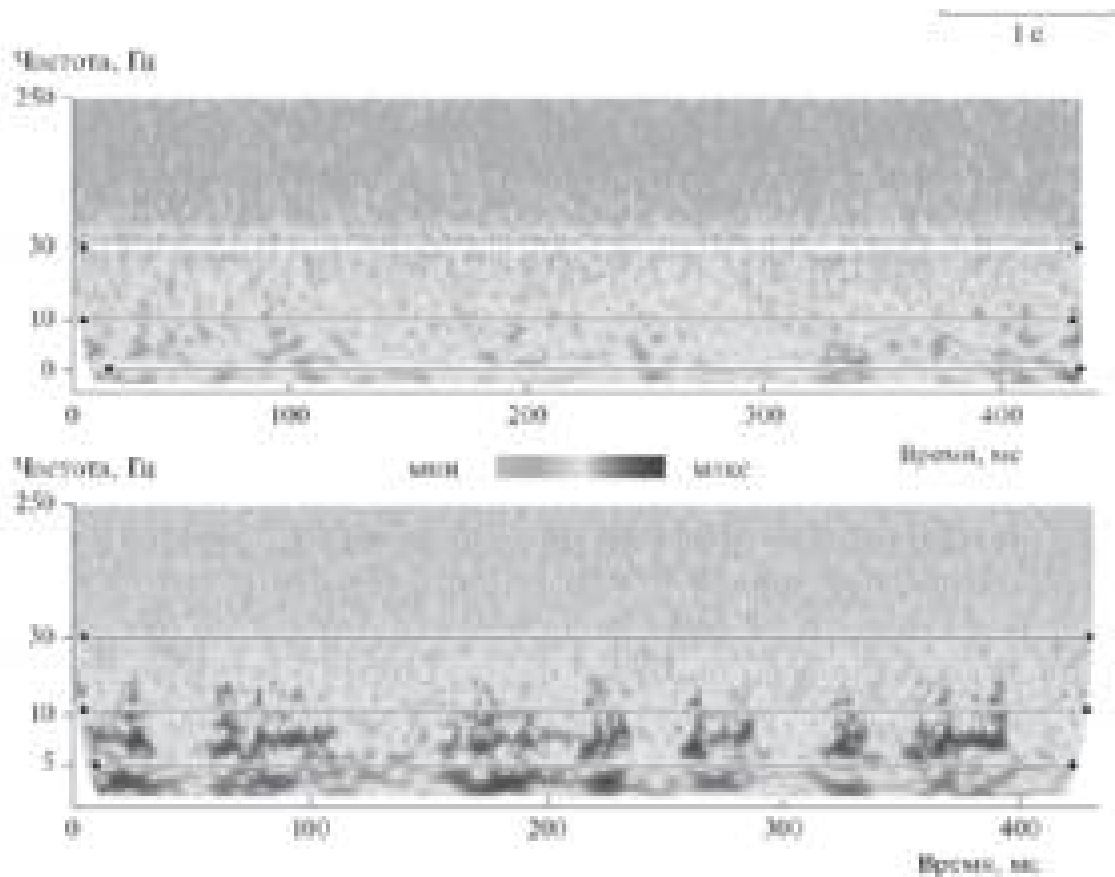


Рисунок 85. Карта модулей вейвлет-коэффициентов в зависимости от времени (по оси абсцисс) и частоты (ось ординат) гиппокампальных потенциалов. Линии означают фрагменты и центральные частоты активности в тета, альфа и гамма диапазонах, взятые для последующего анализа. Вверху - активность до воздействия, Внизу - после сенсорной стимуляции. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astashova E. V., Kichigina V. F., Astashov M. E. Oscillatory Activity and Cross-Frequency Interactions in the Hippocampus and Connected Brain Structures during Sensory Information Processing // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2018. – Т. 48, № 6. – С. 758-763. DOI: 10.1007/s11055-018-0627-z.

Исследование степени синхронизации между колебаниями в различных частотных диапазонах в разных областях мозга во время обработки сенсорной информации выявило значительное увеличение уровня синхронизации колебаний соответствующих ритмов. В некоторых структурах, таких как энторинальная кора, центральное ядро миндалины, фронтальная кора и латеральная септальная область, где изначально наблюдалась межритмовая асинхронность отдельных частотных диапазонов (что выражалось в отрицательных значениях коэффициента когерентности), произошло относительное увеличение уровня фазовой синхронизации. В других областях, таких как гиппокамп, медиальная септальная область, фронтальная кора и супрамамилярное ядро, наблюдалось резкое увеличение уровня межчастотной когерентности различных ритмов при изначально положительных значениях коэффициента когерентности (**Рисунок 86**).

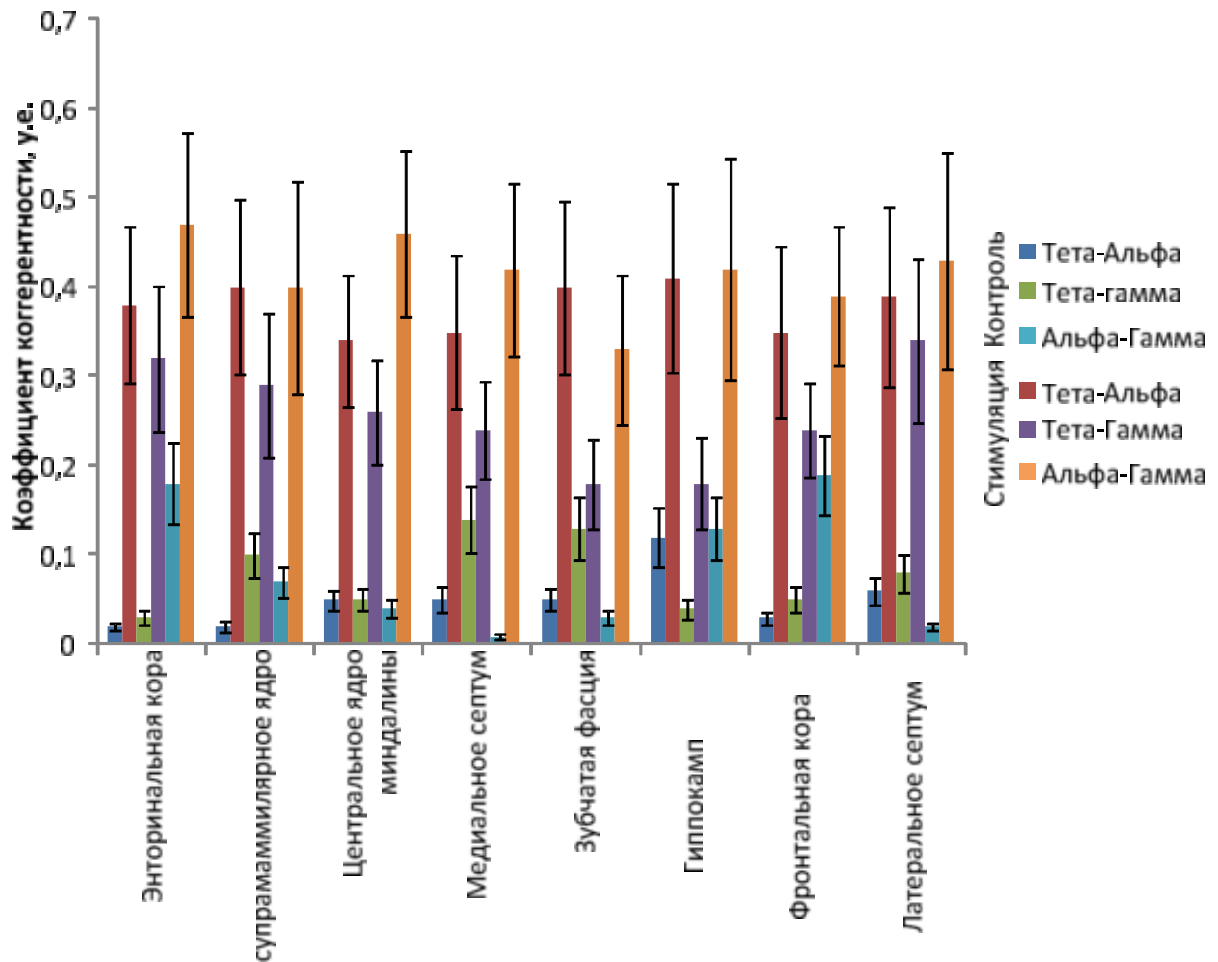


Рисунок 86. – Изменение синхронизации ритмов по коэффициенту фазовой вейвлет-когерентности после сенсорной стимуляции в различных структурах мозга. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E. V., Kichigina V. F., Astashev M. E. Oscillatory Activity and Cross-Frequency Interactions in the Hippocampus and Connected Brain Structures during Sensory Information Processing // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2018. – Т. 48, № 6. – С. 758-763. DOI: 10.1007/s11055-018-0627-z.

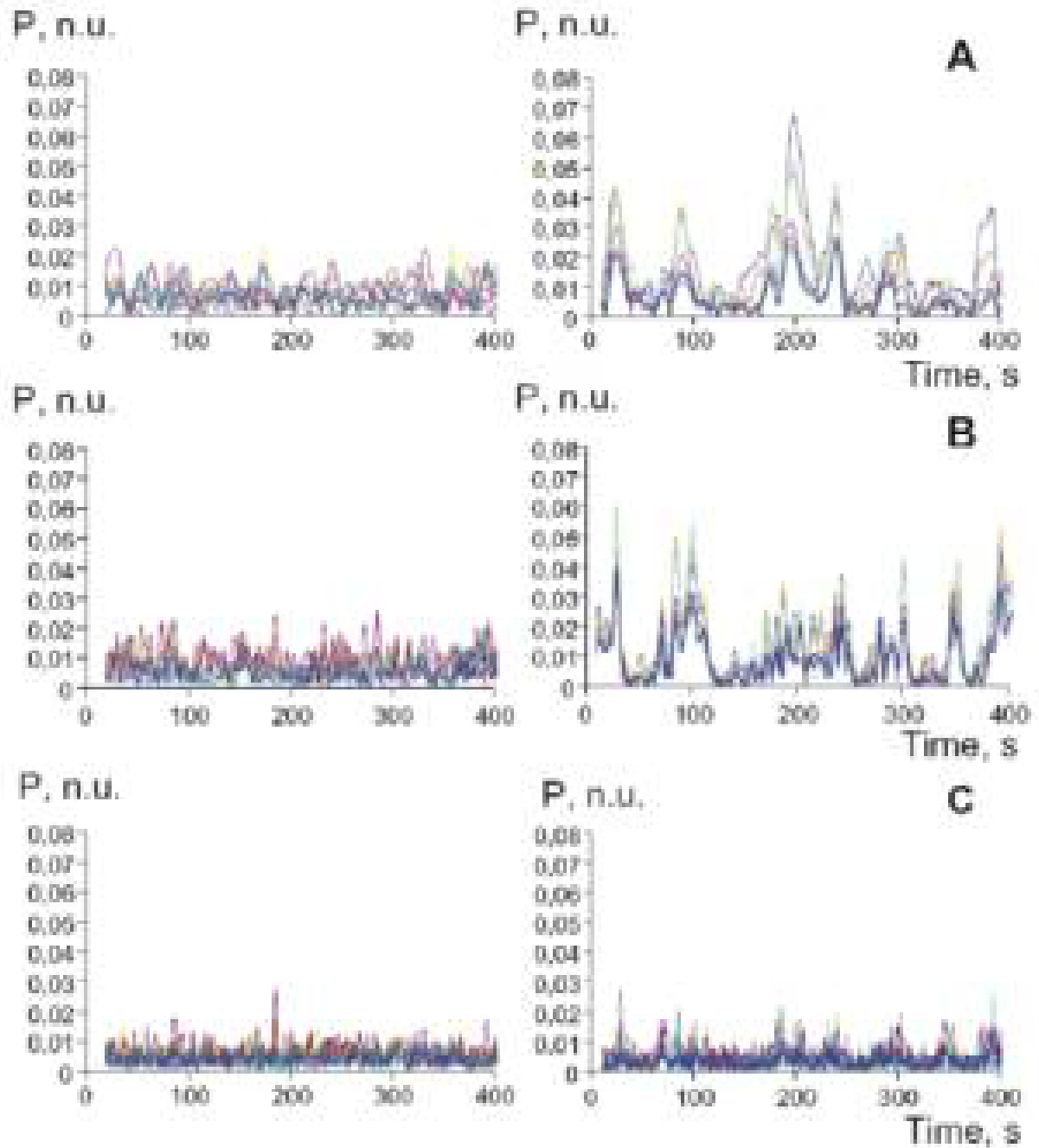


Рисунок 87. Временной профиль локальных полевых потенциалов в восьми структурах мозга одного и того же животного, зафиксированный в контрольном эксперименте (спокойное бодрствование) (слева) и после сенсорной стимуляции (вспышка света, 3 Гц) (справа) в диапазоны тета- (А) , альфа- (В) и гамма- (С) ритмов. По оси абсцисс время, с; по ординате — мощность вейвлет-коэффициентов в нормированных единицах (н.е.).

3.6.2 Изменение синхронизации ритмических процессов при введении L-глутамата в медиальную септальную область¹⁹

В ходе исследования были проанализированы локальные полевые потенциалы морских свинок, которые находились в состоянии бодрствования. Для анализа использовались диапазоны частот: дельта (0,5–4 Гц), тета (4–8 Гц), альфа (10–12 Гц), гамма (40–80 Гц) и риппл-осцилляции (100–200 Гц). Были вычислены мощность (амплитуда) и центральная частота колебаний в соответствующих диапазонах. Было установлено, что сигналы локальных полевых потенциалов у низкочастотных дельта- и тета-ритмов были сильнее, чем в высокочастотных гамма- и риппл-осцилляциях. Наиболее мощными оказались колебания в диапазоне дельта. Они были наиболее выраженными в префронтальной коре, супрааммилярном ядре и энторинальной коре. Частота дельта-ритма существенно не различалась между этими структурами, но в зубчатой извилине она была выше, чем в других областях. В сравнении с дельта-колебаниями, тета-колебания во всех структурах были менее интенсивными. В частности, в медиальной септальной области тета-колебания были примерно в два раза слабее дельта-колебаний ($8,7 \pm 1,5$ о.е. против $16,7 \pm 3,3$ о.е.). А в супрааммилярном ядре тета-колебания были менее интенсивными более чем в два раза ($10,8 \pm 2,3$ о.е. против $23,3 \pm 10,5$ о.е.). В гиппокампе, зубчатой извилине и энторинальной коре тета-колебания были наиболее выражены, при этом их частота не имела существенных различий. Альфа-колебания были примерно в два раза менее интенсивными, чем тета-колебания, и наблюдались во всех структурах. Наиболее заметными они были в гиппокампе и зубчатой извилине. В медиальном септальном ядре альфа-ритм был наименее выраженным, а его частота не различалась в разных структурах. Мощность

¹⁹ Раздел написан по материалам статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // *Epilepsy Res.* – 2015. – T. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.epilepsyres.2014.10.022.

гамма-колебаний во всех структурах была значительно меньше, чем у низкочастотных ритмов. Их мощность была в 5–10 раз меньше, чем у тета-колебаний. В спектре мощности и частоте колебаний не было существенных различий между всеми структурами. Однако в гиппокампе они были более выраженными, чем в других структурах. Высокочастотные колебания (риплз) имели примерно такую же мощность, как и гамма-ритм. Частота их была примерно одинаковой во всех восьми структурах. (Таблица 15).

Таблица 15. Колебательная активность в разных диапазонах в восьми структурах мозга в контрольных экспериментах (среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего). Показаны мощность (относительные единицы) и частота (Гц) колебаний. Обозначение структур: как на Рисунок 89. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // *Epilepsy Res.* – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.eplesyres.2014.10.022.

		Дельта	Тета	Альфа	Гамма	Риплз
PC	Мощность	24.3 $\pm$ 7.5	10.0 $\pm$ 2.3	5.7 $\pm$ 1.0	3.2 $\pm$ 0.6	3.7 $\pm$ 1.2
	Частота	1.2 $\pm$ 0.2	5.4 $\pm$ 0.2	10.9 $\pm$ 0.1	61.3 $\pm$ 1.4	134.8 $\pm$ 4.6
EC	Мощность	22.6 $\pm$ 6.9	13.3 $\pm$ 1.3	6.6 $\pm$ 1.3	2.8 $\pm$ 0.3	3.3 $\pm$ 1.2
	Частота	0.9 $\pm$ 0.1	5.5 $\pm$ 0.18	10.9 $\pm$ 0.1	61.4 $\pm$ 0.4	136.1 $\pm$ 6.3
Hip	Мощность	17.0 $\pm$ 4.6	13.8 $\pm$ 5.2	8.2 $\pm$ 2.8	3.3 $\pm$ 1.0	3.9 $\pm$ 1.3
	Частота	1.2 $\pm$ 0.2	5.8 $\pm$ 0.2	10.9 $\pm$ 0.1	60.9 $\pm$ 1.0	132.0 $\pm$ 4.9
DG	Мощность	17.7 $\pm$ 5.2	13.3 $\pm$ 4.1	8.2 $\pm$ 2.6	3.2 $\pm$ 0.8	3.9 $\pm$ 1.5
	Частота	1.4 $\pm$ 0.3	5.6 $\pm$ 0.2	10.9 $\pm$ 0.1	61.0 $\pm$ 0.6	126.2 $\pm$ 4.9
MS	Мощность	16.7 $\pm$ 3.3	8.7 $\pm$ 1.5	4.8 $\pm$ 0.7	2.5 $\pm$ 0.3	2.8 $\pm$ 1.9
	Частота	1.2 $\pm$ 0.2	5.4 $\pm$ 0.1	10.9 $\pm$ 0.1	62.0 $\pm$ 0.5	138.7 $\pm$ 3.2
LS	Мощность	17.4 $\pm$ 6.9	10.2 $\pm$ 4.6	5.9 $\pm$ 3.3	3.0 $\pm$ 1.2	3.0 $\pm$ 1.0
	Частота	1.1 $\pm$ 0.3	5.1 $\pm$ 0.3	10.9 $\pm$ 0.1	59.4 $\pm$ 2.9	131.5 $\pm$ 4.7
SM	Мощность	23.3 $\pm$ 10.5	10.8 $\pm$ 2.3	5.4 $\pm$ 1.0	2.7 $\pm$ 0.5	3.3 $\pm$ 4.5
	Частота	1.0 $\pm$ 0.1	5.6 $\pm$ 0.2	10.9 $\pm$ 0.1	61.5 $\pm$ 1.0	136.3 $\pm$ 6.0
CA	Мощность	18.4 $\pm$ 3.0	10.3 $\pm$ 1.6	5.4 $\pm$ 1.2	2.9 $\pm$ 0.4	3.5 $\pm$ 1.4
	Частота	1.1 $\pm$ 0.1	5.5 $\pm$ 0.2	10.9 $\pm$ 0.1	62.1 $\pm$ 0.7	131.5 $\pm$ 5.0

Анализ показателя вейвлет-когерентности продемонстрировал, что в низкочастотных диапазонах когерентность выражена гораздо сильнее, чем в высокочастотных (Таблица 16). Наиболее высокие значения коэффициента когерентности обычно наблюдались в дельта-диапазоне. Они были наиболее интенсивными между медиальной септальной областью и центральным ядром миндалины, а также между медиальной септальной областью и супрааммилярным ядром. В тета-диапазоне значения коэффициента когерентности в целом были несколько ниже. Однако для некоторых структур они были такими же или даже выше, чем в дельта-диапазоне. Например, для медиальной септальной области и центрального ядра миндалины коэффициент когерентности составил $0,79 \pm 0,10$, для теты и $0,83 \pm 0,07$ для дельты. Для гиппокампа и центрального ядра миндалины этот показатель составил $0,55 \pm 0,15$ для тета-ритма и $0,53 \pm 0,19$ для дельта-ритма. В полосе риплз-колебаний, значения коэффициента когерентности были самыми низкими.; они достигали своего максимума между медиальной септальной областью и центральным ядром миндалины, а минимума — в области между латеральной частью перегородки и супрааммилярным ядром (Таблица 16, Рисунок 88).

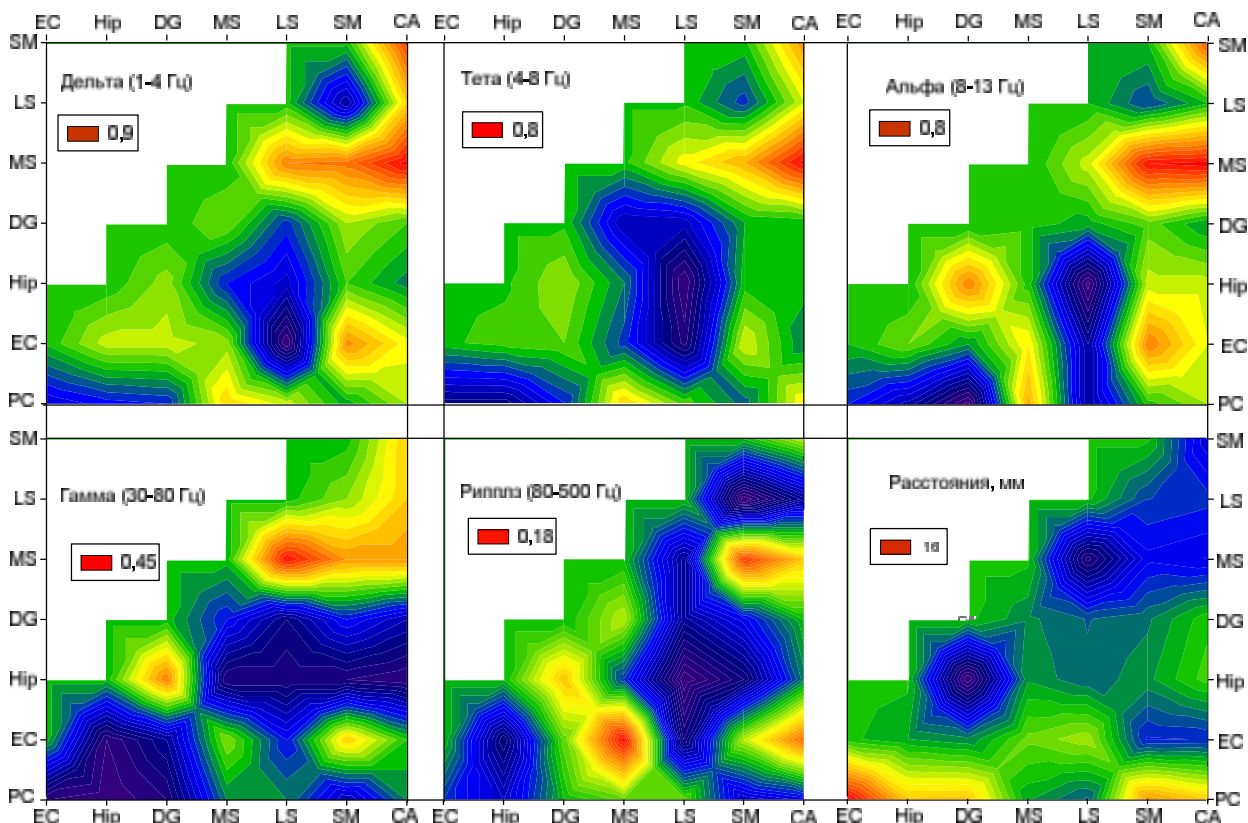


Рисунок 88. – Структурные взаимоотношения в мозге здоровых животных и расстояния между структурами по координатам стереотаксиса. Показаны средние значения ($n=5$) модулей вейвлет-когерентности. Обозначения структур в тексте. Для каждого графика указаны принятые максимальные значения. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // *Epilepsy Res.* – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.eplepsyres.2014.10.022

В целом, анализ показателей вейвлет-когерентности, с учетом геометрических расстояний между структурами, показывает, что для всех ритмов (кроме рипплз) есть прямая корреляция когерентности с расстоянием, и особенности заключаются в отклонении от этого правила: тета- и гамма-ритмы в мозге здоровых животных имеют слабую когерентность между структурами гиппокамп и медиальная септальная область, латеральная септальная область, супрамамилярное ядро. Учитывая, что сами ритмы в данных структурах есть (Рисунок 83) это указывает, что источник данных ритмов в структурах различен.

Таблица 16. Структурные взаимоотношения в мозге здоровых животных (среднее $\pm$ SEM). Показаны модули комплексной кросс-корреляции вейвлет-коэффициентов (среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего). Обозначения структур: как на Рисунок 89. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // Epilepsy Res. – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.epilepsyres.2014.10.022

	Ритм	PC	EC	Hip	DG	MS	LS	SM
EC	Дельта	0,44 $\pm$ 0,13						
	Тета	0,39 $\pm$ 0,12						
	Альфа	0,36 $\pm$ 0,17						
	Гамма	0,16 $\pm$ 0,06						
	Рипплз	0,08 $\pm$ 0,1						
Hip	Дельта	0,47 $\pm$ 0,14	0,63 $\pm$ 0,11					
	Тета	0,39 $\pm$ 0,16	0,57 $\pm$ 0,12					
	Альфа	0,29 $\pm$ 0,2	0,48 $\pm$ 0,17					
	Гамма	0,15 $\pm$ 0,07	0,16 $\pm$ 0,05					
	Рипплз	0,06 $\pm$ 0,07	0,04 $\pm$ 0,06					
DG	Дельта	0,48 $\pm$ 0,12	0,63 $\pm$ 0,14	0,61 $\pm$ 0,18				
	Тета	0,48 $\pm$ 0,14	0,58 $\pm$ 0,07	0,6 $\pm$ 0,2				
	Альфа	0,17 $\pm$ 0,3	0,42 $\pm$ 0,19	0,62 $\pm$ 0,21				
	Гамма	0,17 $\pm$ 0,08	0,2 $\pm$ 0,06	0,38 $\pm$ 0,21				
	Рипплз	0,1 $\pm$ 0,06	0,11 $\pm$ 0,07	0,14 $\pm$ 0,18				
MS	Дельта	0,68 $\pm$ 0,13	0,61 $\pm$ 0,08	0,48 $\pm$ 0,18	0,6 $\pm$ 0,14			
	Тета	0,66 $\pm$ 0,14	0,49 $\pm$ 0,12	0,52 $\pm$ 0,09	0,42 $\pm$ 0,3			
	Альфа	0,59 $\pm$ 0,19	0,54 $\pm$ 0,1	0,45 $\pm$ 0,14	0,45 $\pm$ 0,2			
	Гамма	0,27 $\pm$ 0,11	0,31 $\pm$ 0,08	0,17 $\pm$ 0,08	0,24 $\pm$ 0,11			
	Рипплз	0,11 $\pm$ 0,12	0,18 $\pm$ 0,07	0,08 $\pm$ 0,08	0,12 $\pm$ 0,08			
LS	Дельта	0,63 $\pm$ 0,23	0,3 $\pm$ 0,24	0,43 $\pm$ 0,15	0,49 $\pm$ 0,18	0,74 $\pm$ 0,16		
	Тета	0,57 $\pm$ 0,23	0,35 $\pm$ 0,12	0,32 $\pm$ 0,12	0,43 $\pm$ 0,13	0,63 $\pm$ 0,24		
	Альфа	0,28 $\pm$ 0,16	0,28 $\pm$ 0,19	0,17 $\pm$ 0,08	0,43 $\pm$ 0,21	0,51 $\pm$ 0,31		
	Гамма	0,27 $\pm$ 0,14	0,24 $\pm$ 0,09	0,17 $\pm$ 0,06	0,19 $\pm$ 0,14	0,42 $\pm$ 0,16		
	Рипплз	0,11 $\pm$ 0,1	0,04 $\pm$ 0,1	0,02 $\pm$ 0,05	0,05 $\pm$ 0,07	0,05 $\pm$ 0,15		
SM	Дельта	0,55 $\pm$ 0,12	0,73 $\pm$ 0,11	0,58 $\pm$ 0,2	0,62 $\pm$ 0,17	0,75 $\pm$ 0,11	0,4 $\pm$ 0,26	
	Тета	0,51 $\pm$ 0,2	0,62 $\pm$ 0,16	0,55 $\pm$ 0,2	0,54 $\pm$ 0,25	0,68 $\pm$ 0,18	0,49 $\pm$ 0,13	
	Альфа	0,45 $\pm$ 0,2	0,62 $\pm$ 0,17	0,51 $\pm$ 0,16	0,47 $\pm$ 0,18	0,7 $\pm$ 0,15	0,38 $\pm$ 0,26	
	Гамма	0,21 $\pm$ 0,1	0,35 $\pm$ 0,08	0,17 $\pm$ 0,08	0,24 $\pm$ 0,09	0,37 $\pm$ 0,09	0,31 $\pm$ 0,14	
	Рипплз	0,06 $\pm$ 0,09	0,12 $\pm$ 0,06	0,04 $\pm$ 0,05	0,07 $\pm$ 0,07	0,17 $\pm$ 0,1	0,02 $\pm$ 0,1	
CA	Дельта	0,62 $\pm$ 0,16	0,65 $\pm$ 0,07	0,53 $\pm$ 0,19	0,58 $\pm$ 0,14	0,83 $\pm$ 0,07	0,68 $\pm$ 0,19	0,79 $\pm$ 0,1
	Тета	0,64 $\pm$ 0,13	0,52 $\pm$ 0,1	0,55 $\pm$ 0,15	0,55 $\pm$ 0,13	0,79 $\pm$ 0,1	0,62 $\pm$ 0,19	0,7 $\pm$ 0,17
	Альфа	0,5 $\pm$ 0,21	0,52 $\pm$ 0,1	0,51 $\pm$ 0,12	0,42 $\pm$ 0,17	0,71 $\pm$ 0,13	0,44 $\pm$ 0,3	0,65 $\pm$ 0,17
	Гамма	0,27 $\pm$ 0,1	0,29 $\pm$ 0,09	0,16 $\pm$ 0,06	0,21 $\pm$ 0,08	0,37 $\pm$ 0,11	0,35 $\pm$ 0,15	0,35 $\pm$ 0,1
	Рипплз	0,07 $\pm$ 0,08	0,16 $\pm$ 0,05	0,09 $\pm$ 0,04	0,1 $\pm$ 0,04	0,14 $\pm$ 0,07	0,05 $\pm$ 0,11	0,12 $\pm$ 0,07

В ходе исследований мы стремились отследить, как механическое воздействие или микротравмы медиальной септальной области, вызванные самой процедурой инъекции, могут повлиять на ритмическую активность ЛПП. Однако мы обнаружили лишь незначительные изменения в ритмической активности и взаимодействии между структурами.

При имитации эксперимента путем введения физиологического раствора в течение первых пяти дней мы наблюдали изменения только в гамма-ритме. Мощность гамма-ритма в энторинальной коре и гиппокампе несколько снизилась, а его частота осталась прежней. При этом не было обнаружено изменений в межструктурных отношениях ни в одной из частотных полос.

Через 35 дней после начала введения L-глутамата было отмечено небольшое снижение амплитуды тета-ритма в гиппокампе. Значения вейвлет-когерентности также уменьшились в тета-диапазоне для гиппокампа и энторинальной коры (на $9,0 \pm 1,8\%$ от исходного уровня, $P < 0,05$). Отношения между другими структурами в других частотных полосах остались неизменными. В ходе этих экспериментов мы не наблюдали значительных изменений в поведении животных. Введение L-глутамата в медиально-септальную область приводило к значительным изменениям в ритмической активности и связях между структурами, которые не наблюдались при введении физиологического раствора.

После первых пяти инъекций наблюдалось выраженное кратковременное (не более 30 минут) увеличение спектральной мощности тета-ритма во всех структурах, за исключением энторинальной коры и супраамилярного ядра (Рисунок 89). В отдельных структурах при введении L-глутамата было зафиксировано повышение частоты ритмов. При этом мощность гамма-ритма уменьшилась. Изменения в когерентности ритмов между структурами были обнаружены только в дельта-ритме: когерентность

между гиппокампом и центральным ядром миндалины усилилась на $19,0 \pm 7,8\%$. (Таблица 16).

Таблица 17. Кратковременные (первые пять дней) и отдаленные (последние пять из 30–35 дней) изменения ритмической активности в разных диапазонах после инъекции L-глутамата (среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего). Изменения представлены в процентах (%) по сравнению с исходной фоновой активностью. Показаны только значимые изменения: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, * $P < 0,001$. S, краткосрочные изменения; L, долгосрочные изменения; П — мощность; о.е., относительная единица; F, частота, Гц. Стрелки показывают уменьшение или увеличение мощности и частоты колебаний. Обозначения структур как на Рисунок 89. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // *Epilepsy Res.* – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.epilepsyres.2014.10.022**

			Дельта	Тета	Альфа	Гамма	Риплз
РС	S	Мощность	–	$\uparrow 17.0 \pm 5.6^*$	–	–	–
		Частота	–	–	–	–	$\uparrow 6.7 \pm 1.5^{**}$
	L	Мощность	–	–	–	$\downarrow 28.4 \pm 11.8^*$	–
		Частота	–	–	–	–	–
ЕС	S	Мощность	–	–	–	–	–
		Частота	–	–	–	–	–
	L	Мощность	–	–	–	$\downarrow 18.0 \pm 6.0^*$	–
		Частота	–	$\downarrow 6.6 \pm 0.9^{***}$	–	–	$\uparrow 2.7 \pm 1.1^{**}$
Hip	S	Мощность	$\uparrow 19.7 \pm 2.8^*$	$\uparrow 22.6 \pm 8.0^*$	–	–	–
		Частота	–	–	–	–	–
	L	Мощность	–	$\downarrow 32.2 \pm 12.3^*$	–	$\downarrow 46.1 \pm 5.5^{***}$	–
		Частота	–	$\downarrow 8.2 \pm 4.7^*$	–	–	–

Таблица 17. Продолжение.

