РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА
Том 108, № 4, 2022

Все статьи журнала по соглашению авторов с компанией Pleiades Publishing, Ltd. публикуются на английском языке в "Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology" ISSN 0022-0930, ©Pleiades Publishing, Ltd.

СОДЕРЖАНИЕ

Обзорные и проблемные статьи

Горизонты гепаринотерапии при COVID-19 и заболеваниях, связанных с пандемией
М. В. Кондашевская 399

О значимости NO-синтазы, активных форм кислорода, киназ и $K_{АТФ}$-каналов в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта адаптации к гипоксии
Н. В. Нарыжная, Л. Н. Маслов, И. А. Деркачев, F. Fu 414

Экспериментальные статьи

Роль L-аргинин-NO-системы эритроцитов при разных значениях парциального давления кислорода
Н. В. Акулич, В. В. Зинчук 430

Динамика взаимодействия ритмов ЭЭГ, предшествующая моменту пробуждения, с последующим восстановлением деятельности после кратковременных эпизодов засыпаний
И. А. Яковенко, Н. Е. Петренко, Е. А. Черемушкин, В. Б. Дорохов 443

Произвольное внимание и качество жизни у больных сахарным диабетом 1 и 2 типа в зависимости от длительности заболевания
Н. Э. Тадевосян, А. С. Хачунц, М. Гогаргани, А. А. Саакян, А. А. Туманян 455

Нейрофизиологическое решение обратной задачи ЭЭГ исследования в покое и в условиях слухоречевой нагрузки
С. А. Гуляев 474

Действие анакинры на экспрессию генов рецепторов, активируемых пероксисомным пролифератором в мозге крыс в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии
А. И. Рогинская, А. В. Дёмина, А. А. Коваленко, М. В. Захарова, А. П. Шварц, Т. Б. Мелик-Касумов, О. Е. Зубарева 490

Особенности организации двигательных синергий на разных уровнях управления сложнокоординационным движением человека
С. А. Моисеев, С. М. Иванов, Р. М. Городничев 505

CONTENTS

Reviews

Horizons of Heparin Therapy in COVID-19 and Pandemic-Related Diseases
M. V. Kondashevskaya 399

On the Significance of NO-Synthase, Reactive Oxygen Species, Kinases and K_{ATP}-Channels in the Development of the Infarct-Limiting Effect of Adaptation to Hypoxia
N. V. Naryzhnaya, L. N. Maslov, I. A. Derkachev, and F. Fu 414

Experimental Articles

The Role of the L-Arginine-NO System of the Erythrocyte at Different Values of Oxygen Partial Pressure
N. V. Akulich, and V. V. Zinchuk 430

Dynamics of Interaction of EEG Rhythms Preceding the Moment of Awakening, with Subsequent Recovery of Activity after Short-Term Episodes of Falling Asleep
I. A. Yakovenko, N. E. Petrenko, E. A. Cheremoushkin, and V. B. Dorohov 443

Voluntary Attention and Quality of Life in Patients with Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus: Differences in Changes Depending on Disease Type and Duration
N. E. Tadevosyan, A. S. Khachunts, M. Gohargani, A. A. Sahakyan, and A. A Tumanian 455

Neurophysiological Solution of the Inverse Problem of EEG Research at Rest and under Conditions of Auditory-Speech Load
S. A. Gulyaev 474

Effect of Anakinra on the Gene Expression of Receptors Activated by the Peroxisome Proliferator in the Rat Brain in the Lithium Pilocarpine Model of Epilepsy
A. I. Roginskaya, A. V. Dyomina, A. A. Kovalenko, M. V. Zakharova, A. P. Schwarz, T. B. Melik-Kasumov, and O. E. Zubareva 490

The Motor Synergies' Organization Features at Different Levels of Motor Control during High Coordinated Human's Movement
S. A. Moiseev, S. M. Ivanov, and R. M. Gorodnichev 505

EDN: YXSXTI
РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2022, том 108, № 4, с. 399–413

ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

ГОРИЗОНТЫ ГЕПАРИНОТЕРАПИИ ПРИ COVID-19 И ЗАБОЛЕВАНИЯХ, СВЯЗАННЫХ С ПАНДЕМИЕЙ

© 2022 г. М. В. Кондашевская*

Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына, Москва, Россия

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

Поступила в редакцию 27.12.2021 г.
После доработки 08.02.2022 г.
Принята к публикации 09.02.2022 г.

Заболевание, распространившееся по всему миру, вызываемое коронавирусом SARS-CoV-2 и названное COVID-19, первоначально считалось острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС). Затем было установлено, что это заболевание характеризуется несвойственными для многих остальных ОРДС тромбозами кровеносных сосудов. Применение в качестве антикоагулянта препаратов нефракционированного и/или низкомолекулярного гепарина значительно снизило смертность и тяжесть течения заболевания, так как гепарин является полифункциональным средством. В представленном обзоре обобщены сведения литературы о механизмах патогенеза SARS-CoV-2, охарактеризованы свойства гепарина, позволяющие ингибировать эти механизмы на любой стадии патологического процесса. Предложена гипотеза формирования порочного патогенетического круга при COVID-19, а также авторский подход к использованию гепарина в малых дозах, за рамками его антикоагулянтных свойств. Проведенный анализ большого спектра эффектов и механизмов действия гепарина поможет создать у заинтересованного читателя представление о современных возможностях применения этого лекарственного препарата.

Ключевые слова: COVID-19, гепарин, комплексообразование, системы крови, противовоспалительные свойства, посттравматическое стрессовое расстройство

DOI: 10.31857/S0869813922040045

Вирусы обширного семейства Coronaviridae – это респираторные РНК-вирусы, антропозоонозные инфекционные патогены, имеющие природные резервуары инфекции и образующие единые динамичные генофонды. Название “Coronaviridae” (коронавирусы) семейство этих вирусов получило благодаря крупным пепломерам (отросткам оболочки, окружающей вирион), напоминающим корону. Причиной современной пандемии является коронавирус SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Corona Virus 2), а вызываемое им заболевание, характеризующееся широким спектром проявлений: от малосимптомного до катастрофического, сопровождающегося полиорганной недостаточностью, было названо COVID-19 (Coronavirus Disease 2019, COVID-19).

Первоначально заболевание было признано острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС), для лечения которого начали применять противовирусные и противовоспалительные препараты. Однако вскоре стало ясно, что эффективность используемых лекарственных средств недостаточна, так как при COVID-19 у паци-

ентов часто встречается большое число тромботических событий в различных органах и именно эти осложнения определяют катастрофические последствия заболевания [1]. По данным, опубликованным исследователями из г. Ухань (Китай), основными маркерами, ассоциированными с развитием тяжелого течения заболевания и возможного летального исхода, является высокий, непрерывно увеличивающийся в динамике наблюдения уровень D-димера, и продуктов деградации фибриногена [2].

Гиперкоагуляция – это достаточно необычное явление для симптомов, сопряженных с респираторными вирусными заболеваниями. В связи с появлением множества публикаций о тромбозах при COVID-19 в настоящее время многие клиницисты и исследователи рассматривают это заболевание как протромботическое. Однако до настоящего времени нет конкретной единой стратегии и эффективного целевого лечения COVID-19. Фактически в мире ведется эмпирический отбор национальных и международных протоколов лечения с комбинацией неспецифических посиндромных лекарств. Тем не менее, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), использование гепаринов у госпитализированных пациентов в критическом состоянии предпочтительнее других антикоагулянтов [3, 4]. Гепарин является одним из старейших натуральных терапевтических средств, хорошо зарекомендовавших себя в качестве антикоагулянта при тромбоэмболиях, острых инфарктах миокарда, в области гематологии, трансфузионной медицины, кардиохирургии и др. Несмотря на длительную историю изучения и применения в медицине, многие свойства гепарина еще малоизвестны и мало используются в клинической практике. Наблюдаемая у пациентов с COVID-19 гиперкоагуляция вызвала дебаты в сообществе врачей разных специальностей о терапевтической пригодности гепарина. Это объясняется тем, что многим врачам в основном хорошо известны побочные эффекты препаратов гепарина и малоизвестен весь спектр их терапевтических свойств, а также дозы и способы введения. Тем не менее, в разных странах клиницистам пришлось применять препараты гепарина, что снизило показатели D-димера, улучшило выживаемость пациентов и обусловило переход от патологического воспаления в эффективный иммунный ответ.

Цель данного обзора – ознакомить читателей с диапазоном обширных свойств гепарина, продемонстрировать его сильные стороны и ситуации, когда рамки его применения следовало бы расширить, особенно это касается современной ситуации пандемии COVID-19. В статье подчеркивается роль российских исследователей в изучении структуры молекулы гепарина и эффектов действия этого уникального биологически активного вещества.

СВОЙСТВА ЭНДОГЕННОГО ГЕПАРИНА, ИСПОЛЬЗУЕМОГО ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОММЕРЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Эра профилактики венозных тромбозов и эмболий гепарином началась в 1916 г. с открытия вещества, выделенного из клеток печени, обладающего антикоагулянтной активностью. Автором открытия был студент-медик Джей Маклин (Jay McLean), работавший на кафедре физиологии Университета Джона Хопкинса в Балтиморе под руководством знаменитого американского ученого – профессора Уильяма Хауэлла (William Howell) [5]. Впоследствии антикоагулянтное вещество было названо “гепарином”. Активное исследование и использование в клинике коммерческих препаратов началось после разработки натриевых и кальциевых солей гепарина [6]. В настоящее время коммерческие препараты гепарина получают из тканей легких крупного рогатого скота и из кишечника свиней.

Гепарин – гликозаминогликан, один из медиаторов тучных клеток, присутствующих во всех тканях и органах, но особенно богаты ими легкие и кишечник млеко-

питающих. Гепарин, выделяемый во внеклеточное пространство тучными клетками, в физиологических условиях не поступает в кровь, но используется локально, где выполняет в основном функции неспецифического адаптогена, защищая организм от токсинов, паразитов различной природы (в том числе от вирусов и бактерий), провоспалительных веществ, являясь активным полианионом и регулятором межклеточных взаимодействий [7]. Антикоагулянтные свойства гепарина становятся значимыми под воздействием любых внешних или внутренних факторов, приводящих к угрозе нарушения микроциркуляции, стаза, тромбоза и др. Уже на ранних стадиях этих процессов гепарин поступает в кровь, где предотвращает повреждение эндотелия сосудов путем связывания (комплексообразования) и инактивации биологически активных веществ, уменьшая адгезивность эндотелия, восстанавливая измененный электроотрицательный потенциал мембран эндотелиоцитов, тормозя активацию клеточных и плазменных факторов свертывания крови [7, 8]. Таким образом, эндогенный гепарин является полифункциональным биологически активным медиатором тучных клеток, тогда как антикоагулянтное действие является лишь одним из механизмов, с помощью которых гепарин предупреждает тромбоз и способствует восстановлению среды обитания окружающих клеток, обеспечивая им полноценную доставку трофических и энергетических веществ [7, 8].

Молекулярная масса молекул коммерческого нефракционированного гепарина (НФГ), выделяемого из тканей, колеблется от 3000 до 60000 Дальтон. Как и в тучных клетках, молекулы НФГ – естественного биополимера полисахаридной природы, представляют собой линейную неразветвленную цепь, состоящую из повторяющихся дисахаридных звеньев уроновой кислоты GlcA или IdoA и глюкозамина GlcN, α-1-4-гликозидных связей. Высокая степень сульфатирования молекулы обеспечивает высокий отрицательный заряд и высокую степень связывания с другими биологически активными веществами, изменяя их свойства. В связи с большим сходством с эндогенным гепарином, НФГ обнаруживает полифункциональные качества [7, 8].

Низкомолекулярные гепарины (НМГ) представляют собой класс деполимеризованных различными способами производных НФГ, служащих для снижения побочных эффектов НФГ. Каждый тип НМГ обладает четко выраженным кумулятивным эффектом и фармакологическим профилем, поэтому сведения, полученные при изучении свойств одного НМГ, нельзя экстраполировать на другие [7–9].

Антикоагулянтные свойства НФГ и НМГ различны. НФГ способен связываться (образовывать комплекс) с антитромбином III (ATIII) и одновременно с тромбином (ATIII–НФГ–тромбин), ингибируя активность тромбина [10]. Как известно, тромбин катализирует превращение фибриногена в фибрин, трансформирующийся сначала в фибрин-мономер, затем фибрин-полимер, а после стабилизации, вместе с тромбоцитами превращается в тромб. Комплекс ATIII–НФГ–тромбин дезактивирует такие факторы свертывания, как IXa, Xa, XIa, XIIa. Одновременно НФГ способен связываться с кофактором гепарина II, что также нейтрализует тромбин. Однако эффект НФГ ослабляется (снижается биодоступность) из-за высокой способности связываться с биологически активными веществами разной природы: ферментами, гормонами, нуклеиновыми кислотами, алкалоидами и др. Кроме того, у НФГ имеется ряд побочных действий, которые частично нивелируются при укорочении молекулы [8, 9]. Считается, что преимуществами НМГ являются: более выраженная направленность анти-Xa эффекта, бóльшая биодоступность, и по ряду сведений меньшее число осложнений [9]. Преимуществами НФГ являются: относительно низкая стоимость препарата, отсутствие тератогенного и эмбриотоксического действий, а также наличие антидота (протамина сульфат). Протамина сульфат (ПС) является основанием и, связываясь с кислотными остатками гепарина,

образует стабильный комплекс с НФГ. Одновременно ПС индуцирует разрушение комплекса АТIII–НФГ–тромбин, что приводит к снижению антикоагулянтной активности гепарина. Нейтрализация НФГ происходит в течение нескольких минут. Продолжительность действия ПС составляет около 2 ч (в зависимости от температуры тела). Сам ПС обладает незначительной антикоагулянтной активностью [9]. НМГ и НФГ наиболее часто вводятся внутримышечно и подкожно, однако доказана эффективность действия гепарина при интраназальном, интраректальном, ингаляционном введениях и наружно в виде мазей. Используется гепарин и в медицинских устройствах, например, для экстракорпоральной очистки крови [7–9, 11].

ИНГИБИРОВАНИЕ ГЕПАРИНОМ МЕХАНИЗМОВ ИНТЕРНАЛИЗАЦИИ ВИРУСА SARS-COV-2 В КЛЕТКИ ХОЗЯЕВ

В настоящее время известно, что SARS-CoV-2 использует тот же рецептор входа в клетку, что и многие другие вирусы – ангиотензин-превращающий фермент II (Angiotensin-Converting Enzyme 2, ACE2). Человеческая карбоксипептидаза ACE2 кодируется геном *ACE2*, расположенным на 22-й хромосоме [12]. ACE2 представляет собой трансмембранный белок I типа, имеющий внеклеточный N-гликозилированный N-концевой участок, на котором находится карбоксипептидазный сайт, а также короткий внутриклеточный C-концевой цитоплазматический хвост. N-концевой пептидазный домен является местом связи ACE2 с SARS-CoV. Также выделяют две формы белка ACE2: клеточную (связанную с мембраной) и циркулирующую (растворимую). Клеточная форма – это полноценный белок, синтезируемый в больших количествах пневмоцитами, энтероцитами тонкой кишки и другими клетками. Циркулирующая форма (у нее сохраняется N-концевой пептидазный участок) возникает после расщепления клеточной формы ACE2 металлопротеазой ADAM17, после чего она попадает в межклеточное пространство [12].

Установлено, что рецептор-опосредованное проникновение вируса зависит от наличия мембрано-связанной сериновой протеазы, продукта гена *TMPRSS2*. Определено, что для успешного входа в клетки хозяина вирусам SARS-CoV-2 необходимо наличие одновременно ACE2 и TMPRSS2. Показано, что вирус использует для связывания с ACE2 поверхностный спайковый гликопротеин (S), имеющий две субъединицы (S1 и S2). Субъединица S1 имеет N-концевой (NTD) и C-концевые домены (CTD1, CTD2 и CTD3). У вируса SARS-CoV-2 на CTD1 располагается рецептор-связывающий домен (receptor-binding domain, RBD), который взаимодействует с ACE2 на клеточной поверхности. Субъединица S2 запускает слияние вируса с мембраной клетки, что приводит к проникновению вируса внутрь (рис. 1). Расщепление S белка на стыке S1 и S2 осуществляется благодаря протеазам хозяина, таким как TMPRSS2 (рис. 1) [13, 14].

Такой путь интернализации характерен для многих вирусов. Достаточно давно известно, что противовирусные эффекты гепарина в отношении герпесвирусов (HSV-1), вирусов Зика (ZIKV) и других вирусов основаны именно на его способности к образованию комплексных соединений [15, 16]. Совсем недавно Partridge и соавт. (2021) установили, что НФГ способен на 80% ингибировать проникновение вируса SARS-CoV-2 в клетки хозяина, образуя конкурентное связывание, а именно, комплексные соединения с RBD доменами (рис. 1). Так же, как и во многих других случаях, противовирусное действие более выражено у НФГ, чем у НМГ [17].

Вирус SARS-CoV2, проникая в клетки хозяина, разрушает гликокаликс – сложный комплекс мембранно-прикрепленных протеогликанов, гликозаминогликановых цепей, гликопротеинов и адгезивных белков плазмы, выполняющих защитные функции в отношении клеточной мембраны. Гликокаликс обеспечивает избирательность транспорта веществ, принимает участие в образовании контактов между

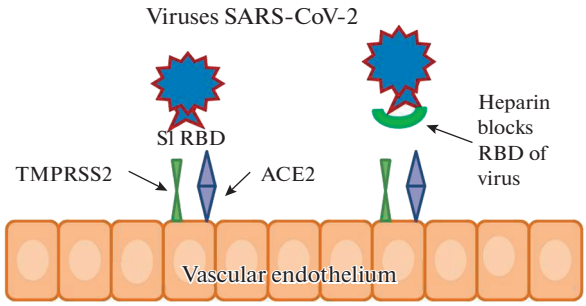


Рис. 1. Схема соединения вируса SARS-CoV2 с клетками хозяина, используя рецепторы хозяина. Блокирование рецептор-связывающего домена (RBD) вируса гепарином.

клетками, выполняет рецепторную и маркерную функции. В кровеносных сосудах гликокаликс располагается на внутренней поверхности эндотелия, отделяя его от крови и соседних клеток [7, 8]. У пациентов с COVID-19 нарушение слоя гликокаликса обусловливает разрушение клеточных мембран, что приводит к разрушительному нарастанию плотности скопления в циркуляции фосфолипопротеиновых частиц, обладающих значительной тромбогенной активностью (рис. 2). В доклинических исследованиях сообщалось, что нарушение слоя гликокаликса в микрососудах легких индуцируется активацией TNF-α-зависимой гепараназы, разрушающей гепарансульфат. Применение НФГ или НМГ защищает гликокаликс от деградации путем ингибирования активности гепараназы [18]. Поскольку активация гепараназы может повышать уровень экспрессии металлопротеиназ (в частности, MMP-2 и MMP-9), гепарин одновременно способен ослаблять наращивание концентрации этих эндопептидаз при COVID-19 [19].

КОАГУЛОПАТИЯ ПРИ COVID-19, МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ГЕПАРИНА

Проникновение вирусов SARS-CoV2 и их токсинов вызывает грубые повреждения эндотелия кровеносных сосудов и других клеток хозяина (рис. 2) [19]. Общеизвестно, что большую роль в сохранении антикоагулянтных свойств крови играет бислойная липидная мембрана эндотелия, при помощи которой поддерживается различие концентрации веществ в цитоплазме клетки и окружающей среде. Во всех случаях повреждения мембраны эндотелия, в том числе и при COVID-19, большое значение имеет пуринергическая передача тромбогенных сигналов, начинающаяся с высвобождения АТФ и АДФ из поврежденных, активированных клеток (рис. 2). Во внеклеточном пространстве происходит активация внеклеточных рецепторов АТФ и АДФ (таких как P2X7), что индуцирует сигнальные механизмы поступления ионов кальция (Ca^{2+}) в цитоплазму эндотелия сосудов из внеклеточных и внутриклеточных источников (рис. 2) [20]. Значительное повышение концентрации Ca^{2+} в эндотелиальных клетках вызывает блокирование ферментных систем трансмембранных белков-переносчиков, транслоказ, участвующих в переносе фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина с наружной стороны мембраны на внутреннюю. В результате происходит цепь событий, ведущая к разрыхлению мембраны и изменению структуры каркаса белков цитоскелета. При этом в кровоток могут отторгаться фосфолипопротеиновые частицы, обладающие тромбогенной активностью (рис. 2). На трансформированной клеточной поверхности отрицательно заряженные кислотные остатки фосфолипидов, при участии АТФ,

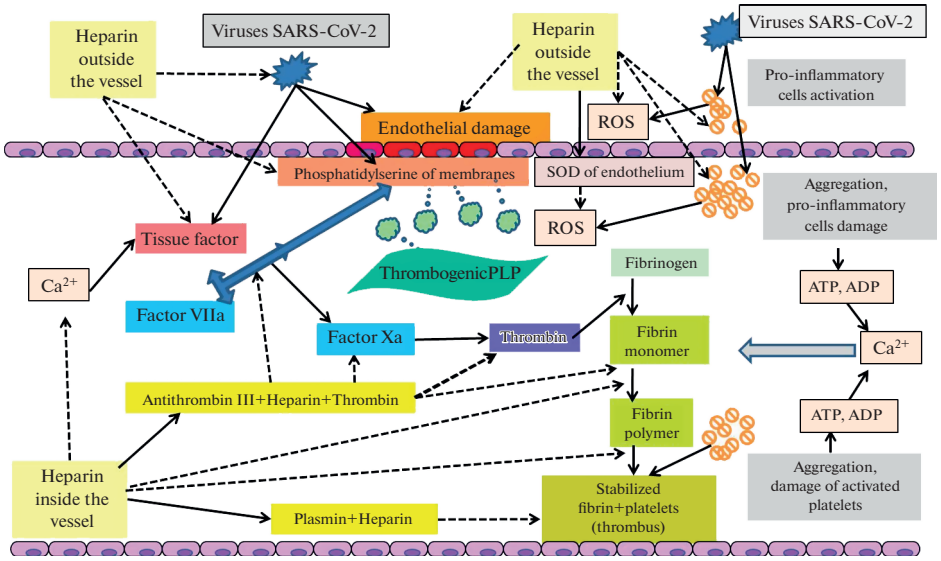


Рис. 2. Схема тромбогенного действия вируса SARS-CoV2 и антитромбогенных эффектов гепарина. ROS – активные формы кислорода, SOD – супероксиддисмутаза, пунктирные стрелки – ингибирующее действие, сплошные стрелки – активация, ⊘ – провоспалительные клетки

АДФ и Ca^{2+}, активируют и образуют связь с витамин К-зависимыми факторами, постоянно находящимися в плазме крови. Ключевой фазой этих эффектов является усиление экспрессии тканевого фактора – белкового компонента, присутствующего на поверхности практически всех клеток организма млекопитающих и обладающего большой тромбогенной активностью при воздействии патогенных факторов (рис. 2) [20, 21].

Далеко не всем известно, что НФГ является регулятором эффектов АТФ, образуя с этим источником энергии комплексные соединения, обладающие антикоагулянтными и антитромботическими свойствами [22]. Вместе с тем гепарин является селективным ингибитором рецепторов инозитол-1,4,5-трифосфата, участвующего в процессе АТФ-зависимого потока Ca^{2+} в клетки, и способен уже на начальной стадии активации ингибировать факторы свертывания, снижая уровень внутриклеточного Ca^{2+} [23]. Следовательно, гепарин нормализует проницаемость и функции клеточных мембран. Возможность влияния гепарина на концентрацию ионов кальция обуславливает также эффекты его действия на иммунные процессы [7–9].

Наиболее известное всем свойство НФГ – это антикоагулянтная функция в качестве ингибитора факторов свертывания крови, осуществляемая через посредство естественных антикоагулянтов, присутствующих в организме животных и человека. Чрезвычайно важный и известный антикоагулянт – это серпин, антитромбин III, важнейший физиологический ингибитор тромбина. Его долгое время называли основным антикоагулянтом, так как антитромбин III способен ингибировать практически все протеазы свертывания крови, плазмин, трипсин, а также C1s компонент комплемента. Преобладает у антитромбина III антикоагулянтная активность в отношении тромбина, факторов Xa и XIa. Образование комплекса антитромбин III–гепарин–тромбин существенно увеличивает антикоагулянтное действие антитромбина III (в 1000–100000 раз, рис. 2). Частично это объясняется тем, что по-

сле образования комплекса, гепарин диссоциирует из него и связывается с другой молекулой антитромбина III, генерируя множественные циклы инактивации фермента тромбина [10]. Это взаимодействие реализуется лишь в том случае, если молекула гепарина содержит не менее 18 сахаридных остатков. Важно отметить, что свойство НФГ и НМГ образовывать комплексы со многими биологически активными веществами было подробно изучено и охарактеризовано в 50–70-х гг. XX-го века российскими учеными под руководством профессора Б.А. Кудряшова. В частности, Кудряшовым и его сотрудниками был выделен и подробно изучен комплекс антитромбин III-гепарин-тромбин [10], тогда как за рубежом этот комплекс научились выделять и изучать позже [24, 25].

Остальные антикоагулянты, такие как: кофактор гепарина II, протеин z-зависимый протеазный ингибитор, ингибитор протеина С, нексин-1, ингибитор активатора плазминогена-1, ингибитор пути тканевого фактора, ингибитор внешнего пути образования протромбиназы (аннексин V), так же, как и антитромбин III, образуют комплексы с НФГ, что многократно усиливает их действие [9, 25].

Стоит отметить, что помимо образования фибрина, тромбин действует за пределами механизмов свертывания крови. В норме, при достижении в циркулирующей крови пороговой концентрации, тромбин взаимодействует с мембранным белком, рецептором неповрежденного эндотелия – тромбомодулином (CD141 или BDCA-3), комплекс тромбин-тромбомодулин активирует рефлекторную дугу противосвертывающей системы [26]. В результате этого, в норме тромбин индуцирует выброс тканевого активатора плазминогена из эндотелия, что стимулирует фибринолиз, предупреждающий возникновение в сосудистом русле стабилизированного фибрина. В системе фибринолиза определяются компоненты ферментативной и неферментативной природы. Последний, главным компонентом которого является гепарин, был открыт и изучен Б.А. Кудряшовым и его сотрудниками [10, 26].

В отличие от нормального состояния у пациентов с COVID-19, на фоне гиперкоагуляции наблюдается развитие глубокой депрессии системы фибринолиза. Интересно отметить, что далеко не все исследователи и клиницисты рассматривают возможность использования гепарина для нормализации системы фибринолиза, несмотря на то, что достаточно давно известна способность гепарина стимулировать генерацию плазмина путем связывания гепарина (НФГ и НМГ) с сайтами активаторов плазминогена как урокиназного (u-PA), так и тканевого (t-PA) типа. Эти эффекты гепарина способствуют уравновешиванию свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем крови [9, 27, 28].

Кроме активизации ферментативного фибринолиза, гепарин, являясь основным компонентом неферментативной фибринолитической системы, обладает ярко выраженной антиполимеризационной и фибринолитической активностями в отношении фибрин-мономеров и нестабилизированных фибрин-полимеров (НФГ в большей мере, чем НМГ) (рис. 2) [9, 10, 26].

ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ COVID-19 И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ГЕПАРИНА

В настоящее время хорошо известно, что свертывающая, противосвертывающая и фибринолитическая системы крови совместно с иммунной системой составляют единую защитную функциональную систему организма. Нарушение одной из них незамедлительно сказывается на состоянии других. Так, например, взаимодействие между опухолевой тканью, системой гемостаза и иммунной системой происходит по типу каскада взаимной активации, тем самым приводя к формированию порочного круга, результатом чего являются повреждение эндотелия, провоспалительный статус и тромбозы в сосудистом русле, т.е. развитие тромботической мик-

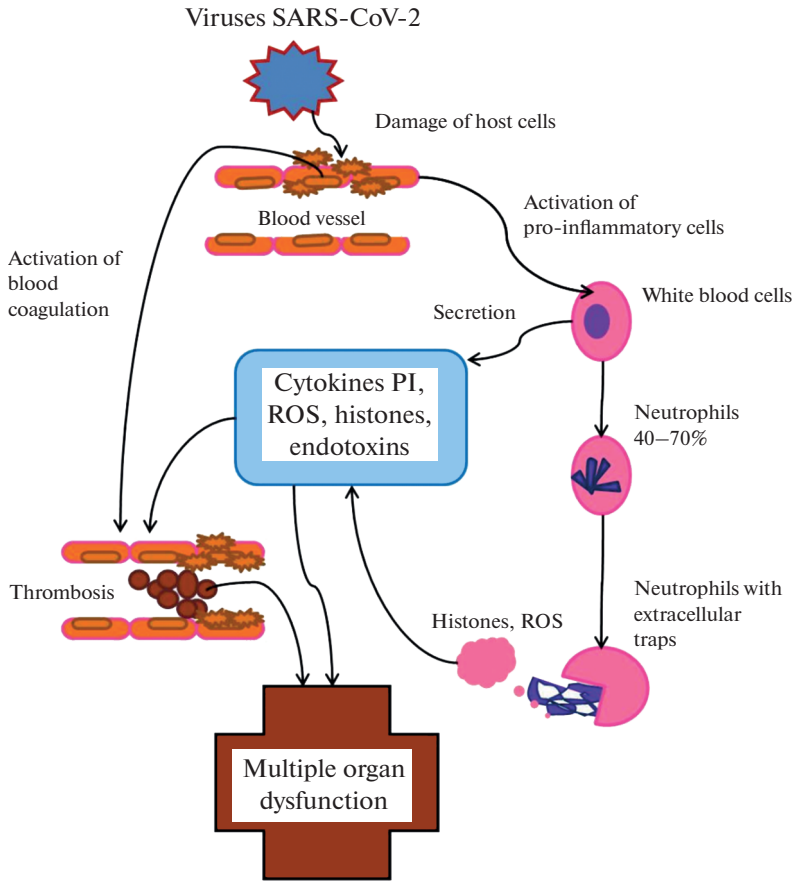


Рис. 3. Схема изменений свертывающей системы крови при COVID-19. ROS – активные формы кислорода, PI – провоспалительные цитокины.

роангиопатии. Показано, что посредниками в этом взаимодействии выступают цитокины [29].

Вероятно, аналогичные механизмы формируются при COVID-19, которые, индуцируя воспалительную реакцию, в тяжелых случаях, цитокиновый шторм, оказывают влияние на весь организм, а также прямое и опосредованное воздействие на центральную нервную систему [30, 31].

Традиционно, инициация воспалительной реакции приводит к неспецифической активации таких провоспалительных форменных элементов крови, как лейкоциты и тромбоциты, повышая их способность к миграции, адгезии и инфильтрации тканей. У человека бо́льшую часть лейкоцитов составляют нейтрофилы (40–70%). Помимо дегрануляции и фагоцитоза, активированные нейтрофилы высвобождают внеклеточные ловушки (сети), состоящие из внеклеточной ДНК, гистонов, биологически активных белков и активных форм кислорода. Появляется все больше свидетельств того, что нейтрофильные внеклеточные сети, образующиеся в большом количестве, играют решающую роль в патогенезе внутрисосудистого тромбоза и полиорганной недостаточности при COVID-19 (рис. 3) [32].

Важным аспектом воспалительного процесса при COVID-19 является оксидативный стресс, характеризующийся дисбалансом в генерации активных форм кислорода и ответных реакциях антиоксидантных систем [33]. Оксидативный стресс, проявляющийся значительным повышением концентрации активных форм кислорода, нарушает проницаемость гемато-тканевых барьеров, вносит решающий вклад в развитие патогенетических механизмов, так как при этом происходит разрушение окружающих клеток, повреждение ДНК, липидов, белков, нарушение функций различных факторов роста (рис. 3). Все это может быть причиной стимуляции секреции большого количества провоспалительных цитокинов, вплоть до цитокинового шторма. Так же, как и при сепсисе, при COVID-19, наряду с легкими, кишечник является мишенью вирусной инфекции. В результате нарушается проницаемость кишечной стенки и провоспалительный эндотоксин, продуцируемый резидентными грамотрицательными бактериями, попадает в системный кровоток. Бактериальная ДНК и эндотоксины были обнаружены практически у всех тяжелобольных COVID-19 [34, 35]. Эти триггеры воспалительного ответа еще сильнее активируют механизмы каскада коагуляции, задействуя путь тканевого фактора (рис. 3). Как было показано в экспериментах на мышах, посредством этого пути эндотоксин и фактор некроза опухоли (TNF-α) индуцируют выработку интерлейкина (IL-6) и других провоспалительных цитокинов, что сопровождается увеличением образования тромбина и фибрина (рис. 3). При этом введение НМГ нормализует состояние кишечного барьера и состояние противосвертывающей системы крови [36].

Основываясь на данных, приведенных выше, кратко можно охарактеризовать, каким образом могут помочь препараты гепарина при воспалительном ответе, связанном с COVID-19. Существует, по крайней мере, пять возможностей:

1) экспериментально и клинически доказано, что коммерческий гепарин НФГ и селективно десульфатированный гепарин (НФГ со сниженной антикоагулянтной активностью) способны ингибировать экспрессию основных провоспалительных цитокинов – IL-6, IL-8, IFNγ, тканевого фактора и компонента комплемента C3A [7–9];

2) показано, что НФГ и НМГ снижают концентрацию токсичных гистонов, появляющихся во внеклеточном пространстве в результате выброса нейтрофилами сетей (рис. 3). Для проявления этих свойств гепарину необходимо наличие сульфатированных групп, хотя бы в небольшом количестве [7–9, 32];

3) введение НФГ и НМГ ингибирует активацию провоспалительных клеток, снижает их способность к миграции, агрегации, адгезии, подавляет лейкоцитарную инфильтрацию тканей (рис. 2, 3) [7–9, 15];

4) НФГ проявляет антиоксидантные свойства, стимулируя экспрессию супероксиддисмутазы (СОД) различными клетками. СОД играет основную роль в антиоксидантной защите от активных форм кислорода (рис. 2, 3) [7–9];

5) НФГ и НМГ обусловливают уменьшение эндотоксин-стимулированной экспрессии генов, что способствует восстановлению эндотелиального барьера кишечника [34, 35].

СТРЕССОРНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С ПАНДЕМИЕЙ COVID-19, АНТИСТРЕССОРНЫЙ ЭФФЕКТ ГЕПАРИНА

Эпидемии, подобные COVID-19, всегда имеют массу негативных последствий. Психологические эффекты социальной изоляции, влияние постоянного эмоционального напряжения, сопряженного с необходимостью соблюдения непрерывной повышенной бдительности в отношении соблюдения правил профилактической медицины, связаны с неблагоприятным влияниям на психическое здоровье насе-

ления. Все это обусловило появление в 2020 г. многочисленных данных, свидетельствующих о том, что при пандемии COVID-19 у населения многих стран значительно повысилась частота развития симптомов выраженного стресса, тревоги и депрессии даже у не переболевших людей [37]. Поэтому во многих странах у населения обнаружился высокий процент симптоматики посттравматического стрессового расстройства (ПТСР). Таким образом, существует необходимость психологического и медикаментозного вмешательства для противодействия краткосрочным и долгосрочным психопатологическим последствиям пандемии COVID-19.

ПТСР расценивается как серьезное мультисистемное заболевание, характеризующееся нарушением психологической адаптации, сопровождающееся соматическими заболеваниями. В наших экспериментальных работах было зарегистрировано индуцированное ПТСР снижение уровня циркулирующего кортикостерона, дистрофические изменения в печени и надпочечниках, нарушение состояния гематологического гомеостаза (гиперкоагуляция). Установлено, что курсовое внутримышечное введение НФГ в очень малых дозах (ниже терапевтических, 64 МЕ/кг) после формирования ПТСР, обусловило успешную адаптацию, нормализацию поведенческих и морфофункциональных нарушений надпочечников и печени [38]. Последнее играет большую роль, так как восстановление структуры печени, в которой синтезируется большинство факторов систем крови, коррелировало с нормализацией состояния свертывающей и противосвертывающей систем. Восстановление морфофункционального состояния надпочечников способствовало возвращению к норме уровня кортикостерона. Оптимизация поведенческого и психоэмоционального состояния после введения гепарина, вероятнее всего, объясняется его способностью проходить через гематоэнцефалический барьер, улучшать текучесть крови, участвовать в регуляции рецепторов нейромедиаторов. Как установлено ранее, НФГ и НМГ образуют комплексы с нейромедиаторами (АКТГ) и гормонами стресса (адреналин, кортизол у людей, кортикостерон у лабораторных грызунов), изменяя их уровень в крови и внося вклад в адаптационные процессы [38, 39]. Полученные результаты могут послужить обоснованием для расширения клинического применения гепарина в малых дозах с целью предупреждения и лечения психосоматической патологии при ПТСР, обусловленной различными причинами, в том числе и COVID-19.

ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ ГЕПАРИНОТЕРАПИИ

Подобно многим другим препаратам, гепарин (НФГ и НМГ) обладает побочными действиями. При этом, многие клиницисты не обнаруживают разницы по частоте осложнений между НФГ и НМГ. Поскольку клинические преимущества и проблемы безопасности существуют бок о бок, следует сосредоточить усилия на максимальном терапевтическом эффекте при минимизации побочных эффектов гепарина.

Наиболее частым и очевидным потенциальным осложнением гепаринотерапии (особенно НФГ) является кровотечение. На втором месте по частоте возникновения потенциальных осложнений стоит гепарин-индуцированная тромбоцитопения. Остальные потенциальные осложнения, такие как остеопороз, кожные реакции, эозинофилия, алопеция, дисфункция печени, острая гепариновая “анафилаксия” и гипоальдостеронизм возникают довольно редко. Частота возникновения осложнений гепаринотерапии одинакова у мужчин и у женщин, возраст не является фактором риска [9].

Наиболее важными причинами осложнений гепаринотерапии являются следующие: 1) большая доза вводимого гепарина (более 500 МЕ/сутки); 2) значительная продолжительность введения (более 2 недель); 3) сочетание лекарственных препа-

ратов и сопутствующих заболеваний; 4) индивидуальные особенности. Наиболее часто кровотечения наблюдаются у больных, страдающих хроническим алкоголизмом, а также при совместном назначении гепарина и аспирина [7–9].