			Дельта	Тета	Альфа	Гамма	Риплз
DG	S	Мощность	—	$\uparrow 19.6 \pm 3.8^{**}$	—	$\downarrow 26.7 \pm 15.1^*$	—
		Частота	$\downarrow 15.4 \pm 9.5^*$	—	—	—	$\uparrow 10.6 \pm 3.8^{**}$
	L	Мощность	—	$\downarrow 20.1 \pm 9.9^*$	—	$\downarrow 43.4 \pm 7.5^{***}$	$\downarrow 25.4 \pm 13.8^*$
		Частота	—	—	—	—	$\uparrow 11.7 \pm 3.8^{**}$
MS	S	Мощность	—	$\uparrow 24.8 \pm 6.0^{**}$	—	—	—
		Частота	—	—	—	—	—
	L	Мощность	—	—	—	$\downarrow 19.6 \pm 1.9^{***}$	$\downarrow 18.2 \pm 9.4^*$
		Частота	—	$\downarrow 6.0 \pm 2.9^*$	—	—	—
LS	S	Мощность	—	$\uparrow 30.3 \pm 7.2^{**}$	—	—	—
		Частота	—	—	—	—	—
	L	Мощность	—	—	—	$\downarrow 19.5 \pm 2.3^*$	—
		Частота	—	—	—	—	—
SM	S	Мощность	—	—	$\downarrow 25.2 \pm 9.5^{**}$	$\downarrow 6.8 \pm 9.9^*$	—
		Частота	—	—	—	—	$\uparrow 4.7 \pm 2.5^*$
	L	Мощность	—	—	—	$\downarrow 26.5 \pm 14.3^*$	—
		Частота	—	—	—	—	—
CA	S	Мощность	—	$\uparrow 27.9 \pm 6.9^{**}$	—	—	—
		Частота	—	—	—	—	—
	L	Мощность	—	—	—	$\downarrow 13.6 \pm 7.4^*$	—
		Частота	—	$\downarrow 7.3 \pm 4.4^*$	—	—	$\uparrow 3.7 \pm 1.4^*$

Инъекции L-глутамата в течение последующих 30–35 дней привели к отчетливым долговременным изменениям колебаний в тета-, гамма- и пульсационном диапазонах. Но изменения по большей части были противоположны эффекту от первых инъекций (Рисунок 89, Рисунок 90, Рисунок 91). Таким образом, мощность тета-ритма в гиппокампе и зубчатой извилине существенно снизилась. У одного животного, которому в течение 72 дней вводили L-глутамат, колебания изменились во всех диапазонах; резко снизилась тета-мощность в энторинальной коре, супраамилярном ядре, центральном ядре миндалины и особенно в гиппокампе (на $63,3 \pm 3,5\%$).

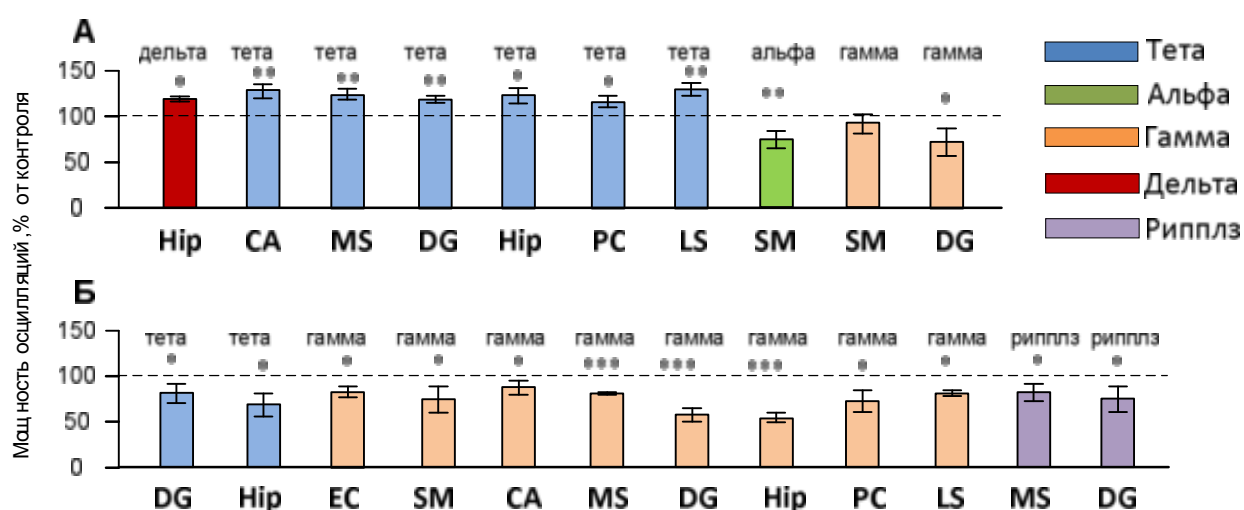


Рисунок 89. Краткосрочное (А) и долгосрочное (Б) влияние инъекций L-глутамата на мощность локальных полевых потенциалов в различных структурах и для различных ритмов. Указаны достоверные отличия (ANOVA) при *P < 0,05, **P < 0,01 или *P < 0,001 по сравнению с исходной активностью. Пунктирной линией показана мощность колебаний у интактных животных, принятая за 100%. Обозначения структур: EC - энторинальная кора, SM - супраамилярное ядро, CA - центральное ядро миндалины, MS - медиальная септальная область, DG - зубчатая фасция, Hip - гиппокамп, PC - фронтальная кора, LS -**

латеральное септум. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // *Epilepsy Res.* – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.epilepsyres.2014.10.022

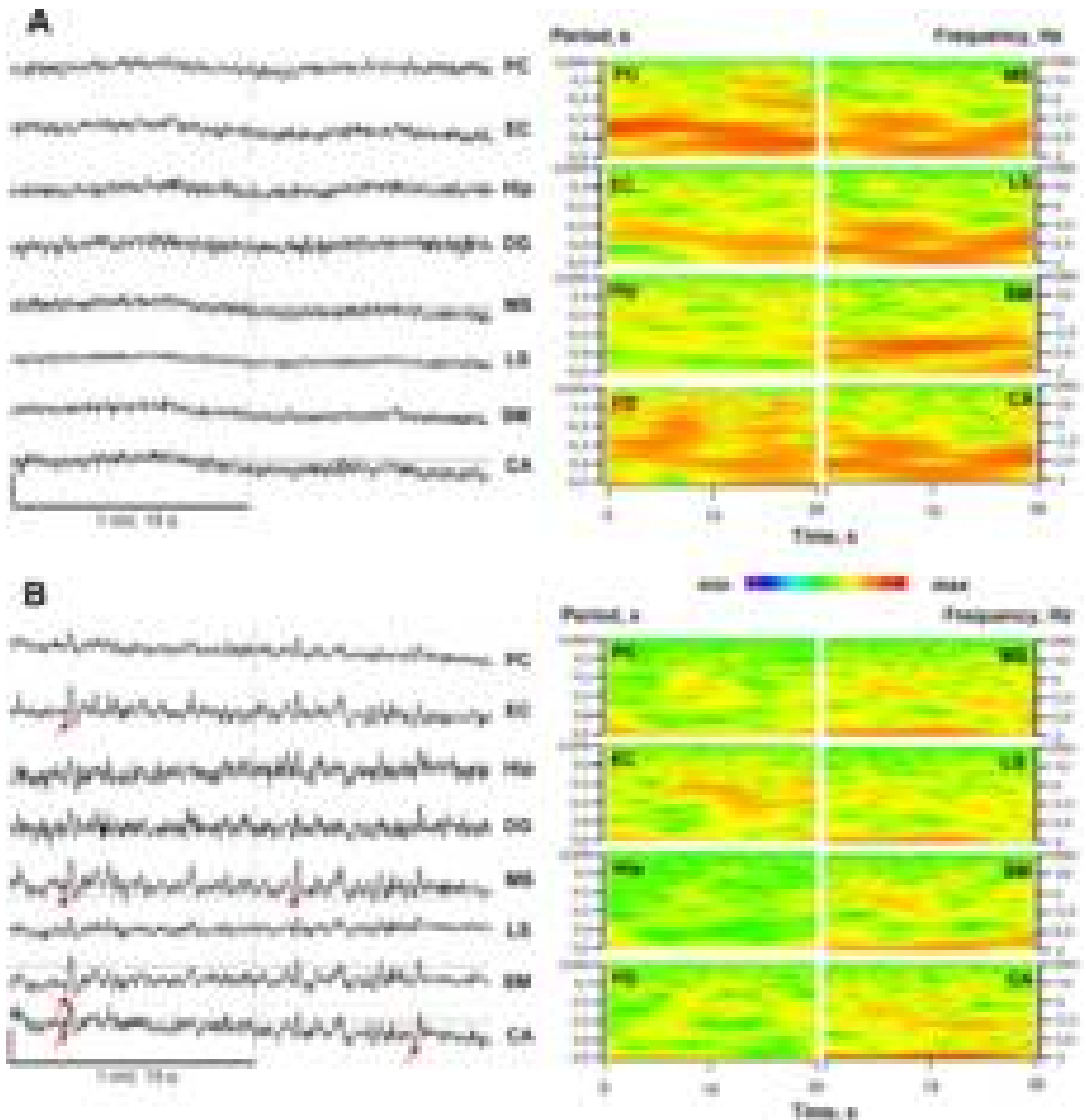


Рисунок 90. Типичное изменение активности восьми структур мозга одного и того же животного, зафиксированное в контрольном эксперименте (А) и после хронического (в течение 20 дней) введения L-глутамата в медиальной септальной области (Б). Показаны естественные LFP (слева) и вейвлет-анализ (справа) для тех же фрагментов активности. После повторного введения L-глутамата во всех структурах можно увидеть появление резких эпилептиформных явлений (некоторые из них отмечены стрелками) и уменьшение осцилляций (показано вейвлет-анализом). Обозначения конструкций

как на Рисунок 89. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // Epilepsy Res. – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.epilepsyres.2014.10.022

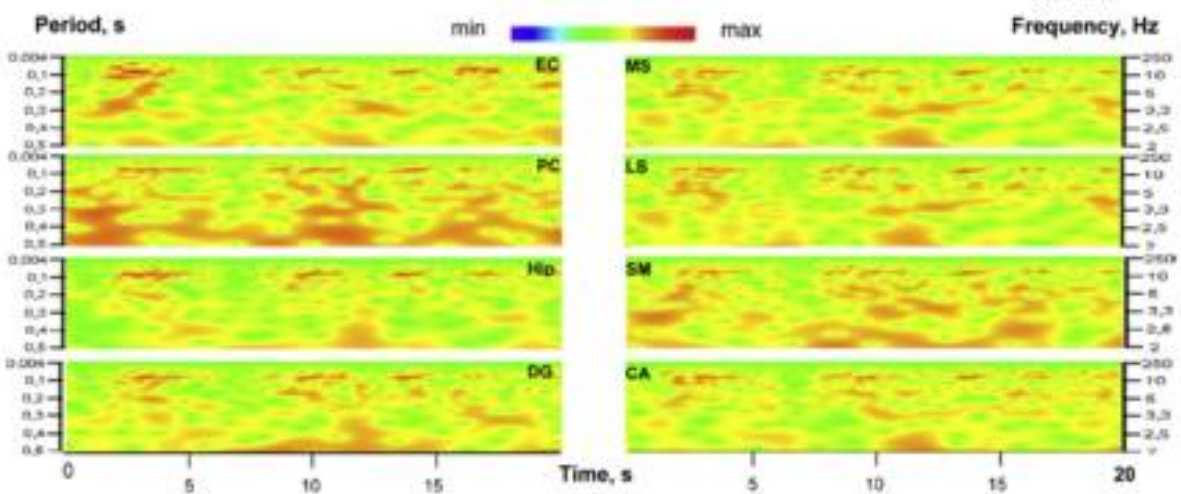
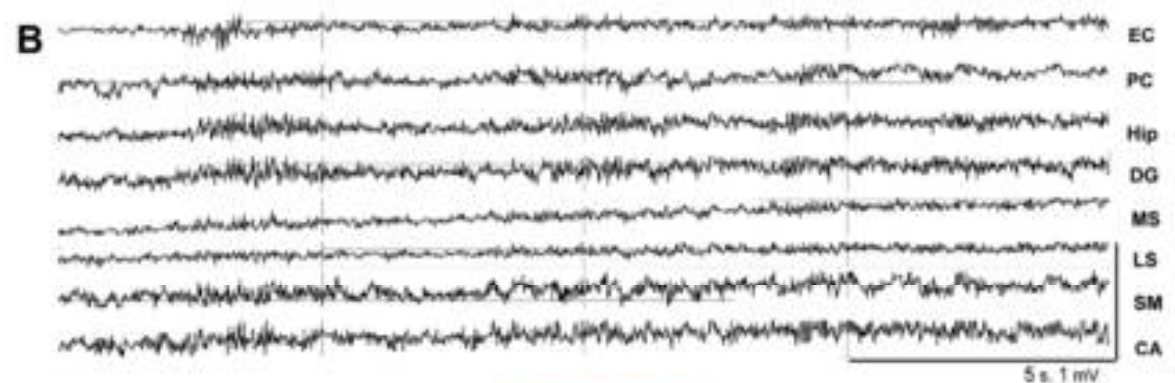
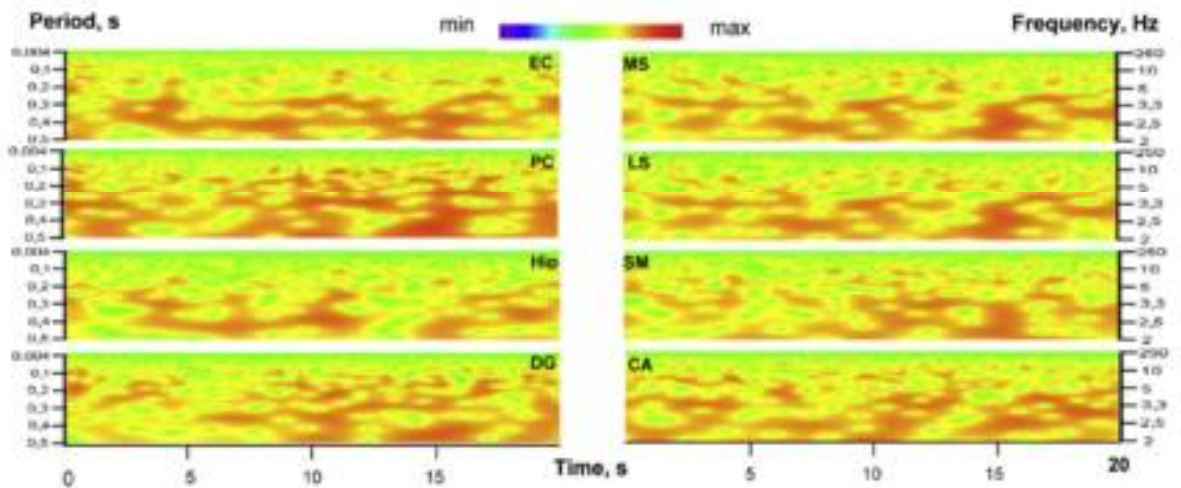
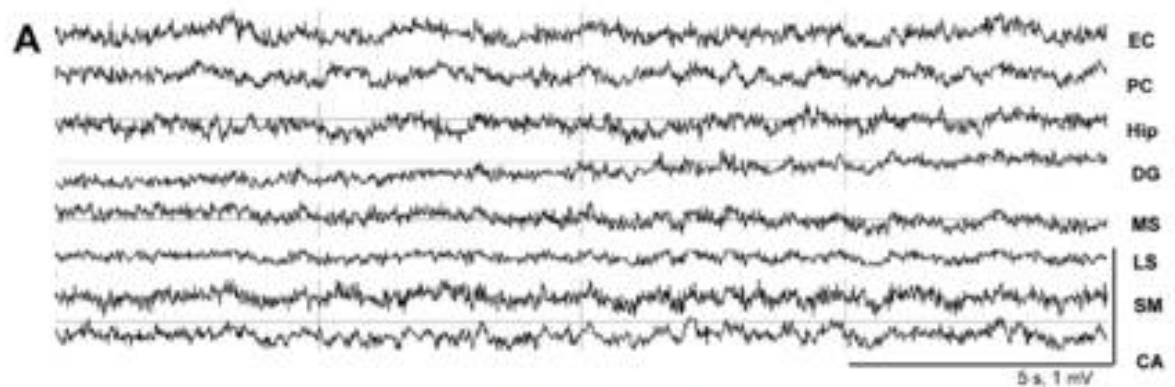


Рисунок 91. Колебательная активность в восьми структурах мозга одного и того же животного, зарегистрированная в контрольном эксперименте (А) и после длительного (60 дней) введения L-глутамата в медиальной септальной области (Б). Показаны естественные LFP (вверху) и вейвлет-анализ (внизу) для тех же фрагментов активности. Видно, что колебания сильно уменьшились после длительного введения L-глутамата. Обозначения конструкций как на Рисунке 88. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // *Epilepsy Res.* – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.epilepsyres.2014.10.022

Амплитуда гамма-осцилляций снизались во всех исследованных структурах (**Рисунок 87 Б**). В медиальной септальной области и зубчатой извилине снизились амплитуды риплз-колебаний (высокой частоты)), однако, их частота незначительно возросла в зубчатой фасции, энторинальной коре и центральном ядре миндалина. Изменения риппл-колебаний проявлялись раньше (на 20–25-й день инъекции), по сравнению с изменениями в остальных ритмах. Показатели фазовая вейвлет-когерентности достоверно снизились у тета-ритмов в энторинальной коре и гиппокампе, а у гамма-ритмов в медиальной септальной области и центральном ядре миндалина (**Таблица 17**).

В ходе исследования были выявлены двухэтапные события с высокой амплитудой в случайной активности всех структур (интериктальные спайки). (**Рисунок 91**). У некоторых животных судорожная активность проявлялась спонтанно через 40 дней после хронического введения L-глутамата.

Кроме того, наблюдалось изменение поведения животных: они стали более возбудимыми, проявляли автоматизмы (интенсивное и продолжительное вылизывание, жевание), длительное замирание, тревожность, в редких случаях наблюдалось непроизвольное дрожание тела, ритмичные движения и падения (2, 3 и 5 стадии по классификации судорожного поведения Расина) (Racine, 1972). Гистологический анализ тканей мозга у таких животных показал изменения в структуре гиппокампа: увеличение количества отростков у зернистых клеток зубчатой извилины.

4 Обсуждение

Динамика физиологических параметров биологических объектов сама по себе является крайне интересным и информативным объектом для исследований. Свойство биологических объектов различной природы и уровня организации демонстрировать осцилляции физиологических параметров, распределенные в широком диапазоне периодов от долей до тысяч секунд, и связанные с различными функциями биологических объектов, позволяет исследователю косвенно оценивать состояние биологического объекта, отклонение от нормы. Примеры таких осцилляций подробно описаны в разделе "Обзор литературы".

Современный математический аппарат позволяет не только исследовать амплитудную модуляцию осцилляций физиологических параметров биологических объектов, но и получать информацию о взаимосвязи ритмических компонентов, регистрируемых для разных физиологических параметров. В данной работе показано (раздел 3.2.3), что в биологических объектах с крайне нелинейными свойствами путей трансдукции сигналов, при условии регистрации сигналов в двух и более точках, возможно определение направления передачи сигнала по степени нелинейного искажения регистрируемых ритмических компонентов. При этом, разумеется, сложность анализа корреляций состоит в том, что количество результирующих корреляционных коэффициентов растет в квадратичной зависимости от количества регистрируемых от объекта каналов, и в случае, например, регистрации внутриклеточных концентраций в клеточной популяции, при анализе 32 клеток и двух каналов от каждой клетки (цитозольные концентрации кальция и продукции оксида азота) результат анализа представляет собой корреляционную матрицу из $64^2=4096$ биспектральных карт (раздел 3.4.4). Сами биспектральные карты представляют собой двумерные матрицы, поэтому анализ первичных данных биспектрального анализа нуждается в разработке автоматизированных

процедур анализа или интегральных параметров, редуцирующих объем данных для последующей экспертной оценки. Вариант такого подхода реализован в разделе 3.4.3 (рисунки Рисунок 62, Рисунок 63 и Рисунок 64) в виде анализа карт путем поиска пиков, и представление данных биспектральных карт в виде положения пиков по частоте и их амплитуды. Однако данная работа по поиску решений в области автоматизированного анализа биспектральных данных будет продолжена. Второй большой проблемой при анализе корреляционных параметров частотно-спектральных данных является высокая вычислительная затратность данных методов. При использовании компьютера со следующими характеристиками: процессор i5-12400F 2.5ГГц, 16ГБ ОЗУ, видеокарта NVidia RTX3060, вычисление биспектра по набору данных длиной около миллиона измерений стандартной процедурой, опубликованной в приложении к статье (Newman et al., 2021), выполняющейся в среде Matlab 2017 (Mathworks, USA), занимает около 2600 секунд. Вычисление фазовой вейвлет-когерентности происходит немногим быстрее. И здесь на первый план выходят подходы к ускорению вычислений на видеокартах, что также является очевидным направлением дальнейших усилий по развитию данной тематики. Разработанная автором (но пока не опубликованная) процедура вычисления биспектра с использованием вычислений на видеокарте с помощью библиотеки CuFFT и авторской процедуры свертки занимает 168 секунд при вычислении на этом же компьютере, но уже с использованием ускорения вычислений при помощи видеокарты, т.е. ускорение составляет 15х раз. Третьей проблемой (а скорее особенностью) при анализе корреляционных параметров частотно-спектральных данных является адекватный подбор нормировок. В частном случае эта задача описана и решена в разделах 1.14 и 1.15. В разделе 1.14, посвященном вычислению фазовой вейвлет-когерентности приводится два варианта нормировки: в первом случае нормируется длина каждого вектора при вычислении комплексной суммы. При этом, в случае глубокой

амплитудной модуляции ритмического процесса в сигнале, результат вычисления фазовой когерентности будет отражать не столько изменение в фазовой синхронизации исследуемых сигналов, сколько скважность амплитудной модуляции. Использование формулы из работы (Podtaev et al., 2008) решает эту проблему, что важно для биологических сигналов с амплитудной нестационарностью, в частности, сигналов электроэнцефалографии. В случае биспектрального анализа возможности для конструирования адекватных нормировок, в зависимости от решаемой задачи и проверяемой гипотезы, гораздо шире, что дает возможность, например, определять параметры передачи сигналов и нелинейных искажений, как это показано в разделе 3.2.3. Кроме того, в данной работе представлен метод анализа субгармоник на основе метода фазовой вейвлет-когерентности (раздел 3.2.2). Данный метод, в какой-то степени является аналогом биспектрального анализа, так как позволяет выявлять межчастотные корреляционные параметры, но не учитывает синтез сигналов путем их перемножения. Данный метод был разработан для проверки гипотезы о субгармоническом механизме генерации ритмов в центральной нервной системе при анализе электроэнцефалограмм.

Подытоживая результаты по разработке и адаптации методов анализа синхронизаций и нелинейных искажений сигналов, представленных в данной работе, представляется, что в идеальном случае, анализ должен включать оценку:

- 1) амплитудной модуляции синхронных компонентов сигнала по корреляции модулей вейвлет-коэффициентов,
- 2) фазовой вейвлет-когерентности с нормировкой по формуле, представленной на рисунке Рисунок 16. Сравнение методов вейвлет-когерентности и кросс-корреляции по способу подсчета накопленной суммы комплексных произведений вейвлет-коэффициентов. Рисунок автора.

3) биспектрального анализа.

Далее путем сравнения результатов всех этих видов анализа можно сделать выводы о степени амплитудной и фазовой синхронизации колебаний, о нелинейных искажениях сигнала в различных точках или узлах и о сетевой организации системы передачи сигнала в биологическом объекте, т.е. получать в том числе и структурную информацию о изучаемой биологической системе.

Кроме математического инструментария, в данной работе уделено внимание и разработке аппаратных средств для регистрации многоканальных записей физиологически-значимых параметров у биологических объектов. К сожалению, эта работа стала вынужденной мерой, поскольку готовые измерительные системы для микрофлуоресцентной регистрации внутриклеточной сигнализации в клетках, импульсного флуоресцентного исследования фотосинтетического аппарата растений не подходят для длительных измерений, зачастую содержат источники артефактных низкочастотных ритмов, попадающих в регистрируемые ряды данных. В случае микрофлуоресцентных систем, основой успеха стали отказ от дуговых источников освещения в пользу светоизлучающих диодов, адаптация цифровой камеры (произведенной компанией ООО "Спецтелетехника", Москва) и интеграцией термостата для стабилизации температуры клеточного материала, концепция которого была разработана автором для ультразвукового спектрометра фиксированной длины (Astashchev et al., 2014). Все это позволило зарегистрировать временные ряды в широком частотном диапазоне (например для клеток длительность записи составляла около 900 секунд, при периоде регистрации 1 секунда, т.е. около трех декад в частотном диапазоне).

В данной работе представлен анализ взаимосвязи динамики таких параметров биологических систем как цитозольные концентрации кальция и продукции оксида азота в клетке, взаимосвязь динамики цитозольных

концентраций кальция и продукции оксида азота в различных клетках одной клеточной популяции, взаимосвязь процессов открывания (активации) и закрывания (инактивации) калиевого ионного канала, ритмов в энцефалографических записях электрической активности мозга, преобразования внешнего светового сигнала в физиологических сигнальных системах растений.

В ионных каналах впервые было показано увеличение нормированного показателя биспектра для закрытых времен жизни канала, при увеличении трансмембранного потенциала, что указывает на увеличение генерации гармоник в сигнале, а следовательно на увеличение нелинейных свойств активационного механизма в ответ на увеличение трансмембранного потенциала (поскольку время жизни канала в закрытом состоянии определяется именно временем срабатывания активационного механизма). Таким образом, помимо указанных в Обзоре литературы источников нелинейных свойств в передаче биологических сигналов (раздел 1.11), добавился еще один источник в виде изменения внутренних молекулярных свойств белка-машины при конформационных переходах при изменении внешних управляющих сигналов. Аналогичные свойства следует ожидать и в других молекулярных сенсорах: механо-, термо- и лиганд- чувствительных рецепторах клеточной мембраны, что является интересным направлением дальнейших исследований.

На уровне клеток, исследования были сконцентрированы на неэлектровозбудимых клетках. Причины для такого выбора заключались в следующем: коммуникация и ритмические свойства динамики физиологических параметров неэлектровозбудимых клеток гораздо хуже изучены, возможна взаимосвязь коммуникации и ритмических свойств динамики физиологических параметров неэлектровозбудимых клеток с ритмами, выявляемыми на уровне тканей организма (например, в микроциркуляторном русле), характерные времена осцилляций в

неэлектровозбудимых клетках лежат в диапазоне от 10 секунд и более, что облегчает их регистрацию при использовании микрофлуоресцентной системы регистрации. В результате исследования колебаний цитозольных концентраций кальция и продукции оксида азота в культивируемых эндотелиоцитах мы показали увеличение показателей биспектра в отдельных клетках и числа синхронизованных (по показателям биспектра) клеток при анализе рядов динамики цитозольной концентрации кальция при увеличении температуры от 37 до 40 градусов Цельсия. При этом, ранее по показателям фазовой когерентности в аналогичных условиях мы наблюдали (Serov et al., 2022) уменьшение как средней амплитуды осцилляций цитозольной концентрации кальция в эндотелиальном ритмическом диапазоне, так и разрушение синхронизации при анализе рядов данных с помощью фазовой вейвлет-когерентности. Это указывает на то, что увеличение показателей биспектра при увеличении температуры происходит, вероятнее всего, по причине увеличения амплитуды второй гармоники основного (эндотелиального) ритма, т.е. из-за увеличения нелинейных параметров пути передачи сигналов как между клетками, так и по внутриклеточным путям. Однако, с помощью культивируемых эндотелиоцитов мы не смогли решить задачу управления долей клеток, проявляющих спонтанные колебания. Во всех экспериментах эта доля не превышала 15% для гранулоцитов (Рисунок 55), для эндотелиоцитов величина была аналогичной. Долю клеток определяли как по выявлению ритмического процесса с помощью вейвлет-преобразования, так и с помощью оценки статистических моментов высших порядков (Рисунок 53). Такое незначительное количество спонтанно осциллирующих клеток вызывало вопрос о значимости наблюдаемого эффекта. Были предприняты попытки различными внешними химическими стимулами вызывать транзистентные ответы. У эндотелиоцитов доступный набор таких стимулов достаточно невелик. В качестве неэлектровозбудимых клеток с широким спектром внешних химических (а значит, легко

контролируемых) воздействий, и с хорошо изученными функциональными ответами, а также легко морфологически идентифицируемые клетки, нами были выбраны гранулоциты костного мозга. С помощью различных химических стимулов (W-белок, иммуноглобулин G, АТФ) были получены оценки доли популяции, отвечающей на стимул (Рисунок 53, Рисунок 64, **Ошибка! Источник ссылки не найден.**). В результате этих экспериментов было выяснено, что процент клеток с ответами на внешние химические стимулы не превышает 25%, и наблюдаемая в экспериментах с эндотелиоцитами небольшая доля активных клеток является нормально.

Чтобы проверить возможную стимуляцию перераспределения ритмов ранее мы исследовали частотный ответ эндотелиоцитов в диапазоне эндотелиального ритма на внешнюю стимуляцию ритмическим воздействием (Serov et al., 2022). Мы провели стимуляцию клеток периодическими колебаниями температуры с частотой 0,02 Гц (период 50 с). Мы обнаружили парадоксальный эффект подавления эндотелиального ритма (Рисунок 92). Однако такой эффект может быть объяснен аналогичным поведением модели нейрона Фицхью-Нагумо (см. раздел 1.11.1 Обзора литературы, стр. 99) при высокочастотной модуляции (Cubero et al., 2006).

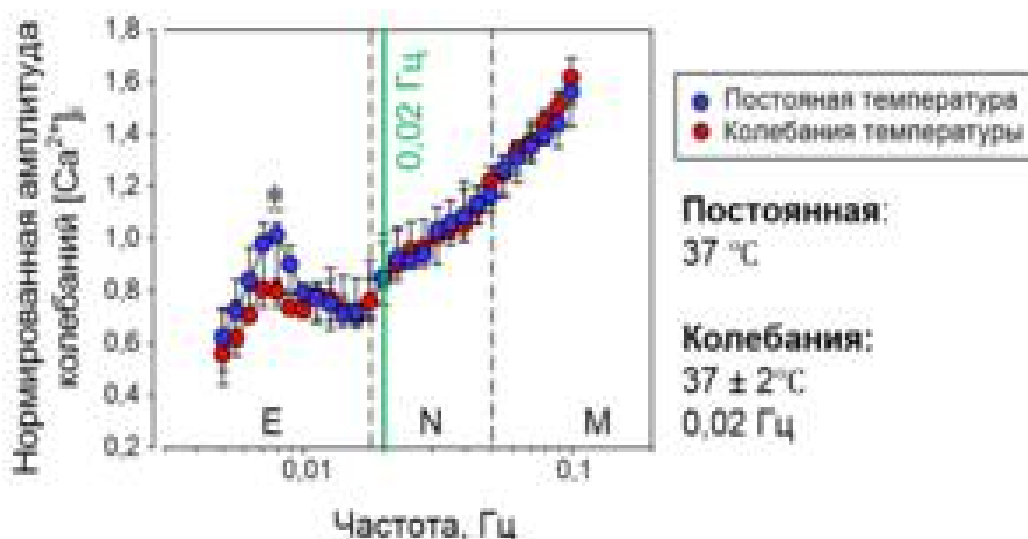


Рисунок 92. Подавление эндотелиального ритма в эндотелиоцитах при периодическом воздействии колебаний температуры с частотой 0,02 Гц . Адаптировано из (Serov et al., 2022).

Нами была обнаружена высокая гетерогенность эндотелиальных клеток по способности генерировать синхронизованные колебания цитозольного Ca^{2+} и продукции NO. Согласно математическим моделям на основе модели случайных графов Эрдёша — Реньи и модели безмасштабных сетей Барабаши — Альберта было показано, что в генерации кальциевых осцилляций в клетке важную роль играет синхронизация отдельных кластеров RyR рецепторов на эндоплазматическом ретикулуме (Gao et al., 2023). Мы предполагаем, что, возможно, подобная «самосинхронизация» для конкретных клеток может делать её водителем ритма для других. Кроме того на моделях кальций-индуцированного кальциевого выброса было показано, что явления многовременного масштаба, фазовой синхронизации, хаоса и переходов антифазовой синхронизации могут быть обнаружены отдельно в связанных системах путем изменения силы связи (Ji et al., 2017). Сочетание моделей, например, включение в модель кальций-индуцированного кальциевого выброса потока Ca^{2+} через Na/Ca-обменник с участием внеклеточного глутамината также хорошо показало себя при описании передаче «синхронизирующего сигнала» от клетки к клетке (Ross, 2021). Участие секретируемых и/или диффундируемых агентов было предположено нами в предыдущей работе (Serov et al., 2021), но представленные в Результатах (3.4.3) данные о расстоянии синхронизованных клеток (Рисунок 59) указывают на участие малых молекул в процессе диффузионной синхронизации. На примере нейронов гиппокампа было показано, что способность к синхронизации осцилляций цитозольного кальция значительно зависит от экспрессии рецепторов на субпопуляциях клеток, например, CP-AMPA (Zinchenko et al., 2021). Для других клеточных типов возможны различия в экспрессии других рецепторов и/или активности внутриклеточных сигнальных молекул (Kapela et al., 2012; Khazen et al., 2022). Как на беспозвоночных, так и позвоночных было показано, что гетерогенность клеток по способности генерировать кальциевые осцилляции

играет ключевую роль в развитии тканей и органов эпителиального и эндотелиального происхождения (Balaji et al., 2017; Yokota et al., 2015). В нашем случае гетерогенность также наблюдалась, что подтверждает литературные данные. Однако, стоит отметить, что она значительно менее выражена, чем в эмбриональных моделях.

В культуре нейронов коры, изолированных из коры головного мозга эмбрионов крысы с помощью методов анализа временных корреляций были получены результаты, сходные с нашими (Li et al., 2007; Rubinov & Sporns, 2010). Клетки обладают направленной синхронизацией осцилляций Ca^{2+} , гетерогенны по способности к синхронизации, могут быть объединены в кластеры с разной степенью синхронизации, стрессовые воздействия (механический стресс) изменяют степень синхронизации и распределение синхронизированных клеток (Patel et al., 2011). Однако, работ по оценке синхронизации колебаний цитозольного кальция и/или продукции NO в единой популяции электроневозбудимых клеток нами обнаружено не было. Таким образом, данные результаты о возможности синхронизации, направленной передаче сигналов в неэлектронеозбудимых клетках нами получены впервые.

Инструменты, основанные на теории графов, получили широкое применение при анализе данных ЭЭГ, с целью количественного описания синхронизации ритмов между участками коры в норме и при патологических состояниях (Chiarion et al., 2023). В дальнейшем мы планируем проверку возможности применения методов теории графов для улучшения анализа получаемых нами по показателям биспектров матриц синхронизации клеток.

Данные об эффектах повышенной температуры на осцилляции скорости продукции NO согласуются с ранее полученными результатами и литературными данными (Du et al., 2001; Kimura et al., 1998; Paltauf-Doburzynska et al., 2004; Pandey et al., 2014; Serov et al., 2021). Однако

количественная оценка синхронизации клеток по колебаниям цитозольного Ca^{2+} и продукции NO в популяции клеток в рамках одной работы нами была выполнена впервые. Мишенями теплового воздействия могут быть TRPV-зависимые сигнальные пути, eNOS, HSP-зависимые сигнальные пути, которые в конечном итоге регулируют продукцию NO (Beddek et al., 2021; Boulay et al., 2009; Watanabe et al., 2002; Wong & Fieger, 2010).