РАЗРАБОТКА НОВЫХ ГЕПАРИНОПОДОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

В настоящее время коммерческие препараты НФГ для клинического применения получают из биологического сырья. Такой способ получения гепарина не исключает возможности вирусной контаминации, контаминации прионами и др. В связи с этим, а также с целью минимизации побочных эффектов гепарина, перспективным направлением является разработка способов получения гепарина в промышленных масштабах из растительных источников. Предварительные результаты, полученные российскими учеными – учениками Б.А. Кудряшова, указывают на высокую эффективность гепариноподобных антикоагулянтов растительного происхождения. Из корней пиона *Paeonia anomala* был выделен антикоагулянт, сходный по действию с НФГ, но лишенный его побочных эффектов. Установлено, что при введении в кровоток лабораторным грызунам, этот гепариноид оказывает действие на все фазы процесса свертывания крови, вызывает гуморальную реакцию выделения из сосудистого эндотелия тканевого активатора плазминогена, обладает фибриндеполимеризационным эффектом. Обнаружено, что растительный гепариноид, аналогично НФГ, способен образовывать комплексы с биологически активными веществами. Полученные данные обосновывают целесообразность и необходимость дальнейшего исследования полученного растительного гепариноида [40].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В качестве антикоагулянтов в клинике применяют как нефракционированные (НФГ), так и низкомолекулярные (НМГ) разновидности гепарина. Наиболее часто используются внутримышечный и подкожный пути введения гепарина. Наименьшее число нежелательных побочных эффектов обнаруживается при введении малых доз гепарина и ингаляционном способе применения. Лечение препаратами НФГ и НМГ следует проводить под контролем показателей гемостаза. Как и все лекарственные препараты, гепарин обладает рядом отрицательных побочных действий, число которых снижается с уменьшением вводимой дозы, длительности лечения, длины и степени сульфатирования молекулы.

В связи с пандемией COVID-19, гепарин привлекает внимание клиницистов, фармакологов, физиологов и биологов как полифункциональное средство, регулирующее многие биохимические и физиологические процессы в организме человека за счет образования комплексных соединений со многими биологически активными веществами. Как и эндогенный гепарин, экзогенный гепарин может покидать одни комплексные соединения и образовывать другие, изменяя свойства и содержание большинства ростовых факторов, цитокинов, хемокинов, АТФ, АДФ, уровня ионов кальция и др. Степень изменения веществ под действием гепарина зависит от его сродства, свойств молекулы гепарина, концентрации обоих компонентов и состояния окружающей среды. В конечном счете, эффекты гепарина создают условия для нормализации функции тканей и органов, обусловливают антистрессорный эффект при остром стрессе и посттравматическом стрессовом расстройстве.

Согласно современным методическим рекомендациям, назначение НФГ или НМГ показано всем госпитализированным пациентам с COVID-19. Доказанных преимуществ какого-либо одного НМГ по сравнению с другими выявлено не было. Применение гепарина во многих клиниках мира способствует росту выживае-

мости и улучшению состояния больных, у которых при гепаринотерапии происходит переход патологического воспаления в эффективный иммунный ответ.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБНУ “НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

М.В.К.: анализ научного материала, разработка дизайна статьи, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ahmed S, Zimba O, Gasparyan AY* (2020) Thrombosis in Coronavirus disease 2019 (COVID-19) through the prism of Virchow’s triad. Clin Rheumatol 39(9): 2529–2543. https://doi.org/10.1007/s10067-020-05275-1
2. *Huang H, Zhang M, Chen C, Zhang H, Wei Y, Tian J, Shang J, Deng Y, Du A, Dai H* (2020) Clinical features of patients infected with 2019 novel corona-virus in Wuhan, China. Lancet 395(10223): 497–506. https://doi.org/10.1016/S0140– 6736
3. *Sholzberg M, Tang GH, Negri E, Rahhal H, Kreuziger LB, Pompilio CE, James P, Fralick M, Al-Hamzah M, Alomran F, Tseng E, Lim G, Lillicrap D, Carrier M, Áinle FN, Beckett A, da Costa BR, Thorpe K, Middeldorp S, Lee A, Cushman M, Jüni P* (2021) Coagulopathy of hospitalised COVID-19: A Pragmatic Randomised Controlled Trial of Therapeutic Anticoagulation versus Standard Care as a Rapid Response to the COVID-19 Pandemic (RAPID COVID COAG – RAPID Trial): A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. Trials 22(1): 202. https://doi.org/10.1186/s13063-021-05076-0
4. World Health Organization (2020) Clinical management of COVID-19. https://www.who.int/publications/i/item/clinical-management-of COVID-19
5. *McLean J* (1959) The discovery of heparin. Circulation 19(1): 75–78. https://doi.org/10.1161/01.cir.19.1.75
6. *Handin RI* (2016) The history of antithrombotic therapy: the discovery of heparin, the vitamin K antagonists, and the utility of aspirin. Hematol Oncol Clin North Am 30(5): 987–993. https://doi.org/10.1016/j.hoc.2016.06.002
7. *Кондашевская МВ* (2019) Экосистема тучных клеток – ключевой полифункциональный компонент организма животных и человека. Обзор. М. Группа МДВ. ISBN 978-5906748-08-9 К 64. [*Kondashevskaya MV* (2019) The ecosystem of mast cells is a key multifunctional component of the body of animals and humans. Review. M. Group MDV. ISBN 978-5906748-08-9 K 64. (In Russ)].
8. *Кондашевская МВ* (2021) Гепарин тучных клеток – новые сведения о старом компоненте (обзор). Вестник РАМН 76(2): 149–158. [*Kondashevskaya MV* (2021) Mast cell heparin – new information on the old component. Review. Bull Russ Acad Med Sci 76 (2): 149–158. (In Russ)]. https://doi.org/10.15690/vramn1284
9. *Кондашевская МВ* (2010) Современные представления о роли гепарина в гемостазе и регуляции ферментативной и гормональной активности (обзор). Вестник РАМН 7: 35–43. [*Kondashevskaya MV* (2010) Modern ideas about the role of heparin in hemostasis and regulation of enzymatic and hormonal activity (review). Bull Russ Acad Med Sci 76 (2): 149–158. (In Russ)].
10. *Kudrjashov BA, Pastorova VE, Lyapina LA* (1983) Anticoagulating and non-enzymatic fibrinolytic activities of heparin-antithrombin III and antithrombin III-heparin-thrombin complexes in vitro and in vivo. Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch 110(5): 731–742.

11. *Aláez-Versón CR, Lantero E, Fernàndez-Busquets X* (2017) Heparin: new life for an old drug. Nanomedicine (Lond) 12(14): 1727–1744.
https://doi.org/10.2217/nnm-2017-0127
12. *Tipnis SR, Hooper NM, Hyde R, Karran E, Christie G, Turner AJ* (2000) A human homolog of angiotensinconverting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. J Biol Chem 275(43): 33238–3243.
https://doi.org/10.1074/jbc.M002615200
13. *Шатунова ПО, Быков АС, Свитич ОА, Зверев ВВ* (2020) Ангиотензинпревращающий фермент 2. Подходы к патогенетической терапии COVID-19. Журн микробиол эпидемиол и иммунобиол 97(4): 339-345. [*Shatunova PO, AS Bykov, OA Svitich, VV Zverev* (2020) Angiotensin-converting enzyme 2. Approaches to pathogenetic therapy of COVID-19. J Microbiol Epidemiol and Immunobiol 97(4): 339–349. (In Russ)].
https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-4-6
14. *Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu NH, Nitsche A, Müller MA, Drosten C, Pöhlmann S* (2020) SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. Cell 181: 271–280.
https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052
15. *Belen-Apak FB, Sarialioglu F* (2020) The old but new: Can unfractioned heparin and low molecular weight heparins inhibit proteolytic activation and cellular internalization of SARS-CoV2 by inhibition of host cell proteases? Med Hypotheses 20(142): 109743.
https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109743
16. *Tan CW, Sam IC, Chong WL, Lee VS, Chan YF* (2017) Polysulfonatesuramin inhibits Zika virus infection. Antiviral Res 143: 186–194.
https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.04.017
17. *Partridge LJ, Urwin L, Nicklin MJH, James DC, Green LR, Monk PN* (2021) ACE2-independent interaction of SARS-CoV-2 spike protein with human epithelial cells is inhibited by unfractionated heparin. Cells 10(6): 1419.
https://doi.org/10.3390/cells10061419
18. *Schmidt EP, Yang Y, Janssen WJ, Gandjeva A, Perez MJ, Barthel L, Zemans RL, Bowman JC, Koyanagi DE, Yunt ZX, Smith LP, Cheng SS, Overdier KH, Thompson KR, Geraci MW, Douglas IS, Pearse DB, Tuder RM* (2012) The pulmonary endothelial glycocalyx regulates neutrophil adhesion and lung injury during experimental sepsis. Nat Med 18: 1217–1223.
https://doi.org/10.1038/nm.2843
19. *Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, Vanstapel A, Werlein C, Stark H, Tzankov A, Li WW, Li VW, Mentzer SJ, Jonigk D* (2020) Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19. N Engl J Med 383(2): 120–128.
https://doi.org/10.1056/NEJMoa2015432
20. *Kanthi Y, Knight JS, Zuo Y, Pinsky DJ* (2020) New (re)purpose for an old drug: purinergic modulation may extinguish the COVID-19 thromboinflammatory firestorm. JCI Insight 5(14): e140971.
https://doi.org/10.1172/jci.insight.140971
21. *Vojacek JF* (2017) Should we replace the terms intrinsic and extrinsic coagulation pathways with tissue factor pathway? Clin Appl Thromb Hemost 23(8): 922–927.
https://doi.org/10.1177/1076029616673733
22. *Obergan TYu, Lyapina LA, PastorovaVE* (2007) Antithrombotic activity of heparin-ATP complex. Bull Exp Biol Med. 143(3): 299–301.
https://doi.org/10.1007/s10517-007-0094-y
23. *Ghosh TK, Eis PS, Mullaney JM, Ebert CL, Gill DL* (1988) Competitive, reversible, and potent antagonism of inositol 1,4,5-trisphosphate-activated calcium release by heparin. J Biol Chem 263(23): 11075–11079.
24. *Pletcher CH, Cunningham MT, Nelsestuen GL* (1986) Molecular weight analysis of antithrombin III-heparin and antithrombin III-thrombin-heparin complexes. J Biol Chem 261(9): 4143–4147.
25. *Meyer D, Tsakiris DA, Marbet GA* (1989) Thrombin-antithrombin III complexes as a measure of effective heparin treatment? Schweiz Med Wochenschr 119(39): 1352–1354.
26. *Kudrjashov BA, Liapina LA, Uljanov AM* (1978) Complex fibrinogen-heparin (FH) and fibrinogen degradation products (FDP) in blood of rats after intravenous injection of thrombin. Thromb Res 13(3): 397–407.
27. *Ji H-L, Zhao R, Matalon S, Matthay MA* (2020) Elevated plasmin(ogen) as a common risk factor for COVID-19 susceptibility Physiol Rev 100(3): 1065–1075.
https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2020
28. *Whyte CS, Morrow GB, Mitchell JL, Chowdary P, Mutch NJ* (2020) Fibrinolytic abnormalities in acute respiratory distress syndrome (ARDS) and versatility of thrombolytic drugs to treat

COVID-19. J Thromb Haemost 18(7): 1548–1555.
https://doi.org/10.1111/jth.14872
29. *Antoniak S* (2018) The coagulation system in host defense. Res Pract Thromb Haemost 2(3): 549–557.
https://doi.org/10.1002/rth2.12109
30. *Ong WY, Go ML, Wang DY, Cheah IK, Halliwell B* (2021) Effects of antimalarial drugs on neuroinflammation-potential use for treatment of COVID-19-related neurologic complications. Mol Neurobiol 58(1): 106–117.
https://doi.org/10.1007/s12035-020-02093-z
31. *Сомова ЛМ, Коцюрбий ЕА, Дробот ЕИ, Ляпун ИН, Щелканов МЮ* (2021) Клинико-морфологические проявления дисфункции иммунной системы при новой коронавирусной инфекции COVID-19. Клин эксп морфол 10(1):11–20. [*Somova LM, Kotsyurbiy EA, Drobot EI, Lyapun IN, Shchelkanov MYu* (2021) Clinical and morphological manifestations of immune system dysfunction in new coronavirus infection (COVID-19). Clin Exp Morphology 10(1):11–20 (In Russ.)]
https://doi.org/10.31088/CEM2021.10.1.11-20
32. *Hogwood J, Pitchford S, Mulloy B, Page C, Gray E* (2020) Heparin and non-anticoagulant heparin attenuate histone-induced inflammatory responses in whole blood. PLoS One 15(5): e0233644.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233644
33. *Fernandes IG, de Brito CA, Dos Reis VMS, Sato MN, Pereira NZ* (2020) SARS-CoV-2 and other respiratory viruses: what does oxidative stress have to do with it? Oxid Med Cell Longev 2020: 8844280.
https://doi.org/10.1155/2020/8844280
34. *Onishi JC, Häggblom MM, Shapses SA* (2020) Can dietary fatty acids affect the COVID-19 infection outcome in vulnerable populations? mBio 11(4e): 01723–20.
https://doi.org/10.1128/mBio.01723-20
35. *Assimakopoulos SF, Mastronikolis S, DE Lastic AL, Aretha D, Papageorgiou D, Chalkidi T, Oikonomou I, Triantos C, Mouzaki A, Marangos M* (2021) Intestinal Barrier Biomarker ZO1 and Endotoxin Are Increased in Blood of Patients With COVID-19-associated Pneumonia. In Vivo 35(4): 2483–2488.
https://doi.org/10.21873/invivo.12528
36. *Li LF, Liu YY, Lin SW, Chang CH, Chen NH, Hung CY, Lee CS* (2020) Low-Molecular-Weight Heparin Reduces Ventilation-Induced Lung Injury through Hypoxia Inducible Factor-1α in a Murine Endotoxemia Model. Int J Mol Sci 21(9): 3097.
https://doi.org/10.3390/ijms21093097
37. *Domínguez-Salas S, Gómez-Salgado J, Andrés-Villas M, Díaz-Milanés D, Romero-Martín M, Ruiz-Frutos C* (2020) Psycho-Emotional Approach to the Psychological Distress Related to the COVID-19 Pandemic in Spain: A Cross-Sectional Observational Study. Healthcare (Basel) 8(3): E190.
https://doi.org/10.3390/healthcare8030190
38. *Kondashevskaya MV* (2018) Experimental evaluation of the effects of low-dose heparin on the behavior and morphofunctional status of the liver in Wistar rats with posttraumatic stress disorders. Bull Exp Biol Med 164(10): 490–494.
https://doi.org/10.1007/s10517-018–4018–9
39. *Kudriashov BA, Shapiro FB, Lomovskaia EG, Liapina LA* (1975) The role of adrenaline and ACTH in the process of complex heparin compound formation in the blood during imobilization stress. Probl Endokrinol (Mosk) 21(5): 54–59.
40. *Lyapina LA, Kondashevskaya MV, Ziadetdinova GA, Uspenskaya MS* (2000) Comparative study of anticoagulants from various extracts of Paeonia anomala. Izv Akad Nauk Ser Biol (3): 345–349.

Horizons of Heparin Therapy in COVID-19 and Pandemic-Related Diseases

M. V. Kondashevskaya*

Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia
**e-mail: marivladiko@mail.ru*

The disease caused by the coronavirus SARS-CoV-2, named COVID-19, has been spread around the world with high transmission rate. It was initially considered to be a severe acute respiratory distress syndrome (ARDS). Recent clinical data has highlighted that COVID-19 is characterized by breakdown of central vascular functions, and throm-

bosis, which are uncommon for many other ARDS. The applying of unfractionated and/or low molecular weight heparins as anticoagulant medications significantly reduced severity of the disease and virus caused mortality, since heparin is a multifunctional agent. The goal of this review is to summarize the literature on SARS-CoV-2 pathogenesis mechanisms, and characterizes the heparin properties, which allow to inhibit these mechanisms at any stage of the process. We proposed the hypothesis of the vicious pathogenetic circle formation induced by COVID-19 infection, as well as the author's approach to the small doses heparin application, beyond the scope of its anticoagulant properties. The analysis of a wide ranges of heparin's effects and action mechanisms will help to give the interested reader an idea of the current possibilities for implication this drug.

Keywords: COVID-19, heparin, complex formation, blood systems, anti-inflammatory properties, post-traumatic stress disorder

EDN: QJVGFU
РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2022, том 108, № 4, с. 414–429

ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

О ЗНАЧИМОСТИ NO-СИНТАЗЫ, АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА, КИНАЗ И $K_{АТФ}$-КАНАЛОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ИНФАРКТ-ЛИМИТИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА АДАПТАЦИИ К ГИПОКСИИ

© 2022 г.
Н. В. Нарыжная[1, *], Л. Н. Маслов[1], И. А. Деркачев[1], F. Fu[2]

[1] *Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия*
[2] *Четвертый военно-медицинский университет, Сиань, Китай*
**E-mail: natalynar@yandex.ru*

Поступила в редакцию 02.02.2022 г.
После доработки 06.03.2022 г.
Принята к публикации 08.03.2022 г.

Показано, что кардиопротекторный эффект хронической гипоксии (ХГ) связан с активацией индуцибельной NO-синтазы. Установлено, что активные формы кислорода принимают участие в повышении устойчивости сердца к ишемии/реперфузии после ХГ. Продемонстрировано, что инфаркт-лимитирующий эффект ХГ зависит от открытия митохондриальных АТФ-зависимых калиевых каналов (митоК$_{АТФ}$-каналов). Установлено, что δ-изоформа протеинкиназы С участвует в кардиозащитном эффекте адаптации к гипоксии. Показано, что ХГ усиливает экспрессию фосфорилированной протеинкиназы С, фосфорилированной регулируемой внеклеточными сигналами киназы, Ca^{2+}/кальмодулинкиназы II, фосфорилированной p-38-киназы, фосфорилированной АМФ-активируемой протеинкиназы, а также гексокиназы-1 и гексокиназы-2. Представленные данные указывают, что митоген-активируемая протеинкиназа (MEK1/2) и ERK1/2 участвуют в кардиопротекторном эффекте адаптации к гипоксии. Роль предсердного натрийуретического пептида, эритропоэтина, эндотелина-1, фосфатидилинозитол-3-киназы, протеинкиназы G, c-Jun N-терминальная киназы и p38-киназы в защитном эффекте адаптации к гипоксии требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: сердце, хроническая гипоксия, киназы, NO-синтаза, К$_{АТФ}$-каналы
DOI: 10.31857/S0869813922040069

Адаптация к хронической гипоксии (ХГ) положительно влияет на устойчивость сердца к патогенному действию ишемии/реперфузии (И/Р). ХГ оказывает инфаркт-лимитирующий [1] и антиаритмический [2, 3] эффекты, а также улучшает сократимость сердца в период реперфузии [4]. Существуют данные о том, что длительное пребывание человека на высоте более 1800 м приводит к повышению толерантности сердца к И/Р [5]. Было показано, что проживание в условиях высокогорья снижает вероятность возникновения инфаркта миокарда, по сравнению с популяцией людей, проживающих на уровне моря [5]. Кроме того, ХГ препятствует развитию ишемической болезни сердца [6].

Вместе с тем ХГ вызывает формирование легочной гипертензии [7–9], которая по данным некоторых авторов носит обратимый характер [10]. Тем не менее ХГ, по нашему мнению, нельзя использовать с целью повышения толерантности сердца к И/Р, поскольку ХГ ведет к формированию легочной гипертензии.

Почему следует изучать молекулярный механизм кардиопротекторного эффекта ХГ? Установлено, что инфаркт-лимитирующий эффект ХГ сохраняется в течение месяца после прекращения гипоксического воздействия [11]. Для сравнения, кардиопротекторный эффект ишемического прекондиционирования сохраняется в течение трех суток [12]. Следовательно, выяснение молекулярной природы мишеней, обеспечивающих адаптационную толерантность сердца к И/Р, создаст предпосылки для создания принципиально новых кардиопротекторных препаратов. В регулировании устойчивости сердца к И/Р принимают участие киназы, NO-синтаза (NOS) и АТФ-чувствительные калиевые каналы ($K_{АТФ}$-каналы) [13]. Основываясь на этих данных, были основания предполагать, что они также участвуют и в адаптивном повышении устойчивости сердца к И/Р после ХГ.

Таким образом, цель данного обзора – обобщение имеющихся в современной научной литературе данных о роли NOS, киназ и $K_{АТФ}$-каналов в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта ХГ. Новизна представленной обзорной статьи заключается в представлении новых данных об участии гормонов и гуморальных факторов, активных форм кислорода (АФК), индуцибельной NOS (iNOS), АМФ-активируемой протеинкиназы (AMPK), mTOR киназы (mammalian target of rapamycin) и Ca^{2+}/кальмодулинкиназы II (CaMKII) в кардиопротекторном эффекте адаптации к гипоксии.

В задачи настоящей обзорной статьи входило проанализировать существующие литературные данные и представить обобщенный анализ молекулярных механизмов кардиозащитного эффекта ХГ.

РОЛЬ NO-СИНТАЗЫ В КАРДИОПРОТЕКТОРНОМ ЭФФЕКТЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Помимо известной функции NOS, а именно синтеза оксида азота (NO) – вторичного мессенджера, данный энзим принимает участие в феномене ишемического прекондиционирования [13]. Основываясь на этом факте, была выдвинута гипотеза, что NOS также участвует в реализации защитных эффектов адаптации к ХГ.

Исследования показали, что после воздействия ХГ в миокарде усиливается экспрессия iNOS [14–16], нейрональной (nNOS), эндотелиальной (eNOS) [15, 17] и митохондриальной NO-синтазы (mtNOS) [18]. Последняя является nNOS, ассоциированной с внутренней мембраной митохондрий. Обнаружено, что фактор, индуцируемый гипоксией 1-альфа (HIF-1α), стимулирует синтез iNOS в кардиомиоцитах [15, 19, 20].

Помимо влияния на экспрессию перечисленных выше белков, ХГ также оказывает влияние на их активность. Так, в нескольких исследованиях было показано, что адаптация к ХГ повышает активность NOS в миокарде [21–23]. В своих исследованиях, изучая эффекты хронической непрерывной гипоксии (ХНГ), мы обнаружили, что в сыворотке крови и в миокарде крыс наблюдалось повышение уровня нитритов и нитратов [1]. Подобный эффект был отмечен и другими исследователями [24]. Таким образом, ХГ стимулирует синтез NO. Повышение содержания NO, в свою очередь, увеличивает устойчивость сердца к И/Р.

Исследование участия NOS в формировании устойчивости сердца к И/Р с использованием ингибиторов указало на важную роль данной группы ферментов. Эксперименты на изолированных сердцах кроликов, адаптированных к ХГ, показали, что неселективный NOS-ингибитор N-Нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) устраняет повышенную устойчивость к И/Р [25]. В своем исследовании мы обнаружили, что L-NAME нивелирует инфаркт-ограничивающий эффект ХНГ [1]. Такой же эффект оказывало применение ингибитора iNOS S-метилизотиомочевины [1]. Ингибирование nNOS 7-нитроиндазолом не приводило к исчезнове-

нию ХНГ-индуцированного повышения толерантности сердца к И/Р [1]. Таким образом, кардиозащитный эффект ХГ связан с активацией iNOS.

РОЛЬ ГОРМОНОВ И ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В КАРДИОПРОТЕКТОРНОМ ЭФФЕКТЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Натрийуретические пептиды могут повышать толерантность сердца к И/Р [26, 27]. Casserly и соавт. обнаружили, что воздействие ХГ в течение 3 недель вызывает гипертрофию правого желудочка, увеличивает вызванное гипоксией высвобождение предсердного натрийуретического пептида (ПНУП) из изолированного перфузируемого сердца крысы и увеличивает толерантность сердца к гипоксии [28]. Помимо этого, известно, что уровень ПНУП повышен у пациентов с гипоксемией [29] и у крыс, подвергшихся гипоксии в течение 7 дней [30]. Таким образом, данные указывают на то, что ПНУП может участвовать в кардиопротекторном эффекте ХГ.

Известно, что эритропоэтин может уменьшать повреждение сердца при И/Р [31–33]. Вместе с этим было обнаружено, что ХГ увеличивает уровень эритропоэтина в сыворотке крови коров голштинской породы [34]. Исследования на крысах показали, что уровень эритропоэтина в плазме крови повышался после 2 нед. гипоксии [35]. Кроме этого, обнаружено повышение концентрации эритропоэтина в плазме крови у жителей высокогорья [36]. Следовательно, эритропоэтин может опосредовать инфаркт-лимитирующий эффект ХГ.

В 1996 г. было установлено, что эндотелин-1 способен имитировать кардиопротекторный эффект ишемического прекондиционирования посредством активации рецептора эндотелина типа А (ЕТА) и стимуляции протеинкиназы С (ПКС) [37]. В том же году было показано, что эндотелин-1 оказывает кардиопротекторный эффект при И/Р изолированного сердца крысы через активацию рецептора ЕТА, стимуляцию ПКС и открытие митохондриального $K_{АТФ}$-канала (митоК$_{АТФ}$-канала) [38]. Позднее эти данные были подтверждены Duda и соавт. [39]. Исследования демонстрируют, что хроническая гипоксия (10% O_2 в течение 4 нед.) способствует увеличению уровня эндотелина-1 в плазме крови крыс в 1.5 раза [40, 41]. Такой же эффект отмечен после адаптации к хронической периодической гипоксии (ХПГ) (8 ч/день, 21 день) [42]. Помимо этого, адаптация к ХПГ приводила к усилению экспрессии ЕТА в ткани сердца [42]. Таким образом, эндотелин-1 может участвовать в формировании повышенной толерантности сердца к И/Р при адаптации к ХГ.

РОЛЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КАРДИОПРОТЕКТОРНОМ ЭФФЕКТЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

В 80-е годы прошлого века считалось, что АФК оказывают сугубо негативное влияние, повреждая клетки [13]. На сегодняшний день, благодаря новым исследованиям, известно, что свободные радикалы могут выполнять функцию сигнальных молекул, повышая толерантность сердца к И/Р во время пре- и посткондиционирования [12, 43]. Поэтому были основания предполагать, что АФК могут принимать участие в реализации повышенной устойчивости сердца к И/Р миокарда после адаптации к ХГ.

Показано, что прерывистая гипоксия может защищать изолированные кардиомиоциты сердца крысы от окислительного стресса (H_2O_2-индуцированной гибели клеток) [44, 45]. Воздействие прерывистой гипоксии (5%O_2, 5% CO_2 и 90% N_2, 4 сут, циклы по 30 мин) приводило к значительному снижению уровня АФК после H_2O_2-индуцированного повышения [45]. Помимо этого наблюдалось увеличение уровней мРНК, кодирующей структуру Cu, Zn-супероксиддисмутазы (СОД) и Mn-СОД. Уровень мРНК, кодирующей каталазу и глутатионпероксидазу (ГП), не изменялся. Ак-

тивность каталазы и ГП были значительно выше после гипоксии [45]. Эти данные свидетельствуют о том, что воздействие прерывистой гипоксии приводит к стимуляции эндогенной антиоксидантной защиты.

Подтверждено что хроническая гипобарическая прерывистая гипоксия способствует увеличению активности СОД в миокарде и снижению уровня малонового диальдегида [46].

Исследование, проведенное на людях, показало, что хроническая гипобарическая гипоксия увеличивала скорость продукции АФК на 38% [47]. Воздействие гипобарической ХГ (4600 м, PIO2 90 мм рт. ст., циклы 4 ч) повышало образование митохондриальных АФК и приводило к увеличению активности каталазы, ГП и СОД [6].

Показано, что воздействие ХПГ (7000 м, 8 ч/день, 25 дней) [48, 49] приводит к уменьшению соотношения зоны некроза к зоне риска (ЗН/ЗР) примерно на 50%. Введение неселективного антиоксиданта N-ацетилцистеина (NAC) в дозировке 100 мг/кг/день частично устраняло этот эффект. Кардиозащитный эффект ХПГ не был устранен полностью, вероятно, потому, что NAC сам может уменьшать соотношение ЗН/ЗР [48, 49].

Кроме этого, известно, что ХПГ вызывает повышение уровня экспрессии ПКС в сердце, а введение NAC устраняет данный эффект адаптации [49]. Поскольку ПКС играет важную роль в регуляции устойчивости сердца к И/Р [50, 51], снижение ее активности может усилить повреждение сердца.

Таким образом, АФК участвуют в повышении устойчивости сердца к И/Р после воздействия ХГ. Однако неизвестно, какие именно свободные радикалы участвуют в данном процессе.

РОЛЬ КИНАЗ В КАРДИОПРОТЕКТОРНОМ ЭФФЕКТЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Протеинкиназа С. Среди киназ, участвующих в реализации феномена ишемического пре- и посткондиционирования, важное место занимает ПКС [12, 13]. Учитывая этот факт, можно было предположить, что данная киназа может играть важную роль в защитном эффекте адаптации к гипоксии.

Изучение того, как ХГ влияет на содержание различных изоформ ПКС в миокарде, показало, что длительная гипоксия приводит к усилению экспрессии и повышению уровня ПКС-δ, ПКС-ε, ПКС-ζ [52, 53].

Использование ингибиторов ПКС продемонстрировало, что ПКС играет важную роль в кардиозащитном эффекте ХГ. Так, в исследовании с применением блокатора ПКС хелеритрина не проявлялся кардиозащитный эффект ХПГ [54]. Роттлерин, селективный блокатор изоформы ПКС-δ, устранял инфаркт-ограничивающий эффект ХПГ частично [54]. В своем исследовании, проведенном на изолированных клетках сердца, мы обнаружили, что роттлерин нивелирует повышенную устойчивость кардиомиоцитов к аноксии/реоксигенации [55].

Гипоксия приводит к увеличению содержания дацилглицерола (ДАГ) в миокарде [56]. ДАГ, как известно, может выступать в роли активатора ПКС и, возможно, активирует ее. Вместе с тем, нельзя не отметить, что активность ПКС может увеличиваться под действием свободных радикалов [43] вследствие окислительного стресса после ХПГ [57]. Это подтверждается данными исследований. Так, было показано, что у крыс инфаркт-ограничивающий эффект ХПГ устраняется хроническим введением антиоксиданта N-ацетилцистеина [57]. Изучение влияния ХПГ на кардиомиоциты продемонстрировало повышение их толерантности к аноксии/реоксигенации, а также снижение Ca^{2+}-перегрузки после аноксии/реоксиге-

нации [58]. Использование хелеритрина приводило к устранению позитивных эффектов ХПГ [58].

ERK- и MEK-киназы. Помимо ПКС, в пре- и посткондиционировании сердца участвуют киназы, регулируемые внеклеточными сигналами (ERK), и митоген-активируемые протеинкиназы (MEK) [13]. Было выдвинуто предположение, что они также могут принимать участие в кардиозащитном эффекте ХГ.

В нескольких исследованиях было показано, что ХПГ приводит к повышенной экспрессии ERK2, а также увеличивает содержание активной фосфорилированной ERK1/2 (p-ERK1/2) в миокарде крысы [59, 60]. Применение ингибиторов MEK1/2 U0126 и PD-98059 нивелировало инфаркт-ограничивающий эффект ХПГ [59]. В других публикациях было также продемонстрировано, что адаптация крыс к ХПГ приводит к повышению содержания p-ERK1/2 в ткани сердца [61, 62]. Это подтверждает, что ERK1/2 и MEK1/2 участвуют в кардиозащитном эффекте ХПГ.

CaMKII-киназа. CaMKII при активации уменьшает толерантность сердца к И/Р [63, 64], поэтому предполагалось, что ХГ должна снижать ее активность. Экспериментальные же данные показали, что ХГ приводит к усилению экспрессии в миокарде изоформ CaMKII: CaMKIIγ и CaMKIIδ [65]. Высокая экспрессия CaMKII после воздействия ХГ была зафиксирована и другими исследователями [66]. Помимо этого, обнаружено, что высокая экспрессия данной киназы минимизирует повреждения клеток во время Ca^{2+}-перегрузки [67]. Продемонстрировано, что гипоксия (1% O_2, 5% CO_2 и 94% N_2, 12 ч) приводит к активации CaMKIIδA и фосфорилированного рианодинового рецептора 2-го типа (p-RyR2) в кардиомиоцитах крысы. Данные эффекты ослаблялись нокаутом CaMKIIδA [68]. Помимо этого, нокаут CaMKIIδA значительно снижал утечку Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума (СР) кардиомиоцитов, вызванную гипоксией [68]. Нокаут CaMKIIδA нормализовал вызванное гипоксией подавление экспрессии саркоплазматической Ca^{2+}-АТФазы 2а (SERCA2a) в кардиомиоцитах [68]. Таким образом, ингибирование CaMKIIδA может предотвращать утечку Ca^{2+} из СР за счет подавления p-RyR2 и повышения экспрессии SERCA2a.

Однако имеющихся данных пока недостаточно для заключения, что CaMKII способна обеспечивать кардиозащитный эффект при адаптации к ХГ.

PI3K-киназа. Фосфатидилинозитол-3-киназа (PI3K) – еще одна из киназ, участвующих в пре- и посткондиционировании сердца [13]. Как и с другими киназами, были предположения, что она может принимать участие в кардиозащитном эффекте ХГ.

Изучение роли PI3K в реализации инфаркт-ограничивающего эффекта ХПГ с использованием ингибитора LY294002 показало, что применение данного блокатора приводит к полному исчезновению защитного эффекта гипоксии [69]. Другое исследование, выполненное на изолированных сердцах крыс, подвергшихся И/Р после ХПГ, также продемонстрировало что инфаркт-ограничивающий эффект связан с PI3K [59].

Однако существует мнение о том, что адаптация к ХПГ приводит к уменьшению содержания белка PI3K в ткани сердца крысы [62] и снижению экспрессии p-PI3K [70]. Нашему коллективу также не удалось обнаружить участие PI3K в инфаркт-ограничивающем эффекте ХНГ [1]. Используя ингибитор PI3K вортманнин при работе с изолированными кардиомиоцитами крыс после ХНГ, мы продемонстрировали, что он сам не оказывает влияния на толерантность этих клеток к аноксии/реоксигенации и не устраняет их повышенную устойчивость к аноксии/реоксигенации [55]. Таким образом, по имеющимся экспериментальным данным сложно однозначно сделать вывод о роли PI3K в кардиозащитном эффекте ХГ.

p38-киназа. Известно, что p38-киназа участвует в пре- и посткондиционировании [13, 71]. Имеется несколько исследований, в которых изучалась ее роль при адаптации к ХГ. Так, Micova и соавт. продемонстрировали, что ХПГ приводит к увеличению содержания активной фосфорилированной p38-киназы (p-p38) в левом желудочке миокарда [61]. Другие исследователи обнаружили, что в миокарде младенцев с цианотическими пороками сердца увеличено содержание p-p38-киназы [72]. Однако уровень белка данной киназы в миокардиальной ткани не увеличивался у больных бледными пороками [72], что говорит о взаимосвязи ХГ при цианотических пороках с экспрессией p-p38-киназы. Изучение влияния блокаторов p38-киназы на кардиозащитный эффект ХНГ продемонстрировало, что SB203580 нивелирует защитное действие ХГ [73].

Данные результаты отображают факт того, что адаптация к ХПГ увеличивает содержание p-p38-киназы в ткани левого желудочка. Это, в свою очередь, может повышать устойчивость сердца к И/Р.

JNK-киназа. c-Jun-N-терминальная киназа (JNK) принимает участие в регуляции устойчивости сердца к И/Р. Считается, что ее активация в условиях И/Р миокарда играет сугубо негативную роль в процессе И/Р повреждения миокарда [74, 75]. Однако имеются данные, свидетельствующие, что кардиозащитный эффект дистанционного прекондиционирования зависит от активности данной киназы [57]. Так, в исследовании на кроликах с использованием куркумина, ингибитора JNK, было продемонстрировано, что ингибирование JNK приводит к исчезновению кардиозащитного эффекта ХНГ [73]. Было также установлено, что ХПГ приводит к увеличению соотношения фосфорилированной JNK (p-JNK)/JNK в миокарде [76].

Благодаря изучению влияния гипоксии на клеточные культуры было обнаружено, что инкубация кардиомиобластов H9C2 в течение 72 ч в среде с концентрацией кислорода равной 1%, приводила к повышению содержания в них активной p-JNK [77].

Другие исследования, проведенные на крысах, показали, что после ХПГ не наблюдается увеличения содержания p-JNK в миокарде [78] и изолированных кардиомиоцитах [79]. Исследователям не удалось экспериментально подтвердить изменение общего содержания JNK и p-JNK в ткани сердца крыс, адаптированных к ХПГ [60].

Таким образом, имеются противоречивые результаты, касающиеся изменения общего уровня JNK и p-JNK после адаптации к ХПГ. Вместе с тем, возможно допустить, что ХГ все-таки может способствовать повышению уровня фосфорилированной p-JNK в ткани сердца.

Информация о роли данной киназы в защитном действии ХГ пока представлена лишь одной публикацией [73] и, безусловно, требует дальнейшего изучения.

mTOR. Имеются данные о том, что рапамицин, ингибитор mTOR, устраняет кардиопротекторный эффект ишемического посткондиционирования [80]. Следовательно, были основания предполагать, что mTOR может принимать участие в кардиопротекторном эффекте хронической гипоксии.

Исследование, проведенное на изолированных кардиомиоцитах, продемонстрировало, что экспрессия мРНК mTOR и экспрессия p-mTOR снижается после 48 ч гипоксии [81]. В то же время показано, что ХПГ увеличивает экспрессию p-mTOR в кардиомиоцитах крысы [82]. Сообщается, что рапамицин устраняет кардиопротекторный эффект гипоксического предварительного кондиционирования в кардиомиоцитах посредством ингибирования mTOR [83].

Таким образом, имеющиеся данные не позволяют однозначно ответить на вопрос о роли mTOR в инфаркт-лимитирующем эффекте ХГ.

Протеинкиназа G. Подтверждено, что кардиозащитный эффект пре- и посткондиционирования обеспечивается при участии цГМФ-зависимой протеинкиназы

G (ПKG) [13, 84]. Основываясь на данном факте, возможно было предполагать, что данная киназа может принимать участие в инфаркт-ограничивающем эффекте ХГ.

Продемонстрировано увеличение содержания циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) в сердце после ХГ [66]. Данный циклический нуклеотид способен активировать ПKG, но неизвестно, приводит ли увеличение его содержания к активации данной киназы. Следовательно, роль ПKG в кардиозащитном эффекте ХГ пока неизвестна.

AMPK. Важную роль в реализации феномена пре- и посткондиционирования также играет AMPK [50, 71]. Изучение влияния ХПГ на уровень фосфорилированной AMPK (p-AMPK) показало, что адаптация к гипоксии приводит к повышению уровня данной протеинкиназы в кардиомиоцитах крыс [85, 86].