Различия между направлениями синхронизации $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{NO}$ или $\text{NO} \rightarrow \text{Ca}^{2+}$ у разных клеток указывает на значительную гетерогенность клеточной популяции эндотелиоцитов, что согласуется с литературными данными (Aird, 2011) (Serov et al., 2021). Наличие «направленной синхронизации» и «водителей ритма» среди эндотелиоцитов также описано в литературе и объясняется различиями во внутриклеточных сигнальных путях, доминирующих в клетке пейсмекере и соседних клетках (Balaji et al., 2017; Kiuchi et al., 2019; Yokota et al., 2015). Возможность интеграции колебаний цитозольного Ca^{2+} и продукции NO в циклические сигнальные пути с разными участниками подтверждается литературными данными (Berra-Romani et al., 2019; Turovsky et al., 2013). К сожалению, на данном этапе мы не можем точно сказать, за счёт каких внеклеточных агентов происходит синхронизация клеток. Известными из литературных данных агентами могут выступать: эндотеллин-1, ацетилхолин, АФК, NO и его формы и другие сигнальные молекулы (Berkels et al., 2000; Cooke & Ghebremariam, 2008; Davenport et al., 2016; Liu & Wang, 2001; Marziano et al., 2017; Sakurada et al., 2019; Suresh et al., 2015; Wilson et al., 2019). Следовательно, субпопуляции эндотелиоцитов с разными направлениями синхронизации $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{NO}$ или $\text{NO} \rightarrow \text{Ca}^{2+}$ должны иметь разную «чувствительность» к разным внеклеточным посредникам и различаться по способности к секреции/высвобождению сигнальных молекул. Как минимум, разные клетки должны иметь различные уровни экспрессии рецепторов для

соответствующих агентов. Экспериментальная проверка указанных предположений будет задачей для будущих исследований.

В последнее время нанотехнологии и нанобиотехнологии находят всё больше применений в медицине и хозяйственной деятельности (Gudkov et al., 2023; Nikolova & Chavali, 2020). Однако, в ряде случаев наночастицы могут оказывать цитотоксическое действие через Ca^{2+} -зависимые сигнальные пути (Lee & Hong, 2019). Кроме того, возрастает интерес к применению наночастиц для доставки оксида азота в сельском хозяйстве и медицине (Gudkov et al., 2022; Lee & Hong, 2019; Quinn et al., 2015). Эффекты на клеточную физиологию ещё предстоит всесторонне изучить, чтобы исключить риски цитотоксичности. Мы считаем, что исследование действия наночастиц и наноматериалов на межклеточные взаимодействия (и синхронизацию клеток) позволит лучше оценить их потенциальную цитотоксичность и избежать неблагоприятных последствий.

Кроме того, нами было показано, что повышение температуры способно изменять АЧХ синхронизированных колебаний (Таблица 12). Мы считаем, что это очень важное дополнение позволяющее получать дополнительную информацию о модификации внутриклеточных сигнальных путей и набора секретируемых «синхронизирующих» молекул во внеклеточную среду. Изменение частоты и амплитуды синхронизированных колебаний может указывать на сокращение/удлинение цепочки сигнальных событий в клетке и изменение экспрессии/активности отдельных сигнальных компонентов (Turovsky et al., 2012; Turovsky et al., 2013).

В экспериментах с растениями была предпринята попытка решить несколько задач: сравнить возможности получения временных рядов с широким частотным диапазоном (хотя бы 3 порядка диапазона частоты), изучить возможность синхронной многоканальной записи от одного растения нескольких физиологических параметров, изучить возможность исследования линейности путей трансдукции сигнала у растительного

объекта, изучить изменения в путях трансдукции сигнала у растений под действием какого-либо стрессового стимула. Часть результатов, полученных в ходе решения данных задач представлена в данной работе. Для определения оптимального стрессового воздействия, его длительности и принципиального исследования физиологического состояния растения был использован метод импедансометрии растительных тканей, основанный на изменении электрической проводимости сосудистой системы растения в зависимости от содержания в растении воды и электролитов, а также серьезных повреждений и восстановлении растения после них (например, при заживлении прививки). Данный метод оказался весьма чувствительным при определении срока засухи (Рисунок 82) и позволил определить предельный срок измерений, в течении которого можно считать растение относительно стабильным по содержанию воды. От этого периода (3 дня) далее строился весь дизайн эксперимента. При измерении флуоресценции хлорофилла методом импульсной флуориметрии мы использовали прибор, отличающийся от промышленных образцов двумя основными особенностями: 1) разработанный нами прибор позволял регистрировать интегральную флуоресценцию с целого растения размером около 20 см; 2) разработанный нами прибор позволял регистрировать непрерывные временные ряды базовой линии флуоресценции с периодическими всплесками насыщающего света, которые в нашем случае, оказывали на растение внешнее ритмическое воздействие, которое вызывало в фотосистеме II периодический всплеск электронного потока с последующей релаксацией. По всей видимости, именно изменение формы релаксационной кривой оказалась тем свойством, к которому проявил чувствительность биспектральный анализ в одноканальном варианте. При рассмотрении исходных записей (Рисунок 65, вкладки) путем усреднения нескольких повторяющихся ответов, это изменение можно разглядеть с трудом. Известно, что релаксация флуоресцентного ответа после насыщающей

вспышки носит характер мультиэкспоненциального асимптотически затухающего ответа (Rout & Das, 2013). Выраженность этих отдельных экспонент и приводит к изменению формы ответа, что, как представлено на биспектральной карте (Рисунок 71) и зависимости показателей диагональных элементов карты биспектра от частоты (Рисунок 72), хорошо идентифицируется биспектральным анализом. Результативность такого подхода трудно переоценить, и если подобные изменения удастся зарегистрировать в лабораторных условиях, то есть надежда, что и в условиях, по крайней мере, закрытого грунта (теплиц) также удастся определять растения (или их компоненты) находящиеся в состоянии стресса от засухи по причине недостаточного полива (это проблема гидропоники, где, зачастую питательный раствор может просто не доходить до отдельных элементов системы полива), повреждений механического или фитопатогенного характера. Возможно это потребует разработки нового приборного обеспечения в виде импульсной флуориметрической системы с цифровой камерой для картирования растительных объектов, но в любом случае, это выглядит перспективным направлением дальнейших исследований.

В работе впервые показано, что колебания во многих областях мозга и корреляции между корковыми и подкорковыми структурами сильно изменяются в результате длительной повторной активации локальной глутаматергической системы в медиальной септальной области и сенсорной зрительной стимуляцией.

Существуют многочисленные описания того, что мощность (т.е., амплитуда) и синхронизация ритмов ЦНС коррелирует с когнитивными процессами; например, показаны корреляции между мощностью осцилляций и типом сенсорного стимула, вниманием, или степенью достижения результата при умственной работе (Hipp et al., 2011; Lin et al., 2024; Tallon-Baudry, 1999; Thut et al., 2006). В нашей работе показано усиление

когерентности (т.е. фазовая синхронизация) всех ритмов, как в кортикальных, так и в субкортикальных структурах после сенсорного светового возбуждения. То есть, синхронизация ритмической активности в различных областях мозга способствует полномасштабной обработке поступающей извне информации. Мы обнаружили, что в латеральной септум и зубчатой фасции амплитуда тета-ритма после сенсорной стимуляции не возрастала, но при этом наблюдалось усиление фазовой когерентности тета-альфа и тета-гамма ритмов; аналогично, в гиппокампе не было возрастания альфа ритма после сенсорного возбуждения, но было усиление альфа-тета и альфа-гамма синхронизации (см. Рисунок 87).

Мы продемонстрировали, что степень вейвлет-когерентности ритмов коррелирует с амплитудой соответствующих ритмов в структурах. Это наблюдение было сделано впервые. Например, дельта-ритм во всех областях имел наибольшую амплитуду, и фазовые когерентности между структурами были наибольшими именно в этом диапазоне. Однако, такую закономерность наблюдали не во всех случаях. Но в случае, если тета-колебания были значительно слабее дельта-колебаний, то корреляции между гиппокампом и некоторыми другими структурами в диапазоне тета-ритма были такими же или даже более сильными, чем в диапазоне дельта -ритма. При этом, хотя гамма- и высокочастотные (рипл) колебания были схожи мощности, когерентность в гамма-диапазоне была гораздо выше, чем в высокочастотном диапазоне.

В ходе исследования было установлено, что сенсорные сигналы оказывают наиболее заметное влияние на взаимодействие тета- и альфа-ритмов в центральном ядре миндалины. В диапазоне тета- и гамма-частот усиление взаимодействия наблюдалось во фронтальной коре. В энторинальной коре взаимодействие альфа- и гамма-частот усиливалось в наибольшей степени.

В рамках исследования впервые был проведён анализ изменений интенсивности и корреляции ритмической активности в нескольких диапазонах частот (тета, альфа и гамма) в кортикальных и субкортикальных структурах при восприятии животным сенсорных световых сигналов.

При воздействии нового сенсорного стимула было зафиксировано усиление осцилляторной активности в различных частотных диапазонах во многих структурах, но не во всех. Ранее было продемонстрировано увеличение тета- и гамма-осцилляций в гиппокампе и кортикальных областях при подаче сенсорных сигналов и регистрации нейронной и суммарной активности у животных (Buzsáki, 2006; Vinogradova, 1995). Кроме того, было обнаружено усиление альфа-, бета- и гамма-ритмов во многих областях мозга при регистрации электроэнцефалограммы у человека (Morenko, 2014).

Данные наблюдения могут быть объяснены через концепцию формирования ритмической активности посредством полосовой фильтрации исходно широкополосных сигналов в нейрональной сети, которая была показана на моделях сети из элементов модели Фитцхью-Нагумо (Zhao et al., 2006). При этом, увеличение синхронизации ритмов, и увеличение амплитуды высокочастотных ритмов после раздражающего воздействия (сенсорной стимуляции или фармакологического воздействия) может быть объяснено либо как ухудшение фильтрующих свойств сети, уменьшение ее добротности, приводящее к уширению полосового фильтра, либо, как усиление синтеза высокочастотных колебаний из низкочастотной ритмики посредством усиления нелинейных свойств трансформации сигнала при передаче сигнала от структуры к структуре. В любом случае, наблюдаемая фазовая когерентность между низко- и высокочастотными ритмами означает, что высокочастотные ритмы являются гармониками более низкочастотных ритмов (или же, низкочастотные ритмы являются субгармониками высокочастотных ритмов), что может свидетельствовать об изменении

нелинейных свойств путей передачи ритмической активности между структурами мозга при выводе ЦНС из состояния условного покоя.

Изменения ритмической активности при хроническом введении неселективного агониста глутаматных рецепторов (L-глутамата) в медиальную септальную область в кратковременном протоколе также аналогичны тем, которые наблюдались при сенсорной стимуляции, при этом очевидно, что физиологическая система в целом имеет механизмы компенсации таких раздражений, что видно в долговременном протоколе введения L-глутамата (Таблица 17): наблюдается снижение амплитуды и частоты колебаний тета-ритма во всех структурах при длительном введении препарата.

5 Заключение

Разработка адекватных подходов для описания состояния биологических систем, является актуальной задачей для экспериментального исследования сложной биологической системы. Такие подходы, согласно структуре экспериментального цикла системной биологии, должны включать автоматизированные методы регистрации экспериментальных данных и методы анализа этих данных. В биофизических экспериментах один из наиболее простых и доступных методов регистрации данных, характеризующих состояние биологической системы, является регистрация физико-химических параметров в динамике, иначе говоря, получение временных рядов. Методы регистрации временных рядов для этих целей должны обеспечивать стабильность измерительных условий, включая как стабильное состояние биологического объекта (что в случае микрообъектов является нетривиальной задачей), так и стабильное состояние измерительной системы в течении всего времени измерения, которое в случае экспериментов с животными, невозбуждаемыми клетками и ионными каналами составляло в наших экспериментах десятки минут, а в случае экспериментов с растениями - несколько суток. Методы анализа временных рядов должны обладать достаточной, но не избыточной информативностью, для адаптации сложной математической модели к наблюдаемым в эксперименте эффектам, достаточной чувствительностью к внешним тестовым воздействиям для выявления слабых эффектов в биологических системах, возможностью анализировать интактные биологические системы без необходимости подачи гармонических опорных сигналов.

В процессе решения задачи построения автоматизированных систем регистрации временных рядов, были разработаны и построены уникальные образцы измерительной биофизической техники. Самым масштабным

проектом модернизации, реализованным в процессе выполнения диссертационного исследования, стал комплекс микрофлуориметрического измерения цитозольной концентрации кальция и продукции оксида азота, для которого были заново сконструированы и построены: конденсор флуоресцентного осветителя на базе оптических элементов из кварца, светодиодный коллимированный источник света со светодиодами 340, 380, 490 нм и широкополосным источником белого света, источник питания и управления светодиодного осветителя, блок термостабилизации образца, блок управления электромеханическим препаратоводителем. Также были построены приборы для измерения флуоресценции хлорофилла в импульсном режиме, импедансометр для тканей растений, система для регистрации сигналов ЭЭГ. Все эти разработки позволили с минимальными искажениями и артефактами зарегистрировать параметры биологических объектов в динамике в широком диапазоне частот (отношение минимальной к максимальной частоте 10^3 - 10^4), что позволило использовать спектральные методы второго порядка (биспектральный и фазово-когерентный анализ).

Изменение мощности высших гармоник, появляющихся в процессе прохождения сигнала по нелинейным (по функции передачи сигнала) путям, является интересным свойством сигнала, которое в настоящий момент доступно для исследования с помощью современных методов измерения и анализа биологических сигналов. Это свойство позволяет, в зависимости от дизайна эксперимента, решить 2 задачи:

1. анализ одноканального или многоканального временного ряда, заключающийся в измерении амплитуды гармоник, полученных в результате воздействия на объект внешнего гармонического воздействия; такой анализ позволяет выявить взаимосвязь между мощностью высших гармоник в сигналах и самим фактом воздействия; данный подход напоминает классический метод измерения коэффициента нелинейных искажений;

2. анализ многоканального временного ряда, заключающийся в измерении амплитуды синтетических, фазово-синхронизованных гармоник, позволяющий исследовать структуру передачи сигналов между каналами.

Первый вариант использовался нами в растениях при анализе изменений в динамике флуоресценции хлорофилла. Второй вариант использован в эндотелиоцитах при анализе спонтанных колебаний концентрации внутриклеточных сигнальных молекул, при анализе динамики воротного механизма калиевого канала, локальных полевых потенциалов.

Для анализа данных было необходимо программное обеспечение. К сожалению, биспектральный анализ и непрерывное комплексное вейвлет-разложение с использованием лог-нормального вейвлета не входят в состав пакетов математического анализа (например, в Matlab и подобные системы), и это требовало разработки авторского программного обеспечения. В процессе данной работы были решены все методические трудности и получены вдохновляющие результаты.

В результате биспектрального анализа исследователь получает двумерную карту зависимости показателя биспектра от пары частот, интерпретация которой не так привычна, как обычные графики амплитудно-частотных характеристик временных рядов. Для иллюстрации возможностей биспектрального анализа, нами были исследованы математические модели генерации сигналов, с учетом нелинейной функции искажения сигнала в виде квадратичной функции. Также были получены правила нормировки показателей биспектра, позволяющие непосредственно оценивать величину квадратичного члена функции искажения сигнала.

Анализ токов через одиночные каналы представляет особый интерес, поскольку, с одной стороны, временные ряды активности одиночных каналов являются самыми высокодетализированными данными о динамике конформационных переходов одиночного молекулярного комплекса, а с другой стороны сам выбранный нами объект - калиевый канал - является

базовым элементом биологических процессов в клеточной мембране. В данной работе проанализированы временные ряды активности одиночных калиевых (потенциалозависимых и кальций-зависимых) каналов длительностью 10-15 минут, что дало возможность выделять последовательности времен жизни объемом до 10^4 событий. Применение биспектрального и фазово-когерентного анализа впервые позволило установить взаимосвязь активационного и инактивационного процессов в широком диапазоне характерных времен. Обнаруженная связь показателя биспектра с трансмембранным потенциалом может быть универсальным свойством всех молекулярных рецепторных систем, и может быть основана на переходе в сильно криволинейную часть вольт-амперной (в случае канала), или концентрационной (в случае рецептора) характеристики, форма которой обычно описывается уравнением Хилла – Ленгмюра. То есть, можно ожидать, что выход потенциалозависимой системы за пределы потенциала покоя, или лиганд-рецепторной - за значения базовых концентраций лиганда, приведет молекулярную систему в нелинейный режим функционирования, а это может быть основой появления нелинейных свойств преобразования сигналов в биологических системах более высокого уровня организации.

Традиционно, в качестве клеток, способных передавать структурированные ритмические сигналы, рассматривают электровозбудимые клетки. Нейрональные популяции даже в культуральных условиях приобретают способность транслировать ритмические волны возбуждения по вновь формируемым сетевым структурам. Экспериментальные данные по формированию сложных сетей передачи сигналов для культур неэлектровозбудимых клеток являются достаточно редкими. Представленные в данной работе результаты позволяют расширить ряд клеточных типов, способных к самоорганизации сетевых систем трансляции сигналов, включая в этот ряд культивируемые эндотелиоциты. Данный результат тем более важен, так как эндотелиоциты, выстилающие стенки микрососудов,

участвуют в вазоактивной регуляции микроциркуляции, а пульсирующие волны, распространяющиеся по сети эндотелиоцитов, возможно, участвуют в активном снижении гидродинамического сопротивления микрососудов, аналогичном перистальтическому процессу. Кроме того, в данной работе была продолжена работа по развитию цитометрического подхода к анализу гетерогенности клеточных популяций по динамике внутриклеточных концентраций сигнальных молекул. Этот подход позволяет на основе объективных измерений выделить, например, популяцию клеток, имеющих ритмическую активность в динамике внутриклеточной концентрации управляющих молекул, что, в свою очередь, позволяет автоматизировать процесс анализа больших клеточных популяций и дает перспективу на возможность работы с популяциями размером 10^4 и более клеток. Главным результатом исследования особенностей трансляции сигналов в культуре эндотелиоцитов является увеличение доли синхронизированных клеток при увеличении температуры. Данное наблюдение может указывать на увеличение синхронизации в популяции клеток, однако, наряду с увеличением показателя биспектра для осцилляций цитозольной концентрации кальция, наблюдается уменьшение амплитуды этих колебаний, оцененное по усредненным амплитудно-частотным характеристикам, что указывает на увеличение именно вклада нелинейного множителя в показатель биспектра, а иначе говоря, на увеличение амплитуды гармоник основного эндотелиального ритма при увеличении температуры.

При исследовании фазовой синхронизации ритмов центральной нервной системы морских свинок при внешнем раздражении световыми импульсами, обнаружен эффект увеличения синхронизации ритмов при сохранении их амплитуды в ряде структур головного мозга, что может указывать на снижение способности нейрональных сетей к узкополосной фильтрации, характерной для состояния покоя животного.

Исследование физиологических особенностей растений позволило решить две задачи: 1) расширить перечень биологических объектов данного исследования для возможности экстраполяции результатов и обсуждения универсальности выявленных закономерностей, 2) рассмотреть возможность использования биспектрального анализа как перспективной замены методам оценки коэффициента нелинейных (гармонических) искажений. Вторая задача интересна тем, что крайняя нелинейность ответов биологических систем на внешнее ритмическое возмущение не позволяет адекватно использовать коэффициент нелинейных искажений в качестве численного индекса, характеризующего биологическую систему. В качестве иллюстрации такого крайне нелинейного ответа, можно рассмотреть результат периодического температурного воздействия на эндотелиоциты, представленный на рисунке Рисунок 92, на котором видно, что система не только не среагировала на воздействие на заданной внешней частоте, но и подавила ранее имевшие место колебания на гораздо более низкой частоте. Очевидно, что при таком экспериментальном результате, коэффициент нелинейных искажений даст ошибочный ответ.

Во всех изученных нами биологических системах при переходе из нормального состояния в состояние стресса в регистрируемых в данной системе временных рядах (динамика концентрации внутриклеточных сигнальных молекул, динамика флуоресценции хлорофилла растений, ритмические компоненты электрических сигналов структур центральной нервной системы) наблюдается увеличение амплитуды гармоник основного внешнего (стимулирующего) или внутреннего ритма, что легко детектируется с помощью критериев описания синхронизации и амплитуды гармонических искажений, и позволяет использовать этот эффект в прикладных задачах разработки сенсоров в биологии, медицине и сельском хозяйстве.

Выводы

- 1) Разработан уникальный комплект приборов для выполнения синхронных многоканальных динамических измерений биофизических характеристик биологических объектов разного уровня организации от молекулярного до системного с минимальными вносимыми искажениями на низких частотах (от 0,001 до 0,1 Гц). Для анализа данных разработано авторское программное обеспечение с реализацией комплексного вейвлет-преобразования, вейвлет-когерентного анализа, биспектрального анализа.
- 2) Разработан метод определения направления передачи и параметров нелинейных искажений в пути трансдукции физиологически значимых сигналов в биологических объектах. Аналитически и путем численного моделирования показана возможность обнаружения маршрута распространения сигнала.
- 3) Установлено, что синхронизация активационного и инактивационного процессов в воротном механизме ионного канала распределена в широком диапазоне характерных времен, что подтверждает установленную ранее персистентность воротного процесса ионного канала. Модель калиевого канала, учитывающая гидродинамическое наполнение устья молекулами воды, дает сходное с природным каналом распределение показателей биспектра вдоль характерных времен двумерной карты. Впервые установлена зависимость синхронизации динамики воротного механизма канала от трансмембранного потенциала.
- 4) Синхронизация колебаний концентрации кальция и оксида азота в эндотелиоцитах в диапазоне NO-независимого эндотелиального ритма изменяется при тепловом стрессе (нагрев от 37 до 40°C). Доля клеток, с синхронизированными колебаниями концентрации кальция, увеличивается, а доля клеток, демонстрировавших синхронизированные колебания NO, уменьшается. При увеличении температуры возрастает модуль показателя

биспектра динамики колебаний Ca^{2+} и NO в диапазоне эндотелиального ритма.

5) Установлено, что при стрессе, вызванном засухой у растений, изменяется динамика флуоресценного ответа пигментов фотосистемы, в норме реакция на периодические вспышки света не содержит высших гармоник исходного периодического сигнала; при засухе происходит увеличение нелинейных искажений сигнала, выражающееся в увеличении показателя биспектра на частоте стимулирующего светового воздействия.

6) При сенсорной периодической стимуляции ритмы центральной нервной системы животных усиливаются как по амплитуде, так и по фазовой синхронизации, причем изменения по фазовой синхронизации носят более заметный характер, чем изменения амплитуд сигналов в известных ритмических диапазонах α , γ и θ ритмов.

Список сокращений и обозначений

- AMPA — α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовая кислота
- BMAL1 — BMAL1-мозговая и мышечная ARNT-подобная 1
- BMAL1 — brain and muscle ARNT-like 1 — ARNT-подобный белок-1 мозга и мышц;
- CaM — CaM кальмодулин
- CD — Кластер дифференцировки
- CDK — Cyclin-dependent kinase — циклин-зависимая киназа;
- CDK — Циклинзависимая киназа
- CGRP — пептид, связанный с геном кальцитонина
- CICR — CICR-индуцируемое кальцием высвобождение кальция
- CK1/2 — casein kinase 1/2 — казеин киназа 1/2;
- CK1/2 — казеинкиназа CK1/2 1/2
- CLOCK — circadian locomotor output cycles kaput — белок, завершающий циркадные локомоторные выходные циклы
- CLOCK — транскрипционный фактор циркадного водителя ритма
- COVID-19 — Коронавирусная инфекция COVID-19, 2019
- CP-AMPA-Rs — кальцийпроницаемые AMPA-рецепторы
- CP-KARs — кальцийпроницаемые каинатные рецепторы
- CRH — гормон высвобождения кортикотропина
- CRY — cryptochrome — криптохром
- CRY — криптохром
- E1 — E1-эндотелиальный NO-независимый ритм колебаний кожной микроциркуляции
- E2 — E2 эндотелиальный NO-зависимый ритм колебаний кожной микроциркуляции
- ECE-1 — эндотелинпревращающий фермент-1
- EDHF — Эндотелиальный высокочастотный диапазон (NO-независимый)
- EDHF — эндотелиальный фактор гиперполяризации
- EETs — эпоксиэйкозатриеновые кислоты
- eNOS — эндотелиальная NO-синтазы
- ET-1 — эндотелин-1
- ETxR — Рецептор эндотелина
- FEV1 — ОФВ1 - объем первого и второго выдоха
- GqPCR — рецептор, связанный с белком Gq
- GSK3 — glycogen synthase kinase 3 — киназа гликоген синтазы 3
- GSK3 — гликогенсинтаза-киназа 3

HF — Высокочастотный диапазон HF
 HFOs — Высокочастотные колебания HFOs
 HMM — Скрытая Марковская модель
 HUVECs — Клетки эндотелия пупочной вены человека
 IgG — иммуноглобулин G
 IL — Интерлейкин
 IP(3)R — рецептор инозитол 1,4,5-трисфосфата
 IP3 — инозитолтрисфосфат
 ISO — инфранизкочастотные колебания
 LF — Низкочастотные колебания
 L-NAME — Nw-метиловый эфир нитро-L-аргинина
 L-NMMA — NG-монометил-L-аргинин
 M — миогенный ритм колебаний микроциркуляции кожи
 N — нейрогенный ритм колебаний микроциркуляции кожи
 NADH — никотинамидадениндинуклеотид
 NCX — натрий-кальциевый-обменник
 NLA — нитро-L-аргинин
 NOX — NADH Оксидаза
 OCTs — переносчики органических катионов
 PER — белок period;
 PER — период действия белка
 PGI2 — PGI2 простагландин I2
 PKG — протеинкиназа G
 PLC — фосфолипаза C
 PP — protein phosphatase — протеин фосфотаза;
 PP — протеинфосфатаза
 PRX — peroxiredoxin — пероксиредоксин;
 PRX — пероксиредоксин
 R — дыхательный ритм колебаний кожной микроциркуляции
 REM — быстрое движение глаз в фазе быстрого сна
 RMTD — ритмичная срединно-височная тета-фаза сонливости
 RyR — рианодиновый рецептор
 SAC — spindle assembly checkpoint — контрольная точка сборки веретена деления клетки;
 НЧ Se — наночастицы селена
 SAC — контрольная точка сборки веретена деления
 SAT — переходные процессы спонтанной активности
 SNP — нитропруссид натрия

SOD — superoxide dismutase — супероксид дисмутаза;
 SOD — супероксиддисмутаза
 sTF — растворимый тканевой фактор
 TRP — семейство каналов с транзиторным рецепторным потенциалом
 TRPA — канал с транзиторным рецепторным потенциалом анкиринового типа
 TRPV — ваниллоидный канал с транзиторным рецепторным потенциалом
 TTFL — transcription-translation feedback loop — петля обратной связи по механизму «транскрипция-трансляция»;
 TTFL — Цикл обратной связи между транскрипцией и трансляцией
 ULF — Диапазон ультранизких частот
 VLF — Диапазон очень низких частот АТФ — аденозинтрифосфатная кислота;
 Wp — W - белок, индуктор респираторного взрыва нейтрофилов
 АТФ — аденозинтрифосфорная кислота;
 АФК — активные формы кислорода;
 АХ — ацетилхолин;
 АХЭ — ацетилхолинэстераза;
 АЧХ — амплитудно–частотная характеристика;
 БА — бронхиальная астма;
 БПФ — Быстрое преобразование Фурье методом БПФ;
 ВСР — Вариабельность сердечного ритма;
 ГГ — гипергликемия, культивирование клеток при повышенной концентрации глюкозы (35 мМ) в среде;
 КГИ — коэффициент гармонических искажений;
 КНИ — коэффициент нелинейных искажений;
 ЛПП — локальные полевые потенциалы;
 mAChR — ацетилхолиновый рецептор мускаринового типа;
 nAChR — nAChR ацетилхолиновый рецептор никотинового типа;
 НГ — нормогликемия, культивирование клеток при нормальной концентрации глюкозы (5,5 мМ) в среде;
 ОФВ1 — объем формированного выдоха за первую секунду;
 СД2 — сахарный диабет 2 типа;
 ХЛ — холин;
 ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких;
 ХХм — модель Ходжкина–Хаксли;
 цАДФ-рибоза — цАДФ-зависимая рибоза;
 цГМФ — гуанозинмонофосфат;

ЭИС — electric impedance spectroscopy — импедансометрия;

ЭПР — эндоплазматического ретикулума

ЭЭГ — электроэнцефалограмма

Список литературы

1. Альмухаметов В. Фазовый портрет как средство анализа динамических процессов // Экономический анализ: теория и практика. – 2009. – Т. 29. – С. 59-64.
2. Анализ распределения клеточной популяции с помощью статистических моментов высокого порядка. Цитометрический подход / М. Е. Асташев, Д. А. Серов, И. В. Тихонова [и др.] // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация, Серпухов, 20–24 мая 2019 года / Под редакцией В.П. Зинченко, А.В. Бережнова. Том 1. – Серпухов: Типография Пятый Формат, 2019. – С. 395-400.
3. Асташев М. Е. Open-source установка для микрофлуоресцентного Ca^{2+} -анализа // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация : сборник статей Международной конференции / Под ред. Зинченко В. П. Б. А. В. – Т. 1 – Пушино, 22–25 мая 2017 года. , 2017. – С. 397-403.
4. Асташев М. Е., Гриневич А. А., Казаченко В. Н. Влияние K^{+} как проникающего иона на активность одиночных K^{+} -каналов // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. – 2004. – Т. 21, № 3.
5. Ахметшин К. А. Анализ многомерных нелинейных динамических систем по развернутым фазо–временным характеристикам комбинации векторов сингулярного разложения // Вестник Херсонского национального технического университета. – 2013. – Т. 2, № 47.
6. Библиотека моделей для 3D печати : сайт. – URL: <http://www.thingiverse.com/jpearce/collections/open-source-scientific-tools/page:2>. (дата обращения: 25.06.2024)
7. Бондарь А. Т., Полевая С. А., Федотчев А. И. Пространственные особенности нелинейных процессов в коре головного мозга человека // Труды Шестой Всероссийской конференции, Нижний Новгород, 23–27

- сентября 2019 года – Нижний Новгород: Институт прикладной физики, 2019 –С. 49-50.
8. Гриневич А. А., Асташев М. Е. Моделирование механизма влияния электрического трансмембранного потенциала на показатели Херста в последовательности времен жизни одиночного ионного канала // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. – 2019. – Т. 36, № 1. – С. 53-62. <https://doi.org/10.1134/s0233475518060051>
 9. Зинченко В. П., Гайдин С. Г., Теплов И. Ю., Косенков А. М. Торможение спонтанной синхронной активности нейронов гиппокампа возбуждением гамкергических нейронов // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. – 2017.10.7868/s0233475517040041 № 4. – С. 284-297. <https://doi.org/10.7868/s0233475517040041>
 10. Колесо для смены оптических фильтров : сайт. – URL: <http://www.thingiverse.com/thing:26553>.(дата обращения: 12.06.2024)
 11. Липидный бислой биологических мембран. / Ивков В. Г. Б. Г. Н.; Под ред. Бергельсон О. р. ч.-к. А. С. Л. Д. – М.: Наука, 1982. – 224 с.
 12. Периодические движения и бифуркационные процессы в сингулярно возмущённых системах. / Мищенко Е. Ф. К. Ю. С., Колесов А. Ю., Розов Н. Х. – М.: Физматлит, 1995.
 13. Серов Д. А., Асташев М. Е., Тихонова И. В., Сафронова В. Г. Влияние экзогенного Аtr на функциональные ответы гранулоцитов костного мозга мыши // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. – 2019. – Т. 36, № 6. – С. 439-449. <https://doi.org/10.1134/s0233475519060094>
 14. Спектры девиации частоты сердечных сокращений человека при контролируемом дыхании / Тюрина М. Й., Красников Г. В., Танканаг

- А. В. и др. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 64–70
15. Фликкер-шумовая спектроскопия как “прибор” для индивидуальной медицины будущего / Тимашев С. Ф., Дёмин, С. А., Панищев, О. Ю. и др. // Ученые записки Казанского университета. Серия Физико-математические науки. – 2012. – Т. 154, № 4. – С. 161-177.
 16. Федотчев А. И. Коррекция стресс-индуцированных состояний сенсорными воздействиями, автоматически модулируемыми эндогенными ритмами человека // Журнал высшей нервной деятельности им И П Павлова. – 2022. – Т. 72, № 1. – С. 3-10. <https://doi.org/10.31857/s0044467721060034>
 17. Федотчев А. И., Ким Е. В. Особенности лечебных сеансов биоуправления с обратной связью по электроэнцефалограмме при нормальном и отягощенном протекании беременности // Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. – 2009. – Т. 59, № 4. – С. 421–428.
 18. 4D cell biology: big data image analytics and lattice light-sheet imaging reveal dynamics of clathrin-mediated endocytosis in stem cell-derived intestinal organoids / Schöneberg J., Dambournet D., Liu T.-L. [et al.] // Molecular Biology of the Cell. – 2018. – Т. 29, № 24. – С. 2959-2968. <https://doi.org/10.1091/mbc.E18-06-03>
 19. A Mini Review of Antibacterial Properties of Al₂O₃ Nanoparticles / Gudkov S. V., Burmistrov D. E., Smirnova V. V. [et al.] // Nanomaterials. – 2022. – Т. 12, № 15. <https://doi.org/10.3390/nano121526>
 20. A novel cell-cycle-indicator, mVenus-p27K-, identifies quiescent cells and visualizes G0–G1 transition / Oki T., Nishimura K., Kitaura J. [et al.] // Scientific Reports. – 2014. – Т. 4, № 1. <https://doi.org/10.1038/srep040>
 21. A novel method for analysis of single ion channel signal based on wavelet transform / Chen Z. Y., Guo X. P., Zhang X. L. [et al.] // Computers in

- Biology and Medicine. – 2007. – T. 37, № 4. – C. 559-562.
<https://doi.org/10.1016/j.compbimed.2006.08.0>
22. A novel multivariate phase synchrony measure: Application to multichannel newborn EEG analysis / Shahsavari Baboukani P., Azemi G., Boashash B. [et al.] // Digital Signal Processing. – 2019. – T. 84. – C. 59-68.
<https://doi.org/10.1016/j.dsp.2018.08.0>
 23. A novel optical microscope for imaging large embryos and tissue volumes with sub-cellular resolution throughout / McConnell G., Trägårdh J., Amor R. [et al.] // eLife. – 2016. – T. 5. <https://doi.org/10.7554/eLife.186>
 24. A Plant's Electrical Parameters Indicate Its Physiological State: A Study of Intracellular Water Metabolism / Zhang C., Wu Y., Su Y. [et al.] // Plants. – 2020. – T. 9, № 10. <https://doi.org/10.3390/plants91012>
 25. A reflux-and-growth mechanism explains oscillatory patterning of lateral root branching sites / van den Berg T., Yalamanchili K., de Gernier H. [et al.] // Developmental Cell. – 2021. – T. 56, № 15. – C. 2176-2191.e10.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.07.0>
 26. Abdullaev N. T., Qasankuliyeva M. M., Dzhabieva A. D. Application of Neuroet Network Technology for Flicker-Noise Spectroscopy of Electrocardiogram // Informacionnye Tehnologii. – 2018. – T. 24, № 6. – C. 402-405. <https://doi.org/10.17587/it.24.402-405>
 27. Acetylcholine induces intracellular Ca²⁺ oscillations and nitric oxide release in mouse brain endothelial cells / Zuccolo E., Lim D., Kheder D. A. [et al.] // Cell Calcium. – 2017. – T. 66. – C. 33-47.
<https://doi.org/10.1016/j.ceca.2017.06.0>
 28. Acetylcholine promotes Ca²⁺ and NO-oscillations in adipocytes implicating Ca²⁺→NO→cGMP→cADP-ribose→Ca²⁺ positive feedback loop--modulatory effects of norepinephrine and atrial natriuretic peptide / Turovsky E. A., Turovskaya M. V., Dolgacheva L. P. [et al.] // PLoS One. – 2013. – T. 8, № 5. – C. e63483. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.00634>

29. Acetylcholine Promotes Ca^{2+} and NO-Oscillations in Adipocytes Implicating $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{cGMP} \rightarrow \text{cADP-ribose} \rightarrow \text{Ca}^{2+}$ Positive Feedback Loop - Modulatory Effects of Norepinephrine and Atrial Natriuretic Peptide / Turovsky E. A., Turovskaya M. V., Dolgacheva L. P. [et al.] // PLoS ONE. – 2013. – T. 8, № 5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.00634>
30. Aged neutrophils contribute to the first line of defense in the acute inflammatory response / Uhl B., Vadlau Y., Zuchtriegel G. [et al.] // Blood. – 2016. – T. 128, № 19. – C. 2327-2337. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-05-7189>
31. Ahn A. C., Tewari M., Poon C.-S., Phillips R. S. The Limits of Reductionism in Medicine: Could Systems Biology Offer an Alternative? // PLoS Medicine. – 2006. – T. 3, № 6. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030208>
32. Aird R. B., Gastaut Y. Occipital and posterior electroencephalographic rhythms // Electroencephalogr Clin Neurophysiol. – 1959. – T. 11. – C. 637-56. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(59\)90104-x](https://doi.org/10.1016/0013-4694(59)90104-x)
33. Aird W. C. Endothelial Cell Heterogeneity // Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. – 2011. – T. 2, № 1. – C. a006429-a006429. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006429>
34. Al-Ali A., Elwakil A., Ahmad A., Maundy B. Design of a portable low-cost impedance analyzer // International Conference on Biomedical Electronics and Devices. – T. 2 –SciTePress, 2017. – C. 104-109.
35. Albuquerque E. X., Pereira E. F., Alkondon M., Rogers S. W. Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function // Physiol Rev. – 2009. – T. 89, № 1. – C. 73-120. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2008>
36. Al-Fahoum A. S., Al-Fraihat A. A. Methods of EEG Signal Features Extraction Using Linear Analysis in Frequency and Time-Frequency

- Domains // ISRN Neuroscience. – 2014. – T. 2014. – C. 1-7.
<https://doi.org/10.1155/2014/730218>
37. Allan C., Morris R. J., Meisrimler C.-N., Dietz K.-J. Encoding, transmission, decoding, and specificity of calcium signals in plants // *Journal of Experimental Botany*. – 2022. – T. 73, № 11. – C. 3372-3385.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erac105>
 38. An Analysis of Electrical Impedance Measurements Applied for Plant N Status Estimation in Lettuce (*Lactuca sativa*) / Muñoz-Huerta R., Ortiz-Melendez A., Guevara-Gonzalez R. [et al.] // *Sensors*. – 2014. – T. 14, № 7. – C. 11492-11503. <https://doi.org/10.3390/s1407114>
 39. An engineering design approach to systems biology / Janes K. A., Chandran P. L., Ford R. M. [et al.] // *Integrative Biology*. – 2017. – T. 9, № 7. – C. 574-583. <https://doi.org/10.1039/c7ib0001>
 40. An unusual phospholipase A2 from puff adder *Bitis arietans* venom – a novel blocker of nicotinic acetylcholine receptors / Vulfius C. A., Gorbacheva E. V., Starkov V. G. [et al.] // *Toxicon*. – 2011. – T. 57, № 5. – C. 787-793. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2011.02.0>
 41. Analysis of Acoustic Signals During the Optical Breakdown of Aqueous Solutions of Fe Nanoparticles / Baimler I. V., Lisitsyn A. B., Serov D. A. [et al.] // *Frontiers in Physics*. – 2020. – T. 8. <https://doi.org/10.3389/fphy.2020.6227>
 42. Aranson I. S., Pikovsky A., Rulkov N. F., Tsimring L. S. *Advances in Dynamics, Patterns, Cognition : Challenges in Complexity*. – Springer International Publishing : Imprint: Springer,, 2017. – Pages p. – 1st. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-53673-6>
 43. Ardell J. L., Cardinal R., Vermeulen M., Armour J. A. Dorsal spinal cord stimulation obtunds the capacity of intrathoracic extracardiac neurons to transduce myocardial ischemia // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*.

- 2009. – Т. 297, № 2. – С. R470-7.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.90821.2008>
44. Armour J. A. Potential clinical relevance of the 'little brain' on the mammalian heart // *Exp Physiol.* – 2008. – Т. 93, № 2. – С. 165-76.
<https://doi.org/10.1113/expphysiol.2007.041178>
 45. Armstrong C. M., Bezanilla F., Rojas E. Destruction of Sodium Conductance Inactivation in Squid Axons Perfused with Pronase // *The Journal of General Physiology.* – 1973. – Т. 62, № 4. – С. 375-391.
<https://doi.org/10.1085/jgp.62.4.375>
 46. Armstrong E. H. Some Recent Developments in the Audion Receiver // *Proceedings of the IRE.* – 1915. – Т. 3, № 3. – С. 215-238.
<https://doi.org/10.1109/jrproc.1915.216677>
 47. Assessment of Blood Microcirculation Changes after COVID-19 Using Wearable Laser Doppler Flowmetry / Zharkikh E. V., Loktionova Y. I., Fedorovich A. A. [et al.] // *Diagnostics.* – 2023. – Т. 13, № 5.
<https://doi.org/10.3390/diagnostics130509>
 48. Assessment of the changes in regulatory systems of human's skin blood flow during local heating / Krasnikov G. V., Tankanag A. V., Koniaeva T. N. [et al.] // *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova.* – 2007. – Т. 93, № 4. – С. 394-401
 49. Astashev M. E., Belosludtsev K. N., Kharakoz D. P. Method for digital measurement of phase-frequency characteristics for a fixed-length ultrasonic spectrometer // *Acoustical Physics.* – 2014. – Т. 60, № 3. – С. 335-341.
<https://doi.org/10.1134/s10637711014030038>
 50. Astashev M. E., Kazachenko V. N., Grigoriev P. A. Alamethicin channel kinetics: Studies using fluctuation analysis and multifractal fluctuation analysis // *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology.* – 2007. – Т. 1, № 3. – С. 246-252.
<https://doi.org/10.1134/s1990747807030087>

51. Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // *Sensors*. – 2022. – T. 22, № 21. <https://doi.org/10.3390/s22218310>
52. Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V. A Study of the Oscillatory Components of the Skin Microhemodynamics in Mice by Laser Doppler Flowmetry // *Biophysics*. – 2018. – T. 63, № 1. – C. 122-125. <https://doi.org/10.1134/s0006350918010025>
53. Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V. Anesthesia effects on the low frequency blood flow oscillations in mouse skin // *Skin Research and Technology*. – 2019. – T. 25, № 1. – C. 40-46. <https://doi.org/10.1111/srt.12593>
54. Astroglial asthenia and loss of function, rather than reactivity, contribute to the ageing of the brain / Verkhatsky A., Augusto-Oliveira M., Pivoriūnas A. [et al.] // *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*. – 2020. – T. 473, № 5. – C. 753-774. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02465>
55. ATP Release Guides Neutrophil Chemotaxis via P2Y2 and A3 Receptors / Chen Y., Corriden R., Inoue Y. [et al.] // *Science*. – 2006. – T. 314, № 5806. – C. 1792-1795. <https://doi.org/10.1126/science.11325>
56. Attie A. D., Raines R. T. Analysis of Receptor-Ligand Interactions // *J Chem Educ*. – 1995. – T. 72, № 2. – C. 119-124. <https://doi.org/10.1021/ed072p119>
57. Azeloglu E. U., Iyengar R. Signaling Networks: Information Flow, Computation, and Decision Making // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. – 2015. – T. 7, № 4. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005934>
58. Baladron J., Fasoli D., Faugeras O., Touboul J. Mean-field description and propagation of chaos in networks of Hodgkin-Huxley and FitzHugh-Nagumo neurons // *The Journal of Mathematical Neuroscience*. – 2012. – T. 2, № 1. <https://doi.org/10.1186/2190-8567-2-10>

59. Balke C. W. Spontaneous Ca^{2+} Oscillations and Waves in Pulmonary Vascular Endothelial Cells // *Circulation Research*. – 1996. – T. 79, № 4. – C. 909-910. <https://doi.org/10.1161/01.res.79.4.909>
60. Balke C. W. Spontaneous Ca^{2+} Oscillations and Waves in Pulmonary Vascular Endothelial Cells // *Circulation Research*. – 1996. – T. 79, № 4. – C. 909-910. <https://doi.org/10.1161/01.res.79.4.909>
61. Bandrivskyy A., Bernjak A., McClintock P., Stefanovska A. Wavelet Phase Coherence Analysis: Application to Skin Temperature and Blood Flow // *Cardiovascular Engineering*. – 2004. – T. 4, № 1. – C. 89-93. <https://doi.org/10.1023/b:care.0000025126.63253.43>
62. Barnes S., Shlyonsky V., Dupuis F., Gall D. The OpenPicoAmp: An Open-Source Planar Lipid Bilayer Amplifier for Hands-On Learning of Neuroscience // *PLoS ONE*. – 2014. – T. 9, № 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108097>
63. Barnum K. J., O'Connell M. J. Cell cycle regulation by checkpoints // *Methods Mol Biol*. – 2014. – T. 1170. – C. 29-40. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0888-2_2
64. Barone J., Rossiter H. E. Understanding the Role of Sensorimotor Beta Oscillations // *Frontiers in Systems Neuroscience*. – 2021. – T. 15. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2021.655886>
65. Başar E., Başar-Eroglu C., Karakaş S., Schürmann M. Gamma, alpha, delta, and theta oscillations govern cognitive processes // *International Journal of Psychophysiology*. – 2001. – T. 39, № 2-3. – C. 241-248. [https://doi.org/10.1016/s0167-8760\(00\)00145-8](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(00)00145-8)
66. Bellien J., Joannides R., Richard V., Thuillez C. Modulation of cytochrome-derived epoxyeicosatrienoic acids pathway: a promising pharmacological approach to prevent endothelial dysfunction in cardiovascular diseases? // *Pharmacology & therapeutics*. – 2011. – T. 131, № 1. – C. 1-17.

67. Benchenane K., Tiesinga P. H., Battaglia F. P. Oscillations in the prefrontal cortex: a gateway to memory and attention // *Current Opinion in Neurobiology*. – 2011. – T. 21, № 3. – C. 475-485. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.01.004>
68. Berkels R., Dachs C., Roesen R., Klaus W. Simultaneous measurement of intracellular Ca²⁺ and nitric oxide: a new method // *Cell Calcium*. – 2000. – T. 27, № 5. – C. 281-286. <https://doi.org/10.1054/ceca.2000.0119>
69. Berkels R., Suerhoff S., Roesen R., Klaus W. Nitric Oxide Causes a cGMP-Independent Intracellular Calcium Rise in Porcine Endothelial Cells—A Paradox? // *Microvascular Research*. – 2000. – T. 59, № 1. – C. 38-44. <https://doi.org/10.1006/mvre.1999.2191>
70. Berntson G. G., Cacioppo J. T., Grossman P. Whither vagal tone // *Biol Psychol*. – 2007. – T. 74, № 2. – C. 295-300. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2006.08.006>
71. Beta-TrCP1-mediated degradation of PERIOD2 is essential for circadian dynamics / Reischl S., Vanselow K., Westermarck P. O. [et al.] // *J Biol Rhythms*. – 2007. – T. 22, № 5. – C. 375-86. <https://doi.org/10.1177/07487304073039>
72. Bezanilla F., Perozo E., Stefani E. Gating of Shaker K⁺ channels: II. The components of gating currents and a model of channel activation // *Biophysical Journal*. – 1994. – T. 66, № 4. – C. 1011-1021. [https://doi.org/10.1016/s0006-3495\(94\)80882-3](https://doi.org/10.1016/s0006-3495(94)80882-3)
73. Biomusic: An Auditory Interface for Detecting Physiological Indicators of Anxiety in Children / Cheung S., Han E., Kushki A. [et al.] // *Frontiers in Neuroscience*. – 2016. – T. 10. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.004>
74. Bispectral Analysis of Heart Rate Variability to Characterize and Help Diagnose Pediatric Sleep Apnea / Martín-Montero A., Gutiérrez-Tobal G. C., Gozal D. [et al.] // *Entropy*. – 2021. – T. 23, № 8. <https://doi.org/10.3390/e230810>

75. Blood flow oscillations as a signature of microvascular abnormalities / Pavone F. S., Tuchin V. V., Popp J. [et al.] // Book Blood flow oscillations as a signature of microvascular abnormalities / Editor, 201
76. Bootman M. D., Bultynck G. Fundamentals of Cellular Calcium Signaling: A Primer // Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. – 2020. – T. 12, № 1. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a038802>
77. Boslett J., Hemann C., Christofi F. L., Zweier J. L. Characterization of CD38 in the major cell types of the heart: endothelial cells highly express CD38 with activation by hypoxia-reoxygenation triggering NAD(P)H depletion // American Journal of Physiology-Cell Physiology. – 2018. – T. 314, № 3. – C. C297-C309. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00139.2017>
78. Bozler E., Cole K. S. Electric impedance and phase angle of muscle in rigor // Journal of Cellular and Comparative Physiology. – 1935. – T. 6, № 2. – C. 229-241. <https://doi.org/10.1002/jcp.1030060205>
79. Brain neural synchronization and functional coupling in Alzheimer's disease as revealed by resting state EEG rhythms / Babiloni C., Lizio R., Marzano N. [et al.] // International Journal of Psychophysiology. – 2016. – T. 103. – C. 88-102. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2015.02.0>
80. Brain oscillatory substrates of visual short-term memory capacity / Sauseng P., Klimesch W., Heise K. F. [et al.] // Curr Biol. – 2009. – T. 19, № 21. – C. 1846-52. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.08.0>
81. Brazhe A. R., Verisokin A. Y., Vervevko D. V., Postnov D. E. Sodium–Calcium Exchanger Can Account for Regenerative Ca^{2+} Entry in Thin Astrocyte Processes // Frontiers in Cellular Neuroscience. – 2018. – T. 12. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00250>
82. Brown B. H. Electrical impedance tomography (EIT): a review // Journal of Medical Engineering & Technology. – 2009. – T. 27, № 3. – C. 97-108. <https://doi.org/10.1080/0309190021000059687>

83. Bruggeman F. J., Westerhoff H. V. The nature of systems biology // Trends in Microbiology. – 2007. – T. 15, № 1. – C. 45-50. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2006.11.003>
84. Buckley D. J., Lefebvre M., Meijer E. G. M., Brown D. C. W. A signal generator for electrofusion of plant protoplasts // Computers and Electronics in Agriculture. – 1990. – T. 5, № 2. – C. 179-185. [https://doi.org/10.1016/0168-1699\(90\)90032-k](https://doi.org/10.1016/0168-1699(90)90032-k)
85. Buller R., Damborsky J., Hilvert D., Bornscheuer U. T. Structure Prediction and Computational Protein Design for Efficient Biocatalysts and Bioactive Proteins // Angewandte Chemie International Edition. – 2024. – T. 64, № 2. <https://doi.org/10.1002/anie.202421686>
86. Busse R., Mülsch A. Calcium-dependent nitric oxide synthesis in endothelial cytosol is mediated by calmodulin // FEBS Letters. – 1990. – T. 265, № 1-2. – C. 133-136. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(90\)80902-u](https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)80902-u)
87. Buzsáki G. Theta oscillations in the hippocampus // Neuron. – 2002. – T. 33, № 3. – C. 325-40. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(02\)00586-x](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(02)00586-x)
88. Buzsáki G., Wang X.-J. Mechanisms of Gamma Oscillations // Annual Review of Neuroscience. – 2012. – T. 35, № 1. – C. 203-225. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062111-150444>
89. Buzsáki G., Watson B. O. Brain rhythms and neural syntax: implications for efficient coding of cognitive content and neuropsychiatric disease // Dialogues in Clinical Neuroscience. – 2022. – T. 14, № 4. – C. 345-367. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2012.14.4/gbuzsaki>
90. Ca²⁺ oscillation frequency regulates agonist-stimulated gene expression in vascular endothelial cells / Zhu L., Luo Y., Chen T. [et al.] // Journal of Cell Science. – 2008. – T. 121, № 15. – C. 2511-2518. <https://doi.org/10.1242/jcs.0319>
91. Calcium Release from Endoplasmic Reticulum Involves Calmodulin-Mediated NADPH Oxidase-Derived Reactive Oxygen Species Production in

- Endothelial Cells / Sakurada R., Odagiri K., Hakamata A. [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – T. 20, № 7. <https://doi.org/10.3390/ijms200716>
92. Calcium Signaling in β -cell Physiology and Pathology: A Revisit / Klec C., Ziomek G., Pichler M. [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – T. 20, № 24. <https://doi.org/10.3390/ijms202461>
 93. Calcium spikes, waves and oscillations in a large, patterned epithelial tissue / Balaji R., Bielmeier C., Harz H. [et al.] // Scientific Reports. – 2017. – T. 7, № 1. <https://doi.org/10.1038/srep427>
 94. Calculation of local Hurst exponents in the $\text{Ca}(2+)$ -activated $\text{K}(+)$ -channel dwell time / Brazhe A. R., Astashev M. E., Maksimov G. V. [et al.] // Biofizika. – 2004. – T. 49, № 6. – С. 1075-83
 95. Campbell W. B., Fleming I. Epoxyeicosatrienoic acids and endothelium-dependent responses // Pflügers Archiv - European Journal of Physiology. – 2010. – T. 459, № 6. – С. 881-895. <https://doi.org/10.1007/s00424-010-0804-6>
 96. Cardiac Pacemaker Cells Generate Cardiomyocytes from Fibroblasts in Long-Term Cultures / Kiuchi S., Usami A., Shimoyama T. [et al.] // Scientific Reports. – 2019. – T. 9, № 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51001>
 97. Cardiotoxins from Cobra *Naja oxiana* Change the Force of Contraction and the Character of Rhythmoinotropic Phenomena in the Rat Myocardium / Averin A. S., Astashev M. E., Andreeva T. V. [et al.] // Dokl Biochem Biophys. – 2019. – T. 487, № 1. – С. 282-286. <https://doi.org/10.1134/S16076729190400>
 98. Cardiotoxins from Cobra *Naja oxiana* Change the Force of Contraction and the Character of Rhythmoinotropic Phenomena in the Rat Myocardium / Averin A. S., Astashev M. E., Andreeva T. V. [et al.] // Doklady

- Biochemistry and Biophysics. – 2019. – T. 487, № 1. – C. 282-286.
<https://doi.org/10.1134/s16076729190400>
99. Cardiovascular disease and COVID-19: a consensus paper from the ESC Working Group on Coronary Pathophysiology & Microcirculation, ESC Working Group on Thrombosis and the Association for Acute CardioVascular Care (ACVC), in collaboration with the European Heart Rhythm Association (EHRA) / Cenko E., Badimon L., Bugiardini R. [et al.] // Cardiovasc Res. – 2021. – T. 117, № 14. – C. 2705-2729.
<https://doi.org/10.1093/cvr/cvab2>
 100. Carskadon M., Dement W. Normal human sleep: An overview. // Principles and Practice of Sleep Medicine / Kryger M. H. и др. – Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005. – C. 13–23.
 101. Cebrián-Lacasa D., Parra-Rivas P., Ruiz-Reynés D., Gelens L. Six decades of the FitzHugh–Nagumo model: A guide through its spatio-temporal dynamics and influence across disciplines // Physics Reports. – 2024. – T. 1096. – C. 1-39. <https://doi.org/10.1016/j.physrep.2024.09.014>
 102. Cellular oscillations and the regulation of growth: the pollen tube paradigm / Feijó J. A., Sainhas J., Holdaway-Clarke T. [et al.] // Bioessays. – 2001. – T. 23, № 1. – C. 86-94. [https://doi.org/10.1002/1521-1878\(200101\)23:1<86::aid-bies1011>3.0.co;2](https://doi.org/10.1002/1521-1878(200101)23:1<86::aid-bies1011>3.0.co;2)
 103. Chai B., Pollack G. H. Solute-Free Interfacial Zones in Polar Liquids // The Journal of Physical Chemistry B. – 2010. – T. 114, № 16. – C. 5371-5375.
<https://doi.org/10.1021/jp100200y>
 104. Chai B., Yoo H., Pollack G. H. Effect of Radiant Energy on Near-Surface Water // The Journal of Physical Chemistry B. – 2009. – T. 113, № 42. – C. 13953-13958. <https://doi.org/10.1021/jp908163w>
 105. Characterization of a charybdotoxin-sensitive intermediate conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel in porcine coronary endothelium: relevance to EDHF / Bychkov R., Burnham M. P., Richards G. R. [et al.] // British

- Journal of Pharmacology. – 2002. – T. 137, № 8. – C. 1346-1354.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.07050>
106. Characterization of Agonist Stimulation of cAMP-Dependent Protein Kinase and G Protein-Coupled Receptor Kinase Phosphorylation of the β 2-Adrenergic Receptor Using Phosphoserine-Specific Antibodies / Tran T. M., Friedman J., Qunaibi E. [et al.] // Molecular Pharmacology. – 2004. – T. 65, № 1. – C. 196-206. <https://doi.org/10.1124/mol.65.1.1>
 107. Characterization of medial septal glutamatergic neurons and their projection to the hippocampus / Colom L. V., Castaneda M. T., Reyna T. [et al.] // Synapse. – 2005. – T. 58, № 3. – C. 151-164. <https://doi.org/10.1002/syn.201>
 108. Chatrian G. E., Petersen M. C., Lazarte J. A. The blocking of the rolandic wicket rhythm and some central changes related to movement // Electroencephalogr Clin Neurophysiol. – 1959. – T. 11, № 3. – C. 497-510. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(59\)90048-3](https://doi.org/10.1016/0013-4694(59)90048-3)
 Chitin Triggers Calcium-Mediated Immune Response in the Plant Model *Physcomitrella patens* / Galotto G., Abreu I., Sherman C. [et al.] // Molecular Plant-Microbe Interactions®. – 2020. – T. 33, № 7. – C. 911-920. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-20-0064>
 109. Chowdhury A., Kanti Bera T., Ghoshal D., Chakraborty B. Electrical Impedance Variations in Banana Ripening: An Analytical Study with Electrical Impedance Spectroscopy // Journal of Food Process Engineering. – 2016. – T. 40, № 2. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12387>
 110. Cinamon G., Shinder V., Shamri R., Alon R. Chemoattractant Signals and β 2 Integrin Occupancy at Apical Endothelial Contacts Combine with Shear Stress Signals to Promote Transendothelial Neutrophil Migration // The Journal of Immunology. – 2004. – T. 173, № 12. – C. 7282-7291. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.12.7282>

111. Circadian rhythmicity of active GSK3 isoforms modulates molecular clock gene rhythms in the suprachiasmatic nucleus / Besing R. C., Paul J. R., Hablitz L. M. [et al.] // *J Biol Rhythms*. – 2015. – T. 30, № 2. – C. 155-60. <https://doi.org/10.1177/074873041555731>
112. Circadian Rhythms and Measures of CNS/Autonomic Interaction / Riganello F., Prada V., Soddu A. [et al.] // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2019. – T. 16, № 13. <https://doi.org/10.3390/ijerph161323>
113. Clinical, hemispheric, and autonomic changes associated with use of closed-loop, allostatic neurotechnology by a case series of individuals with self-reported symptoms of post-traumatic stress / Tegeler C. H., Cook J. F., Tegeler C. L. [et al.] // *BMC Psychiatry*. – 2017. – T. 17, № 1. <https://doi.org/10.1186/s12888-017-1299>
114. Cohen O., Safran S. A. Cardiomyocyte Calcium Ion Oscillations-Lessons From Physics // *Front Physiol*. – 2020. – T. 11. – C. 164. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00164>
115. Cole K. S., Cole R. H. Dispersion and absorption in dielectrics I. Alternating current characteristics // *The Journal of chemical physics*. – 1941. – T. 9, № 4. – C. 341-351. <https://doi.org/10.1063/1.1750906>
116. Colgin L. L. Oscillations and hippocampal–prefrontal synchrony // *Current Opinion in Neurobiology*. – 2011. – T. 21, № 3. – C. 467-474. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.04.006>
117. Colom L. V., Garrido-Sanabria E. Modulation of normal and altered hippocampal excitability states by septal networks // *Journal of Neuroscience Research*. – 2007. – T. 85, № 13. – C. 2839-2843. <https://doi.org/10.1002/jnr.21276>
118. Combining nitric oxide and calcium sensing for the detection of endothelial dysfunction / Andreeva V. D., Ehlers H., R. C A. K. [et al.] //

- Communications Chemistry. – 2023. – T. 6, № 1.
<https://doi.org/10.1038/s42004-023-00973>
119. Complications of the Type 2 Diabetes Mellitus / Farmaki P., Damaskos C., Garmpis N. [et al.] // Current Cardiology Reviews. – 2021. – T. 16, № 4. – C. 249-251. <https://doi.org/10.2174/1573403x16042012291155>
 120. Connectivity Analysis in EEG Data: A Tutorial Review of the State of the Art and Emerging Trends / Chiarion G., Sparacino L., Antonacci Y. [et al.] // Bioengineering. – 2023. – T. 10, № 3. <https://doi.org/10.3390/bioengineering100303>
 121. Control of Blood Microcirculation Parameters in Therapy with Alpha-Lipoic Acid in Patients with Diabetes Mellitus / Zharkikh E. V., Loktionova Y. I., Sidorov V. V. [et al.] // Human Physiology. – 2022. – T. 48, № 4. – C. 456-464. <https://doi.org/10.1134/s03621197220401>
 122. Cooke J. P., Ghebremariam Y. T. Endothelial Nicotinic Acetylcholine Receptors and Angiogenesis // Trends in Cardiovascular Medicine. – 2008. – T. 18, № 7. – C. 247-253. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2008.11.007>
 123. Coordination of entorhinal–hippocampal ensemble activity during associative learning / Igarashi K. M., Lu L., Colgin L. L. [et al.] // Nature. – 2014. – T. 510, № 7503. – C. 143-147. <https://doi.org/10.1038/nature131>
 124. Cordeau J. P. Monorhythmic frontal delta activity in the human electroencephalogram: a study of 100 cases // Electroencephalogr Clin Neurophysiol. – 1959. – T. 11. – C. 733-46. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(59\)90113-0](https://doi.org/10.1016/0013-4694(59)90113-0)
 125. Correlation Between Cortical θ Activity and Hippocampal Volumes in Health, Mild Cognitive Impairment, and Mild Dementia / Grunwald M., Busse F., Hensel A. [et al.] // Journal of Clinical Neurophysiology. – 2001. – T. 18, № 2. – C. 178-184. <https://doi.org/10.1097/00004691-200103000-000>
 126. Cracowski J.-L., Minson C. T., Salvat-Melis M., Halliwill J. R. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial

- function in humans // Trends in Pharmacological Sciences. – 2006. – T. 27, № 9. – C. 503-508. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2006.07.008>
127. Crane G. J., Gallagher N., Dora K. A., Garland C. J. Small- and Intermediate-Conductance Calcium-Activated K^+ Channels Provide Different Facets of Endothelium-Dependent Hyperpolarization in Rat Mesenteric Artery // The Journal of Physiology. – 2003. – T. 553, № 1. – C. 183-189. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.051896>
 128. CRC Handbook of Chemistry and Physics, 86th Edition Edited by David R. Lide (National Institute of Standards and Technology). CRC Press (an imprint of Taylor and Francis Group): Boca Raton, FL. 2005. 2544 pp. \$125.96. ISBN 0-8493-0486-5. Journal of the American Chemical Society. / Lide e. D. R., 2006. – T. 16: Journal of the American Chemical Society. – 5585-5585 c.
 129. Critical contribution of Na^+ - Ca^{2+} exchanger to the Ca^{2+} -mediated vasodilation activated in endothelial cells of resistance arteries / Lillo M. A., Gaete P. S., Puebla M. [et al.] // The FASEB Journal. – 2018. – T. 32, № 4. – C. 2137-2147. <https://doi.org/10.1096/fj.201700365>
 130. Crystal structure of the heterodimeric CLOCK:BMAL1 transcriptional activator complex / Huang N., Chelliah Y., Shan Y. [et al.] // Science. – 2012. – T. 337, № 6091. – C. 189-94. <https://doi.org/10.1126/science.122228>
 131. Cubero D., Baltanás J. P., Casado-Pascual J. High-frequency effects in the FitzHugh-Nagumo neuron model // Physical Review E. – 2006. – T. 73, № 6. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.73.061102>
 132. Dalby M. A. Epilepsy and 3 per second spike and wave rhythms. A clinical, electroencephalographic and prognostic analysis of 346 patients // Acta Neurol Scand. – 1969. – C. Suppl 40:3+.
 133. Damineli D. S. C., Portes M. T., Feijó J. A. Electrifying rhythms in plant cells // Current Opinion in Cell Biology. – 2022. – T. 77. – C. 102113. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ceb.2022.102113>

134. Daniel X., Sugano S., Tobin E. M. CK2 phosphorylation of CCA1 is necessary for its circadian oscillator function in Arabidopsis // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2004. – T. 101, № 9. – C. 3292-3297. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400163101>
135. DC-EEG discloses prominent, very slow activity patterns during sleep in preterm infants / Vanhatalo S., Tallgren P., Andersson S. [et al.] // *Clin Neurophysiol*. – 2002. – T. 113, № 11. – C. 1822-5. [https://doi.org/10.1016/s1388-2457\(02\)00292](https://doi.org/10.1016/s1388-2457(02)00292)
136. Decreased heart rate variability is associated with higher levels of inflammation in middle-aged men / Lampert R., Bremner J. D., Su S. [et al.] // *Am Heart J*. – 2008. – T. 156, № 4. – C. 759.e1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2008.07.0>
137. Defect of intestinal pressure-induced vasodilation in diabetic rats: New insights into gastrointestinal dysfunction / Fromy B., Nguyen-Tu M.-S., Morel G. [et al.] // *Fundamental and Clinical Pharmacology*. – 2012. – T. 26. – C. 28-28
138. Dempster J. Strathclyde Electrophysiology Software. – URL: http://spider.science.strath.ac.uk/sipbs/software_ses.htm.
139. Dempster J. WinFluor V3.8.7. – 2025. – URL: http://spider.science.strath.ac.uk/sipbs/media/40/imaging/WinFluor_User_Guide.pdf.
140. Design of a low-cost non-destructive system for punctual measurements of salt levels in food products using impedance spectroscopy / Masot R., Alcañiz M., Fuentes A. [et al.] // *Sensors and Actuators A: Physical*. – 2010. – T. 158, № 2. – C. 217-223. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2010.01.0>
141. Detecting mycorrhizal colonisation in Scots pine roots using electrical impedance spectra / Repo T., Korhonen A., Laukkanen M. [et al.] // *Biosystems Engineering*. – 2014. – T. 121. – C. 139-149. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2014.02.0>

142. Di A., Malik A. B. TRP channels and the control of vascular function // *Current Opinion in Pharmacology*. – 2010. – T. 10, № 2. – C. 127-132. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2009.11.010>
143. Di Micco R., Krizhanovsky V., Baker D., d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2020. – T. 22, № 2. – C. 75-95. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00314-w>
Diabetic Retinopathy Is Related to Both Endothelium-Dependent and -Independent Responses of Skin Microvascular Flow / Nguyen T. T., Shaw J. E., Robinson C. [et al.] // *Diabetes Care*. – 2011. – T. 34, № 6. – C. 1389-1393. <https://doi.org/10.2337/dc10-19>
144. Dielectric properties of wood-based materials. / Torgovnikov G. I., Torgovnikov G. I.: Springer, 1993.
145. Differential gating of slow postsynaptic and high-frequency spike-like components in human somatosensory evoked potentials under isometric motor interference / Klostermann F., Gobbele R., Buchner H. [et al.] // *Brain Res*. – 2001. – T. 922, № 1. – C. 95-103. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(01\)03157](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(01)03157)
146. Dihydropyridine Calcium Antagonist-Induced Modulation of Endothelial Function: A Review / Berkels R., Roesen R., Dhein S. [et al.] // *Cardiovascular Drug Reviews*. – 2006. – T. 17, № 2. – C. 179-186. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3466.1999.tb00012>
147. Distinct electrophysiological properties of glutamatergic, cholinergic and GABAergic rat septohippocampal neurons: novel implications for hippocampal rhythmicity / Sotty F., Danik M., Manseau F. [et al.] // *The Journal of Physiology*. – 2003. – T. 551, № 3. – C. 927-943. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.0468>

148. Doruk R. O., Abosharb L. Estimating the Parameters of Fitzhugh–Nagumo Neurons from Neural Spiking Data // Brain Sciences. – 2019. – T. 9, № 12. <https://doi.org/10.3390/brainsci9120364>
149. Dunlap J. C. Molecular Bases for Circadian Clocks // Cell. – 1999. – T. 96, № 2. – C. 271-290. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80566-8](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80566-8)
150. Dustman R. E., Beck E. C. Phase of alpha brain waves, reaction time and visually evoked potentials // Electroencephalography and Clinical Neurophysiology. – 1965. – T. 18, № 5. – C. 433-440. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(65\)90123-9](https://doi.org/10.1016/0013-4694(65)90123-9)
151. DYRK1A and glycogen synthase kinase 3beta, a dual-kinase mechanism directing proteasomal degradation of CRY2 for circadian timekeeping / Kurabayashi N., Hirota T., Sakai M. [et al.] // Mol Cell Biol. – 2010. – T. 30, № 7. – C. 1757-68. <https://doi.org/10.1128/MCB.01047->
152. Earley S., Gonzales A. L., Crnich R. Endothelium-Dependent Cerebral Artery Dilation Mediated by TRPA1 and Ca²⁺-Activated K⁺ Channels // Circulation Research. – 2009. – T. 104, № 8. – C. 987-994. <https://doi.org/10.1161/circresaha.108.189530>
153. Eckberg D. L., Eckberg M. J. Human sinus node responses to repetitive, ramped carotid baroreceptor stimuli // Am J Physiol. – 1982. – T. 242, № 4. – C. H638-44. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1982.242.4.H638>
154. Effect of air-dehydration pretreatment before freezing on the electrical impedance characteristics and texture of carrots / Ando Y., Maeda Y., Mizutani K. [et al.] // Journal of Food Engineering. – 2016. – T. 169. – C. 114-121. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.08.0>
155. Effect of extremely low-frequency magnetic fields on light-induced electric reactions in wheat / Grinberg M., Mudrilov M., Kozlova E. [et al.] // Plant Signaling & Behavior. – 2022. – T. 17, № 1. <https://doi.org/10.1080/15592324.2021.20216>