Подтверждено, что в миокарде младенцев с цианотическими пороками сердца наблюдается повышение активности AMPK [87]. Активность данной киназы также была повышена в клетках H9c2 при ХГ (94% N_2, 5% CO_2, 1% O_2, 48 ч) [87]. Помимо этого, при активации AMPK в клетках H9c2 наблюдалась стимуляция митофагии. Данный эффект устранялся путем ингибирования AMPK [87]. Эти данные свидетельствуют о том, что активация AMPK при ХГ способствует улучшению качества митохондрий и может играть важную роль в кардиопротекторном эффекте ХГ.

Гексокиназа. Известно, что связывание гексокиназы-2 (ГК-2) с митохондриями кардиомиоцитов предупреждает апоптоз клеток миокарда [50]. Исследования этой группы киназ после воздействия ХПГ показали, что адаптация к гипоксии приводит к транслокации ГК в митохондрии [88]. Физиологами было установлено, что адаптация к ХПГ усиливает экспрессию гексокиназы-1 (ГК-1) и ГК-2 в сердце [88]. Кроме того, ХНГ приводит к увеличению экспрессии этих киназ в миокарде [89, 90] и усиливает ассоциацию ГК-2 с митохондриями [90, 91].

Следовательно, можно предположить, что ГК принимает участие в кардиозащитном эффекте ХГ.

GSK3β-киназа. Имеются данные о том, что инактивация киназы гликогенсинтазы 3β (GSK3β) путем фосфорилирования ее молекулы повышает толерантность сердца к И/Р [92, 93]. Однако проведенное позже исследование продемонстрировало, что содержание фосфорилированной GSK3β (p-GSK3β) в миокарде мышей после воздействия ХГ не изменяется [94]. Поэтому можно заключить, что GSK3β не играет значимой роли в реализации кардиозащитного эффекта ХГ. В то же время, стоит отметить, что это единственное исследование, в котором изучалась роль GSK3β в защитном эффекте адаптации к гипоксии.

РОЛЬ $K_{АТФ}$-КАНАЛОВ В КАРДИОПРОТЕКТОРНОМ ДЕЙСТВИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

В кардиомиоцитах есть два основных подтипа $K_{АТФ}$-каналов. Первый подтип представлен сарколеммальными $K_{АТФ}$-каналами (сарк$K_{АТФ}$-канал), второй – митохондриальными $K_{АТФ}$-каналами (мито$K_{АТФ}$-канал) [13, 95–97]. Известно, что и первый и второй подтипы играют важную роль в реализации феномена ишемического пре- и посткондиционирования [4, 95, 97, 98]. Установлено, что активация $K_{АТФ}$-каналов увеличивает толерантность сердца к И/Р [13]. Имеющиеся данные дали основания предполагать, что $K_{АТФ}$-каналы принимают участие в кардиозащитном эффекте адаптации к гипоксии.

Работы на клеточных культурах продемонстрировали, что умеренная гипоксия кардиомиобластов H9C2 повышает толерантность клеток к гипоксии/реоксигенации [99]. Использование селективного ингибитора сарк$K_{АТФ}$-канала HMR 1098 приводило к устранению этого защитного эффекта [99].

Кроме того, установлено, что умеренная гипоксия увеличивает экспрессию рецептора сульфонилмочевины-2A (SUR2A), который представляет собой регуляторную субъединицу $K_{АТФ}$-канала. При этом экспрессия субъединицы Kir6.2, отвечающей за формирование поры $K_{АТФ}$-канала, не изменялась. Стоит отметить, что усиленная экспрессия HIF-1α не оказывает влияния на SUR2A [99]. Это говорит о том, что HIF-1α не принимает участия в регуляции транскрипции мРНК, кодирующей SUR2A.

Эксперименты с ингибиторами PI3K- и MEK-киназ, LY294002 и PD 184352 соответственно, показали, что ингибирование указанных киназ устраняет вызванное гипоксией повышение уровня SUR2A [99]. Эти данные демонстрируют, что PI3K и MEK принимают участие при экспрессии SUR2A в условиях гипоксии.

Эксперименты, проведенные на изолированных сердцах крыс, показали, что адаптация к ХПГ повышает устойчивость сердца к повреждению, связанному с Ca^{2+}-перегрузкой, возникающей при открытии митоК$_{АТФ}$-канала [67]. Другое исследование, проведенное на изолированных сердцах кроликов, адаптированных к гипоксии, продемонстрировало, что глибенкламид, неселективный ингибитор АТФ-чувствительных K^+-каналов, нивелирует повышенную толерантность сердца к гипоксии [25]. Было обнаружено, что использование блокатора $K_{АТФ}$-каналов MCC-134 приводит к исчезновению инфаркт-ограничивающего и антиаритмического эффектов адаптации к ХПГ [100]. Следует отметить, что MCC-134 блокирует митоК$_{АТФ}$-каналы и одновременно индуцирует открытие саркК$_{АТФ}$-каналов.

Исходя из имеющихся данных, можно заявить об участии митоК$_{АТФ}$-каналов в кардиозащитном эффекте ХГ. В более позднем исследовании мы подтвердили участие $K_{АТФ}$-каналов в формировании антиаритмического и инфаркт-лимитирующего эффектов ХГ [101]. Было обнаружено, что 5-гидроксидеканоат, селективный ингибитор митоК$_{АТФ}$-канала, и глибенкламид устраняют инфаркт-ограничивающий эффект ХНГ [1].

Однако подтверждают важную роль $K_{АТФ}$-каналов в повышении толерантности сердца к И/Р не все исследователи. Forkel и соавт. в своем исследовании пришли к выводу, что глибенкламид не устраняет повышенную устойчивость правого желудочка сердца крыс к И/Р у адаптированных к ХГ животных [102]. Несмотря на это, большая часть исследований показывает, что кардиопротекторный эффект адаптации к ХГ зависит от активации митоК$_{АТФ}$-канала. Однако нельзя исключать вероятность того, что защитные эффекты ХГ могут быть связаны и с активацией сарк-К$_{АТФ}$-канала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данная обзорная статья освещает круг вопросов, посвященных молекулярному механизму инфаркт-лимитирующего эффекта адаптации к гипоксии. В обзоре обобщены и проанализированы данные об участии NOS, киназ и $K_{АТФ}$-каналов в реализации данного феномена. Несмотря на то, что феномен адаптации к ХГ исследуется в течение нескольких десятилетий, многие вопросы, касающиеся роли ПНУП, эритропоэтина, эндотелина-1, киназ PI3K, JNK, ПKG и p38 в кардиопротекторном эффекте адаптации к гипоксии остаются нерешенными и требуют дальнейшего изучения.

В настоящем обзоре было продемонстрировано, что ХГ приводит к усилению синтеза NO в ткани сердца, а iNOS принимает участие в инфаркт-лимитирующем эффекте адаптации к гипоксии. Установлено, что АФК участвуют в повышении устойчивости сердца к И/Р после ХГ. Представленные данные показывают, что

при ХГ происходит активация сарколеммальных и митохондриальных $K_{АТФ}$-каналов. Адаптация к ХГ усиливает экспрессию ПКС, p-ERK1/2, CaMKII, p-p38, p-AMPK, ГК-1 и ГК-2. При этом не происходит усиления экспрессии p-GSK3β-киназы. Подтверждено, что ПКС-δ, ERK1/2, MEK1/2 принимают участие в кардиозащитном эффекте ХГ. Показано, что инфаркт-лимитирующий эффект ХГ связан с открытием митоK$_{АТФ}$-канала.

Дальнейшие исследования, направленные на выяснение роли ПНУП, эритропоэтина, эндотелина-1, PI3K, JNK, ПКG и p38-киназы в кардиопротекторном эффекте адаптации к гипоксии могут привести к пересмотру представлений о природе данного эффекта и, безусловно, требуют продолжения исследований в этом направлении.

Следует отметить, что понимание молекулярных механизмов, обеспечивающих адаптационную толерантность сердца к И/Р, создаст предпосылки для создания принципиально новых кардиопротекторных препаратов и будет способствовать разработкам новых терапевтических подходов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 21-515-53003). Оценка роли ERK1/2 в инфаркт-лимитирующем эффекте хронической гипоксии выполнена в рамках государственного задания (АААА-А15-115120910024-0).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Н.В.Н. предложила концепцию и план обзорной статьи. Л.Н.М. провел обзор литературы. И.А.Д. провел обзор литературы вместе с Л.Н.М. и оформил чистовик статьи. F.F. участвовал в подборе литературных источников к статье.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Tsibulnikov SY, Maslov LN, Naryzhnaya NV, Ma H, Lishmanov YB, Oeltgen PR, Garlid K* (2018) Role of protein kinase C, PI3 kinase, tyrosine kinases, NO-synthase, KATP channels and MPT pore in the signaling pathway of the cardioprotective effect of chronic continuous hypoxia. Gen Physiol Biophys 37: 537–547. https://doi.org/10.4149/gpb_2018013
2. *Нарыжная НВ, Мухамедзянов АВ, Ласукова ТВ, Маслов ЛН* (2017) Об участии вегетативной нервной системы в реализации антиаритмического эффекта адаптации к периодической гипобарической гипоксии. Бюл эксп биол мед 167: 275–278. [*Naryzhnaya NV, Mukhamedzyanov AV, Lasukova TV, Maslov LN* (2017) On the participation of the autonomic nervous system in the implementation of the antiarrhythmic effect of adaptation to periodic hypobaric hypoxia. Bull Exp Biol Med 167: 275–278. (In Russ)].
3. *Meerson FZ, Ustinova EE, Manukhina EB* (1989) Prevention of cardiac arrhythmias by adaptation to hypoxia: regulatory mechanisms and cardiotropic effect. Biomed Biochim Acta 48: S83-8.
4. *Maslov LN, Naryzhnaya N V, Prokudina ES, Kolar F, Gorbunov AS, Zhang Y, Wang H, Tsibulnikov SY, Portnichenko AG, Lasukova T V, Lishmanov YB* (2015) Preserved cardiac mitochondrial function and reduced ischaemia/reperfusion injury afforded by chronic continuous hypoxia: role of opioid receptors. Clin Exp Pharmacol Physiol 42: 496–501. https://doi.org/10.1111/1440-1681.12383
5. *Winkelmayer WC, Hurley MP, Liu J, Brookhart MA* (2012) Altitude and the risk of cardiovascular events in incident US dialysis patients. Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc – Eur Ren Assoc 27: 2411–2417. https://doi.org/10.1093/ndt/gfr681

6. *Mallet RT, Burtscher J, Richalet J-P, Millet GP, Burtscher M* (2021) Impact of High Altitude on Cardiovascular Health: Current Perspectives. Vasc Health Risk Manag 17: 317–335. https://doi.org/10.2147/VHRM.S294121
7. *Hampl V, Bíbová J, Banasová A, Uhlík J, Miková D, Hnilicková O, Lachmanová V, Herget J* (2006) Pulmonary vascular iNOS induction participates in the onset of chronic hypoxic pulmonary hypertension. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 290: L11–L20. https://doi.org/10.1152/ajplung.00023.2005
8. *Kylhammar D, Rådegran G* (2017) The principal pathways involved in the in vivo modulation of hypoxic pulmonary vasoconstriction, pulmonary arterial remodelling and pulmonary hypertension. Acta Physiol (Oxf) 219: 728–756. https://doi.org/10.1111/apha.12749
9. *Maston LD, Jones DT, Giermakowska W, Resta TC, Ramiro-Diaz J, Howard TA, Jernigan NL, Herbert L, Maurice AA, Gonzalez Bosc L V* (2018) Interleukin-6 trans-signaling contributes to chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension. Pulm Circ 8: 2045894018780734. https://doi.org/10.1177/2045894018780734
10. *Kentera D, Susić D* (1980) Dynamics of regression of right ventricular hypertrophy in rats with hypoxic pulmonary hypertension. Respiration 39: 272–275. https://doi.org/10.1159/000194227
11. *Neckář J, Ošťádal B, Kolář F* (2004) Myocardial infarct size-limiting effect of chronic hypoxia persists for five weeks of normoxic recovery. Physiol Res 53: 621–628.
12. *Yellon DM, Downey JM* (2003) Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. Physiol Rev 83: 1113–1151. https://doi.org/10.1152/physrev.00009.2003
13. *Маслов ЛН, Лишманов ЮБ* (2016) Кардиопротекторный эффект посткондиционирования сердца (экспериментальные и клинические аспекты). Томск гос ун-т систем упр и радиоэлектронники. Томск. [*Maslov LN, Lishmanov YuB* (2016) Cardioprotective effect of postconditioning of the heart (experimental and clinical aspects). Tomsk State Univer Control Systems and Radioelectronics. Tomsk. (In Russ)].
14. *Yuan X, Zhu D, Guo X, Deng Y, Shang J, Liu K, Liu H* (2015) Telmisartan attenuates myocardial apoptosis induced by chronic intermittent hypoxia in rats: modulation of nitric oxide metabolism and inflammatory mediators. Sleep Breath 19: 703–709. https://doi.org/10.1007/s11325-014-1081-y
15. *Mallet RT, Manukhina EB, Ruelas SS, Caffrey JL, Downey HF* (2018) Cardioprotection by intermittent hypoxia conditioning: evidence, mechanisms, and therapeutic potential. Am J Physiol Heart Circ Physiol 315: H216–H232. https://doi.org/10.1152/ajpheart.00060.2018
16. *Alánová P, Chytilová A, Neckář J, Hrdlička J, Míčová P, Holzerová K, Hlaváčková M, Macháčková K, Papoušek F, Vašinová J, Benák D, Nováková O, Kolář F* (2017) Myocardial ischemic tolerance in rats subjected to endurance exercise training during adaptation to chronic hypoxia. J Appl Physiol 122: 1452–1461. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00671.2016
17. *La Padula PH, Etchegoyen M, Czerniczyniec A, Piotrkowski B, Arnaiz SL, Milei J, Costa LE* (2018) Cardioprotection after acute exposure to simulated high altitude in rats. Role of nitric oxide. Nitric oxide Biol Chem 73: 52–59. https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.12.007
18. *La Padula P, Bustamante J, Czerniczyniec A, Costa LE* (2008) Time course of regression of the protection conferred by simulated high altitude to rat myocardium: correlation with mtNOS. J Appl Physiol 105: 951–957. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.90400.2008
19. *Jung F, Palmer LA, Zhou N, Johns RA* (2000) Hypoxic regulation of inducible nitric oxide synthase via hypoxia inducible factor-1 in cardiac myocytes. Circ Res 86: 319–325. https://doi.org/10.1161/01.res.86.3.319
20. *Yu X, Ge L, Niu L, Lian X, Ma H, Pang L* (2018) The Dual Role of Inducible Nitric Oxide Synthase in Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: Friend or Foe? Oxid Med Cell Longev 2018:8364848. https://doi.org/10.1155/2018/8364848
21. *Baker JE, Holman P, Kalyanaraman B, Griffith OW, Pritchard KAJ* (1999) Adaptation to chronic hypoxia confers tolerance to subsequent myocardial ischemia by increased nitric oxide production. Ann N Y Acad Sci 874: 236–253. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb09239.x
22. *Rouet-Benzineb P, Eddahibi S, Raffestin B, Laplace M, Depond S, Adnot S, Crozatier B* (1999) Induction of cardiac nitric oxide synthase 2 in rats exposed to chronic hypoxia. J Mol Cell Cardiol 31: 1697–1708. https://doi.org/10.1006/jmcc.1999.1005
23. *Nydegger C, Corno AF, von Segesser LK, Beghetti M, Samaja M, Milano G* (2019) Effects of PDE-5 Inhibition on the Cardiopulmonary System After 2 or 4 Weeks of Chronic Hypoxia. Cardiovasc

Drugs Ther 33: 407–414.
https://doi.org/10.1007/s10557-019-06887-9
24. *Thompson L, Dong Y, Evans L* (2009) Chronic hypoxia increases inducible NOS-derived nitric oxide in fetal guinea pig hearts. Pediatr Res 65: 188–192.
https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e31818d6ad0
25. *Fitzpatrick CM, Shi Y, Hutchins WC, Su J, Gross GJ, Ostadal B, Tweddell JS, Baker JE* (2005) Cardioprotection in chronically hypoxic rabbits persists on exposure to normoxia: role of NOS and KATP channels. Am J Physiol Heart Circ Physiol 288: H62–H68.
https://doi.org/10.1152/ajpheart.00701.2004
26. *Krylatov AV, Tsibulnikov SY, Mukhomedzyanov AV, Boshchenko AA, Goldberg VE, Jaggi AS, Erben RG, Maslov LN* (2021) The Role of Natriuretic Peptides in the Regulation of Cardiac Tolerance to Ischemia/Reperfusion and Postinfarction Heart Remodeling. J Cardiovasc Pharmacol Ther 26: 131–148.
https://doi.org/10.1177/1074248420952243
27. *Forte M, Madonna M, Schiavon S, Valenti V, Versaci F, Zoccai GB, Frati G, Sciarretta S* (2019) Cardiovascular Pleiotropic Effects of Natriuretic Peptides. Int J Mol Sci 20.
https://doi.org/10.3390/ijms20163874
28. *Casserly B, Pietras L, Schuyler J, Wang R, Hill NS, Klinger JR* (2010) Cardiac atria are the primary source of ANP release in hypoxia-adapted rats. Life Sci 87: 382–389.
https://doi.org/10.1016/j.lfs.2010.07.013
29. *Lordick F, Hauck RW, Senekowitsch R, Emslander HP* (1995) Atrial natriuretic peptide in acute hypoxia-exposed healthy subjects and in hypoxaemic patients. Eur Respir J 8: 216–221.
https://doi.org/10.1183/09031936.95.08020216
30. *Winter RJ, Meleagros L, Pervez S, Jamal H, Krausz T, Polak JM, Bloom SR* (1989) Atrial natriuretic peptide levels in plasma and in cardiac tissues after chronic hypoxia in rats. Clin Sci (Lond) 76: 95–101.
https://doi.org/10.1042/cs0760095
31. *Bullard AJ, Govewalla P, Yellon DM* (2005) Erythropoietin protects the myocardium against reperfusion injury in vitro and in vivo. Basic Res Cardiol 100: 397–403.
https://doi.org/10.1007/s00395-005-0537-4
32. *Kiss K, Csonka C, Pálóczi J, Pipis J, Görbe A, Kocsis GF, Murlasits Z, Sárközy M, Szűcs G, Holmes CP, Pan Y, Bhandari A, Csont T, Shamloo M, Woodburn KW, Ferdinandy P, Bencsik P* (2016) Novel, selective EPO receptor ligands lacking erythropoietic activity reduce infarct size in acute myocardial infarction in rats. Pharmacol Res 113: 62–70.
https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.08.013
33. *Diab AA, Abulfadle KA, Mohammed NA* (2022) Cardiac and Renal Protective Role of Erythropoietin in a Rat Model of Acute Myocardial Infarction. Zagazig Univ Med J 28: 35–44.
https://doi.org/10.21608/zumj.2021.55172.2066
34. *Wang S, Azarfar A, Wang Y, Cao Z, Shi Q, Li S* (2018) WITHDRAWN:Hematological and vasodilator characteristics for high altitude acclimatization in Holstein heifers ascended to high altitude. Asian-Australasian J Anim Sci.
https://doi.org/10.5713/ajas.18.0224
35. *Feizi H, Rajaee K, Keyhanmanesh R, Aliparasti MR, Almasi S, Alipour MR* (2014) Effect of ghrelin on renal erythropoietin production in chronic hypoxic rats. Endocr Regul 48: 3–8.
https://doi.org/10.4149/endo_2014_01_3
36. *Schmidt W, Spielvogel H, Eckardt KU, Quintela A, Peñaloza R* (1993) Effects of chronic hypoxia and exercise on plasma erythropoietin in high-altitude residents. J Appl Physiol 74: 1874–1878.
https://doi.org/10.1152/jappl.1993.74.4.1874
37. *Wang P, Gallagher KP, Downey JM, Cohen M V* (1996) Pretreatment with endothelin-1 mimics ischemic preconditioning against infarction in isolated rabbit heart. J Mol Cell Cardiol 28: 579–588.
https://doi.org/10.1006/jmcc.1996.0054
38. *Bugge E, Ytrehus K* (1996) Endothelin-1 can reduce infarct size through protein kinase C and KATP channels in the isolated rat heart. Cardiovasc Res 32: 920–929
39. *Duda M, Konior A, Klemenska E, Beresewicz A* (2007) Preconditioning protects endothelium by preventing ET-1-induced activation of NADPH oxidase and xanthine oxidase in post-ischemic heart. J Mol Cell Cardiol 42: 400–410.
https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2006.10.014
40. *Blumberg FC, Wolf K, Arzt M, Lorenz C, Riegger GAJ, Pfeifer M* (2003) Effects of ET-A receptor blockade on eNOS gene expression in chronic hypoxic rat lungs. J Appl Physiol 94: 446–452.
https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00239.2002
41. *Zhu J, Kang J, Li X, Wang M, Shang M, Luo Y, Xiong M, Hu K* (2020) Chronic intermittent hypoxia vs chronic continuous hypoxia: Effects on vascular endothelial function and myocardial contractility. Clin Hemorheol Microcirc 74: 417–427.
https://doi.org/10.3233/CH-190706