156. Effects of incretin agonists on endothelial nitric oxide synthase expression and nitric oxide synthesis in human coronary artery endothelial cells exposed to TNF α and glycated albumin / Garczorcz W., Francuz T., Siemianowicz K. [et al.] // Pharmacological Reports. – 2015. – T. 67, № 1. – C. 69-77. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2014.08.0>
157. Efficient Parameter Estimation Enables the Prediction of Drug Response Using a Mechanistic Pan-Cancer Pathway Model / Fröhlich F., Kessler T., Weindl D. [et al.] // Cell Systems. – 2018. – T. 7, № 6. – C. 567-579.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2018.10.0>
158. Electrical Impedance Spectroscopy for Quality Assessment of Meat and Fish: A Review on Basic Principles, Measurement Methods, and Recent Advances / Zhao X., Zhuang H., Yoon S.-C. [et al.] // Journal of Food Quality. – 2017. – T. 2017. – C. 1-16. <https://doi.org/10.1155/2017/63707>
159. Electrophysiology T. F. o. t. E. S. o. C. t. N. A. S. o. P. Heart Rate Variability // Circulation. – 1996. – T. 93, № 5. – C. 1043-1065. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.93.5.1043>
160. Elementary Ca²⁺ Signals Through Endothelial TRPV4 Channels Regulate Vascular Function / Sonkusare S. K., Bonev A. D., Ledoux J. [et al.] // Science. – 2012. – T. 336, № 6081. – C. 597-601. <https://doi.org/10.1126/science.12162>
161. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death // Toxicologic Pathology. – 2016. – T. 35, № 4. – C. 495-516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
162. Empirical modeling and prediction of neuronal dynamics / Fisco-Compte P., Aquilué-Llorens D., Roqueiro N. [et al.] // Biological Cybernetics. – 2024. – T. 118, № 1-2. – C. 83-110. <https://doi.org/10.1007/s00422-024-00986>
163. Endothelial Ca²⁺ oscillations reflect VEGFR signaling-regulated angiogenic capacity in vivo / Yokota Y., Nakajima H., Wakayama Y. [et al.] // eLife. – 2015. – T. 4. <https://doi.org/10.7554/eLife.088>

164. Endothelin / Davenport A. P., Hyndman K. A., Dhaun N. [et al.] // *Pharmacological Reviews*. – 2016. – T. 68, № 2. – C. 357-418. <https://doi.org/10.1124/pr.115.0118>
165. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide / Ignarro L. J., Buga G. M., Wood K. S. [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1987. – T. 84, № 24. – C. 9265-9269. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.24.92>
166. Endotoxin-induced autocrine ATP signaling inhibits neutrophil chemotaxis through enhancing myosin light chain phosphorylation / Wang X., Qin W., Xu X. [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2017. – T. 114, № 17. – C. 4483-4488. <https://doi.org/10.1073/pnas.16167521>
167. Esco M. R., Flatt A. A. Ultra-short-term heart rate variability indexes at rest and post-exercise in athletes: evaluating the agreement with accepted recommendations // *J Sports Sci Med*. – 2014. – T. 13, № 3. – C. 535-41.
168. Evans N. H., McAinsh M. R., Hetherington A. M. Calcium oscillations in higher plants // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2001. – T. 4, № 5. – C. 415-420. [https://doi.org/10.1016/s1369-5266\(00\)00194-1](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(00)00194-1)
169. Evidence for in vivo transport of bioactive nitric oxide in human plasma / Rassaf T., Preik M., Kleinbongard P. [et al.] // *J Clin Invest*. – 2002. – T. 109, № 9. – C. 1241-8. <https://doi.org/10.1172/JCI149>
170. Factor Xa and thrombin evoke additive calcium and proinflammatory responses in endothelial cells subjected to coagulation / Daubie V., Cauwenberghs S., Senden N. H. M. [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. – 2006. – T. 1763, № 8. – C. 860-869. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.04.0>
171. Fedotchev A. I., Parin S. B., Polevaya S. A., Velikova S. D. Brain–Computer Interface and Neurofeedback Technologies: Current State, Problems and Clinical Prospects (Review) // *Sovremennyye tehnologii v medicine*. – 2017. – T. 9, № 1. <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.1.22>

172. Fedotchev A. I., Parin S. B., Savchuk L. V., Polevaya S. A. Mechanisms of Light and Music Stimulation Controlled by a Person's Own Brain and Heart Biopotentials or Those of Another Person // *Sovremennye tehnologii v medicine*. – 2020. – T. 12, № 4. <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.4.03>
173. Fels J., Callies C., Kusche-Vihrog K., Oberleithner H. Nitric oxide release follows endothelial nanomechanics and not vice versa // *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*. – 2010. – T. 460, № 5. – C. 915-923. <https://doi.org/10.1007/s00424-010-0871-8>
174. Fernández-Velasco M., Ruiz-Hurtado G., Gómez A. M., Rueda A. Ca²⁺ handling alterations and vascular dysfunction in diabetes // *Cell Calcium*. – 2014. – T. 56, № 5. – C. 397-407. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2014.08.007>
175. Fernando Grover P., Javier Esparza P. Endothelial Dysfunction, Molecular Biology, Physiopathology, Diagnosis, and Treatment // *Endothelial Dysfunction* / Alaeddin A., Christopher F. – Rijeka: IntechOpen, 2022. – C. Ch. 1.
176. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis / Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E. [et al.] // *Nature Methods*. – 2012. – T. 9, № 7. – C. 676-682. <https://doi.org/10.1038/nmeth.20>
177. Firing Frequency Maxima of Fast-Spiking Neurons in Human, Monkey, and Mouse Neocortex / Wang B., Ke W., Guang J. [et al.] // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2016. – T. 10. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.002>
178. FitzHugh R. Impulses and Physiological States in Theoretical Models of Nerve Membrane // *Biophysical Journal*. – 1961. – T. 1, № 6. – C. 445-466. [https://doi.org/10.1016/s0006-3495\(61\)86902-6](https://doi.org/10.1016/s0006-3495(61)86902-6)
179. Forsman H., Dahlgren C. The FPR2-induced rise in cytosolic calcium in human neutrophils relies on an emptying of intracellular calcium stores and is inhibited by a gelsolin-derived PIP₂-binding peptide // *BMC Cell Biology*. – 2010. – T. 11, № 1. <https://doi.org/10.1186/1471-2121-11-52>

180. Foskett J. K., White C., Cheung K.-H., Mak D.-O. D. Inositol Trisphosphate Receptor Ca^{2+} Release Channels // *Physiological Reviews*. – 2007. – T. 87, № 2. – C. 593-658. <https://doi.org/10.1152/physrev.00035.2006>
181. Frequency domain measures of heart period variability and mortality after myocardial infarction / Bigger J. T., Fleiss J. L., Steinman R. C. [et al.] // *Circulation*. – 1992. – T. 85, № 1. – C. 164-171. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.85.1.1>
182. Fricke H. A mathematical treatment of the electric conductivity and capacity of disperse systems I. The electric conductivity of a suspension of homogeneous spheroids // *Physical Review*. – 1924. – T. 24, № 5. – C. 575. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.24.575>
183. Fricke H. A Mathematical Treatment of the Electric Conductivity and Capacity of Disperse Systems ii. The Capacity of a Suspension of Conducting Spheroids Surrounded by a Non-Conducting Membrane for a Current of Low Frequency // *Physical Review*. – 1925. – T. 26, № 5. – C. 678-681. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.26.678>
184. Fricke H., Morse S. The electric capacity of tumors of the breast // *The Journal of Cancer Research*. – 1926. – T. 10, № 3. – C. 340-376. <https://doi.org/10.1158/jcr.1926.340>
185. Fries P. A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence // *Trends in Cognitive Sciences*. – 2005. – T. 9, № 10. – C. 474-480. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2005.08.011>
186. Frost J. D., Jr., Carrie J. R., Borda R. P., Kellaway P. The effects of dalmane (flurazepam hydrochloride) on human EEG characteristics // *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. – 1973. – T. 34, № 2. – C. 171-5. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(73\)90044-8](https://doi.org/10.1016/0013-4694(73)90044-8)
Frost Jr J., Carrie J., Borda R., Kellaway P. The effects of dalmane (flurazepam hydrochloride) on human EEG characteristics //

- Electroencephalography and Clinical Neurophysiology. – 1973. – T. 34, № 2. – C. 171-175.
187. Fuhrmann G., Markram H., Tsodyks M. Spike Frequency Adaptation and Neocortical Rhythms // *Journal of Neurophysiology*. – 2002. – T. 88, № 2. – C. 761-770. <https://doi.org/10.1152/jn.2002.88.2.761>
 188. Functional architecture of inositol 1,4,5-trisphosphate signaling in restricted spaces of myoendothelial projections / Ledoux J., Taylor M. S., Bonev A. D. [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2008. – T. 105, № 28. – C. 9627-9632. <https://doi.org/10.1073/pnas.08019631>
 189. Functional Changes in Blood Microcirculation in the Skin of the Foot during Heating Tests in Patients with Diabetes Mellitus / Filina M. A., Potapova E. V., Makovik I. N. [et al.] // *Human Physiology*. – 2018. – T. 43, № 6. – C. 693-699. <https://doi.org/10.1134/s03621197170600>
 190. Functional role of delta and theta band oscillations for auditory feedback processing during vocal pitch motor control / Behroozmand R., Ibrahim N., Korzyukov O. [et al.] // *Frontiers in Neuroscience*. – 2015. – T. 9. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.001>
 Galey D., Jeantet Y., Destrade C., Jaffard R. Facilitation of memory consolidation by post-training electrical stimulation of the medial septal nucleus: is it mediated by changes in rhythmic slow activity? // *Behavioral and Neural Biology*. – 1983. – T. 38, № 2. – C. 240-250. [https://doi.org/10.1016/s0163-1047\(83\)90240-6](https://doi.org/10.1016/s0163-1047(83)90240-6)
 191. Gao Z.-X., Li T.-T., Jiang H.-Y., He J. Calcium oscillation on homogeneous and heterogeneous networks of ryanodine receptor // *Physical Review E*. – 2023. – T. 107, № 2. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.107.024402>
 192. Gapeyev A. B., Chemeris N. K. // *Journal of Biological Physics*. – 1999. – T. 25, № 2/3. – C. 193-209. <https://doi.org/10.1023/a:1005165926739>
 193. Gapeyev A. B., Chemeris N. K. Nonlinear Processes of Intracellular Calcium Signaling as a Target for the Influence of Extremely Low-

- Frequency Fields // *Electro- and Magnetobiology*. – 2009. – T. 19, № 1. – C. 21-42. <https://doi.org/10.1081/jbc-100100294>
194. Genetic Deficit of SK3 and IK1 Channels Disrupts the Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor Vasodilator Pathway and Causes Hypertension / Brähler S., Kaistha A., Schmidt V. J. [et al.] // *Circulation*. – 2009. – T. 119, № 17. – C. 2323-2332. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.108.8466>
 195. Glyan'ko A. K., Ischenko A. A. Rhythmical changes of a level nitric oxide (NO) in roots etiolated seedlings of pea (*Pisum sativum* L.) and influence of exogenous calcium (In Russ) // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. – 2014. – T. 10, № 4. – C. 56-66.
 196. Glycogen synthase kinase 3, circadian rhythms, and bipolar disorder: a molecular link in the therapeutic action of lithium / Kaladchibachi S. A., Doble B., Anthopoulos N. [et al.] // *J Circadian Rhythms*. – 2007. – T. 5. – C. 3. <https://doi.org/10.1186/1740-3391-5>
 197. Glycosides from edible sea cucumbers stimulate macrophages via purinergic receptors / Aminin D., Pilyagin E., Astashev M. [et al.] // *Scientific Reports*. – 2016. – T. 6, № 1. <https://doi.org/10.1038/srep396>
 198. Goldstein D. S., Benth O., Park M. Y., Sharabi Y. Low-frequency power of heart rate variability is not a measure of cardiac sympathetic tone but may be a measure of modulation of cardiac autonomic outflows by baroreflexes // *Exp Physiol*. – 2011. – T. 96, № 12. – C. 1255-61. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2010.056259>
 199. Golenhofen K. Slow rhythms in smooth muscle // *Smooth Muscle* / Buhlbring E. и др. – London: Edward Arnold Ltd, 1970. – C. 316–342.
 200. Gondeck A. R., Smith J. R. Dynamics of human sleep sigma spindles // *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. – 1974. – T. 37, № 3. – C. 293-7. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(74\)90033-9](https://doi.org/10.1016/0013-4694(74)90033-9)
 201. Gonzalez Herrero M. E., Kuehn C., Tsaneva-Atanasova K. Reduced Models of Cardiomyocytes Excitability: Comparing Karma and FitzHugh–Nagumo

- // Bulletin of Mathematical Biology. – 2021. – T. 83, № 8.
<https://doi.org/10.1007/s11538-021-00898-0>
202. Goodwill A. G., Frisbee J. C. Oxidant stress and skeletal muscle microvasculopathy in the metabolic syndrome // Vascular pharmacology. – 2012. – T. 57, № 5-6. – C. 150-159.
 203. Gorbacheva E. V., Ershova V. S., Astashev M. E., Vulfius C. A. Two Subtypes of Nicotinic Acetylcholine Receptors in *Lymnaea stagnalis* Neurons Control Chloride Conductance // Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. – 2018. – T. 12, № 3. – C. 261-267. <https://doi.org/10.1134/s1990747818030042>
 204. Grau V., Richter K., Hone A. J., McIntosh J. M. Conopeptides [V11L;V16D]ArIB and RgIA4: Powerful Tools for the Identification of Novel Nicotinic Acetylcholine Receptors in Monocytes // Front Pharmacol. – 2018. – T. 9. – C. 1499. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01499>
 205. Gray J. A. Effects of septal driving of the hippocampal theta rhythm on resistance to extinction // Physiology & Behavior. – 1972. – T. 8, № 3. – C. 481-490. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(72\)90333-2](https://doi.org/10.1016/0031-9384(72)90333-2)
 206. Grieshaber-Bouyer R., Nigrovic P. A. Neutrophil Heterogeneity as Therapeutic Opportunity in Immune-Mediated Disease // Frontiers in Immunology. – 2019. – T. 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00346>
 207. Grinevich A. A., Astashev M. E., Kazachenko V. N. Model of multifractal gating of single ionic channels in biological membranes // Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. – 2007. – T. 1, № 3. – C. 253-269. <https://doi.org/10.1134/s1990747807030099>
 208. Groden D. Determination of Fura-2 dissociation constants following adjustment of the apparent Ca-EGTA association constant for temperature and ionic strength // Cell Calcium. – 1991. – T. 12, № 4. – C. 279-287. [https://doi.org/10.1016/0143-4160\(91\)90002-v](https://doi.org/10.1016/0143-4160(91)90002-v)

209. Grossman P., Taylor E. W. Toward understanding respiratory sinus arrhythmia: relations to cardiac vagal tone, evolution and biobehavioral functions // *Biol Psychol.* – 2007. – T. 74, № 2. – C. 263-85.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2005.11.014>
210. Gryniewicz G., Poenie M., Tsien R. Y. A new generation of Ca²⁺ indicators with greatly improved fluorescence properties // *Journal of Biological Chemistry.* – 1985. – T. 260, № 6. – C. 3440-3450.
[https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)83641-4](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)83641-4)
211. Guermazi M., Kanoun O., Derbel N. Investigation of Long Time Beef and Veal Meat Behavior by Bioimpedance Spectroscopy for Meat Monitoring // *IEEE Sensors Journal.* – 2014. – T. 14, № 10. – C. 3624-3630.
<https://doi.org/10.1109/jsen.2014.2328858>
212. h channel-dependent deficit of theta oscillation resonance and phase shift in temporal lobe epilepsy / Marcellin B., Chauvière L., Becker A. [et al.] // *Neurobiology of Disease.* – 2009. – T. 33, № 3. – C. 436-447.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.11.0>
213. Hartell N. A., Archer H. E., Bailey C. J. Insulin-stimulated endothelial nitric oxide release is calcium independent and mediated via protein kinase B // *Biochemical Pharmacology.* – 2005. – T. 69, № 5. – C. 781-790.
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.11.022>
214. Hartzell S., Bartlett M. S., Virgin L., Porporato A. Nonlinear dynamics of the CAM circadian rhythm in response to environmental forcing // *Journal of Theoretical Biology.* – 2015. – T. 368. – C. 83-94.
<https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2014.12.010>
215. Hasselmann K., Munk W., MacDonald G. J. Bispectra of ocean waves // *Symposium on time series analysis* –New York, 1963. – C. 125-139.
216. Heart rate variability and markers of inflammation and coagulation in depressed patients with coronary heart disease / Carney R. M., Freedland K.

- E., Stein P. K. [et al.] // J Psychosom Res. – 2007. – T. 62, № 4. – C. 463-7.
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2006.12.0>
217. Heart rate variability: are you using it properly? Standardisation checklist of procedures / Catai A. M., Pastre C. M., Godoy M. F. d. [et al.] // Brazilian Journal of Physical Therapy. – 2020. – T. 24, № 2. – C. 91-102.
<https://doi.org/10.1016/j.bjpt.2019.02.0>
218. Heat Stress Induces Apoptosis through a Ca²⁺-Mediated Mitochondrial Apoptotic Pathway in Human Umbilical Vein Endothelial Cells / Pandey S., Li L., Tan H. [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – T. 9, № 12.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.011110>
219. Heat-evoked Activation of TRPV4 Channels in a HEK293 Cell Expression System and in Native Mouse Aorta Endothelial Cells / Watanabe H., Vriens J., Suh S. H. [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2002. – T. 277, № 49. – C. 47044-47051. <https://doi.org/10.1074/jbc.M2082772>
220. Heiss C., Rodriguez-Mateos A., Kelm M. Central Role of eNOS in the Maintenance of Endothelial Homeostasis // Antioxidants & Redox Signaling. – 2015. – T. 22, № 14. – C. 1230-1242.
<https://doi.org/10.1089/ars.2014.6158>
221. Heitner-Wirguin C. Recent advances in perfluorinated ionomer membranes: structure, properties and applications // Journal of Membrane Science. – 1996. – T. 120, № 1. – C. 1-33. [https://doi.org/10.1016/0376-7388\(96\)00155-x](https://doi.org/10.1016/0376-7388(96)00155-x)
222. Hennevin E., Hars B., Bloch V. Improvement of learning by mesencephalic reticular stimulation during postlearning paradoxical sleep // Behavioral and Neural Biology. – 1989. – T. 51, № 3. – C. 291-306.
[https://doi.org/10.1016/s0163-1047\(89\)90948-5](https://doi.org/10.1016/s0163-1047(89)90948-5)
223. HERG-Lite®: A novel comprehensive high-throughput screen for drug-induced hERG risk / Wible B. A., Hawryluk P., Ficker E. [et al.] // Journal

- of Pharmacological and Toxicological Methods. – 2005. – T. 52, № 1. – C. 136-145. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2005.03.0>
224. High-speed, cortex-wide volumetric recording of neuroactivity at cellular resolution using light beads microscopy / Demas J., Manley J., Tejera F. [et al.] // Nature Methods. – 2021. – T. 18, № 9. – C. 1103-1111. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01239>
 225. Hill A. V. The Possible Effects of The Aggregation of The Molecules of Haemoglobin on its Dissociation Curves // The Journal of Physiology. – 1910. – T. 40, № suppl. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1910.sp001386>
 226. Hill M. A., Meininger G. A., Davis M. J., Laher I. Therapeutic potential of pharmacologically targeting arteriolar myogenic tone // Trends in Pharmacological Sciences. – 2009. – T. 30, № 7. – C. 363-374. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.04.008>
 227. Hille B. Ionic channels in excitable membranes. Current problems and biophysical approaches // Biophysical Journal. – 1978. – T. 22, № 2. – C. 283-294. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(78\)85489-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(78)85489-7)
 228. Hipp J. F., Engel A. K., Siegel M. Oscillatory synchronization in large-scale cortical networks predicts perception // Neuron. – 2011. – T. 69, № 2. – C. 387-96. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.12.027>
 229. Histamine induces intracellular Ca²⁺ oscillations and nitric oxide release in endothelial cells from brain microvascular circulation / Berra-Romani R., Faris P., Pellavio G. [et al.] // Journal of Cellular Physiology. – 2019. – T. 235, № 2. – C. 1515-1530. <https://doi.org/10.1002/jcp.290>
 230. Hoshi T., Zagotta W. N., Aldrich R. W. Biophysical and Molecular Mechanisms of Shaker Potassium Channel Inactivation // Science. – 1990. – T. 250, № 4980. – C. 533-538. <https://doi.org/10.1126/science.2122519>
 231. Houle M. S., Billman G. E. Low-frequency component of the heart rate variability spectrum: a poor marker of sympathetic activity // American

- Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 1999. – T. 276, № 1. – C. H215-H223. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1999.276.1.H215>
232. Hsiu H., Hu H.-F., Chang Y.-W. Using Complexity and Spectral Analyses of Noninvasive LDF Signals in Patients with Metabolic Syndrome // Complexity. – 2018. – T. 2018. – C. 1-6. <https://doi.org/10.1155/2018/6898024>
233. http://reprap.org/wiki/RAMPS_1.4/ru. Ramps 1.4. – URL: http://reprap.org/wiki/RAMPS_1.4/ru.
234. Hu H., Jonas P. A supercritical density of Na⁺ channels ensures fast signaling in GABAergic interneuron axons // Nature Neuroscience. – 2014. – T. 17, № 5. – C. 686-693. <https://doi.org/10.1038/nn.3678>
235. Human bronchial epithelial and endothelial cells express alpha7 nicotinic acetylcholine receptors / Wang Y., Pereira E. F., Maus A. D. [et al.] // Mol Pharmacol. – 2001. – T. 60, № 6. – C. 1201-9. <https://doi.org/10.1124/mol.60.6.12>
236. Human red blood cells at work: identification and visualization of erythrocytic eNOS activity in health and disease / Cortese-Krott M. M., Rodriguez-Mateos A., Sansone R. [et al.] // Blood. – 2012. – T. 120, № 20. – C. 4229-4237. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-07-4422>
237. Hydrogen peroxide-induced calcium influx in lung microvascular endothelial cells involves TRPV4 / Suresh K., Servinsky L., Reyes J. [et al.] // American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. – 2015. – T. 309, № 12. – C. L1467-L1477. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00275.20>
238. Hyperglycemia inhibits endothelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the Akt site / Du X. L., Edelstein D., Dimmeler S. [et al.] // Journal of Clinical Investigation. – 2001. – T. 108, № 9. – C. 1341-1348. <https://doi.org/10.1172/jci112>

239. Imai S., Osawa M., Takeuchi K., Shimada I. Structural basis underlying the dual gate properties of KcsA // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2010. – T. 107, № 14. – C. 6216-6221. <https://doi.org/10.1073/pnas.0911270107>
240. Immler R., Simon S. I., Sperandio M. Calcium signalling and related ion channels in neutrophil recruitment and function // *European Journal of Clinical Investigation*. – 2018. – T. 48, № S2. <https://doi.org/10.1111/eci.12964>
241. Increased Vascular Contractility in Hypertension Results From Impaired Endothelial Calcium Signaling / Wilson C., Zhang X., Buckley C. [et al.] // *Hypertension*. – 2019. – T. 74, № 5. – C. 1200-1214. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.137>
242. Influence of temperature on the conductivity of electrolytic solutions // *Proceedings of the Royal Society of London*. – 1997. – T. 71, № 467-476. – C. 42-54. <https://doi.org/10.1098/rspl.1902.0059>
243. Infralow oscillations modulate excitability and interictal epileptic activity in the human cortex during sleep / Vanhatalo S., Palva J. M., Holmes M. D. [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2004. – T. 101, № 14. – C. 5053-7. <https://doi.org/10.1073/pnas.03053751>
244. Insulin Promotes the Association of Heat Shock Protein 90 with the Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor to Dampen Its Ca²⁺ Release Activity / Boulay G., Guillemette G. t., Klarskov K. [et al.] // *Endocrinology*. – 2009. – T. 150, № 5. – C. 2190-2196. <https://doi.org/10.1210/en.2008-11>
245. Interaction of $\alpha 9\alpha 10$ Nicotinic Receptors With Peptides and Proteins From Animal Venoms / Tsetlin V., Haufe Y., Safronova V. [et al.] // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2021. – T. 15. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.7655>
246. Interictal high-frequency oscillations (80-500Hz) in the human epileptic brain: Entorhinal cortex / Bragin A., Wilson C. L., Staba R. J. [et al.] //

- Annals of Neurology. – 2002. – T. 52, № 4. – C. 407-415.
<https://doi.org/10.1002/ana.102>
247. In-vivo correlations between skin metabolic oscillations and vasomotion in wild-type mice and in a model of oxidative stress / Smirni S., McNeilly A. D., MacDonald M. P. [et al.] // Scientific Reports. – 2019. – T. 9, № 1.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-36970>
 248. Involvement of Na⁺/Ca²⁺exchanger in endothelial NO production and endothelium-dependent relaxation / Schneider J.-C., El Kebir D., Chéreau C. [et al.] // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2002. – T. 283, № 2. – C. H837-H844.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00789.20>
 249. Ion Channels of Excitable Membranes. / Hille B. – 3rd Edition изд. – Sunderland: Sinauer Associates Inc., 2001.
 250. Iskhakova I. S., Ruyatkina L. A., Nikolaev K. Y., Ruyatkin D. S. Myogenic vasomotions in postmenopausal women with normoglycemia, prediabetes and diabetes mellitus type 2 // Regional blood circulation and microcirculation. – 2016. – T. 15, № 3. – C. 36-43.
<https://doi.org/10.24884/1682-6655-2016-15-3-36-43>
 251. Isolation and Culture of Fibroblasts, Vascular Smooth Muscle, and Endothelial Cells From the Fetal Rat Ductus Arteriosus / Weber S. C., Gratopp A., Akanbi S. [et al.] // Pediatric Research. – 2011. – T. 70, № 3. – C. 236-241. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e318225f7>
 252. Jaalouk D. E., Lammerding J. Mechanotransduction gone awry // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2009. – T. 10, № 1. – C. 63-73.
<https://doi.org/10.1038/nrm2597>
 253. Jacob R. Calcium oscillations in endothelial cells // Cell Calcium. – 1991. – T. 12, № 2-3. – C. 127-134. [https://doi.org/10.1016/0143-4160\(91\)90014-6](https://doi.org/10.1016/0143-4160(91)90014-6)
 254. Jensen O., Gelfand J., Kounios J., Lisman J. E. Oscillations in the alpha band (9-12 Hz) increase with memory load during retention in a short-term

- memory task // *Cereb Cortex*. – 2002. – T. 12, № 8. – C. 877-82.
<https://doi.org/10.1093/cercor/12.8.877>
255. Jensen O., Kaiser J., Lachaux J.-P. Human gamma-frequency oscillations associated with attention and memory // *Trends in Neurosciences*. – 2007. – T. 30, № 7. – C. 317-324. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.05.001>
256. Jeon B. W., Acharya B. R., Assmann S. M. The Arabidopsis heterotrimeric G-protein β subunit, AGB1, is required for guard cell calcium sensing and calcium-induced calcium release // *The Plant Journal*. – 2019. – T. 99, № 2. – C. 231-244. <https://doi.org/10.1111/tpj.14318>
257. Jerome J. W., Kerkhoven T. A Finite Element Approximation Theory for the Drift Diffusion Semiconductor Model // *SIAM Journal on Numerical Analysis*. – 1991. – T. 28, № 2. – C. 403-422. <https://doi.org/10.1137/0728023>
258. Ji Q., Zuo H., Meng P. Burst synchronization transition of intracellular Ca^{2+} oscillations in coupled cell systems // *AIP Advances*. – 2017. – T. 7, № 11. <https://doi.org/10.1063/1.4999179>
259. Johnson P. C. Overview of the microcirculation // *Microcirculation*. – 2008. – C. xi-xxiv.
260. Jutras M. J., Fries P., Buffalo E. A. Gamma-Band Synchronization in the Macaque Hippocampus and Memory Formation // *The Journal of Neuroscience*. – 2009. – T. 29, № 40. – C. 12521-12531. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.0640-09.2009>
261. Kajikawa Y., Schroeder Charles E. How Local Is the Local Field Potential? // *Neuron*. – 2011. – T. 72, № 5. – C. 847-858. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.029>
262. Kalia Y. N., Naik A., Garrison J., Guy R. H. Iontophoretic drug delivery // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2004. – T. 56, № 5. – C. 619-658. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.10.026>

263. Kapela A., Parikh J., Tsoukias Nikolaos M. Multiple Factors Influence Calcium Synchronization in Arterial Vasomotion // *Biophysical Journal*. – 2012. – T. 102, № 2. – C. 211-220. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.12.032>
264. Karbowski J. Information Thermodynamics: From Physics to Neuroscience // *Entropy*. – 2024. – T. 26, № 9. <https://doi.org/10.3390/e26090779>
265. Kargol A. Wavelet-based protocols for ion channel electrophysiology // *BMC Biophysics*. – 2013. – T. 6, № 1. <https://doi.org/10.1186/2046-1682-6-3>
266. Karmakar M., Katsnelson M. A., Dubyak G. R., Pearlman E. Neutrophil P2X7 receptors mediate NLRP3 inflammasome-dependent IL-1 β secretion in response to ATP // *Nature Communications*. – 2016. – T. 7, № 1. <https://doi.org/10.1038/ncomms10555>
267. Kastrup J., Bulow J., Lassen N. A. Vasomotion in human skin before and after local heating recorded with laser Doppler flowmetry. A method for induction of vasomotion // *Int J Microcirc Clin Exp*. – 1989. – T. 8, № 2. – C. 205-15.
268. Kazachenko V. N., Astashev M. E., Grinevich A. A. Multifractal analysis of K⁺ channel activity // *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. – 2007. – T. 1, № 2. – C. 169-175. <https://doi.org/10.1134/s1990747807020109>
269. Kazachenko V. N., Kochetkov K. V., Aslanidi O. V., Grinevich A. A. [Study of fractal properties of single ionic channel gating mechanism by the fast Fourier transform] // *Biofizika*. – 2001. – T. 46, № 6. – C. 1062-70.
270. Kazachenko V. N., Kochetkov K. V., Astashev M. E., Grinevich A. A. [Fractal properties of gating in potential-dependent K⁺-channels in *Lymnaea stagnalis* neurons] // *Biofizika*. – 2004. – T. 49, № 5. – C. 852-65.
271. Kember G. C., Fenton G. A., Armour J. A., Kalyaniwalla N. Competition model for aperiodic stochastic resonance in a Fitzhugh-Nagumo model of

- cardiac sensory neurons // *Physical Review E*. – 2001. – T. 63, № 4. – C. 041911. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.63.041911>
272. Kember G. C., Fenton G. A., Collier K., Armour J. A. Aperiodic stochastic resonance in a hysteretic population of cardiac neurons // *Physical Review E*. – 2000. – T. 61, № 2. – C. 1816-1824. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.61.1816>
 273. Kholodenko B. N. Cell-signalling dynamics in time and space // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2006. – T. 7, № 3. – C. 165-176. <https://doi.org/10.1038/nrm1838>
 274. Kimura C., Oike M., Ito Y. Acute Glucose Overload Abolishes Ca^{2+} Oscillation in Cultured Endothelial Cells From Bovine Aorta // *Circulation Research*. – 1998. – T. 82, № 6. – C. 677-685. <https://doi.org/10.1161/01.res.82.6.677>
 275. Kitano H. Systems Biology: A Brief Overview // *Science*. – 2002. – T. 295, № 5560. – C. 1662-1664. <https://doi.org/10.1126/science.1069492>
 276. Kitchigina V. F., Butuzova M. V. Theta activity of septal neurons during different epileptic phases: the same frequency but different significance? // *Exp Neurol*. – 2009. – T. 216, № 2. – C. 449-58. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.01.001>
 277. Kokoz Y. M., Evdokimovskii E. V., Maltsev A. V. Upregulation of $\alpha 2$ -adrenoceptor synthesis in SHR cardiomyocytes: Recompense without sense – Increased amounts, impaired commands // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 2019. – T. 674. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.108109>
 278. Kondo T. A Cyanobacterial Circadian Clock Based on the Kai Oscillator // *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. – 2007. – T. 72, № 1. – C. 47-55. <https://doi.org/10.1101/sqb.2007.72.029>
 279. Kononov A. V., Bal' N. V., Zinchenko V. P. Control of spontaneous synchronous Ca^{2+} oscillations in hippocampal neurons by GABAergic neurons containing kainate receptors without desensitization // *Biochemistry*

- (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. – 2012. – T. 6, № 2. – C. 215-220. <https://doi.org/10.1134/s1990747812010072>
280. Konopka G., Bhaduri A. Functional genomics and systems biology in human neuroscience // *Nature*. – 2023. – T. 623, № 7986. – C. 274-282. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06686-1>
 281. Kozelka J. W., Pedley T. A. Beta and mu rhythms // *J Clin Neurophysiol*. – 1990. – T. 7, № 2. – C. 191-207. <https://doi.org/10.1097/00004691-199004000-00004>
 282. Kreutz C., Timmer J. Systems biology: experimental design // *The FEBS Journal*. – 2009. – T. 276, № 4. – C. 923-942. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06843.x>
 283. Krishnan M., Mariappan M. EEG-Based Brain-Machine Interface (BMI) for Controlling Mobile Robots: The Trend of Prior Studies // *International Journal of Computer Science and Electronics Engineering (IJCSEE)*. – 2015. – T. 3, № 2. – C. 159-165.
 284. Krupatkin A. I. Cardiac and respiratory oscillations of the blood flow in microvessels of the human skin // *Human Physiology*. – 2008. – T. 34, № 3. – C. 323-329. <https://doi.org/10.1134/s0362119708030092>
 285. Kuang Q., Purhonen P., Hebert H. Structure of potassium channels // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2015. – T. 72, № 19. – C. 3677-3693. <https://doi.org/10.1007/s00018-015-1948-5>
 286. Kvernmo H. D., Stefanovska A., Kirkebøen K. A., Kvernebo K. Oscillations in the Human Cutaneous Blood Perfusion Signal Modified by Endothelium-Dependent and Endothelium-Independent Vasodilators // *Microvascular Research*. – 1999. – T. 57, № 3. – C. 298-309. <https://doi.org/10.1006/mvre.1998.2139>
 287. Ladeynova M., Kuznetsova D., Mudrilov M., Vodeneev V. Integration of Electrical Signals and Phytohormones in the Control of Systemic Response

- // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – T. 24, № 1.
<https://doi.org/10.3390/ijms24010847>
288. Lahav G. The Strength of Indecisiveness: Oscillatory Behavior for Better Cell Fate Determination // Science's STKE. – 2004. – T. 2004, № 264.
<https://doi.org/10.1126/stke.2642004pe55>
 289. Lamont E. W., Amir S. Circadian and Ultradian Clocks/Rhythms // Encyclopedia of Behavioral Neuroscience, 2nd edition, 2017. – C. 746-751.
 290. Landfield P. Different effects of posttrial driving or blocking of the theta rhythm on avoidance learning in rats // Physiology & Behavior. – 1977. – T. 18, № 3. – C. 439-445. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(77\)90257-8](https://doi.org/10.1016/0031-9384(77)90257-8)
 291. Laser Doppler Flowmetry in Microcirculation Assessment in Children with Bronchial Asthma / Kolosova N. G., Geppe N. A., Lozko N. I. [et al.] // Doctor.Ru. – 2018. – T. 149, № 5. – C. 37-41.
<https://doi.org/10.31550/1727-2378-2018-149-5-37->
 292. Lavaud J., Rousseau B., van Gorkom H. J., Etienne A.-L. Influence of the Diadinoxanthin Pool Size on Photoprotection in the Marine Planktonic Diatom *Phaeodactylum tricornutum* // Plant Physiology. – 2002. – T. 129, № 3. – C. 1398-1406. <https://doi.org/10.1104/pp.002014>
 293. Lee D., Hong J. H. Physiological Application of Nanoparticles in calcium-related Proteins and Channels // Nanomedicine. – 2019. – T. 14, № 18. – C. 2479-2486. <https://doi.org/10.2217/nnm-2019-0004>
 294. Legendre P., Sourieux M., Bertrand S. S., Cazalets J.-R. Cholinergic-mediated coordination of rhythmic sympathetic and motor activities in the newborn rat spinal cord // PLOS Biology. – 2018. – T. 16, № 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2005460>
 295. Lehrer P. M., Gevirtz R. Heart rate variability biofeedback: how and why does it work? // Front Psychol. – 2014. – T. 5. – C. 756. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00756>

296. Leranth C., Carpi D., Buzsaki G., Kiss J. The entorhino-septo-supramammillary nucleus connection in the rat: morphological basis of a feedback mechanism regulating hippocampal theta rhythm // *Neuroscience*. – 1999. – T. 88, № 3. – C. 701-18. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(98\)00245-0](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(98)00245-0)
297. Lien C.-C., Jonas P. Kv3 Potassium Conductance is Necessary and Kinetically Optimized for High-Frequency Action Potential Generation in Hippocampal Interneurons // *The Journal of Neuroscience*. – 2003. – T. 23, № 6. – C. 2058-2068. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.23-06-02058.2003>
298. Lim S., Kaldis P. Cdks, cyclins and CKIs: roles beyond cell cycle regulation // *Development*. – 2013. – T. 140, № 15. – C. 3079-3093. <https://doi.org/10.1242/dev.091744>
299. Linaro D., Giugliano M. Markov Models of Ion Channels // *Encyclopedia of Computational Neuroscience* / Jaeger D., Jung R. – New York, NY: Springer New York, 2022. – C. 1961-1972.
300. Liu J., Hughes T. E., Sessa W. C. Dynamic Movement of Endothelial Nitric Oxide Synthase between Golgi and Plasma Membrane of Living Cell // *Japanese Journal of Pharmacology*. – 1997. – T. 75. [https://doi.org/10.1016/s0021-5198\(19\)41502-3](https://doi.org/10.1016/s0021-5198(19)41502-3)
301. Liu Y.-H., Wang X.-J. Spike-Frequency Adaptation of a Generalized Leaky Integrate-and-Fire Model Neuron // *Journal of Computational Neuroscience*. – 2001. – T. 10, № 1. – C. 25-45. <https://doi.org/10.1023/a:1008916026143>
302. Lloyd D., Murray D. B. Ultradian metronome: timekeeper for orchestration of cellular coherence // *Trends in Biochemical Sciences*. – 2005. – T. 30, № 7. – C. 373-377. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2005.05.005>
303. Low-frequency oscillations of the laser Doppler perfusion signal in human skin / Kvandal P., Landsverk S. A., Bernjak A. [et al.] // *Microvascular Research*. – 2006. – T. 72, № 3. – C. 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2006.05.0>

304. Luciani D. S., Misler S., Polonsky K. S. Ca^{2+} controls slow NAD(P)H oscillations in glucose-stimulated mouse pancreatic islets // *The Journal of Physiology*. – 2006. – T. 572, № 2. – C. 379-392. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.101766>
305. Ma L., Zhang J., Liu Y. Roles and Mechanisms of Obstructive Sleep Apnea-Hypopnea Syndrome and Chronic Intermittent Hypoxia in Atherosclerosis: Evidence and Prospective // *Oxid Med Cell Longev*. – 2016. – T. 2016. – C. 8215082. <https://doi.org/10.1155/2016/8215082>
306. Ma'ayan A. Introduction to Network Analysis in Systems Biology // *Science Signaling*. – 2011. – T. 4, № 190. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2001965>
307. MacKinnon S., Gevirtz R., McCraty R., Brown M. Utilizing heartbeat evoked potentials to identify cardiac regulation of vagal afferents during emotion and resonant breathing // *Appl Psychophysiol Biofeedback*. – 2013. – T. 38, № 4. – C. 241-55. <https://doi.org/10.1007/s10484-013-9226-5>
308. Magar H. S., Hassan R. Y. A., Mulchandani A. Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS): Principles, Construction, and Biosensing Applications // *Sensors*. – 2021. – T. 21, № 19. <https://doi.org/10.3390/s21196578>
309. Malliani A., Pagani M., Lombardi F., Cerutti S. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain // *Circulation*. – 1991. – T. 84, № 2. – C. 482-92. <https://doi.org/10.1161/01.cir.84.2.482>
310. Maltsev A. V., Kokoz Y. M. Cardiomyocytes generating spontaneous Ca^{2+} -transients as tools for precise estimation of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} transport // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 2020. – T. 693. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108542>
311. Manseau F., Danik M., Williams S. A functional glutamatergic neurone network in the medial septum and diagonal band area // *The Journal of Physiology*. – 2005. – T. 566, № 3. – C. 865-884. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.089664>

312. Marsen T. A., Simonson M. S., Dunn M. J. Roles of calcium and kinases in regulation of thrombin-stimulated preproendothelin-1 transcription // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 1996. – T. 271, № 5. – C. H1918-H1925. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1996.271.5.H1918>
313. Mathematical Biology. Interdisciplinary Applied Mathematics. / Murray J. D. – NY: Springer New York, 2002. Interdisciplinary Applied Mathematics. – 551 c.
314. Mathematical Modeling of Autowave Processes in a Cell with Nanostructured Liquid / Chekanov V. V., Kandaurova N. V., Chekanov V. S. [et al.] // Journal of Mathematical Sciences. – 2021. – T. 259, № 3. – C. 341-348. <https://doi.org/10.1007/s10958-021-05622>
Mathiesen C., Brazhe A., Thomsen K., Lauritzen M. Spontaneous Calcium Waves in Bergman Glia Increase with Age and Hypoxia and may Reduce Tissue Oxygen // Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. – 2012. – T. 33, № 2. – C. 161-169. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.175>
315. Mauritz K. A., Moore R. B. State of Understanding of Nafion // Chemical Reviews. – 2004. – T. 104, № 10. – C. 4535-4586. <https://doi.org/10.1021/cr0207123>
316. McManus O. B., Magleby K. L. Accounting for the Ca^{2+} -dependent kinetics of single large-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels in rat skeletal muscle // The Journal of Physiology. – 1991. – T. 443, № 1. – C. 739-777. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1991.sp018861>
317. Mechanical communication in cardiac cell synchronized beating / Nitsan I., Drori S., Lewis Y. E. [et al.] // Nature Physics. – 2016. – T. 12, № 5. – C. 472-477. <https://doi.org/10.1038/nphys36>
318. Medow M. S., Taneja I., Stewart J. M. Cyclooxygenase and nitric oxide synthase dependence of cutaneous reactive hyperemia in humans // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2007.

- T. 293, № 1. – C. H425-H432.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.01217.2006>
319. Meyer J. U., Borgström P., Lindbom L., Intaglietta M. Vasomotion patterns in skeletal muscle arterioles during changes in arterial pressure // *Microvascular Research*. – 1988. – T. 35, № 2. – C. 193-203.
[https://doi.org/10.1016/0026-2862\(88\)90062-3](https://doi.org/10.1016/0026-2862(88)90062-3)
320. Michaelis L., Menten M. L., Johnson K. A., Goody R. S. The original Michaelis constant: translation of the 1913 Michaelis-Menten paper // *Biochemistry*. – 2011. – T. 50, № 39. – C. 8264-9.
<https://doi.org/10.1021/bi201284u>
321. Minson C. T. Thermal provocation to evaluate microvascular reactivity in human skin // *Journal of Applied Physiology*. – 2010. – T. 109, № 4. – C. 1239-1246. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00414.2010>
322. Mitchell D. J., McNaughton N., Flanagan D., Kirk I. J. Frontal-midline theta from the perspective of hippocampal “theta” // *Progress in Neurobiology*. – 2008. – T. 86, № 3. – C. 156-185.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2008.09.005>
323. Mitchell Michael J., Lin Kimberly S., King Michael R. Fluid Shear Stress Increases Neutrophil Activation via Platelet-Activating Factor // *Biophysical Journal*. – 2014. – T. 106, № 10. – C. 2243-2253.
<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.04.001>
324. Mizeva I. A. Phase coherence of 0.1 Hz microvascular tone oscillations during the local heating // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. – 2017. – T. 208. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/208/1/012027>
325. Modeling brain network flexibility in networks of coupled oscillators: a feasibility study / Chinichian N., Lindner M., Yanchuk S. [et al.] // *Scientific Reports*. – 2024. – T. 14, № 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-55753>

326. Modern physical methods and technologies in agriculture / Gudkov S. V., Sarimov R. M., Astashev M. E. [et al.] // *Physics-Uspekhi*. – 2023. – T. 194, № 02. – С. 208-226. <https://doi.org/10.3367/UFNr.2023.09.0395>
327. Modulation of Neuronal Interactions Through Neuronal Synchronization / Womelsdorf T., Schoffelen J.-M., Oostenveld R. [et al.] // *Science*. – 2007. – T. 316, № 5831. – С. 1609-1612. <https://doi.org/10.1126/science.11395>
328. Modulatory effect of NCX on IP3-dependent Ca²⁺ oscillations in astrocytes / Verisokin A. Y., Verveiko D. V., Kucherenko V. V. [et al.] // *Book Modulatory effect of NCX on IP3-dependent Ca²⁺ oscillations in astrocytes / Editor, 202*
329. *Molecular biology of the cell.* / Alberts B. – Seventh edition. изд. – New York: W. W. Norton & Company, 2022. – pages cm c.
330. *Molecular forces and self assembly : in colloid, nano sciences and biology. Cambridge molecular science series.* / Ninham B. W., Lo Nostro P. – Cambridge ; New York: Cambridge University Press, 2010. Cambridge molecular science series. – xvi, 365 p. c.
331. *Molecular Stress Physiology of Plants.* / Rout G. R., Das A. B., 2013.
332. Mölle M., Marshall L., Gais S., Born J. Learning increases human electroencephalographic coherence during subsequent slow sleep oscillations // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2004. – T. 101, № 38. – С. 13963-13968. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402820101>
333. Monaco J. D., Knierim J. J., Zhang K. Sensory Feedback, Error Correction, and Remapping in a Multiple Oscillator Model of Place-Cell Activity // *Frontiers in Computational Neuroscience*. – 2011. – T. 5. <https://doi.org/10.3389/fncom.2011.00039>
334. Morales S., Bowers M. E. Time-frequency analysis methods and their application in developmental EEG data // *Developmental Cognitive Neuroscience*. – 2022. – T. 54. <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2022.101067>

335. Morenko A. Brain processes during the perception of sensory signals in men with high and low output α -frequencies // *Annals of Neurosciences*. – 2014. – T. 21, № 4. <https://doi.org/10.5214/ans.0972.7531.210406>
336. Morphology of local axon collaterals of electrophysiologically characterised neurons in the rat medial septal/ diagonal band complex / Henderson Z., Morris N. P., Grimwood P. [et al.] // *The Journal of Comparative Neurology*. – 2001. – T. 430, № 3. – C. 410-432. [https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20010212\)430:3<410::aid-cne1040>3.0.co;2](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20010212)430:3<410::aid-cne1040>3.0.co;2)
337. Morphology of local axon collaterals of electrophysiologically characterised neurons in the rat medial septal/ diagonal band complex / Henderson Z., Morris N. P., Grimwood P. [et al.] // *J Comp Neurol*. – 2001. – T. 430, № 3. – C. 410-32. [https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20010212\)430:3<410::aid-cne1040>3.0.co;2](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20010212)430:3<410::aid-cne1040>3.0.co;2)
338. mTOR and differential activation of mitochondria orchestrate neutrophil chemotaxis / Bao Y., Ledderose C., Graf A. F. [et al.] // *Journal of Cell Biology*. – 2015. – T. 210, № 7. – C. 1153-1164. <https://doi.org/10.1083/jcb.2015030>
339. Multiparameter In Vitro Assessment of Compound Effects on Cardiomyocyte Physiology Using iPSC Cells / Sirenko O., Crittenden C., Callamaras N. [et al.] // *SLAS Discovery*. – 2013. – T. 18, № 1. – C. 39-53. <https://doi.org/10.1177/10870571124575>
340. Multiple cyclic nucleotide-gated channels coordinate calcium oscillations and polar growth of root hairs / Brost C., Studtrucker T., Reimann R. [et al.] // *The Plant Journal*. – 2019. – T. 99, № 5. – C. 910-923. <https://doi.org/10.1111/tpj.143>
341. Murad S. The role of external electric fields in enhancing ion mobility, drift velocity, and drift–diffusion rates in aqueous electrolyte solutions // *The Journal of Chemical Physics*. – 2011. – T. 134, № 11. <https://doi.org/10.1063/1.3565478>

342. Muris D. M. J., Houben A. J. H. M., Schram M. T., Stehouwer C. D. A. Microvascular Dysfunction Is Associated With a Higher Incidence of Type 2 Diabetes Mellitus // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2012. – T. 32, № 12. – C. 3082-3094. <https://doi.org/10.1161/atvbaha.112.300291>
343. Mushtaq R., Van Cott A. C. Benign EEG variants // *Am J Electroneurodiagnostic Technol*. – 2005. – T. 45, № 2. – C. 88-101.
344. Nagumo J., Arimoto S., Yoshizawa S. An active pulse transmission line simulating nerve axon // *Proceedings of the IRE*. – 1962. – T. 50, № 10. – C. 2061-2070.
345. Nayak C. S., Anilkumar A. C. EEG Normal Waveforms // *StatPearls*. – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022.
346. Nenadic Z., Burdick J. W. A control algorithm for autonomous optimization of extracellular recordings // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 2006. – T. 53, № 5. – C. 941-955. <https://doi.org/10.1109/tbme.2005.863930>
347. Nerve, Muscle, and Synapse. / Katz B.: McGraw-Hill, 1966.
348. Neural oscillations predict flow experience / Lin B., Guo B., Zhuang L. [et al.] // *Cognitive Neurodynamics*. – 2024. – T. 19, № 1. <https://doi.org/10.1007/s11571-024-10205>
349. Neurocardiology: Anatomical and Functional Principles. / Armour J. A. – Boulder Creek, CA: Institute of HeartMath, 2003.
350. Neuronal spike-rate adaptation supports working memory in language processing / Fitz H., Uhlmann M., van den Broek D. [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2020. – T. 117, № 34. – C. 20881-20889. <https://doi.org/10.1073/pnas.20002221>
351. Neutrophil Signaling That Challenges Dogmata of G Protein-Coupled Receptor Regulated Functions / Dahlgren C., Holdfeldt A., Lind S. [et al.] //

- ACS Pharmacology & Translational Science. – 2020. – T. 3, № 2. – C. 203-220. <https://doi.org/10.1021/acsptsci.0c000>
352. Newman J., Pidde A., Stefanovska A. Defining the wavelet bispectrum // Applied and Computational Harmonic Analysis. – 2021. – T. 51. – C. 171-224. <https://doi.org/10.1016/j.acha.2020.10.005>
 353. NF- κ B oscillations translate into functionally related patterns of gene expression / Zambrano S., De Toma I., Piffer A. [et al.] // Elife. – 2016. – T. 5. – C. e09100. <https://doi.org/10.7554/eLife.091>
 354. Nicotinic receptor involvement in regulation of functions of mouse neutrophils from inflammatory site / Safronova V. G., Vulfius C. A., Shelukhina I. V. [et al.] // Immunobiology. – 2016. – T. 221, № 7. – C. 761-772. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2016.01.0>
 355. Niedermeyer E. Alpha rhythms as physiological and abnormal phenomena // Int J Psychophysiol. – 1997. – T. 26, № 1-3. – C. 31-49. [https://doi.org/10.1016/s0167-8760\(97\)00754-x](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(97)00754-x)
 356. Niedermeyer E. The "third rhythm": further observations // Clin Electroencephalogr. – 1991. – T. 22, № 2. – C. 83-96. <https://doi.org/10.1177/155005949102200208>
 357. Nikolova M. P., Chavali M. S. Metal Oxide Nanoparticles as Biomedical Materials // Biomimetics. – 2020. – T. 5, № 2. <https://doi.org/10.3390/biomimetics5020027>
 358. Nitric Oxide Synthase Expression and Functional Response to Nitric Oxide Are Both Important Modulators of Circulating Angiogenic Cell Response to Angiogenic Stimuli / Heiss C., Schanz A., Amabile N. [et al.] // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2010. – T. 30, № 11. – C. 2212-2218. <https://doi.org/10.1161/atvbaha.110.2115>
 359. Nitric Oxide Synthesis Is Reduced in Subjects With Type 2 Diabetes and Nephropathy / Tessari P., Cecchet D., Cosma A. [et al.] // Diabetes. – 2010. – T. 59, № 9. – C. 2152-2159. <https://doi.org/10.2337/db09-17>

360. Nitric Oxide–Dependent Feedback Loop Regulates Transient Receptor Potential Vanilloid 4 (TRPV4) Channel Cooperativity and Endothelial Function in Small Pulmonary Arteries / Marziano C., Hong K., Cope E. L. [et al.] // *Journal of the American Heart Association*. – 2017. – T. 6, № 12. <https://doi.org/10.1161/jaha.117.0071>
361. Nonpharmacological amelioration of age-related learning deficits: The impact of hippocampal θ -triggered training / Asaka Y., Mauldin K. N., Griffin A. L. [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2005. – T. 102, № 37. – C. 13284-13288. <https://doi.org/10.1073/pnas.05065151>
362. Notaguchi M., Okamoto S. Dynamics of long-distance signaling via plant vascular tissues // *Frontiers in Plant Science*. – 2015. – T. 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00161>
363. Nuclear-localized cyclic nucleotide–gated channels mediate symbiotic calcium oscillations / Charpentier M., Sun J., Martins T. V. [et al.] // *Science*. – 2016. – T. 352, № 6289. – C. 1102-1105. <https://doi.org/10.1126/science.aae01>
364. Nuñez A., Buño W. The Theta Rhythm of the Hippocampus: From Neuronal and Circuit Mechanisms to Behavior // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2021. – T. 15. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.649262>
365. Nunn C. M. H., Osselton J. W. The Influence of the EEG Alpha Rhythm on the Perception of Visual Stimuli // *Psychophysiology*. – 2007. – T. 11, № 3. – C. 294-303. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.1974.tb00547.x>
366. O'Keefe J., Recce M. L. Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm // *Hippocampus*. – 2004. – T. 3, № 3. – C. 317-330. <https://doi.org/10.1002/hipo.450030307>
367. On the mechanism of palmitic acid-induced apoptosis: the role of a pore induced by palmitic acid and Ca^{2+} in mitochondria / Belosludtsev K., Saris N.-E. L., Andersson L. C. [et al.] // *Journal of Bioenergetics and*

- Biomembranes. – 2006. – T. 38, № 2. – C. 113-120.
<https://doi.org/10.1007/s10863-006-9010>
368. O'Neill John S., Reddy Akhilesh B. The essential role of cAMP/Ca²⁺ signalling in mammalian circadian timekeeping // *Biochemical Society Transactions*. – 2012. – T. 40, № 1. – C. 44-50.
<https://doi.org/10.1042/bst20110691>
369. Open-Source Lab. / Pearce J. M.: Elsevier, 2014.
370. Optical noninvasive diagnostics of the functional state of microcirculatory bed in patients with disorders of peripheral haemodynamics / Zharkikh E. V., Makovik I. N., Potapova E. V. [et al.] // *Regional blood circulation and microcirculation*. – 2018. – T. 17, № 3. – C. 23-32.
<https://doi.org/10.24884/1682-6655-2018-17-3-23->
371. Ortiz M., Iáñez E., Contreras-Vidal J. L., Azorín J. M. Analysis of the EEG Rhythms Based on the Empirical Mode Decomposition During Motor Imagery When Using a Lower-Limb Exoskeleton. A Case Study // *Frontiers in Neurorobotics*. – 2020. – T. 14. <https://doi.org/10.3389/fnbot.2020.00048>
372. Oscillations in NF-kappaB signaling control the dynamics of gene expression / Nelson D. E., Ihekweba A. E., Elliott M. [et al.] // *Science*. – 2004. – T. 306, № 5696. – C. 704-8. <https://doi.org/10.1126/science.10999>
373. Oscillations in plant membrane transport: model predictions, experimental validation, and physiological implications / Shabala S., Shabala L., Gradmann D. [et al.] // *Journal of Experimental Botany*. – 2006. – T. 57, № 1. – C. 171-184. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj0>
374. Oxygen-dependent auto-oscillations of water luminescence triggered by the 1264 nm radiation / Gudkov S. V., Bruskov V. I., Astashev M. E. [et al.] // *J Phys Chem B*. – 2011. – T. 115, № 23. – C. 7693-8.
<https://doi.org/10.1021/jp20231>

375. Palmer R. M., Ashton D. S., Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine // *Nature*. – 1988. – T. 333, № 6174. – C. 664-6. <https://doi.org/10.1038/333664a0>
376. Paltauf-Doburzynska J., Malli R., Graier W. F. Hyperglycemic Conditions Affect Shape and Ca²⁺ Homeostasis of Mitochondria in Endothelial Cells // *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. – 2004. – T. 44, № 4. – C. 423-436. <https://doi.org/10.1097/01.fjc.0000139449.64337.1b>
377. Palva S., Linkenkaer-Hansen K., Naatanen R., Palva J. M. Early neural correlates of conscious somatosensory perception // *J Neurosci*. – 2005. – T. 25, № 21. – C. 5248-58. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0141-05.2005>
378. Parker I., Choi J., Yao Y. Elementary events of InsP₃-induced Ca²⁺ liberation in *Xenopus* oocytes: hot spots, puffs and blips // *Cell Calcium*. – 1996. – T. 20, № 2. – C. 105-121. [https://doi.org/10.1016/s0143-4160\(96\)90100-1](https://doi.org/10.1016/s0143-4160(96)90100-1)
379. Partch C. L., Green C. B., Takahashi J. S. Molecular architecture of the mammalian circadian clock // *Trends Cell Biol*. – 2014. – T. 24, № 2. – C. 90-9. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2013.07.002>
380. Patel T. P., Ventre S. C., Meaney D. F. Dynamic Changes in Neural Circuit Topology Following Mild Mechanical Injury In Vitro // *Annals of Biomedical Engineering*. – 2011. – T. 40, № 1. – C. 23-36. <https://doi.org/10.1007/s10439-011-0390-6>
381. Peroxiredoxin 6 protects irradiated cells from oxidative stress and shapes their senescence-associated cytokine landscape / Salovska B., Kondelova A., Pimkova K. [et al.] // *Redox Biology*. – 2022. – T. 49. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.1022>
382. Peroxiredoxins are conserved markers of circadian rhythms / Edgar R. S., Green E. W., Zhao Y. [et al.] // *Nature*. – 2012. – T. 485, № 7399. – C. 459-464. <https://doi.org/10.1038/nature1110>

383. Physiological Ripples (± 100 Hz) in Spike-Free Scalp EEGs of Children With and Without Epilepsy / Mooij A. H., Raijmann R. C. M. A., Jansen F. E. [et al.] // *Brain Topography*. – 2017. – T. 30, № 6. – C. 739-746. <https://doi.org/10.1007/s10548-017-0590>
384. Plant Circadian Clocks Increase Photosynthesis, Growth, Survival, and Competitive Advantage / Dodd A. N., Salathia N., Hall A. [et al.] // *Science*. – 2005. – T. 309, № 5734. – C. 630-633. <https://doi.org/10.1126/science.11155>
385. Plant Tissue Modelling Using Power-Law Filters / Gadallah S. I., Ghoneim M. S., Elwakil A. S. [et al.] // *Sensors*. – 2022. – T. 22, № 15. <https://doi.org/10.3390/s221556>
386. Plattner H., Verkhratsky A. The ancient roots of calcium signalling evolutionary tree // *Cell Calcium*. – 2015. – T. 57, № 3. – C. 123-132. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2014.12.004>
387. Podtaev S., Morozov M., Frick P. Wavelet-based Correlations of Skin Temperature and Blood Flow Oscillations // *Cardiovascular Engineering*. – 2008. – T. 8, № 3. – C. 185-189. <https://doi.org/10.1007/s10558-008-9055-y>
388. Popova I. Y., Sinelnikova V. V., Kitchigina V. F. Disturbance of the correlation between hippocampal and septal EEGs during epileptogenesis // *Neurosci Lett*. – 2008. – T. 442, № 3. – C. 228-33. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.07.016>
389. Properties of GABAergic Neurons Containing Calcium-Permeable Kainate and AMPA-Receptors / Zinchenko V. P., Kosenkov A. M., Gaidin S. G. [et al.] // *Life*. – 2021. – T. 11, № 12. <https://doi.org/10.3390/life111213>
390. Quantifying the correlation between photoplethysmography and laser Doppler flowmetry microvascular low-frequency oscillations / Mizeva I., Di Maria C., Frick P. [et al.] // *Journal of Biomedical Optics*. – 2015. – T. 20, № 3. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.20.3.0370>

391. Quantum coherence in photosynthesis for efficient solar-energy conversion / Romero E., Augulis R., Novoderezhkin V. I. [et al.] // *Nature Physics*. – 2014. – T. 10, № 9. – C. 676-682. <https://doi.org/10.1038/nphys30>
392. Quinn J. F., Whittaker M. R., Davis T. P. Delivering nitric oxide with nanoparticles // *Journal of Controlled Release*. – 2015. – T. 205. – C. 190-205. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.02.007>
393. Racine R. J. Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure // *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. – 1972. – T. 32, № 3. – C. 281-294. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90177-0](https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0)
394. Rapisarda C., Bacchelli B. The brain of the guinea pig in stereotaxic coordinates // *Arch Sci Biol (Bologna)*. – 1977. – T. 61, № 1-4. – C. 1-37.
395. Rath G., Dessy C., Feron O. Caveolae, caveolin and control of vascular tone: nitric oxide (NO) and endothelium derived hyperpolarizing factor (EDHF) regulation // *J Physiol Pharmacol*. – 2009. – T. 60 Suppl 4. – C. 105-9.
396. Real-time study of spatio-temporal dynamics (4D) of physiological activities in alive biological specimens with different FOVs and resolutions simultaneously / K. S A., Sarkar S., Vishnu S. [et al.] // *Scientific Reports*. – 2024. – T. 14, № 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-52152>
397. Recruitment of dynamic endothelial Ca²⁺ signals by the TRPA1 channel activator AITC in rat cerebral arteries / Qian X., Francis M., Solodushko V. [et al.] // *Microcirculation*. – 2013. – T. 20, № 2. – C. 138-48. <https://doi.org/10.1111/micc.120>
398. Reduced heart rate variability and mortality risk in an elderly cohort. The Framingham Heart Study / Tsuji H., Venditti F. J., Manders E. S. [et al.] // *Circulation*. – 1994. – T. 90, № 2. – C. 878-883. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.90.2.8>
399. Reed S. J., Plourde G. Attenuation of High-Frequency (50-200 Hz) Thalamocortical EEG Rhythms by Propofol in Rats Is More Pronounced for

- the Thalamus than for the Cortex // PLOS ONE. – 2015. – T. 10, № 4. – C. e0123287. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123287>
400. Reiher J., Beaudry M., Leduc C. P. Temporal intermittent rhythmic delta activity (TIRDA) in the diagnosis of complex partial epilepsy: sensitivity, specificity and predictive value // Can J Neurol Sci. – 1989. – T. 16, № 4. – C. 398-401. <https://doi.org/10.1017/s0317167100029450>
 401. Reiher J., Lebel M. Wicket spikes: clinical correlates of a previously undescribed EEG pattern // Can J Neurol Sci. – 1977. – T. 4, № 1. – C. 39-47.
 402. Remington R. E. The high frequency Wheatstone bridge as a tool in cytological studies; with some observations on the resistance and capacity of the cells of the beet root // Protoplasma. – 1928. – T. 5, № 1. – C. 338-399. <https://doi.org/10.1007/BF01604606>
 403. Respiratory-Dependent Laser-Doppler Flux Motion in Different Skin Areas and Its Meaning to Autonomic Nervous Control of the Vessels of the Skin / Mück-Weymann M. E., Albrecht H. P., Hager D. [et al.] // Microvascular Research. – 1996. – T. 52, № 1. – C. 69-78. <https://doi.org/10.1006/mvre.1996.00>
 404. Resting-state high-frequency heart rate variability is related to respiratory frequency in individuals with severe mental illness but not healthy controls / Quintana D. S., Elstad M., Kaufmann T. [et al.] // Scientific Reports. – 2016. – T. 6, № 1. – C. 37212. <https://doi.org/10.1038/srep372>
 405. Rhythms of the Brain. / Buzsáki G., 2006.
 406. Risold P. Y., Swanson L. W. Connections of the rat lateral septal complex // Brain Res Brain Res Rev. – 1997. – T. 24, № 2-3. – C. 115-95. [https://doi.org/10.1016/s0165-0173\(97\)00009-x](https://doi.org/10.1016/s0165-0173(97)00009-x)
 407. Robust, tunable biological oscillations from interlinked positive and negative feedback loops / Tsai T. Y., Choi Y. S., Ma W. [et al.] // Science. – 2008. – T. 321, № 5885. – C. 126-9. <https://doi.org/10.1126/science.11569>

408. Rodríguez-Prados M., Rojo-Ruiz J., García-Sancho J., Alonso M. T. Direct monitoring of ER Ca^{2+} dynamics reveals that Ca^{2+} entry induces ER- Ca^{2+} release in astrocytes // *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*. – 2020. – T. 472, № 4. – C. 439-448. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02364-7>
409. Role of M1, M3, and M5 muscarinic acetylcholine receptors in cholinergic dilation of small arteries studied with gene-targeted mice / Gericke A., Sniatecki J. J., Mayer V. G. A. [et al.] // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2011. – T. 300, № 5. – C. H1602-H1608. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00982.20>
410. Ross W. Translating from Na^{+} to Ca^{2+} : Na/Ca-exchanger exerts Na^{+} -dependent control over astrocytic Ca^{2+} oscillations // *The European Physical Journal Plus*. – 2021. – T. 136, № 7. – C. 718. <https://doi.org/10.1140/epjp/s13360-021-01687-3>
411. Roustit M., Cracowski J. L. Non-invasive Assessment of Skin Microvascular Function in Humans: An Insight Into Methods // *Microcirculation*. – 2011. – T. 19, № 1. – C. 47-64. <https://doi.org/10.1111/j.1549-8719.2011.00129.x>
412. Rubinov M., Sporns O. Complex network measures of brain connectivity: Uses and interpretations // *NeuroImage*. – 2010. – T. 52, № 3. – C. 1059-1069. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.10.003>
413. Satyanarayana A., Kaldis P. Mammalian cell-cycle regulation: several Cdks, numerous cyclins and diverse compensatory mechanisms // *Oncogene*. – 2009. – T. 28, № 33. – C. 2925-39. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.170>
414. Schoppa N. E., Sigworth F. J. Activation of Shaker Potassium Channels // *Journal of General Physiology*. – 1998. – T. 111, № 2. – C. 271-294. <https://doi.org/10.1085/jgp.111.2.271>

415. Schreiber U. Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) Fluorometry and Saturation Pulse Method: An Overview // *Chlorophyll a Fluorescence*, 2004. – C. 279-319.
416. Schwan H. P. Electrical properties of tissue and cell suspensions // *Advances in biological and medical physics* Elsevier, 1957. – C. 147-209.
417. Self-oscillating water luminescence induced by laser irradiation / Bruskov V. I., Gudkov S. V., Chalkin S. F. [et al.] // *Dokl Biochem Biophys.* – 2009. – T. 425. – C. 114-6. <https://doi.org/10.1134/s16076729090201>
418. Septo-hippocampal networks in chronically epileptic rats: potential antiepileptic effects of theta rhythm generation / Colom L. V., Garcia-Hernandez A., Castaneda M. T. [et al.] // *J Neurophysiol.* – 2006. – T. 95, № 6. – C. 3645-53. <https://doi.org/10.1152/jn.00040.20>
419. Serov D. A., Astashev M. E., Tikhonova I. V., Safronova V. G. The Influence of Exogenous ATP on Functional Responses of Murine Bone Marrow Granulocytes // *Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology.* – 2020. – T. 14, № 1. – C. 34-43. <https://doi.org/10.1134/s1990747819060096>
420. Serov D., Tankanag A., Astashev M. Low frequency oscillations of murine skin microcirculations and periodic changes of $[Ca^{2+}]_i$ and $[NO]_i$ levels in murine endotheliocytes: An effect of provocative tests // *Cell Biology International.* – 2021. – T. 46, № 3. – C. 427-442. <https://doi.org/10.1002/cbin.11743>
421. Serov D., Tankanag A., Astashev M. Low-frequency oscillations of murine skin microcirculations and periodic changes of $[Ca^{2+}]_i$ and $[NO]_i$ levels in murine endotheliocytes: An effect of provocative tests // *Cell Biol Int.* – 2022. – T. 46, № 3. – C. 427-442. <https://doi.org/10.1002/cbin.11743>
422. Serov D., Tikhonova I., Safronova V., Astashev M. Calcium activity in response to nAChR ligands in murine bone marrow granulocytes with