42. *Wang N, Chang Y, Chen L, Guo Y-J, Zhao Y-S, Guo Q-H, Ji E-S* (2017) Tanshinone IIA protects against chronic intermittent hypoxia-induced myocardial injury via activating the endothelin 1 pathway. Biomed Pharmacother 95: 1013–1020. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.036
43. *Krylatov AV, Maslov LN, Voronkov NS, Boshchenko AA, Popov S V, Gomez L, Wang H, Jaggi AS, Downey JM* (2018) Reactive Oxygen Species as Intracellular Signaling Molecules in the Cardiovascular System. Curr Cardiol Rev 14: 290–300. https://doi.org/10.2174/1573403X14666180702152436
44. *Lien C-F, Lee W-S, Wang I-C, Chen T-I, Chen T-L, Yang K-T* (2018) Intermittent hypoxia-generated ROS contributes to intracellular zinc regulation that limits ischemia/reperfusion injury in adult rat cardiomyocyte. J Mol Cell Cardiol 118: 122–132. https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2018.03.014
45. *Chang J-C, Lien C-F, Lee W-S, Chang H-R, Hsu Y-C, Luo Y-P, Jeng J-R, Hsieh J-C, Yang K-T* (2019) Intermittent Hypoxia Prevents Myocardial Mitochondrial Ca(2+) Overload and Cell Death during Ischemia/Reperfusion: The Role of Reactive Oxygen Species. Cells 8. https://doi.org/10.3390/cells8060564
46. *Shi Z-J, Cheng M, Liu Y-C, Fan X-R, Zhang Y, Wei Y* (2020) Effect of chronic intermittent hypobaric hypoxia on heart rate variability in conscious rats. Clin Exp Pharmacol Physiol 47: 60–66. https://doi.org/10.1111/1440-1681.13170
47. *Mrakic-Sposta S, Gussoni M, Dellanoce C, Marzorati M, Montorsi M, Rasica L, Pratali L, D'Angelo G, Martinelli M, Bastiani L, Di Natale L, Vezzoli A* (2021) Effects of acute and sub-acute hypobaric hypoxia on oxidative stress: a field study in the Alps. Eur J Appl Physiol 121: 297–306. https://doi.org/10.1007/s00421-020-04527-x
48. *Balková P, Hlaváčková M, Milerová M, Neckář J, Kolář F, Novák F, Nováková O* (2011) N-acetylcysteine treatment prevents the up-regulation of MnSOD in chronically hypoxic rat hearts. Physiol Res 60: 467–474. https://doi.org/10.33549/physiolres.932042
49. *Kolár F, Jezková J, Balková P, Breh J, Neckár J, Novák F, Nováková O, Tomásová H, Srbová M, Ost'ádal B, Wilhelm J, Herget J* (2007) Role of oxidative stress in PKC-delta upregulation and cardioprotection induced by chronic intermittent hypoxia. Am J Physiol Heart Circ Physiol 292: H224–H230. https://doi.org/10.1152/ajpheart.00689.2006
50. *Heusch G* (2015) Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre-, post-, and remote conditioning. Circ Res 116: 674–699. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.305348
51. *Heusch G* (2020) Myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection in perspective. Nat Rev Cardiol 17: 773–789. https://doi.org/10.1038/s41569-020-0403-y
52. *Morel O-E, Buvry A, Le Corvoisier P, Tual L, Favret F, León-Velarde F, Crozatier B, Richalet J-P* (2003) Effects of nifedipine-induced pulmonary vasodilatation on cardiac receptors and protein kinase C isoforms in the chronically hypoxic rat. Pflugers Arch 446: 356–364. https://doi.org/10.1007/s00424-003-1034-y
53. *Holzerová K, Hlaváčková M, Žurmanová J, Borchert G, Neckář J, Kolář F, Novák F, Nováková O* (2015) Involvement of PKCε in cardioprotection induced by adaptation to chronic continuous hypoxia. Physiol Res 64: 191–201. https://doi.org/10.33549/physiolres.932860
54. *Neckár J, Marková I, Novák F, Nováková O, Szárszoi O, Ost'ádal B, Kolár F* (2005) Increased expression and altered subcellular distribution of PKC-delta in chronically hypoxic rat myocardium: involvement in cardioprotection. Am J Physiol Heart Circ Physiol 288: H1566–H1572. https://doi.org/10.1152/ajpheart.00586.2004
55. *Нарыжная НВ, Маслов ЛН, Халиулин ИГ, Пей ЖМ, Жанг И, Цепокина АВ, Хуторная МВ, Кутихин АГ, Лишманов ЮБ* (2016). Адаптация с помощью хронической непрерывной нормобарической гипоксии увеличивает толерантность кардиомиоцитов крыс к аноксии-реоксигенации: роль протеинкиназ. Рос физиол журн им ИМ Сеченова 102: 1462–1471.[*Naryzhnaya NV, Maslov IN, Khaliulin IG, Zhang Y, Pei JM, Tsepokina AV, Khutornaya MV, Kutikhin AG, Lishmanov YB* (2016) Chronic Continuous nor-mobaric hypoxia augments cell tolerance to anoxia-reoxygenation: the role of protein kinases. Rus J Physiol 102: 1462–1471. (In Russ)].
56. *El Alwani M, Usta J, Nemer G, El Sabban M, Nasser M, Bitar H, Souki R, Dbaibo GS, Bitar FF* (2005) Regulation of the sphingolipid signaling pathways in the growing and hypoxic rat heart. Prostaglandins Other Lipid Mediat 78: 249–263. https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2005.09.002
57. *Heidbreder M, Naumann A, Tempel K, Dominiak P, Dendorfer A* (2008) Remote vs. ischaemic preconditioning: the differential role of mitogen-activated protein kinase pathways. Cardio-

vasc Res 78: 108–115.
https://doi.org/10.1093/cvr/cvm114
58. *Ma H-J, Li Q, Ma H-J, Guan Y, Shi M, Yang J, Li D-P, Zhang Y* (2014) Chronic intermittent hypobaric hypoxia ameliorates ischemia/reperfusion-induced calcium overload in heart via Na/Ca^{2+} exchanger in developing rats. Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol 34: 313–324.
https://doi.org/10.1159/000363001
59. *Milano G, von Segesser LK, Morel S, Joncic A, Bianciardi P, Vassalli G, Samaja M* (2010) Phosphorylation of phosphatidylinositol-3-kinase-protein kinase B and extracellular signal-regulated kinases 1/2 mediate reoxygenation-induced cardioprotection during hypoxia. Exp Biol Med (Maywood) 235: 401–410.
https://doi.org/10.1258/ebm.2009.009153
60. *Strnisková M, Ravingerová T, Neckár J, Kolár F, Pastoreková S, Barancík M* (2006) Changes in the expression and/or activation of regulatory proteins in rat hearts adapted to chronic hypoxia. Gen Physiol Biophys 25: 25–41.
61. *Micova P, Hahnova K, Hlavackova M, Elsnicova B, Chytilova A, Holzerova K, Zurmanova J, Neckar J, Kolar F, Novakova O, Novotny J* (2016) Chronic intermittent hypoxia affects the cytosolic phospholipase A(2)α/cyclooxygenase 2 pathway via β(2)-adrenoceptor-mediated ERK/p38 stimulation. Mol Cell Biochem 423: 151–163.
https://doi.org/10.1007/s11010-016-2833-8
62. *Zhang K, Ma Z, Wang W, Liu R, Zhang Y, Yuan M, Li G* (2018) Beneficial effects of tolvaptan on atrial remodeling induced by chronic intermittent hypoxia in rats. Cardiovasc Ther 36: e12466.
https://doi.org/10.1111/1755-5922.12466
63. *Ling H, Gray CBB, Zambon AC, Grimm M, Gu Y, Dalton N, Purcell NH, Peterson K, Brown JH* (2013) Ca^{2+}/Calmodulin-dependent protein kinase II δ mediates myocardial ischemia/reperfusion injury through nuclear factor-κB. Circ Res 112: 935–944.
https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.276915
64. *Lu H-T, Feng R-Q, Tang J-K, Zhou J-J, Gao F, Ren J* (2020) CaMKII/calpain interaction mediates ischemia/reperfusion injury in isolated rat hearts. Cell Death Dis 11: 388.
https://doi.org/10.1038/s41419-020-2605-y
65. *Zhao P-J, Pan J, Li F, Sun K* (2008) Effects of chronic hypoxia on the expression of calmodulin and calcicum/calmodulin-dependent protein kinase II and the calcium activity in myocardial cells in young rats. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi 10: 381–385.
66. *Nehra S, Bhardwaj V, Kar S, Saraswat D* (2016) Chronic Hypobaric Hypoxia Induces Right Ventricular Hypertrophy and Apoptosis in Rats: Therapeutic Potential of Nanocurcumin in Improving Adaptation. High Alt Med Biol 17: 342–352.
https://doi.org/10.1089/ham.2016.0032
67. *Xie Y, Zhu W-Z, Zhu Y, Chen L, Zhou Z-N, Yang H-T* (2004) Intermittent high altitude hypoxia protects the heart against lethal Ca^{2+} overload injury. Life Sci 76: 559–572.
https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.09.017
68. *Gui L, Guo X, Zhang Z, Xu H, Ji Y-W, Wang R-J, Zhu J-H, Chen Q-H* (2018) Activation of CaMKIIδA promotes $Ca(^{2+})$ leak from the sarcoplasmic reticulum in cardiomyocytes of chronic heart failure rats. Acta Pharmacol Sin 39: 1604–1612.
https://doi.org/10.1038/aps.2018.20
69. *Ravingerová T, Matejíková J, Neckár J, Andelová E, Kolár F* (2007) Differential role of PI3K/Akt pathway in the infarct size limitation and antiarrhythmic protection in the rat heart. Mol Cell Biochem 297: 111–120.
https://doi.org/10.1007/s11010-006-9335-z
70. *Luo G-P, Jian Z, Ma R-Y, Cao Z-Z, Zhu Y, Zhu Y, Tang F-Q, Xiao Y-B* (2018) Melatonin alleviates hypoxia-induced cardiac apoptosis through PI3K/Akt pathway. Int J Clin Exp Pathol 11: 5840–5849.
71. *García-Niño WR, Zazueta C, Buelna-Chontal M, Silva-Palacios A* (2021) Mitochondrial Quality Control in Cardiac-Conditioning Strategies against Ischemia-Reperfusion Injury. Life (Basel, Switzerland) 11.
https://doi.org/10.3390/life11111123
72. *Qing M, Görlach A, Schumacher K, Wöltje M, Vazquez-Jimenez JF, Hess J, Seghaye M-C* (2007) The hypoxia-inducible factor HIF-1 promotes intramyocardial expression of VEGF in infants with congenital cardiac defects. Basic Res Cardiol 102: 224–232.
https://doi.org/10.1007/s00395-007-0639-2
73. *Rafiee P, Shi Y, Kong X, Pritchard KAJ, Tweddell JS, Litwin SB, Mussatto K, Jaquiss RD, Su J, Baker JE* (2002) Activation of protein kinases in chronically hypoxic infant human and rabbit hearts: role in cardioprotection. Circulation 106: 239–245.
https://doi.org/10.1161/01.cir.0000022018.68965.6d
74. *Milano G, Morel S, Bonny C, Samaja M, von Segesser LK, Nicod P, Vassalli G* (2007) A peptide inhibitor of c-Jun NH2-terminal kinase reduces myocardial ischemia-reperfusion injury and

infarct size in vivo. Am J Physiol Heart Circ Physiol 292: H1828–H1835.
https://doi.org/10.1152/ajpheart.01117.2006

75. *Shvedova M, Anfinogenova Y, Atochina-Vasserman EN, Schepetkin IA, Atochin DN* (2018) c-Jun N-Terminal Kinases (JNKs) in Myocardial and Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury. Front Pharmacol 9: 715.
https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00715
76. *Zhao Y-S, An J-R, Yang S, Guan P, Yu F-Y, Li W, Li J-R, Guo Y, Sun Z-M*, Ji E-S (2019) Hydrogen and Oxygen Mixture to Improve Cardiac Dysfunction and Myocardial Pathological Changes Induced by Intermittent Hypoxia in Rats. Oxid Med Cell Longev 2019: 7415212.
https://doi.org/10.1155/2019/7415212
77. *He S, Liu S, Wu X, Xin M, Ding S, Xin D, Ouyang H, Zhang J* (2016) Protective role of downregulated MLK3 in myocardial adaptation to chronic hypoxia. J Physiol Biochem 73: 371–380.
https://doi.org/10.1007/s13105-017-0561-5
78. *Morel S, Milano G, Ludunge KM, Corno AF, Samaja M, Fleury S, Bonny C, Kappenberger L, von Segesser LK, Vassalli G* (2006) Brief reoxygenation episodes during chronic hypoxia enhance posthypoxic recovery of LV function: role of mitogen-activated protein kinase signaling pathways. Basic Res Cardiol 101: 336–345.
https://doi.org/10.1007/s00395-006-0596-1
79. *Li Q, Xiang Y, Chen Y, Tang Y, Zhang Y* (2017) Ginsenoside Rg1 Protects Cardiomyocytes Against Hypoxia/Reoxygenation Injury via Activation of Nrf2/HO-1 Signaling and Inhibition of JNK. Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol 44: 21–37.
https://doi.org/10.1159/000484578
80. *Wagner C, Tillack D, Simonis G, Strasser RH, Weinbrenner C* (2010) Ischemic post-conditioning reduces infarct size of the in vivo rat heart: role of PI3-K, mTOR, GSK-3beta, and apoptosis. Mol Cell Biochem 339: 135–147.
https://doi.org/10.1007/s11010-009-0377-x
81. *Li W, Zhu L, Ruan Z-B, Wang M-X, Ren Y, Lu W* (2019) Nicotinamide protects chronic hypoxic myocardial cells through regulating mTOR pathway and inducing autophagy. Eur Rev Med Pharmacol Sci 23: 5503–5511.
https://doi.org/10.26355/eurrev_201906_18220
82. *Xie S, Liu W, Jin M, Li X, Wang T, Zeng S, Nie H, Zhao D* (2021) Calcineurin suppresses cardiomyocyte-protective autophagy under chronic intermittent hypoxia by downregulating the AMPK pathway. Preprints 2021060605.
83. *Wang J, Maimaitili Y, Zheng H, Yu J, Guo H, Ma H-P, Chen C-L* (2017) The influence of rapamycin on the early cardioprotective effect of hypoxic preconditioning on cardiomyocytes. Arch Med Sci 13: 947–955.
https://doi.org/10.5114/aoms.2016.59712
84. *Cohen M V, Downey JM* (2007) Cardioprotection: spotlight on PKG. Br J Pharmacol 152: 833–834.
https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707453
85. *Xie S, Deng Y, Pan Y-Y, Ren J, Jin M, Wang Y, Wang Z-H, Zhu D, Guo X-L, Yuan X, Shang J, Liu H-G* (2016) Chronic intermittent hypoxia induces cardiac hypertrophy by impairing autophagy through the adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase pathway. Arch Biochem Biophys 606: 41–52.
https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.07.006
86. *Gu S, Hua H, Guo X, Jia Z, Zhang Y, Maslov LN, Zhang X, Ma H* (2018) PGC-1α Participates in the Protective Effect of Chronic Intermittent Hypobaric Hypoxia on Cardiomyocytes. Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol 50: 1891–1902.
https://doi.org/10.1159/000494869
87. *Zhang H, Liu B, Li T, Zhu Y, Luo G, Jiang Y, Tang F, Jian Z, Xiao Y* (2018) AMPK activation serves a critical role in mitochondria quality control via modulating mitophagy in the heart under chronic hypoxia. Int J Mol Med 41: 69–76.
https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3213
88. *Waskova-Arnostova P, Elsnicova B, Kasparova D, Hornikova D, Kolar F, Novotny J, Zurmanova J* (2015) Cardioprotective adaptation of rats to intermittent hypobaric hypoxia is accompanied by the increased association of hexokinase with mitochondria. J Appl Physiol 119: 1487–1493.
https://doi.org/10.1152/japplphysiol.01035.2014
89. *Waskova-Arnostova P, Kasparova D, Elsnicova B, Novotny J, Neckar J, Kolar F, Zurmanova J* (2014) Chronic hypoxia enhances expression and activity of mitochondrial creatine kinase and hexokinase in the rat ventricular myocardium. Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol 33: 310–320.
https://doi.org/10.1159/000356671
90. *Nedvedova I, Kolar D, Elsnicova B, Hornikova D, Novotny J, Kalous M, Pravenec M, Neckar J, Kolar F, Zurmanova JM* (2018) Mitochondrial genome modulates myocardial Akt/Glut/HK salvage pathway in spontaneously hypertensive rats adapted to chronic hypoxia. Physiol Ge-