- different Gr-1 expression // *Cell Biology International*. – 2021. – T. 45, № 7. – C. 1533-1545. <https://doi.org/10.1002/cbin.11593>
423. Shaffer F., Ginsberg J. P. An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms // *Front Public Health*. – 2017. – T. 5. – C. 258. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00258>
424. Shaffer F., McCraty R., Zerr C. L. A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability // *Frontiers in Psychology*. – 2014. – T. 5. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.01040>
425. Shanmugam K. An Overview of Systems Biology & Metabolomics // *Oncology Treatment Discovery*. – 2024. – T. 2, № 2. – C. 37-48. <https://doi.org/10.26689/otd.v2i2.6934>
426. Sheppard L. W., Stefanovska A., McClintock P. V. E. Testing for time-localized coherence in bivariate data // *Physical Review E*. – 2012. – T. 85, № 4. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.85.046205>
427. Shibasaki M., Low D. A., Davis S. L., Crandall C. G. Nitric oxide inhibits cutaneous vasoconstriction to exogenous norepinephrine // *Journal of applied physiology*. – 2008. – T. 105, № 5. – C. 1504-1508.
428. Sigl J. C., Chamoun N. G. An introduction to bispectral analysis for the electroencephalogram // *Journal of Clinical Monitoring*. – 1994. – T. 10, № 6. – C. 392-404. <https://doi.org/10.1007/bf01618421>
429. Šimberová S., Suk T. Analysis of Dynamic Processes by Statistical Moments of High Orders // *Progress in Pattern Recognition, Image Analysis, Computer Vision, and Applications*, 2013. – C. 33-40.
430. Simulating Ion Permeation Through the ompF Porin Ion Channel Using Three-Dimensional Drift-Diffusion Theory / van der Straaten T. A., Tang J. M., Ravaioli U. [et al.] // *Journal of Computational Electronics*. – 2003. – T. 2, № 1. – C. 29-47. <https://doi.org/10.1023/a:10262128250>

431. Simultaneous in situ monitoring of intracellular Ca^{2+} and NO in endothelium of coronary arteries / Yi F.-X., Zhang A. Y., Campbell W. B. [et al.] // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2002. – T. 283, № 6. – C. H2725-H2732. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00428.20>
432. Singh R., Letai A., Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2019. – T. 20, № 3. – C. 175-193. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0089-8>
433. Skin vasomotion investigation: A useful tool for clinical evaluation of microvascular endothelial function? / Rossi M., Carpi A., Galetta F. [et al.] // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2008. – T. 62, № 8. – C. 541-545. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2008.07.0>
434. Sleep-Dependent θ Oscillations in the Human Hippocampus and Neocortex / Cantero J. L., Atienza M., Stickgold R. [et al.] // The Journal of Neuroscience. – 2003. – T. 23, № 34. – C. 10897-10903. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.23-34-10897.20>
435. Slow Adaptation in Fast-Spiking Neurons of Visual Cortex / Descalzo V. F., Nowak L. G., Brumberg J. C. [et al.] // Journal of Neurophysiology. – 2005. – T. 93, № 2. – C. 1111-1118. <https://doi.org/10.1152/jn.00658.20>
436. Smillie S.-J., Brain S. D. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and its role in hypertension // Neuropeptides. – 2011. – T. 45, № 2. – C. 93-104. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2010.12.002>
437. Söderström T., Stefanovska A., Veber M., Svensson H. Involvement of sympathetic nerve activity in skin blood flow oscillations in humans // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2003. – T. 284, № 5. – C. H1638-H1646. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00826.2000>

438. Spatiotemporal dynamics of calcium signals during neutrophil cluster formation / Khazen R., Corre B., Garcia Z. [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2022. – T. 119, № 29. <https://doi.org/10.1073/pnas.22038551>
439. Speech encoding by coupled cortical theta and gamma oscillations / Hyafil A., Fontolan L., Kabdebon C. [et al.] // *eLife*. – 2015. – T. 4. <https://doi.org/10.7554/eLife.062>
440. Spengler M. L., Kuropatwinski K. K., Schumer M., Antoch M. P. A serine cluster mediates BMAL1-dependent CLOCK phosphorylation and degradation // *Cell Cycle*. – 2009. – T. 8, № 24. – C. 4138-46. <https://doi.org/10.4161/cc.8.24.10273>
441. Spike frequency adaptation supports network computations on temporally dispersed information / Salaj D., Subramoney A., Krajsnikovic C. [et al.] // *eLife*. – 2021. – T. 10. <https://doi.org/10.7554/eLife.654>
442. Spontaneous and chemoattractant-induced oscillations of cytosolic free calcium in single adherent human neutrophils / Jaconi M. E., Rivest R. W., Schlegel W. [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 1988. – T. 263, № 22. – C. 10557-10560. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)38006](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)38006)
443. Spontaneous astrocytic Ca²⁺ activity abounds in electrically suppressed ischemic penumbra of aged mice / Fordsmann J. C., Murmu R. P., Cai C. [et al.] // *Glia*. – 2019. – T. 67, № 1. – C. 37-52. <https://doi.org/10.1002/glia.235>
444. Sridharan D., Knudsen E. I. Gamma oscillations in the midbrain spatial attention network: linking circuits to function // *Current Opinion in Neurobiology*. – 2015. – T. 31. – C. 189-198. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.11.006>
445. Sriram K., Laughlin Justin G., Rangamani P., Tartakovsky Daniel M. Shear-Induced Nitric Oxide Production by Endothelial Cells // *Biophysical Journal*.

- 2016. – T. 111, № 1. – C. 208-221.
<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2016.05.034>
446. Stampfer H. G. The relationship between psychiatric illness and the circadian pattern of heart rate // *Aust N Z J Psychiatry*. – 1998. – T. 32, № 2. – C. 187-98. <https://doi.org/10.3109/00048679809062728>
447. Stampfer H. G., Dimmitt S. B. Variations in circadian heart rate in psychiatric disorders: theoretical and practical implications // *ChronoPhysiology and Therapy*. – 2013. – T. 3. – C. 41-50. <https://doi.org/10.2147/CPT.S43623>
448. Stefani E., Toro L., Perozo E., Bezanilla F. Gating of Shaker K⁺ channels: I. Ionic and gating currents // *Biophysical Journal*. – 1994. – T. 66, № 4. – C. 996-1010. [https://doi.org/10.1016/s0006-3495\(94\)80881-1](https://doi.org/10.1016/s0006-3495(94)80881-1)
449. Stefanovska A., Bracic M., Kvernmo H. D. Wavelet analysis of oscillations in the peripheral blood circulation measured by laser Doppler technique // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 1999. – T. 46, № 10. – C. 1230-1239. <https://doi.org/10.1109/10.790500>
450. Stewart J. M., Taneja I., Goligorsky M. S., Medow M. S. Noninvasive Measure of Microvascular Nitric Oxide Function in Humans Using Very Low-Frequency Cutaneous Laser Doppler Flow Spectra // *Microcirculation*. – 2007. – T. 14, № 3. – C. 169-180. <https://doi.org/10.1080/10739680601139179>
451. Study of skin vasomotion in type 1 diabetic patients and of its possible relationship with clinical and laboratory variables / Rossi M., Matteucci E., Pesce M. [et al.] // *Clin Hemorheol Microcirc*. – 2013. – T. 53, № 4. – C. 357-67. <https://doi.org/10.3233/CH-2012-16>
452. Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V. [et al.] // *Biology*. – 2024. – T. 13, № 9. – C. 685. <https://doi.org/10.3390/biology130906>

453. Surzhikov S. T. Diffusion-drift model of the surface glow discharge in supersonic gas flow // Известия Российской академии наук. Механика жидкости и газа. – 2024.10.31857/s1024708424010119 № 1. – С. 145-162. <https://doi.org/10.31857/s1024708424010119>
454. Suter S. P., Skalak R. The history of Poiseuille's law // Annual review of fluid mechanics. – 1993. – Т. 25, № 1. – С. 1-20.
455. Synchronization : a universal concept in nonlinear sciences. The Cambridge nonlinear science series. / Pikovsky A., Rosenblum M., Kurths J. – Cambridge: Cambridge University Press, 2001. – Т. 12: The Cambridge nonlinear science series. – xix, 411 p. с.
456. Synchronization Measurement of Multiple Neuronal Populations / Li X., Cui D., Jiruska P. [et al.] // Journal of Neurophysiology. – 2007. – Т. 98, № 6. – С. 3341-3348. <https://doi.org/10.1152/jn.00977.20>
457. Synchronized Renal Blood Flow Dynamics Mapped with Wavelet Analysis of Laser Speckle Flowmetry Data / Bader M., Brazhe A. R., Marsh D. J. [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Т. 9, № 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.01058>
458. Systematic comparison between a wireless EEG system with dry electrodes and a wired EEG system with wet electrodes / Kam J. W. Y., Griffin S., Shen A. [et al.] // NeuroImage. – 2019. – Т. 184. – С. 119-129. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.09.0>
459. Tallon-Baudry C. Oscillatory gamma activity in humans and its role in object representation // Trends in Cognitive Sciences. – 1999. – Т. 3, № 4. – С. 151-162. [https://doi.org/10.1016/s1364-6613\(99\)01299-1](https://doi.org/10.1016/s1364-6613(99)01299-1)
460. Tallon-Baudry C. Oscillatory synchrony and human visual cognition // J Physiol Paris. – 2003. – Т. 97, № 2-3. – С. 355-63. <https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2003.09.009>

461. Tankanag A. V., Krasnikov G. V., Chemeris N. K. Phase Coherence of Finger Skin Blood Flow Oscillations Induced by Controlled Breathing in Humans // *Physics of Biological Oscillators*, 2021. – C. 281-289.
462. Tankanag A., Chemeris N. Application of the adaptive wavelet transform for analysis of blood flow oscillations in the human skin // *Physics in Medicine and Biology*. – 2008. – T. 53, № 21. – C. 5967-5976.
<https://doi.org/10.1088/0031-9155/53/21/005>
463. Tankanag A., Krasnikov G., Mizeva I. A pilot study: Wavelet cross-correlation of cardiovascular oscillations under controlled respiration in humans // *Microvascular Research*. – 2020. – T. 130.
<https://doi.org/10.1016/j.mvr.2020.103993>
464. Taylor M. S., Francis M. Decoding dynamic Ca²⁺ signaling in the vascular endothelium // *Frontiers in Physiology*. – 2014. – T. 5.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00447>
465. Taylor R. J., New B. T., Tegtmeyer C. E. Navigating Identity: The Intersection of Social and Biological Identity from the World War II Battle of Tarawa // *Human Biology*. – 2021. – T. 93, № 2. – C. 105-123.
<https://doi.org/10.13110/humanbiology.93.2.01>
466. Tesche C. D., Karhu J. Theta oscillations index human hippocampal activation during a working memory task // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2000. – T. 97, № 2. – C. 919-924.
<https://doi.org/10.1073/pnas.97.2.919>
467. The Automation of Science / King R. D., Rowland J., Oliver S. G. [et al.] // *Science*. – 2009. – T. 324, № 5923. – C. 85-89.
<https://doi.org/10.1126/science.11656>
468. The Effect of an Extremely Low-Frequency Electromagnetic Field on the Drought Sensitivity of Wheat Plants / Mshenskaya N. S., Grinberg M. A., Kalyasova E. A. [et al.] // *Plants*. – 2023. – T. 12, № 4.
<https://doi.org/10.3390/plants120408>

469. The Evolution of Calcium-Based Signalling in Plants / Edel K. H., Marchadier E., Brownlee C. [et al.] // *Current Biology*. – 2017. – T. 27, № 13. – C. R667-R679. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.0>
470. The fourth phase of water : beyond solid, liquid, and vapor. / Pollack G. H. – Seattle, WA: Ebner & Sons, 2013. – xxv, 357 p. c.
471. The influence of lorazepam on somatosensory-evoked fast frequency (600 Hz) activity in MEG / Haueisen J., Heuer T., Nowak H. [et al.] // *Brain Res*. – 2000. – T. 874, № 1. – C. 10-4. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)02534](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(00)02534)
472. The Origin of Glucocorticoid Hormone Oscillations / Vidal-Puig A. J., Walker J. J., Spiga F. [et al.] // *PLoS Biology*. – 2012. – T. 10, № 6. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.10013>
473. The orphan nuclear receptor REV-ERB α controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator / Preitner N., Damiola F., Lopez-Molina L. [et al.] // *Cell*. – 2002. – T. 110, № 2. – C. 251-60. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)00825](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00825)
474. The Plant Vascular System: Evolution, Development and Functions / Lucas W. J., Groover A., Lichtenberger R. [et al.] // *Journal of Integrative Plant Biology*. – 2013. – T. 55, № 4. – C. 294-388. <https://doi.org/10.1111/jipb.120>
475. The role of TLR4/NF- κ B signaling in the radioprotective effects of exogenous Prdx6 / Sharapov M. G., Glushkova O. V., Parfenyuk S. B. [et al.] // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 2021. – T. 702. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.1088>
476. The Roles of Cyclin-Dependent Kinases in Cell-Cycle Progression and Therapeutic Strategies in Human Breast Cancer / Ding L., Cao J., Lin W. [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2020. – T. 21, № 6. <https://doi.org/10.3390/ijms210619>

477. Theta sequences are essential for internally generated hippocampal firing fields / Wang Y., Romani S., Lustig B. [et al.] // *Nature Neuroscience*. – 2014. – T. 18, № 2. – C. 282-288. <https://doi.org/10.1038/nn.39>
478. Three-Dimensional Drift-Diffusion Model for Simulation and Investigation of Bordering Effects in Silicon Solar Cells / Benaichi M., Chetouani A., Karkri A. [et al.] // *Materials Today: Proceedings*. – 2019. – T. 13. – C. 630-636. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.04.0>
479. Thu K. L., Soria-Bretones I., Mak T. W., Cescon D. W. Targeting the cell cycle in breast cancer: towards the next phase // *Cell Cycle*. – 2018. – T. 17, № 15. – C. 1871-1885. <https://doi.org/10.1080/15384101.2018.1502567>
480. Thut G., Nietzel A., Brandt S. A., Pascual-Leone A. α -Band Electroencephalographic Activity over Occipital Cortex Indexes Visuospatial Attention Bias and Predicts Visual Target Detection // *The Journal of Neuroscience*. – 2006. – T. 26, № 37. – C. 9494-9502. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.0875-06.2006>
481. Tikhonova I. V., Grinevich A. A., Guseva I. E., Tankanag A. V. Effect of orthostasis on the regulation of skin blood flow in upper and lower extremities in human // *Microcirculation*. – 2020. – T. 28, № 1. <https://doi.org/10.1111/micc.12655>
482. Tikhonova I. V., Kosyakova N. I., Tankanag A. V., Chemeris N. K. Oscillations of Skin Microvascular Blood Flow in Patients with Asthma // *Microcirculation*. – 2016. – T. 23, № 1. – C. 33-43. <https://doi.org/10.1111/micc.12252>
483. Tikhonova I. V., Tankanag A. V., Chemeris N. K. Time–amplitude analysis of skin blood flow oscillations during the post-occlusive reactive hyperemia in human // *Microvascular Research*. – 2010. – T. 80, № 1. – C. 58-64. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2010.03.010>
484. Tikhonova I. V., Tankanag A. V., Guseva I. E., Grinevich A. A. Analysis of interactions between cardiovascular oscillations for discrimination of early

- vascular disorders in arterial hypertension and type 2 diabetes // *Biomedical Signal Processing and Control*. – 2023. – T. 79. <https://doi.org/10.1016/j.bspc.2022.104222>
485. Tikhonova I. V., Tankanag A. V., Kosyakova N. I., Chemeris N. K. Inflammatory marker levels and peripheral blood circulation in skin microvessels in patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Pulmonologiya*. – 2008.10.18093/0869-0189-2008-0-1-57-61 № 1. – С. 57-61. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2008-0-1-57-61>
486. Tóth K., Freund T. F., Miles R. Disinhibition of rat hippocampal pyramidal cells by GABAergic afferents from the septum // *The Journal of Physiology*. – 1997. – T. 500, № 2. – С. 463-474. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1997.sp022033>
487. Toussaint F., Charbel C., Blanchette A., Ledoux J. CaMKII regulates intracellular Ca²⁺ dynamics in native endothelial cells // *Cell Calcium*. – 2015. – T. 58, № 3. – С. 275-285. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2015.06.005>
488. Tracking dynamic brain networks using high temporal resolution MEG measures of functional connectivity / Tewarie P., Liuzzi L., O'Neill G. C. [et al.] // *NeuroImage*. – 2019. – T. 200. – С. 38-50. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.06.0>
489. Translating from Na⁺ to Ca²⁺: Na/Ca-exchanger exerts Na⁺-dependent control over astrocytic Ca²⁺ oscillations / Verisokin A. Y., Vervevko D. V., Kucherenko V. V. [et al.] // *The European Physical Journal Plus*. – 2021. – T. 136, № 7. <https://doi.org/10.1140/epjp/s13360-021-01687>
490. Treatment of Low-flow Vascular Malformations by Ultrasound-guided Sclerotherapy with Polidocanol Foam: 24 Cases and Literature Review / Blaise S., Charavin-Cocuzza M., Riou H. [et al.] // *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. – 2011. – T. 41, № 3. – С. 412-417. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2010.10.0>

491. TRPV4 channel activation induces the transition of venous and arterial endothelial cells toward a pro-inflammatory phenotype / Beddek K., Raffin F., Borgel D. [et al.] // *Physiological Reports*. – 2021. – T. 9, № 3. <https://doi.org/10.14814/phy2.146>
492. TRPV4 channel activation leads to endothelium-dependent relaxation mediated by nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarizing factor in rat pulmonary artery / Sukumaran S. V., Singh T. U., Parida S. [et al.] // *Pharmacological Research*. – 2013. – T. 78. – C. 18-27. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2013.09.0>
493. Turovsky E. A., Turovskaya M. V., Dynnik V. V. Deregulation of Ca²⁺-Signaling Systems in White Adipocytes, Manifested as the Loss of Rhythmic Activity, Underlies the Development of Multiple Hormonal Resistance at Obesity and Type 2 Diabetes // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – T. 22, № 10. <https://doi.org/10.3390/ijms22105109>
494. Two mechanisms of calcium oscillations in adipocytes / Turovsky E. A., Kaimachnikov N. P., Turovskaya M. V. [et al.] // *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. – 2012. – T. 6, № 1. – C. 26-34. <https://doi.org/10.1134/s19907478110601>
495. Ude L., Roach S. M., Dong S., Berger T. W. Nonlinear Dynamic Modeling of Neuron Action Potential Threshold During Synaptically Driven Broadband Intracellular Activity // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. – 2012. – T. 59, № 3. – C. 706-716. <https://doi.org/10.1109/tbme.2011.2178241>
496. Uğuz A. C., Nazıroğlu M. Effects of Selenium on Calcium Signaling and Apoptosis in Rat Dorsal Root Ganglion Neurons Induced by Oxidative Stress // *Neurochemical Research*. – 2012. – T. 37, № 8. – C. 1631-1638. <https://doi.org/10.1007/s11064-012-0758-5>

497. van der Pol B. On “relaxation-oscillations” // The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science. – 1927. – T. 2, № 11. – C. 978-992. <https://doi.org/10.1080/14786442608564127>
498. Vanhatalo S., Voipio J., Kaila K. Full-band EEG (FbEEG): an emerging standard in electroencephalography // Clinical Neurophysiology. – 2005. – T. 116, № 1. – C. 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2004.09.015>
499. Vasil’eva G. G., Ischenko A. A., Glyan’ko A. K. Physiological role of calcium in legume-rhizobium symbiosis // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2011. – T. 7, № 4. – C. 398-414.
500. Veenstra T. D. Omics in Systems Biology: Current Progress and Future Outlook // Proteomics. – 2021. – T. 21, № 3-4. <https://doi.org/10.1002/pmic.202000235>
501. Verification methods for drift–diffusion reaction models for plasma simulations / DeChant C., Icenhour C., Keniley S. [et al.] // Plasma Sources Science and Technology. – 2023. – T. 32, № 4. <https://doi.org/10.1088/1361-6595/acce>
502. Vervevko D. V., Verisokin A. Y., Postnov D. E., Brazhe A. R. Connectivity promotes repeatable activation patterns in the model of astrocytic networks // The European Physical Journal Plus. – 2021. – T. 136, № 7. <https://doi.org/10.1140/epjp/s13360-021-01708-1>
503. Vibronic mixing enables ultrafast energy flow in light-harvesting complex II / Arsenault E. A., Yoneda Y., Iwai M. [et al.] // Nature Communications. – 2020. – T. 11, № 1. – C. 1460. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14970>
504. Vinogradova O. S. Expression, control, and probable functional significance of the neuronal theta-rhythm // Progress in Neurobiology. – 1995. – T. 45, № 6. – C. 523-583. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(94\)00051-i](https://doi.org/10.1016/0301-0082(94)00051-i)
505. Vinogradova O. S. Expression, control, and probable functional significance of the neuronal theta-rhythm // Prog Neurobiol. – 1995. – T. 45, № 6. – C. 523-83. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(94\)00051-i](https://doi.org/10.1016/0301-0082(94)00051-i)

506. Volgushev M., Chistiakova M., Singer W. Modification of discharge patterns of neocortical neurons by induced oscillations of the membrane potential // *Neuroscience*. – 1998. – T. 83, № 1. – C. 15-25. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(97\)00380-1](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(97)00380-1)
507. von Bertalanffy L. The Theory of Open Systems in Physics and Biology // *Science*. – 1950. – T. 111, № 2872. – C. 23-29. <https://doi.org/10.1126/science.111.2872.23>
508. Wang X.-J. Neurophysiological and Computational Principles of Cortical Rhythms in Cognition // *Physiological Reviews*. – 2010. – T. 90, № 3. – C. 1195-1268. <https://doi.org/10.1152/physrev.00035.2008>
509. Wang Z. Regulation of Cell Cycle Progression by Growth Factor-Induced Cell Signaling // *Cells*. – 2021. – T. 10, № 12. <https://doi.org/10.3390/cells10123327>
510. Ward L. M. Synchronous neural oscillations and cognitive processes // *Trends Cogn Sci*. – 2003. – T. 7, № 12. – C. 553-9. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2003.10.012>
511. Watanabe T., Ando Y. Evaluation of heating uniformity and quality attributes during vacuum microwave thawing of frozen apples // *Lwt*. – 2021. – T. 150. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111997>
512. Westmoreland B. F., Klass D. W. Midline theta rhythm // *Arch Neurol*. – 1986. – T. 43, № 2. – C. 139-41. <https://doi.org/10.1001/archneur.1986.00520020033013>
513. Wetzel W., Ott T., Matthies H. Hippocampal rhythmic slow activity (“theta”) and behavior elicited by medial septal stimulation in rats // *Behavioral Biology*. – 1977. – T. 19, № 4. – C. 534-542. [https://doi.org/10.1016/s0091-6773\(77\)92038-7](https://doi.org/10.1016/s0091-6773(77)92038-7)
514. Wilson C., Saunter C. D., Girkin J. M., McCarron J. G. Advancing Age Decreases Pressure-Sensitive Modulation of Calcium Signaling in the Endothelium of Intact and Pressurized Arteries // *Journal of Vascular*

- Research. – 2016. – T. 53, № 5-6. – C. 358-369.
<https://doi.org/10.1159/000454811>
515. Winfree A. T. Varieties of spiral wave behavior: An experimentalist's approach to the theory of excitable media // *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*. – 1991. – T. 1, № 3. – C. 303-334.
<https://doi.org/10.1063/1.165844>
516. Wishart D. S. Metabolomics for Investigating Physiological and Pathophysiological Processes // *Physiological Reviews*. – 2019. – T. 99, № 4. – C. 1819-1875. <https://doi.org/10.1152/physrev.00035.2018>
517. Woelfle M. A., Ouyang Y., Phanvijhitsiri K., Johnson C. H. The Adaptive Value of Circadian Clocks // *Current Biology*. – 2004. – T. 14, № 16. – C. 1481-1486. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.08.023>
518. Wong B. J., Fieger S. M. Transient receptor potential vanilloid type-1 (TRPV-1) channels contribute to cutaneous thermal hyperaemia in humans // *The Journal of Physiology*. – 2010. – T. 588, № 21. – C. 4317-4326.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.195511>
519. Worrell G., Gotman J. High-frequency oscillations and other electrophysiological biomarkers of epilepsy: clinical studies // *Biomark Med*. – 2011. – T. 5, № 5. – C. 557-66. <https://doi.org/10.2217/bmm.11.74>
520. Wu M., Hajszan T., Leranth C., Alreja M. Nicotine recruits a local glutamatergic circuit to excite septohippocampal GABAergic neurons // *Eur J Neurosci*. – 2003. – T. 18, № 5. – C. 1155-68.
<https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02847.x>
521. Yamamoto Y., Hughson R. L., Peterson J. C. Autonomic control of heart rate during exercise studied by heart rate variability spectral analysis // *Journal of Applied Physiology*. – 1991. – T. 71, № 3. – C. 1136-1142.
<https://doi.org/10.1152/jappl.1991.71.3.1136>

522. Ying X., Minamiya Y., Fu C., Bhattacharya J. Ca^{2+} Waves in Lung Capillary Endothelium // *Circulation Research*. – 1996. – T. 79, № 4. – C. 898-908. <https://doi.org/10.1161/01.res.79.4.898>
523. Zagotta W. N., Hoshi T., Aldrich R. W. Restoration of Inactivation in Mutants of Shaker Potassium Channels by a Peptide Derived from ShB // *Science*. – 1990. – T. 250, № 4980. – C. 568-571. <https://doi.org/10.1126/science.2122520>
524. Zemskov E. P., Tsyganov M. A., Kassner K., Horsthemke W. Nonlinear waves in a quintic FitzHugh–Nagumo model with cross diffusion: Fronts, pulses, and wave trains // *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*. – 2021. – T. 31, № 3. <https://doi.org/10.1063/5.0043919>
525. Zhao G., Hou Z., Xin H. Frequency-selective response of FitzHugh-Nagumo neuron networks via changing random edges // *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*. – 2006. – T. 16, № 4. <https://doi.org/10.1063/1.2360503>
526. Zheng C., Bieri K. W., Hwaun E., Colgin L. L. Fast Gamma Rhythms in the Hippocampus Promote Encoding of Novel Object–Place Pairings // *eneuro*. – 2016. – T. 3, № 2. <https://doi.org/10.1523/eneuro.0001-16.2016>
527. Zheng J.-m., Pollack G. H. Long-range forces extending from polymer-gel surfaces // *Physical Review E*. – 2003. – T. 68, № 3. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.68.031408>
528. Zheng Y., Zhong L., Shen X. Effect of selenium-supplement on the calcium signaling in human endothelial cells // *Journal of Cellular Physiology*. – 2005. – T. 205, № 1. – C. 97-106. <https://doi.org/10.1002/jcp.20378>
529. Zi Z. Sensitivity analysis approaches applied to systems biology models // *IET Systems Biology*. – 2011. – T. 5, № 6. – C. 336-346. <https://doi.org/10.1049/iet-syb.2011.0015>

530. Zieglansberger W., Tolle T. R. The pharmacology of pain signalling // *Curr Opin Neurobiol.* – 1993. – T. 3, № 4. – C. 611-8. [https://doi.org/10.1016/0959-4388\(93\)90063-5](https://doi.org/10.1016/0959-4388(93)90063-5)
531. Zoltowski P. On the electrical capacitance of interfaces exhibiting constant phase element behaviour // *Journal of Electroanalytical Chemistry.* – 1998. – T. 443, № 1. – C. 149-154. [https://doi.org/10.1016/s0022-0728\(97\)00490-7](https://doi.org/10.1016/s0022-0728(97)00490-7)
532. $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptors regulate murine bone marrow granulocyte functions / Safronova V. G., Vulfius C. A., Astashev M. E. [et al.] // *Immunobiology.* – 2021. – T. 226, № 1. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2020.1520>

Список рисунков

Рисунок 1. Исследовательский цикл системной биологии. Из (Kitano, 2002) с изменениями.....	27
Рисунок 2. Динамика публикаций работ с ключевым словом «биоритм» (по данным https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ дата обращения 20 марта 2023 года)	32
Рисунок 3. Распределение публикаций по ключевым словам, связанным с ключевым словом «биоритм» (по данным https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ дата обращения 20 марта 2023 года).....	34
Рисунок 4. Сравнительная шкала локализация основных ультрадианных ритмов у человека и животных в диапазоне частот от 0,0001 до 100 Гц в различных физиологических системах: центральная нервная система (ЦНС), сердечно-сосудистая система, эндокринная регуляция, внутриклеточные ритмические процессы. Обозначения ритмов: ЭЭГ: одноколебательные медленные (SAT), инфрамедленные осцилляции (ISO), островершинные колебания (SWRs); Вариабельность сердечного ритма: ультранизкочастотные (ULF), сверхнизкочастотные (VLF), Низкочастотный (LF), Высокочастотный (HF); Скорость микроциркуляции: EDHF (E ₁), NO-зависимый (E ₂), нейрогенный (N), миогенный (M), респираторный (R) ритмы и кардиоритм (C); колебания $[Ca^{2+}]_i$ в невозбудимых клетках: IP ₃ R-зависимый кальциевый выброс из эндоплазматического ретикулума (CICR); концентрация НАДН в тканях: метаболические осцилляторы (MO), Нейроны спинного мозга: Оксотреморин (Oxo), N-метил-D-аспартат (NMDA). Ссылки на источники представлены в тексте и таблице (Таблица 1). Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307.....	42

- Рисунок 5. Локализация ритмической активности мозга человека (RMTD - rhythmic midtemporal theta burst of drowsiness) 60
- Рисунок 6. Механизмы генерации колебаний скорости кожной микроциркуляции и их роль в функционировании кровотока человека (ссылки на источники в тексте и таблице (Таблица 4). Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307 .. 67
- Рисунок 7. Центральные частоты осцилляций концентраций ионов в клетках органов растений (ссылки на источники литературы представлены в тексте и Таблица 5). Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307..... 83
- Рисунок 8. Обобщённая схема генерации автоколебаний цитозольного Ca^{2+} и продукции NO внутри отдельной клетки и синхронизации колебаний между клетками. Мы предполагаем, что часть секретируемых агентов участвует в синхронизации клеток, а часть – в управлении просветом сосудов (Ссылки на источники литературы представлены в тексте). Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307 .. 91
- Рисунок 9. Записи ионных токов через одиночные потенциалозависимый K^+ канал из мембраны нейрона *Lytnaea st* (K_v), кальций-зависимый K^+ канал из мембраны культивируемых почечных клеток Vero (K_{Ca}) и модельного канала с учетом гидростатического давления в области поры (Гриневич & Асташев,

- 2019) (М). Стрелками указан уровень нулевого тока, красным цветом указаны времена нахождения каналов в открытом состоянии, синим цветом указаны времена нахождения каналов в закрытом состоянии при простой пороговой дискриминации состояний. Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173 93
- Рисунок 10. Марковская модель K_{Ca} -канала. Данная модель с восемью фиксированными состояниями описывает переходы канала между конформационными состояниями в процессе связывания до четырех ионов кальция с цитозольной стороны мембраны. Состояния, обозначенные как "С" соответствуют закрытому функциональному состоянию канала; состояния, обозначенные как "О" соответствуют открытому функциональному состоянию канала. Каждой стрелочке перехода соответствует своя скорость реакции, которую можно получить из соответствующего мультиэкспоненциального распределения времен жизни канала в функциональных состояниях при одноканальной регистрации, что дает возможность моделировать кинетику канала. Из (McManus & Magleby, 1991). 94
- Рисунок 11. Динамика поведения мембраны нейрона в модели ФитцХью — Нагумо (из (Baladron et al., 2012) с изменениями) без учета шума и супрессия при учете шума..... 101
- Рисунок 12. Эквивалентная схема процесса формирования локального полевого потенциала электрода из отдельных потенциалов нейронов. R_{sn} - сопротивление среды, учитывающее также и расстояние от конкретного нейрона до электрода. L_{sn} - индуктивность, моделирующая медленные дрейфовые процессы. R_p - входное сопротивление электрода и утечка среды

распространения сигнала. C_p - входная емкость электрода, а также буферные свойства среды. Рисунок автора.....	104
Рисунок 13. Концентрационные зависимости активации фермента при значениях коэффициента Хилла 1, 2 и 4. Верхний график - логарифмические координаты по оси абсцисс, средний график - линейные координаты по оси абсцисс, нижний график - вторая производная активации фермента. Графики построены автором на основе уравнения Хилла-Ленгмюра (Hill, 1910).	106
Рисунок 14. Спектры флуоресценции красителей Fura-2 и Daf-FM. Штриховыми линиями указаны спектры возбуждения флуоресценции. Сплошная заливка соответствует спектрам эмиссии флуоресценции. Подписями указано соответствие спектров возбуждения красителю и связанности красителя Fura-2 с ионом кальция. Спектры эмиссии по цвету соответствуют спектрам возбуждения. Графики построены в системе SpectroViewer, Thermofisher (https://www.thermofisher.com/order/fluorescence-spectraviewer/#!/, дата обращения 18.06.2024).....	109
Рисунок 15. Векторная схема расчета фазовой вейвлет-когерентности. На рисунке в представлен расчет векторной суммы комплексных чисел с единичным модулем. Рисунок автора.....	111
Рисунок 16. Сравнение методов вейвлет-когерентности и кросс-корреляции по способу подсчета накопленной суммы комплексных произведений вейвлет-коэффициентов. Рисунок автора.	113
Рисунок 17. Биспектр и исходная карта вейвлет-коэффициентов времен жизни канала в открытом состоянии. Зелеными линиями показаны частоты, синхронизация которых необходима для появления точечного максимума на биспектре для частот 0,011 Гц и 0,0012 Гц. То есть дополнительно к указанным частотам на частоте 0,0122 Гц также должен быть процесс, синхронизованный с первыми двумя. Рисунок автора.	115
Рисунок 18. Схема вычисления вейвлет-коэффициентов с помощью быстрого преобразования Фурье. Рисунок автора.....	119