nomics 50: 532–541.
https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00040.2017
91. *Kolar D, Gresikova M, Waskova-Arnostova P, Elsnicova B, Kohutova J, Hornikova D, Vebr P, Neckar J, Blahova T, Kasparova D, Novotny J, Kolar F, Novakova O, Zurmanova JM* (2017) Adaptation to chronic continuous hypoxia potentiates Akt/HK2 anti-apoptotic pathway during brief myocardial ischemia/reperfusion insult. Mol Cell Biochem 432: 99–108.
https://doi.org/10.1007/s11010-017-3001-5
92. *Miura T, Miki T* (2009) GSK-3beta, a therapeutic target for cardiomyocyte protection. Circ J 73: 1184–1192.
https://doi.org/10.1253/circj.cj-09-0284
93. *Small BA, Lu Y, Hsu AK, Gross GJ, Gross ER* (2015) Morphine Reduces Myocardial Infarct Size via Heat Shock Protein 90 in Rodents. Biomed Res Int 2015: 129612.
https://doi.org/10.1155/2015/129612
94. *McCarthy J, Lochner A, Opie LH, Sack MN, Essop MF* (2011) PKCε promotes cardiac mitochondrial and metabolic adaptation to chronic hypobaric hypoxia by GSK3β inhibition. J Cell Physiol 226: 2457–2468.
https://doi.org/10.1002/jcp.22592
95. *Gross GJ, Peart JN* (2003) KATP channels and myocardial preconditioning: an update. Am J Physiol Heart Circ Physiol 285: H921-30.
https://doi.org/10.1152/ajpheart.00421.2003
96. *Grover GJ, Garlid KD* (2000) ATP-sensitive potassium channels: A review of their cardioprotective pharmacology. J Mol Cell Cardiol 32: 677–695.
https://doi.org/10.1006/jmcc.2000.1111
97. *Peart JN, Gross GJ* (2002) Sarcolemmal and mitochondrial K(ATP) channels and myocardial ischemic preconditioning. J Cell Mol Med 6: 453–464.
https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2002.tb00449.x
98. *Cohen M V, Downey JM* (2015) Signalling pathways and mechanisms of protection in pre- and postconditioning: historical perspective and lessons for the future. Br J Pharmacol 172: 1913–1932.
https://doi.org/10.1111/bph.12903
99. *Crawford RM, Jovanović S, Budas GR, Davies AM, Lad H, Wenger RH, Robertson KA, Roy DJ, Ranki HJ, Jovanović A* (2003) Chronic mild hypoxia protects heart-derived H9c2 cells against acute hypoxia/reoxygenation by regulating expression of the SUR2A subunit of the ATP-sensitive K+ channel. J Biol Chem 278: 31444–31455.
https://doi.org/10.1074/jbc.M303051200
100. *Kolár F, Neckár J, Ostádal B* (2005) MCC-134, a blocker of mitochondrial and opener of sarcolemmal ATP-sensitive K+ channels, abrogates cardioprotective effects of chronic hypoxia. Physiol Res 54: 467–471
101. *Нарыжная НВ, Некар Я, Маслов ЛН, Лишманов ЮБ, Колар Ф, Ласукова ТВ* (2009) Роль сарколеммальных и митохондриальных $K_{АТФ}$-каналов в реализации кардиопротекторного и антиаритмического эффектов разных режимов гипобарической адаптации. Рос физиол журн им ИМ Сеченова 95: 837–849.[*Naryzhnaya NV, Nackar Ya, Maslov LN, Lishmanov YuB, Kolar F, Lasukova TV* (2009) The role of sarcolemmal and mitochondrial K_{ATP}-channels in realization of the cardioprotection and antiarrhythmic effect of different regimens of hypobaric adaptation (2009) Rus J Physiol 95: 837–849. (In Russ)].
102. *Forkel J, Chen X, Wandinger S, Keser F, Duschin A, Schwanke U, Frede S, Massoudy P, Schulz R, Jakob H, Heusch G* (2004) Responses of chronically hypoxic rat hearts to ischemia: K_{ATP} channel blockade does not abolish increased RV tolerance to ischemia. Am J Physiol Heart Circ Physiol 286: H545–H551.
https://doi.org/10.1152/ajpheart.00022.2003

On the Significance of NO-Synthase, Reactive Oxygen Species, Kinases and K_{ATP}-Channels in the Development of the Infarct-Limiting Effect of Adaptation to Hypoxia

N. V. Naryzhnaya[a], *, L. N. Maslov[a], I. A. Derkachev[a], and F. Fu[b]

[a] *Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia*

[b] *Fourth Military Medical University (FMMU), Xi'an, China*

**e-mail: natalynar@yandex.ru*

It was shown that the cardioprotective effect of chronic hypoxia (CH) is associated with the activation of inducible nitric oxide synthase (iNOS). It was established that reactive oxygen species (ROS) are involved in the development of CIH-induced cardiac toler-

ance to I/R. It was demonstrated that the infarction-limiting effect of CH depends on mitochondrial ATP-sensitive potassium channel (mitoK_{ATP} channel) opening. It was established that the δ and ε isoforms of protein kinase C are involved in the cardioprotective effect of adaptation to hypoxia. It was detected that CH increases the expression of phosphorylated extracellular signal-regulated kinase (p-ERK1/2), Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII), phosphorylated p38 (p-p38), phosphorylated AMP-activated protein kinase (p-AMPK), and also hexokinase-1 (HK1) and hexokinase-2 (HK2). The presented data indicated that ERK1/2, mitogen-activated protein kinases (MEK1/2) are involved in the cardioprotective effect of adaptation to hypoxia. The role of atrial natriuretic peptide (ANP), erythropoietin, endothelin-1, phosphoinositide 3-kinases (PI3K), protein kinase G (PKG), JNK and p38 kinase in the protective effect of adaptation to hypoxia requires further research.

Keywords: heart, chronic hypoxia, kinases, NO synthase, K_{ATP} channels

EDN: PQYBLK
РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2022, том 108, № 4, с. 430–442

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

РОЛЬ L-АРГИНИН-NO-СИСТЕМЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ РАЗНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ ПАРЦИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ КИСЛОРОДА

© 2022 г. Н. В. Акулич[1], *, В. В. Зинчук[2]

[1]*Национальная антидопинговая лаборатория, Лесной, Беларусь*
[2]*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь*
**E-mail: akulich_n@antidoping.by*

Поступила в редакцию 24.12.2021 г.
После доработки 26.01.2022 г.
Принята к публикации 09.02.2022 г.

Проведены исследования по оценке L-аргинин-NO-системы эритроцитов при различных значениях парциального давления кислорода, которые моделировали в перчаточном боксе, замещая кислород азотом. Определение внутриклеточного NO проводили методом проточной цитометрии и спектрофлуориметрии с использованием диацетильного производного 4-амино-5-метиламино-2',7'-дифторфлуоресцеина. Площадь поверхности эритроцитов измеряли методом морфоденситометрии. Анализ кинетики внутриклеточного содержания NO в эритроцитах методом проточной цитометрии выявил феномен спонтанного роста флуоресценции NO-специфического внутриклеточного зонда, который блокировался предварительным введением ингибитора фермента NO-синтазы. Парциальное давление кислорода и экспозиция воздействия экспериментальных газовых смесей влияет на внутриклеточное содержание NO эритроцитов. Сродство гемоглобина к кислороду в условиях гипоксии зависит от активности фермента NO-синтазы, но не молсидомина. В функционировании эритроцитов при гипоксии принимает участие L-аргинин-NO-системы эритроцитов, изменений площади диффузионной поверхности красных кровяных телец не выявлено; применение молсидомина вызывало рост площади поверхности эритроцитов.

Ключевые слова: гипоксия, монооксид азота, проточная цитометрия, эритроциты, молсидомин, L-NAME

DOI: 10.31857/S0869813922040021

Гипоксия представляет собой не только универсальный патологический процесс, возникающий в результате недостаточного снабжения тканей кислородом или нарушения использования его тканями, но и является состоянием, сопровождающим процесс адаптации к условиям высокогорья, а также характерна для спортсменов при тренировочных нагрузках, т.е. является предметом изучения физиологии. Более того, признаки гипоксии отмечаются у здоровых людей в связи со специфическими условиями их профессиональной деятельности (шахтеры, летчики, пожарники и др.).

В большинстве работ, посвященных оценке влияния гипоксии, используются ее экспериментальные модели на уровне целого организма. Однако для изучения клеточных и/или молекулярных механизмов возникающих изменений необходимо проведение исследований на уровне отдельных клеток. В качестве оптимального объекта для изучения эффектов гипоксии *in vitro* могут быть выбраны эритроциты

периферической крови млекопитающих, которые являются терминально дифференцированными клетками, основная функция которых – транспорт газов [1].

В изучении механизмов адаптации к гипоксическим состояниям в последнее время активно исследуется роль газотрансмиттера монооксида азота (NO), который обладает рядом уникальных физико-химических свойств. Так, в результате взаимодействия NO и гемоглобина происходит образование его различных форм, которые играют роль аллостерического регулятора функциональной активности гемопротеина [2]. Локализация NO-синтазы в эритроцитах остается предметом изучения до настоящего времени. Так, иммунологическими методами в эритроцитах человека был обнаружен белок, содержащий эпитопы NO-синтазы [3]. Однако имеющиеся данные [4] свидетельствуют об отсутствии изменений уровня нитритов и нитратов в цитозоле красных кровяных телец после добавления L-[$^{15}N_2$]-Arg. С другой стороны, в более поздней работе [5] показано, что NO-синтаза эндотелиоцитов и красных кровяных телец обеспечивают поддержание постоянства артериального давления. Как известно, в механизмах адаптации к изменяющимся условиям внутренней и внешней среды, ведущим к развитию гипоксии, важная роль принадлежит кислородтранспортной функции крови и, в частности, сродству гемоглобина к кислороду. Представляется важным выяснить роль L-аргинин-NO-системы эритроцитов в адаптации к гипоксии. В частности, требуется уточнить динамику образования как NO, так и связанных с ним различных типов гемоглобина, влияющих на сродство гемоглобина к кислороду. Исходя их этого, целью работы явилось изучение функционирования L-аргинин-NO-системы эритроцитов при различных значениях парциального давления кислорода.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводилось на базе Учреждения здравоохранения “Национальная антидопинговая лаборатория”. Участники исследования были подробно проинформированы о его целях и методах, ознакомлены с процедурами, рисками и после этого подписали информированное согласие на участие в нем. Исследование одобрено комитетом по этике Учреждения здравоохранения “Национальная антидопинговая лаборатория”. Забор крови добровольцев производился с использованием вакуумных систем с ЭДТА K_2. Затем готовили образцы крови с гематокритом 5%, разводя цельную кровь физиологическим раствором (Sigma-Aldrich, pH 7.3) с сывороточным альбумином. Для создания различных значений содержания кислорода в атмосфере (1, 4, 7 и 12% O_2) использовали перчаточный бокс, подключенный к генератору азота и баллону с углекислым газом (концентрация CO_2 была постоянной и составляла 4.7–5.3%), в котором проводили исследования *in vitro*. Дополнительно планшетный спектрофлуориметр был укомплектован модулем поддержания концентрации газов (BioTek, Gas Controller), который в режиме реального времени автоматически поддерживал заданные значения газов (O_2 и CO_2).

Для оценки L-аргинин-NO-системы эритроцитов в суспензию клеток вносили молсидомин (IPOCHEM) в количестве 2 мМ – 1-я группа (n = 16) и неселективный ингибитор фермента NO-синтазы L-NAME в количестве 4 мМ (Sigma-Aldrich) – 2-я группа (n = 17). Контролем служила кровь без добавления донора NO или ингибитора фермента NO-синтазы (n = 16).

Для морфоденситометрического анализа фиксированных и окрашенных эозином и метиленовым синим препаратов создавали архив изображений не менее 400 эритроцитов с разных участков мазка. В исследовании применяли микроскоп Olympus BX-53 (Olympus) и монохроматический фильтр с длиной волны 540 нм. Микроскопический анализ изображения, применяемый в исследовании, позволяет количественно оценить денситометрические параметры красных кровяных те-

лец. Для оценки площади поверхности эритроцитов применялись алгоритмы программного обеспечения “Диаморф-ЦИТО” (Диаморф).

Определения внутриклеточного NO проводили методом проточной цитометрии (FACS ARIA) и спектрофлуориметрии (Biotek, Synergy H1). Инкубирование проб осуществляли при температуре 37°C и постоянном автоматическом перемешивании.

Для гейтирования эритроцитов пробы крови окрашивались моноклональными антителами к линейному маркеру эритроцитов (гликофорину A, CD 235 a), для оценки NO использовали диацетильное производное 4-амино-5-метиламино-2',7'-дифторфлуоресцеина (DAF-FM DA) (Molecular Probes). Уровень внутриклеточного содержания NO коррелирует с флуоресценцией DAF-FM [6].

Расчет фракции оксигемоглобина суспензии эритроцитов производили по формуле [7]:

$$[HbO_2] = 29.8 \times A577 - 9.8 \times A630 - 22.2 \times A560,$$

где A577, A630 и A560 – значения поглощения при соответствующих длинах волн.

Проверку правильности произведенных измерений и подсчетов осуществляли при паралльном измерении спектров поглощения и оценки фракций гемоглобина на газоанализаторе ABL 800 Flex (Radiometer).

Для подготовки проб при проведении исследований на проточном цитометре использовали фосфатный буфер FACS Flow (BD Bioscience). Анализировали в каждой пробе не менее 40000 клеток. При проведении кинетических исследований внутриклеточного содержания NO оценивалось более 400000 эритроцитов. В одной из серий исследования в пробирки с пробой перед проведением анализа методом проточной цитометрии ($n = 12$) вносили 20 мкМ раствора H_2O_2.

Полученные данные были проанализированы при помощи корреляционного и многофакторного дисперсионного анализа (факторами являлись концентрация кислорода и время инкубации проб крови) с применением программы для персонального компьютера Statistica 10.0. Полученные значения представлены в виде среднего значения (Mean) и среднеквадратичного отклонения (SD). Достоверность дисперсионного анализа множественных сравнений оценивалась с использованием критерия Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе были проведены кинетические исследования внутриклеточного содержания NO в условиях 20.9%-ного кислорода (атмосфера лабораторного помещения).

В группе контроля (рис. 1) отмечен незначительный прирост уровня флуоресценции DAF-FM к 30-й минуте наблюдения ($p < 0.05$). Применение L-NAME не оказывало влияния на уровень NO клеток: флуоресценция DAF-FM на протяжении всего эксперимента не изменялась. Внесение 20 мкМ раствора H_2O_2 сопровождалось незначительным подъемом интенсивности флуоресценции к 14-й минуте наблюдения; к 30-й минуте значение интенсивности DAF-FM практически не отличалось от контрольных значений при использовании планшетного спектрофлуориметра. По данным проточной цитометрии прирост флуоресценции был более значим.

Молсидомин вызывал быстрый рост внутриклеточной флуоресценции DAF-FM, которая достигала максимума к 23-й мин наблюдения, затем до 30-й мин оставалась на этом уровне. Рост флуоресценции (рис. 2) при аппликации молсидомина (в большей степени) и 20 мкМ раствора H_2O_2 (но не в других условиях эксперимента) сопровождался увеличением значения малоуглового рассеяния света, что коррелирует с размерами цитометрических объектов (эритроцитов) [8].

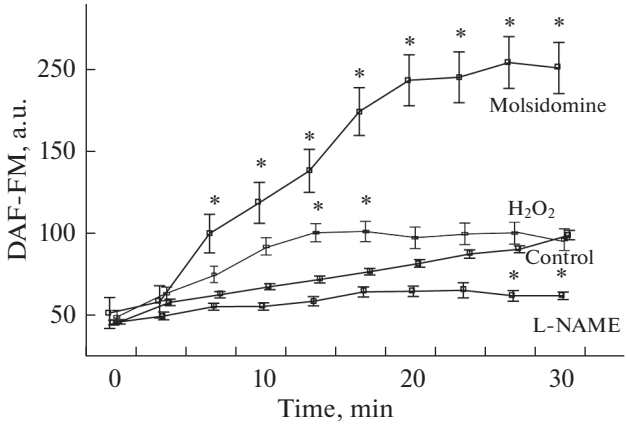


Рис. 1. Кинетика флуоресценции DAF-FM при аппликации молсидомина и L-NAME к суспензии эритроцитов (Mean ± *SD*). * – наличие достоверных различий по отношению к контролю ($p \leq 0.05$, Two-way ANOVA).

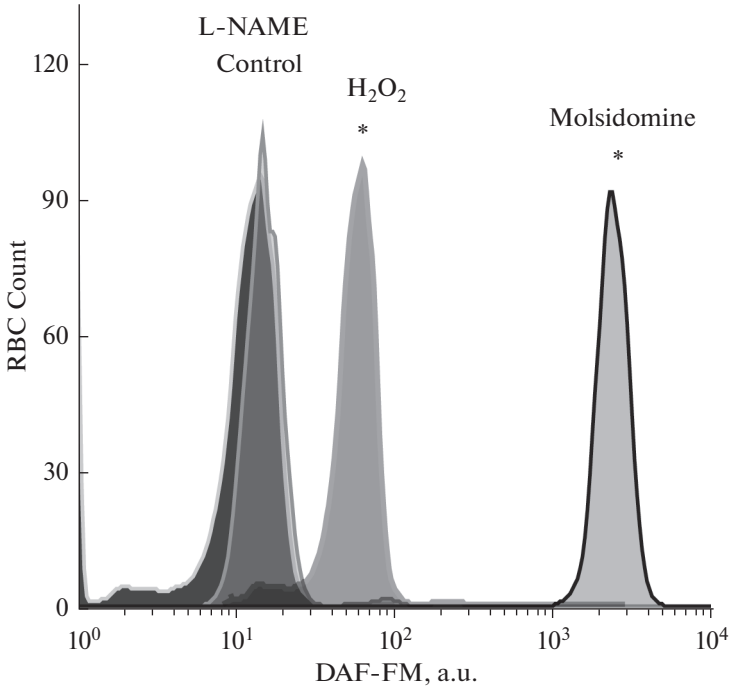


Рис. 2. Интенсивность флуоресценции DAF-FM на 30-й мин наблюдения кинетических исследований при аппликации молсидомина, H_2O_2 и L-NAME к суспензии эритроцитов.

* – наличие достоверных различий по отношению к контролю ($p \leq 0.05$, Two-way ANOVA).

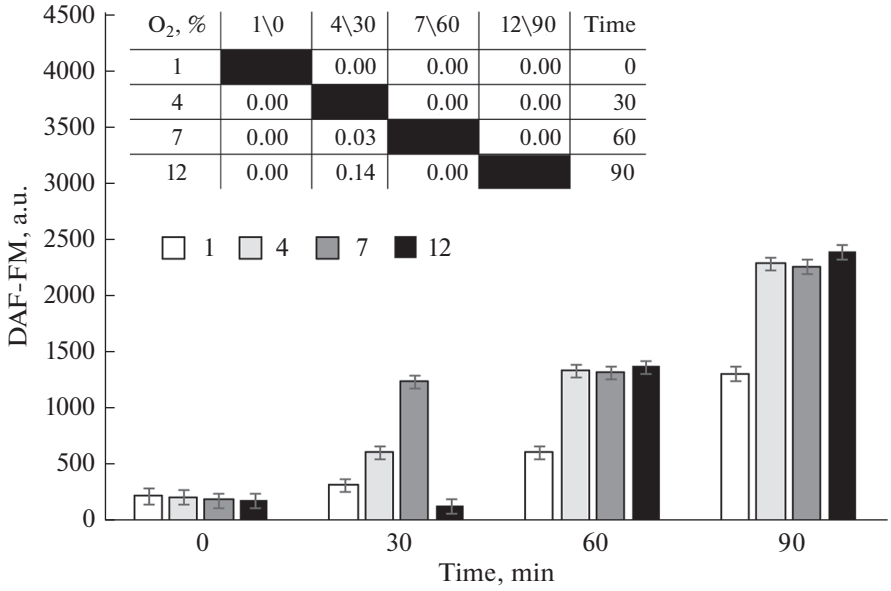


Рис. 3. Интенсивность флуоресценции DAF-FM эритроцитов человека при различном содержании кислорода (Mean ± *SD*) и парные сравнения групп, различающихся концентрацией кислорода (1, 4, 7 и 12%) и временем инкубации (0, 30, 60 и 90 мин). 1-, 4-, 7- и 12%-ное содержание кислорода в модельной газовой смеси.