Рисунок 19. Частотный отклик вейвлет-фильтра Морле с линейной шкалой по частоте. Рисунок автора.....	120
Рисунок 20. Частотный отклик вейвлет-фильтра Морле с логарифмической шкалой по частоте. Рисунок автора.....	121
Рисунок 21. Частотный отклик вейвлет-фильтра Морле с шкалой по длине волны. Рисунок автора.....	122
Рисунок 22. Частотный отклик лог-нормального вейвлет-фильтра с логарифмической шкалой по частоте. Рисунок автора.....	123
Рисунок 23. Характеристика полученной культуры микрососудистых эндотелиальных клеток кожи мыши. Микрофотография клеток, окрашенных антителами к CD31 AF488 (зеленый псевдоцветный) и ядерным красителем Hoechst 33342 (синий псевдоцветный) (А), жизнеспособность клеток оценивали по флуоресценции Hoechst 33342 и PI при 17,5 (нормогликемия, НГ) или 35 мМ глюкозы (гипергликемия, ГГ) (Б). Размер шкалы составляет 100 мкм. Рисунок из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Serov D.A., Voronina D.Yu., Astashev M.E., Tankanag A.V. Effect of hyperglycemia on oscillations in calcium and nitric oxide concentrations in mouse skin endotheliocytes // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 4. – С. 166-198. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-4-166-198.....	125
Рисунок 24. – Используемые в работе авторские аппаратные и программные средства изучения ритмических процессов в объектах разного уровня организации. А - микрофлуориметрическая система для регистрации динамики внутриклеточных мессенджеров со светодиодным возбуждением флуоресценции. Б - оптическая схема светодиодного осветителя на 4 длины волны, используемая в микрофлуориметрической системе. В - электроимпедансометр для исследования сосудистой системы растений. Г - трехканальный хемилюминометр. Д - импульсная флуориметрическая система для исследования состояния фотосинтетического аппарата растений. Е - интерфейс модифицированной автором программы WinFluor. Ж - вид	

установки для регистрации ЭЭГ. 3 - программное обеспечение для анализа многоканальных записей с помощью вейвлет-преобразования, вейвлет-когерентности, биспектрального анализа. Рисунок автора.	127
Рисунок 25. Схема 4-х канального светодиодного осветителя, собранного на базе компонентов Thorlabs. 1 - дихроические зеркала. 1.1 - 505нм (DMLP505R Thorlabs), 1.2 - 355нм (Di01-R355 Semrock), 1.3 - 425нм (DMLP425R Thorlabs). 2 - плосковыпуклая линза 25мм диаметром, F=40мм, кварц (LA4306 Thorlabs). 3 - светодиоды. 3.1 - 340 нм (M340D3 Thorlabs), 3.2 - 375 нм (M375D2 Thorlabs), 3.3 - 490 нм (M490D3 Thorlabs), 3.4 - белый светодиод 3Вт (Cree). 4 - кубический держатель для зеркала (CM1-DCH/M Thorlabs). 5 - интерференционные фильтры. 5.1 - 340 нм (ET340x Chroma), 5.2 - 380 нм (ET380x Chroma), 5.3 - 480 нм (D480/30x Motic), 5.4 - longpass 450нм (FEL0450 Thorlabs). 6- труба (SM1L15 Thorlabs). 7 - пластиковый адаптер для крепления светодиода в сборе с охладителем. Рисунок автора.....	144
Рисунок 26. Принципиальная схема блока управления осветителем микроскопа. Рисунок автора.....	145
Рисунок 27. Внешний вид прибора для измерения комплексного сопротивления (импеданса). Из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310	149
Рисунок 28. Принципиальная схема устройства для измерения комплексного сопротивления (импеданса). Из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310	151

Рисунок 29. Двумерный спектр флуоресценции листа яблони зарегистрированный нами с помощью флуориметра Jasco FP-8300. Рисунок автора. Данные получены лично.	153
Рисунок 30. Спектр излучения светодиода, выбранного для возбуждения флуоресценции. Спектр измерен нами с помощью спектрометра Ocean Optics USB2000+. Рисунок автора. Данные получены лично.	154
Рисунок 31. Спектр пропускания фильтра HB650, который является Low-pass фильтром с граничной длиной волны пропускания 650нм. Данные производителя. Источник рисунка: сайт. - URL: https://optolongoptics.en.made-in-china.com/product/tGAYFfOrVxcl/China-Longpass-650-Nm-Long-Optical-Pass-Filter-Optical-Longpass-Filter.html дата обращения 25.07.2024.	154
Рисунок 32. Структурная схема устройства контроля фотосинтетической активности. Рисунок автора.	155
Рисунок 33. Рисунок печатных плат для предварительного усилителя тока фотодиода (слева) и схемы регистрации и управления (справа) устройства контроля фотосинтетической активности. Рисунок автора.	156
Рисунок 34. Устройство контроля фотосинтетической активности (черная коробка по центру фотографии), установленное в интеллектуальную систему управления освещением для повышения продуктивности сельскохозяйственных растений на основе данных о состоянии их фотосинтетического аппарата. Рисунок автора.	156
Рисунок 35. Примеры временных рядов измерения цитозольной концентрации кальция в одиночных нейтрофилах мыши ратиометрическим методом с длинами волн возбуждения флуоресценции 340нм и 380нм после добавления в среду в момент 0с 10мкМ АТФ. Указаны значения симметрии и эксцесса для данных клеток. Анализ распределения клеточной популяции с помощью статистических моментов высокого порядка. Из статьи автора в сборнике: Цитометрический подход / М. Е. Асташев, Д. А. Серов, И. В. Тихонова [и др.] // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация, Серпухов,	

20–24 мая 2019 года / Под редакцией В.П. Зинченко, А.В. Бережнова. Том 1. – Серпухов: Типография Пятый Формат, 2019. – С. 395-400.....	160
Рисунок 36. Распределение популяции клеток по значениям асимметрии и эксцесса до (●) и после (■) воздействия АТФ. Исследовано 540 клеток. Черные точки - клетки попавшие в область отбора с $S > 0.6$ и $E_x > 0$. Область отбора обозначена пунктирной линией. Из статьи автора в сборнике: Цитометрический подход / М. Е. Асташев, Д. А. Серов, И. В. Тихонова [и др.] // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация, Серпухов, 20–24 мая 2019 года / Под редакцией В.П. Зинченко, А.В. Бережнова. Том 1. – Серпухов: Типография Пятый Формат, 2019. – С. 395-400.....	161
Рисунок 37. Пример записи нестационарного колебательного процесса - радиосигнала, полученного в результате разряда конденсатора через неоновую лампу. По оси абсцисс время в секундах, по оси ординат напряжение в вольтах. Рисунок автора.....	163
Рисунок 38. Модуль вейвлет-коэффициентов разложения сигналов, представленных на Рисунок 37. Рисунок автора.....	165
Рисунок 39. Подбор параметра $\Delta\omega$. Представлена зависимость $\rho(\Delta\omega)$. На врезке слева вейвлет-разложение записи ЭЭГ со следами гармоник частоты зрительной стимуляции, белые линии обозначают ритмические полосы, когерентность которых исследуется. Рисунок автора.....	167
Рисунок 40. Простая схема передачи сигнала в физиологической системе. Рисунок из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685.....	169
Рисунок 41. Схема формирования, передачи и преобразования сигналов для рисунка 37. Рисунок из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular	

Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // *Biology*. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685 170

Рисунок 42. Исходные записи токов потенциалозависимого (K_v), кальций-зависимого и модельного каналов. Цветом обозначены открытые (красным) и закрытые (синим) состояния канала. Потенциал 20мВ. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации *Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel* / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // *Opera medica et physiologica*. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173..... 176

Рисунок 43. Когерентность в активности потенциалозависимого калиевого канала из нейрона прудовика *Lymnaea st.* А - коэффициенты вейвлет-разложения последовательности открытых времен жизни, Б - коэффициенты вейвлет-разложения последовательности закрытых времен жизни, В - сдвиг фазы вейвлет - коэффициентов открытых времен относительно закрытых времен. Для всех графиков: по оси абсцисс номер события, по оси ординат период колебаний в единицах штук событий. Яркость цвета на графике В - это корреляция модулей вейвлет-коэффициентов. Среднее время цикла открывания-закрывания канала 11 мс. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации *Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel* / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // *Opera medica et physiologica*. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173..... 178

Рисунок 44. Биспектр K_v -канала. Представлен репрезентативный пример биспектров для записи потенциалозависимых калиевых каналов из нейронов прудовика *Lymnaea st.* Слева (А) - биспектр для открытых времен жизни, справа (В) - биспектр закрытых времен жизни, по центру (Б) - анализ кросс-биспектров открытых и закрытых времен. Указаны максимальные значения

показателей биспектров. Трансмембранный потенциал 10 мВ. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173..... 180

Рисунок 45. Биспектры K_{Ca} -канала. Представлен репрезентативный пример биспектров для записи потенциалозависимых калиевых каналов из нейронов прудовика *Lymnaea st.* Слева (А) - биспектр для открытых времен жизни, справа (В) - биспектр закрытых времен жизни, по центру (Б) - анализ кросс-биспектров открытых и закрытых времен. Указаны максимальные значения показателей биспектров. Трансмембранный потенциал 30 мВ. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173..... 181

Рисунок 46. Биспектры модельного канала. Представлены репрезентативные примеры биспектров для двух записей, динамика получена по модели, учитывающей наполнение водой устья канала (Гриневич & Асташев, 2019). Слева (А) - биспектр для открытых времен жизни, справа (В) - биспектр закрытых времен жизни, по центру (Б) - анализ кросс-биспектров открытых и закрытых времен. Указаны максимальные значения показателей биспектров. Трансмембранный потенциал 10 мВ. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173..... 182

Рисунок 47. Максимальные значения биспектра природных каналов, полученные при анализе рядов данных времен жизни канала в открытом состоянии (Open vs Open), в закрытом состоянии (Close vs Close) и при анализе перекрестного показателя биспектра для оценки синхронизации рядов данных времен жизни канала в открытом и закрытом состоянии (Open vs Close). Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173. 183

Рисунок 48. Максимальные значения биспектра модельного канала, полученные при различных значениях трансмембранного потенциала, полученные при анализе рядов данных времен жизни канала в открытом состоянии (τ_o vs τ_o), в закрытом состоянии (τ_c vs τ_c) и при анализе перекрестного показателя биспектра для оценки синхронизации рядов данных времен жизни канала в открытом и закрытом состоянии (τ_o vs τ_c). Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173. 185

Рисунок 49. Зависимость максимального показателя биспектра для указанных сравнений последовательностей времен жизни и вероятности открытого состояния P_o от трансмембранного потенциала V_m у модели ионного канала. Рисунок адаптирован из статьи автора по теме диссертации: Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173. 186

Рисунок 50. Зависимость максимума нормированного коэффициента биспектра от V_m у природных ионных каналов. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173..... 188

Рисунок 51. Зависимость максимального показателя биспектра от трансмембранного потенциала от V_m у природных ионных каналов. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173..... 189

Рисунок 52. Кальциевая активность в популяции гранулоцитов костного мозга мыши и ее анализ. Примеры записей F340/F380 клеток со спонтанной кальциевой активностью (а) и без нее (б). Примеры распределений значений F340/F380 по частоте встречаемости для активных (в) и неактивных (г) клеток. Примеры записей F340/F380 одиночных клеток, ответивших (д) или не ответивших (е) кальциевыми спайками на 10 мкМ АТФ (момент добавки отмечен стрелкой). В блоках в, г, д, е указаны значения асимметрии (As) и эксцесса (Ex) для распределения значений F340/F380 по частоте встречаемости. Адаптировано из статьи автора по теме диссертации Serov D. A., Astashev M. E., Tikhonova I. V., Safronova V. G. The Influence of Exogenous ATP on Functional Responses of Murine Bone Marrow Granulocytes // Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. – 2020. – Т. 14, № 1. – С. 34-43. DOI: 10.1134/s1990747819060096..... 193

Рисунок 53. Анализ гетерогенности популяции гранулоцитов костного мозга мыши. а – Двумерная гистограмма распределения клеток по асимметрии As_2 и эксцессу Ex_2 , рассчитанных для распределений F340/F380 клеток в

присутствии 10 мкМ АТФ. Отображены параметры клеток после подачи 10 мкМ АТФ. Выделенная сплошной линией область – клетки с характеристиками $As > 0.6$ и $Ex > 0$. Выделенная пунктиром область – клетки с характеристиками $As \leq 0$ и $Ex > 10$, N – количество клеток, попавших в выделенные области. б – Среднее значение доли клеток с кальциевыми спайками в популяции при базовых условиях (1), после добавки раствора Хенкса (2) или в присутствии 10 мкМ АТФ (3), $p < 0.05$, $n = 5$. в – Двумерная гистограмма распределения клеток в системе координат As_1 (подача раствора Хенкса) и As_2 (10 мкМ АТФ): слева внизу ($As_1 \leq 0.6$, $As_2 \leq 0.6$) – неактивные клетки; справа снизу ($As_1 > 0.6$, $As_2 \leq 0.6$) – клетки, ответившие кальциевыми спайками только на добавку раствора Хенкса; слева сверху ($As_1 \leq 0.6$, $As_2 > 0.6$) – клетки, ответившие только на 10 мкМ АТФ; справа сверху ($As_1 > 0.6$, $As_2 > 0.6$) – клетки, ответившие на обе добавки. N – количество клеток в каждой из четвертей (всего 634 клетки). г – Диаграмма, отражающая усредненное соотношение гранулоцитов костного мозга мыши по чувствительности к 10 мкМ АТФ и/или механическому воздействию (добавка раствора Хенкса). В каждом образце анализировали не менее 500 клеток. д - Влияние преинкубации клеток с никотином на процентное соотношение клеток при действии 10 мкМ АТФ. Адаптировано из статьи автора по теме диссертации Serov D. A., Astashev M. E., Tikhonova I. V., Safronova V. G. The Influence of Exogenous ATP on Functional Responses of Murine Bone Marrow Granulocytes // Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. – 2020. – Т. 14, № 1. – С. 34-43. DOI: 10.1134/s1990747819060096..... 196

Рисунок 54. Схематическое представление компонентов АТФ-зависимых сигнальных путей в гранулоцитах костного мозга. Адаптировано из статьи автора по теме диссертации Serov D. A., Astashev M. E., Tikhonova I. V., Safronova V. G. The Influence of Exogenous ATP on Functional Responses of Murine Bone Marrow Granulocytes // Biochemistry (Moscow), Supplement Series

A: Membrane and Cell Biology. – 2020. – Т. 14, № 1. – С. 34-43. DOI: 10.1134/s1990747819060096..... 198

Рисунок 55. Оценка доли гранулоцитов с кратковременными кальциевыми ответами. Примеры клеточных ответов (~30) в случайно выбранных участках поля зрения на фоне PBS (контроль) (а), НЧ Se (б), комбинации НЧ Se и IgG (в) и IgG (г) с последующим добавлением 1 мкМ Wp. Доля клеток с ответом на кальций сразу после добавления PBS (контроль), НЧ Se, IgG или комбинации НЧ Se и IgG (е). Доля клеток с кальциевым ответом на добавку 1 мкМ Wp после 20-минутной инкубации с указанными агентами (ф). На панелях (д, е) показаны средние данные для всех ячеек в поле зрения. В каждом варианте исследование проводили на шести образцах клеток; в каждой анализировали не менее 200 клеток. Данные представлены как среднее $\pm$ SE. § — $p < 0,05$ по сравнению с PBS (синяя пунктирная линия), * — $p < 0,05$ между указанными вариантами. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Манна–Уитни. Для каждого варианта проведено шесть независимых экспериментов ($n = 6$). Рисунок из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Khabatova V. V., Serov D. A., Tikhonova I. V., Astashev M. E., Nagaev E. I., Sarimov R. M., Matveyeva T. A., Simakin A. V., Gudkov S. V. Selenium Nanoparticles Can Influence the Immune Response Due to Interactions with Antibodies and Modulation of the Physiological State of Granulocytes // *Pharmaceutics*. – 2022. – Т. 14, № 12. DOI: 10.3390/pharmaceutics14122772..... 202

Рисунок 56. Усредненные нормализованные АЧХ колебаний динамики цитозольной концентрации кальция и продукции NO в культивируемых эндотелиоцитах микрососудов мыши. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Serov D.A., Voronina D.Yu., Astashev M.E., Tankanag A.V. Effect of hyperglycemia on oscillations in calcium and nitric oxide concentrations in mouse skin endotheliocytes // *Opera medica et*

- physiologica. – 2024. – Т. 11, № 4. – С. 166-198. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-4-166-198..... 204
- Рисунок 57. Примеры записей динамики концентрации Ca^{2+} (F340/F380) (А) и скорости продукции NO (dNO/dt) (В) в эндотелиоцитах мыши. Показаны записи клеток со случайно выбранной части поля зрения. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Serov D.A., Voronina D.Yu., Astashev M.E., Tankanag A.V. Effect of hyperglycemia on oscillations in calcium and nitric oxide concentrations in mouse skin endotheliocytes // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 4. – С. 166-198. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-4-166-198..... 207
- Рисунок 58. Средние пиковые значения АЧХ динамики цитозольного кальция и продукции NO при изменении температуры и гипоксических условиях в культивируемых эндотелиоцитах микрососудов мыши. Рисунок автора..... 209
- Рисунок 59. Влияние химических стимулов и диффузии на осцилляции концентрации цитоплазматического кальция в эндотелиальных клетках. А - соотношение клеток с колебаниями концентрации цитоплазматического кальция в эндотелиальных клетках микрососудов кожи мышей при различном воздействии. * - $p < 0,05$ ($n = 8$). Однофакторный дисперсионный анализ Крускала-Уоллиса с последующим множественным сравнением с использованием критерия Даннетта. Б - оценка среднего расстояния между синхронизованными клетками. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Serov D.A., Voronina D.Yu., Astashev M.E., Tankanag A.V. Effect of hyperglycemia on oscillations in calcium and nitric oxide concentrations in mouse skin endotheliocytes // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 4. – С. 166-198. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-4-166-198. 211
- Рисунок 60. Примеры динамических записей изменений F340/F380 в единичных клетках (А, В), карт вейлет-когерентности (С, D) и карт биспектров (Е, F) рассчитанных для динамических рядов F340/F380 для

синхронизованных (А, С, Е) и не синхронизованных (В, D, F) эндотелиальных клеток. Рисунок из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685 214

Рисунок 61. Примеры карт распределение пар клеток по величине максимальных нормированных модулей биспектров колебаний цитозольной концентрации кальция (А, В) и скорости продукции NO (С, D) при физиологической температуре (А, С) и тепловой пробе 40 °С (В, D). Рисунок из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685 . 216

Рисунок 62. Сравнение средних показателей биспектра с графиком доли синхронизованных клеток при усреднении по всей анализируемой популяции клеток. Анализируемые ряды (цитозольная концентрация кальция и/или продукция оксида азота) указаны снизу графиков. График отражает основной механизм уменьшения среднего показателя биспектра для продукции NO: полное выключение части клеток из синхронной генерации. * - $p < 0.05$ ANOVA Крускала-Уоллиса, $N \geq 5$ с последующим тестом Tukey (не менее 5 независимых измерений). Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685..... 219

Рисунок 63. Оценка управления синхронизацией Ca^{2+} - и NO-зависимых сигнальных путей в эндотелиоцитах. Матрицы синхронизации колебаний концентрации «в направлении $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{NO}$ » (А) или «в направлении $\text{NO} \rightarrow$

Ca^{2+} » (В). Матрицы разностей нормированных максимальных показателей биспектра для колебаний цитозольного Ca^{2+} и продукции NO (С) или продукции NO и цитозольного Ca^{2+} (D). Матрица сумм нормированных максимальных показателей биспектра для колебаний продукции NO и цитозольного Ca^{2+} (Д). Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685. 220

Рисунок 64. Анализ положения пиков на картах биспектров для динамики цитозольного Ca^{2+} и продукции NO при изменении температуры у культивируемых эндотелиоцитов. Биспектры в данном случае не подвергались нормировке по среднему для всей карты значению. Черные кружки обозначают масштаб амплитуд пиков. Рисунок с изменениями из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685. 223

Рисунок 65. Фрагмент записи базового уровня флуоресценции длительностью около 2 суток при работе ростового света. Рисунок автора. 228

Рисунок 66. Вейвлет-преобразование базового уровня флуоресценции растения с помощью комплексного лог-нормального вейвлета. Рисунок автора. 230

Рисунок 67. Результат биспектрального анализа записей флуоресценции листа белой бумаги и растения в одинаковых условиях. А - анализ записи флуоресценции с листа белой бумаги в качестве контроля. Б - анализ записи базового уровня флуоресценции растения, вейвлет -карта которого представлена на Рисунок 66. В - анализ участков записи, сделанных без ростового света. Г - анализ участков записи, сделанных при включенном

ростовом свете. Для адекватного сравнения, все карты представлены в одном цветовом масштабе, в котором за единицу взято максимальное значение на карте Б. Рисунок автора.	231
Рисунок 68. Зависимость диагональных элементов матрицы биспектрального анализа от частоты для записей флуоресценции листа белой бумаги и растения в условиях с ростовым освещением и без него. Рисунок автора. ...	232
Рисунок 69. Фотографии растительных образцов в нормальном (а) и подсушенном (б) состоянии в горшке. Внизу схема дизайна эксперимента. Рисунок из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Burmistrov D. E., Yanykin D. V., Grishin A. A., Knyazeva I. V., Dorokhov A. S., Gudkov S. V. Application of Bispectral Analysis to Assess the Effect of Drought on the Photosynthetic Activity of Lettuce Plants <i>Lactuca sativa</i> L // Mathematical and Computational Applications. – 2024. – Т. 29, № 5. DOI: 10.3390/mca29050093.	233
Рисунок 70. Примеры записей базового уровня флуоресценции в круглосуточном режиме без ростового освещения. А - запись флуоресценции растения с нормальным поливом. Б - запись растения в условиях засухи. На врезках - выровненные по началу импульса насыщающего освещения 7 последовательных реакций на насыщающий импульс. Черная линия на врезках - усредненное значение. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Burmistrov D. E., Yanykin D. V., Grishin A. A., Knyazeva I. V., Dorokhov A. S., Gudkov S. V. Application of Bispectral Analysis to Assess the Effect of Drought on the Photosynthetic Activity of Lettuce Plants <i>Lactuca sativa</i> L // Mathematical and Computational Applications. – 2024. – Т. 29, № 5. DOI: 10.3390/mca29050093.	234
Рисунок 71. Вейвлет-коэффициенты записей базового уровня флуоресценции в круглосуточном режиме без ростового освещения. А - запись флуоресценции растения с нормальным поливом. Б - запись растения в	

условиях засухи. Штриховая линия - период колебаний, соответствующий 1 часу. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Burmistrov D. E., Yanykin D. V., Grishin A. A., Knyazeva I. V., Dorokhov A. S., Gudkov S. V. Application of Bispectral Analysis to Assess the Effect of Drought on the Photosynthetic Activity of Lettuce Plants *Lactuca sativa* L // Mathematical and Computational Applications. – 2024. – Т. 29, № 5. DOI: 10.3390/mca29050093..... 236

Рисунок 72. График зависимости коэффициентов биспектра от частоты (А) и сравнение коэффициентов биспектра для периода 3600 с у здоровых растений и растений в состоянии стресса (Б). Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Burmistrov D. E., Yanykin D. V., Grishin A. A., Knyazeva I. V., Dorokhov A. S., Gudkov S. V. Application of Bispectral Analysis to Assess the Effect of Drought on the Photosynthetic Activity of Lettuce Plants *Lactuca sativa* L // Mathematical and Computational Applications. – 2024. – Т. 29, № 5. DOI: 10.3390/mca29050093. 237

Рисунок 73. Диаграмма Найквиста для образцов (ветка яблони) разной длины. Все образцы имели диаметр 23 мм. Количество образцов в каждой экспериментальной группе — 5, количество повторений измерений — 5. Данные представлены в виде средних значений. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310. 240

Рисунок 74. Зависимость модуля импеданса образцов яблок от длины образца для разных частот. Количество образцов – 5, количество повторений измерений – 5. Данные представлены в виде средних значений и стандартных ошибок. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V.

Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.....	242
Рисунок 75. Зависимость логарифма смещения импеданса на «нулевой длине» образца от логарифма частоты с помощью линейной регрессии. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.....	245
Рисунок 76. Зависимость модуля импеданса от длины образца для разных частот после компенсации емкостного перехода электродов. Образцы - ветви яблони диаметром 23 мм. Количество образцов – 5, количество повторений измерений – 5. Данные представлены в виде средних значений и стандартных ошибок. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.....	246
Рисунок 77. График Найквиста для температурной зависимости импеданса ветвей яблони. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.	248
Рисунок 78. Зависимость модуля импеданса от частоты для образцов различной длины после компенсации емкостного перехода электродов. Яблоня диаметром 23 мм. Количество образцов в каждой экспериментальной группе — 5, количество повторений измерений — 5. Данные представлены в виде средних значений. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis:	

Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.	249
Рисунок 79. Зависимость модуля импеданса камбий-ксилемной цепи от обратного диаметра образца для высокочастотной области. Количество образцов в каждой экспериментальной группе — 5, количество повторений измерений — 5. Данные представлены в виде средних значений. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.....	250
Рисунок 80. Электрическая модель участка ветки дерева, подключенного к измерителю импеданса. R_1 — сопротивление утечки, формирующее ток утечки по поверхности коры, R_p — сопротивление флоэмы, R_x — сопротивление ксилемы, C_e — конденсаторы, образованные точками соединения электродов и непроводящими слоями склеренхимы, перидермы и эпидермиса. C_c — конденсатор, образованный непроводящим слоем камбия, стрелки — точки крепления к измерительной аппаратуре. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.....	251
Рисунок 81. График Найквиста для модельных ветвей диаметром 23 мм различной длины. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.	254
Рисунок 82. Зависимость относительного (нормировка на значения нулевого дня) модуля импеданса стебля салата на 2, 3, 7, 15 день. Рисунок автора. ..	255

Рисунок 83. Средние коэффициенты вейвлет-мощности для осцилляций у контрольной группы животных и после сенсорной стимуляции в характерных частотных диапазонах в восьми структурах. Приведены средние и стандартное отклонение. Достоверные отличия $p < 0.05$ (ANOVA), $n = 10$. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E. V., Kichigina V. F., Astashev M. E. Oscillatory Activity and Cross-Frequency Interactions in the Hippocampus and Connected Brain Structures during Sensory Information Processing // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2018. – Т. 48, № 6. – С. 758-763. DOI: 10.1007/s11055-018-0627-z. 263

Рисунок 84. Локальные полевые потенциалы ЭЭГ в восьми структурах мозга во время сенсорной стимуляции. Вверху - активность до воздействия, Внизу - после воздействия. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E. V., Kichigina V. F., Astashev M. E. Oscillatory Activity and Cross-Frequency Interactions in the Hippocampus and Connected Brain Structures during Sensory Information Processing // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2018. – Т. 48, № 6. – С. 758-763. DOI: 10.1007/s11055-018-0627-z. 264

Рисунок 85. Карта модулей вейвлет-коэффициентов в зависимости от времени (по оси абсцисс) и частоты (ось ординат) гиппокампальных потенциалов. Линии означают фрагменты и центральные частоты активности в тета, альфа и гамма диапазонах, взятые для последующего анализа. Вверху - активность до воздействия, Внизу - после сенсорной стимуляции. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E. V., Kichigina V. F., Astashev M. E. Oscillatory Activity and Cross-Frequency Interactions in the Hippocampus and Connected Brain Structures during Sensory Information Processing // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2018. – Т. 48, № 6. – С. 758-763. DOI: 10.1007/s11055-018-0627-z. 265

Рисунок 86. – Изменение синхронизации ритмов по коэффициенту фазовой вейвлет-когерентности после сенсорной стимуляции в различных структурах

мозга. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E. V., Kichigina V. F., Astashev M. E. Oscillatory Activity and Cross-Frequency Interactions in the Hippocampus and Connected Brain Structures during Sensory Information Processing // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2018. – Т. 48, № 6. – С. 758-763. DOI: 10.1007/s11055-018-0627-z. 267

Рисунок 87. Временной профиль локальных полевых потенциалов в восьми структурах мозга одного и того же животного, зафиксированный в контрольном эксперименте (спокойное бодрствование) (слева) и после сенсорной стимуляции (вспышка света, 3 Гц) (справа) в диапазоны тета- (А), альфа- (В) и гамма- (С) ритмов. По оси абсцисс время, с; по ординате — мощность вейвлет-коэффициентов в нормированных единицах (н.е.). 268

Рисунок 88. – Структурные взаимоотношения в мозге здоровых животных и расстояния между структурами по координатам стереотаксиса. Показаны средние значения (n=5) модулей вейвлет-когерентности. Обозначения структур в тексте. Для каждого графика указаны принятые максимальные значения. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kichigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // *Epilepsy Res.* – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.epilepsyres.2014.10.022..... 273

Рисунок 89. Краткосрочное (А) и долгосрочное (Б) влияние инъекций L-глутамата на мощность локальных полевых потенциалов в различных структурах и для различных ритмов. Указаны достоверные отличия (ANOVA) при *P < 0,05, **P < 0,01 или ***P < 0,001 по сравнению с исходной активностью. Пунктирной линией показана мощность колебаний у интактных животных, принятая за 100%. Обозначения структур: ЕС - энторинальная кора, SM - супрааммилярное ядро, СА - центральное ядро миндалины, MS - медиальная септальная область, DG - зубчатая фасция, Нир - гиппокамп, РС - фронтальная кора, LS - латеральное септум. Адаптировано

из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // *Epilepsy Res.* – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.eplesyres.2014.10.022 279

Рисунок 90. Типичное изменение активности восьми структур мозга одного и того же животного, зафиксированное в контрольном эксперименте (А) и после хронического (в течение 20 дней) введения L-глутамата в медиальной септальной области (Б). Показаны естественные LFP (слева) и вейвлет-анализ (справа) для тех же фрагментов активности. После повторного введения L-глутамата во всех структурах можно увидеть появление резких эпилептиформных явлений (некоторые из них отмечены стрелками) и уменьшение осцилляций (показано вейвлет-анализом). Обозначения конструкций как на Рисунок 89. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // *Epilepsy Res.* – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.eplesyres.2014.10.022 281

Рисунок 91. Колебательная активность в восьми структурах мозга одного и того же животного, зарегистрированная в контрольном эксперименте (А) и после длительного (60 дней) введения L-глутамата в медиальной септальной области (Б). Показаны естественные LFP (вверху) и вейвлет-анализ (внизу) для тех же фрагментов активности. Видно, что колебания сильно уменьшились после длительного введения L-глутамата. Обозначения конструкций как на Рисунке 88. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs

// Epilepsy Res. – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.eplepsyres.2014.10.022	284
Рисунок 92. Подавление эндотелиального ритма в эндотелиоцитах при периодическом воздействии колебаний температуры с частотой 0,02 Гц . Адаптировано из (Serov et al., 2022).....	292

Список таблиц

Таблица 1. Ультрадианные ритмы сигнальных событий в клетках животных и человека. Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307.....	44
Таблица 2. Ритмы, регистрируемые в ЭЭГ человека. Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307 ..	53
Таблица 3. Частотные характеристики колебаний вариабельности сердечного ритма. Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307	63
Таблица 4. Ритмы колебаний скорости кожной микроциркуляции. Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307	69
Таблица 5. Биоритмы в растительных тканях. Адаптировано из статьи автора из списка работ по теме диссертации: Astashev M. E., Serov D. A., Gudkov S. V. Application of Spectral Methods of Analysis for Description of Ultradian Biorhythms at the Levels of Physiological Systems, Cells and Molecules (Review) // Mathematics. – 2023. – Т. 11, № 15. DOI: 10.3390/math11153307.....	80

Таблица 6. Распределение входов/выходов контроллера Arduino Mega2560 в сравнении с назначением этих контактов в 3D принтере.	140
Таблица 7. Сравнительный анализ стоимости Open-source системы с ближайшими доступными коммерческими аналогами. В скобках указана ориентировочная стоимость. По материалам публикации автора: Асташев М. Е. Open-source установка для микрофлуоресцентного Ca^{2+} -анализа // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация : сборник статей Международной конференции / Под ред. Зинченко В. П. Б. А. В. – Т. 1 – Пушино, 22–25 мая 2017 года. , 2017. – С. 397-403.....	147
Таблица 8. Вейвлет-коэффициенты частотных компонентов для схемы, представленной на рисунке 38. Таблица из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685	171
Таблица 9. Корреляция параметров модельного ионного канала. Построено по данным из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.....	184
Таблица 10. Корреляция параметров природных K_v и K_{Ca} ионных каналов. Построено по данным из статьи автора из списка статей по теме диссертации Study of the synchronization and the transmission of gating modulation in the single potassium channel / Astashev M.E., Grinevich A. A., Serov D.A., et al. // Opera medica et physiologica. – 2024. – Т. 11, № 3. – С. 158-173. DOI: 10.24412/2500-2295-2024-3-158-173.	187

Таблица 11. Таблица коэффициентов диффузии органических анионов при бесконечном разведении в воде при температуре 20°C. Адаптировано из (Lide, 2006)	212
Таблица 12. Амплитудно-частотные характеристики пиков синхронизованных колебаний цитозольного Ca^{2+} или продукции NO для проанализированной клеточной популяции при разных температурах. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Study of the Synchronization and Transmission of Intracellular Signaling Oscillations in Cells Using Bispectral Analysis / Astashev M. E., Serov D. A., Tankanag A. V., et al. // Biology. – 2024. – Т. 13, № 9. – С. 685. DOI: 10.3390/biology13090685.....	225
Таблица 13. Наклон и смещение линейной функции получены путем аппроксимации зависимости модуля импеданса от длины образца и емкости, образуемой точками соединения электродов и непроводящими слоями образца. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.....	244
Таблица 14. Параметры модели. Адаптировано из статьи автора из списка публикаций по материалам диссертации: Astashev M. E., Konchekov E. M., Kolik L. V., Gudkov S. V. Electric Impedance Spectroscopy in Trees Condition Analysis: Theory and Experiment // Sensors. – 2022. – Т. 22, № 21. DOI: 10.3390/s22218310.....	255
Таблица 15. Колебательная активность в разных диапазонах в восьми структурах мозга в контрольных экспериментах (среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего). Показаны мощность (относительные единицы) и частота (Гц) колебаний. Обозначение структур: как на Рисунок 89. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации:	

Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // <i>Epilepsy Res.</i> – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.eplesyres.2014.10.022.....	271
Таблица 16. Структурные взаимоотношения в мозге здоровых животных (среднее $\pm$ SEM). Показаны модули комплексной кросс-корреляции вейвлет-коэффициентов (среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего). Обозначения структур: как на Рисунок 89. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // <i>Epilepsy Res.</i> – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.eplesyres.2014.10.022	274
Таблица 17. Кратковременные (первые пять дней) и отдаленные (последние пять из 30–35 дней) изменения ритмической активности в разных диапазонах после инъекции L-глутамата (среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего). Изменения представлены в процентах (%) по сравнению с исходной фоновой активностью. Показаны только значимые изменения: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$. S, краткосрочные изменения; L, долгосрочные изменения; П — мощность; о.е., относительная единица; F, частота, Гц. Стрелки показывают уменьшение или увеличение мощности и частоты колебаний. Обозначения структур как на Рисунок 89. Адаптировано из статьи автора из списка статей по теме диссертации: Astasheva E., Astashev M., Kitchigina V. Changes in the behavior and oscillatory activity in cortical and subcortical brain structures induced by repeated l-glutamate injections to the medial septal area in guinea pigs // <i>Epilepsy Res.</i> – 2015. – Т. 109. – С. 134-45. DOI: 10.1016/j.eplesyres.2014.10.022	277