Анализ уровня NO суспензии эритроцитов, измеренный по интенсивности флуоресценции DAF-FM, без внесения доноров и ингибиторов NO (группа контроля) показал, что величина NO зависит как от содержания кислорода, так и от времени инкубации (рис. 3). Так, зафиксирован рост содержания NO, начиная с 30 мин инкубации. Концентрация кислорода по-разному влияла на содержание газотрансмиттера. В частности, инкубация крови в условиях 12%-ного содержания кислорода в перчаточном боксе сопровождалась достоверным ростом NO через 60 и 90 мин наблюдения. 30-минутная инкубация не вызывала изменений флуоресценции DAF-FM.

Анализ спектров поглощения крови показал (рис. 4), что при этом уровне содержания кислорода в атмосфере бокса (12%) только 60- и 90-минутная инкубация приводила к изменению фракций гемоглобина. Для HbO_2 выросла с 32.4 ± 1.2 до 40.9 ± 1.6 и 42.2 ± 2.2% соответственно.

В группе контроля инкубация крови в условиях 7%-ного содержания кислорода в атмосфере привела практически к 10-кратному (с 201.4 ± 24.1 до 1235.6 ± 113.6 и 1323.0 ± 116.4 о. е.) повышению интенсивности флуоресценции DAF-FM эритроцитов через 30 и 60 мин и 20-кратному (2261.12 ± 197.0) – через 90 мин инкубации соответственно. Зарегистрированы изменения спектра поглощения крови, отражающие долю оксигемоглобина крови, на 90-й мин инкубации.

При 4%-ном содержании кислорода в эритроцитах группы контроля также зарегистрирован статистически значимый прирост содержания NO в клетках. Интенсивность DAF-FM эритроцитов на 30-й, 60-й и 90-й мин составляла 612.3 ± 34.4, 1330.3 ± 53.6 и 2288.8 ± 110.9 о. е. соответственно. На 90-й мин наблюдения выявлены изменения доли оксигемоглобина крови при 4%-ном содержании кислорода.

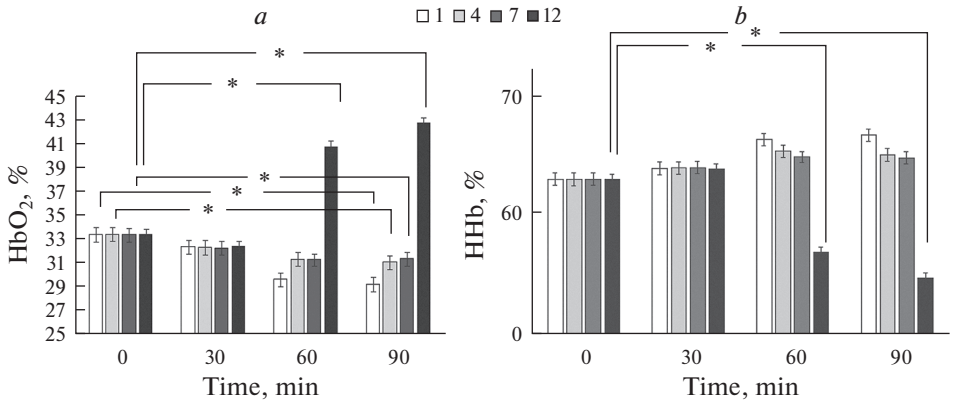


Рис. 4. Фракция HbO_2% (*a*) и HHb% (*b*) эритроцитов человека при различном содержании кислорода (Mean ± *SD*). * – наличие достоверных различий по отношению к контролю ($p \leq 0.05$, Two-way ANOVA). 1-, 4-, 7- и 12%-ное содержание кислорода в модельной газовой смеси.

Наименьшее содержание O_2 в газовой среде (1%) характеризовалось ростом ($p < 0.05$) NO эритроцитов (до 1309.8 ± 113.7) только через 90 мин наблюдения. Максимально низкое значение кислорода в исследовании вызывало снижение HbO_2, рост дезоксигемоглобина в эритроцитах. Доля оксигемоглобина при 1%-ном содержании O_2 в атмосфере бокса постепенно снижалась с 32.3 ± 0.5% до 29.2 ± 0.2% к 90-й мин наблюдения.

Донор NO молсидомин вызывал рост флуоресценции DAF-FM в зависимости от всех выбранных нами концентраций кислорода газовой среды (рис. 5). Следует отметить, что наибольший рост флуоресценции зонда отмечался при 1- и 7%-ных концентрациях O_2 на 90-й мин наблюдения, а наименьший – при 4%-ном концентрации кислорода в газовой смеси.

К особенностям, выявленным в ходе наблюдения, следует отнести прямо пропорциональную зависимость флуоресценции DAF-FM от времени наблюдения, а также нелинейный характер зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации кислорода в газовой смеси.

Анализ спектров поглощения крови показал (рис. 6), что только при 12%-ном содержании кислорода в атмосфере доля HbO_2 вырастала до 42.9 ± 1.3 и 43.8 ± 0.6% соответственно к 60-й и 90-й мин инкубации. Минимальные содержания кислорода газовой смеси (1 и 4%) сопровождались снижением доли оксигемоглобина до 27.6 и 28.1% соответственно. Фракция дезоксигемоглобина при 1%-ном содержании кислорода возрастала на всем периоде наблюдения.

Добавление ингибитора NO L-NAME в пробы крови приводило к росту флуоресценции DAF-FM эритроцитов, которая в большей степени зависела от времени наблюдения, чем от инкубации (рис. 7). В абсолютных значениях интенсивность флуоресценции зонда не превышала значения, которые были зарегистрированы в контрольной группе за исключением проб, находившихся в условиях 1%-ного содержания кислорода в атмосфере. В последнем случае содержание NO составляло 736.5 ± 54.1, 1260.5 ± 129.3 и 1830.3 ± 92.8 о. е. на 30-, 60- и 90-й мин соответственно. Сопоставимые значения флуоресценции отмечались при моделировании гипоксии на уровне 7% кислорода газовой среды.

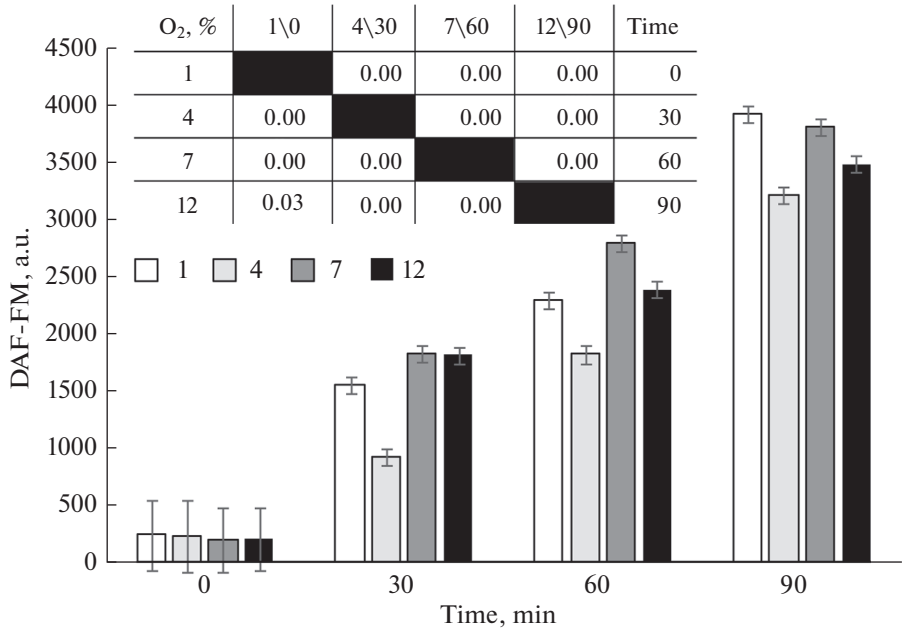


Рис. 5. Интенсивность флуоресценции DAF-FM эритроцитов человека при аппликации молсидомина (Mean ± *SD*) и парные сравнения групп, различающихся концентрацией кислорода (1, 4, 7 и 12%) и временем инкубации (0, 30, 60 и 90 мин). 1-, 4-, 7- и 12%-ное содержание кислорода в модельной газовой смеси.

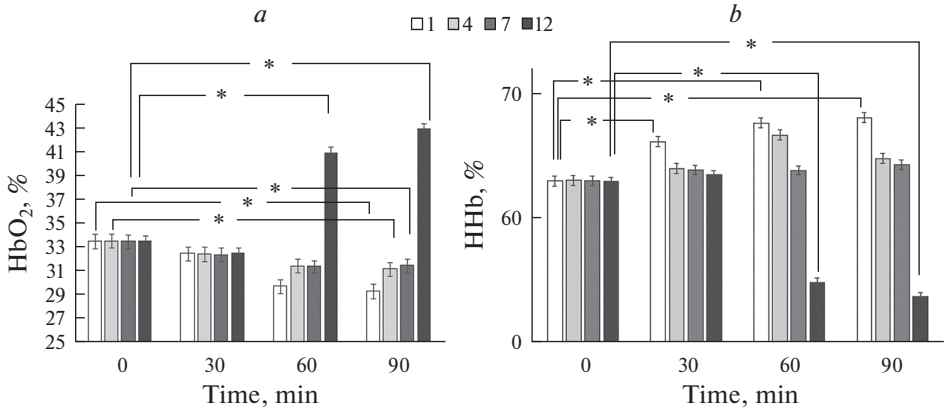
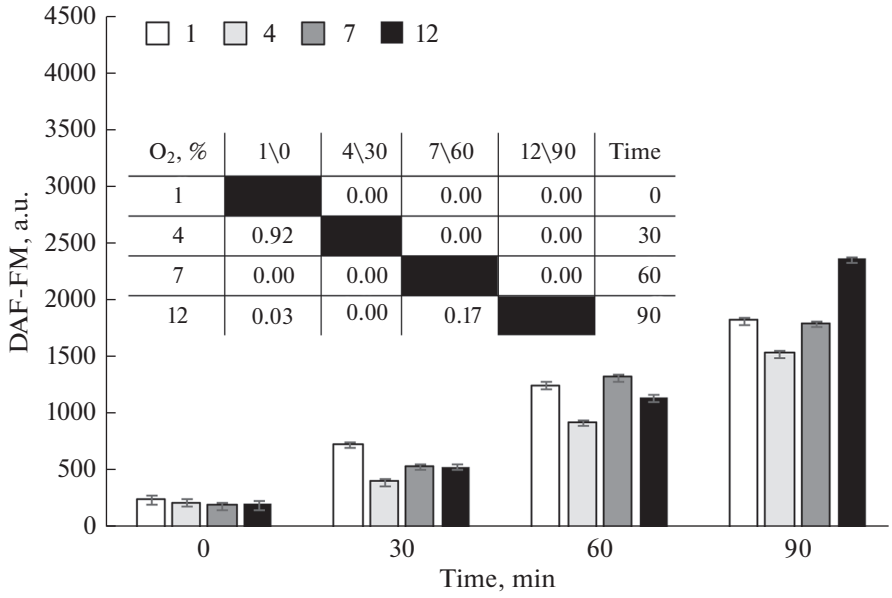


Рис. 6. Фракции HbO_2% (*a*) и HHb% (*b*) эритроцитов человека при аппликации молсидомина (Mean ± *SD*). * – наличие достоверных различий по отношению к контролю ($p \leq 0.05$, Two-way ANOVA). 1-, 4-, 7- и 12%-ное содержание кислорода в модельной газовой смеси.

Спектральный анализ крови показал, что самые выраженные изменения спектров поглощения отмечались на 90-й мин наблюдения при блокировании фермента NO-синтазы эритроцитов (рис. 8). Так, при 7%-ной концентрации кислорода доля HbO_2 снизилась до 30.3 ± 0.4%, а 12%-ное содержание кислорода приводило к росту фракции оксигемоглобина до 43.2 ± 0.7%. Следует отметить, что наибольшее



O_2, %	1\0	4\30	7\60	12\90	Time
1		0.00	0.00	0.00	0
4	0.92		0.00	0.00	30
7	0.00	0.00		0.00	60
12	0.03	0.00	0.17		90

Рис. 7. Интенсивность флуоресценции DAF-FM эритроцитов человека при аппликации L-NAME (Mean ± *SD*) и парные сравнения групп, различающихся концентрацией кислорода (1, 4, 7 и 12%) и временем инкубации (0, 30, 60 и 90 мин). 1-, 4-, 7- и 12%-ное содержание кислорода в модельной газовой смеси.

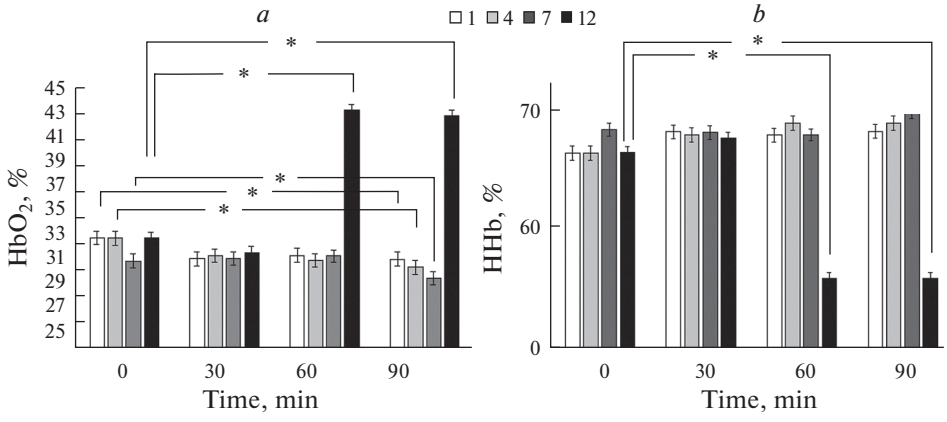


Рис. 8. Фракция HbO_2% (*a*) и HHb% (*b*) эритроцитов человека при аппликации L-NAME (Mean ± *SD*). * – наличие достоверных различий по отношению к контролю ($p \leq 0.05$, Two-way ANOVA). 1-, 4-, 7- и 12%-ное содержание кислорода в модельной газовой смеси.

значение оксигемоглобина было характерно для 60-минутной инкубации при наибольшем уровне кислорода модельной газовой смеси. Рост фракции оксигемоглобина сопровождался пропорциональным снижением фракции дезоксигемоглобина. В условиях 1%-ного содержания кислорода в атмосфере выявлены отличия в доле оксигемоглобина при аппликации L-NAME на 90-й мин наблюдения.

Таблица 1. Площадь поверхности эритроцитов при различном содержании кислорода (Mean ± *SD*)

Группы	Время инкубации, мин	Содержание кислорода (%)			
		1	4	7	12
Контрольная группа	0	134.5 ± 12.2			
	30	130.3 ± 22.4	134.9 ± 16.1	131.3 ± 35.0	133.8 ± 15.1
	60	134.7 ± 17.4	136.5 ± 11.4	131.3 ± 21.0	134.1 ± 19.4
	90	138.0 ± 15.3	135.9 ± 15.5	136.8 ± 18.5	136.9 ± 16.1
Молсидомин	0	134.5±12.2			
	30	154.7 ± 14.5*	163.2 ± 15.1*	145.9 ± 12.3*	146.3 ± 12.5*
	60	145.2 ± 11.9*	151.3 ± 17.8*	154.3 ± 16.0*	150.9 ± 12.8*
	90	142.0 ± 8.4*	146.0 ± 10.3*	140.8 ± 15.8	144.1 ± 14.6*
L-NAME	0	134.5 ± 12.2			
	30	136.3 ± 21.4	138.3 ± 11.4	133.3 ± 11.5	129.6 ± 14.9
	60	141.3 ± 29.7	137.7 ± 14.0	136.3 ± 15.6	132.8 ± 11.5
	90	128.3 ± 17.6	139.0 ± 12.3	129.3 ± 17.4	134.6 ± 17.0

* – наличие достоверных различий по отношению к контролю ($p \leq 0.05$, Two-way ANOVA).

Непараметрический корреляционный анализ выявил наличие слабой отрицательной связи (–0.24, $p < 0.05$) между внутриклеточным содержанием NO в эритроцитах и фракцией оксигемоглобина цельной крови как в группе контроля, так и при применении доноров NO и ингибиторов NO-синтазы.

Площадь поверхности эритроцитов в условиях нормоксии (контроль по воздействию) составляла 134.5 ± 12.2 мкм^2. Воздействие гипоксии практически не оказывало влияния на площадь диффузионной поверхности эритроцитов: все режимы гипоксии не сопровождались изменениями регистрируемых параметров поверхности красных кровяных телец (табл. 1).

Инкубирование суспензии эритроцитов с донором NO в условиях гипоксии сопровождалось ростом площади поверхности клеток при всех применяемых в исследовании концентрациях кислорода на протяжении всего периода наблюдения. Следует отметить, что для этого соединения типичным является быстрая реакция клеток на воздействие – самые выраженные реакции зарегистрированы спустя 30 мин после аппликации молсидомина. К окончанию периода наблюдения происходили процессы восстановления формы клеток, поскольку регистрировалось снижение площади поверхности эритроцитов после достижения ее максимума для каждой экспериментально создаваемой концентрации кислорода. Исходных значений площади поверхности клеток после применения донора NO достигнуто не было.

Аппликация L-NAME в условиях гипоксии характеризовалась ростом вариабельности площади поверхности клеток без изменений средних значений исследуемых параметров ($p > 0.05$). Необходимо отметить тенденцию к снижению площади поверхности эритроцитов на 90-й мин наблюдения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Способность эритроцитов реагировать на изменение внутренней среды является важнейшим свойством красных кровяных телец. В свою очередь, на эту функцию способен оказывать влияние газотрансмиттер NO [9]. Реакции гемоглобина с NO будут различаться в зависимости от значений парциального напряжения кислорода [10], а образование, депонирование и элиминация NO-производных гемоглобина будут определять кислородтранспортную функцию крови [11].

В условиях нормоксии *in vitro* при кинетических исследованиях внутриклеточного содержания NO методом проточной цитометрии выявлен феномен спонтанного роста флуоресценции внутриклеточного зонда, который блокировался предварительным введением ингибитора фермента NO-синтазы. Такой характер изменений указывает на фоновую активность NO-синтезирующих ферментов в эритроцитах периферической крови, накоплении NO-производных гемоглобина в красных кровяных тельцах в условиях нормоксии. Последний вывод подтверждается значительным ростом флуоресценции внутриклеточного зонда при использовании молсидомина в условиях нормоксии *in vitro*.

Оценка флуоресценции DAF-FM эритроцитов в условиях гипоксии, проведенная на планшетном спектрофлуориметре, выявила зависимость флуоресценции DAF-FM и от содержания кислорода, и от времени инкубации. Последний фактор, согласно проведенному многофакторному дисперсионному анализу, вносил больший вклад в рост внутриклеточного содержания NO. Наиболее значительное аккумулирование NO в клетке в условиях 7- и 12%-ного содержания кислорода отражает особенности функционирования (возможно, способность к адаптации) L-аргинин-NO-системы эритроцитов. В работе [12] на основе многолетних исследований разработана концепция цикла оксида азота: L-аргинин $\rightarrow$ NO $\rightarrow$ NO_2^- / NO_3^-, в пользу которой свидетельствуют данные об NO-синтазной и нитритредуктазной активности гемсодержащих белков млекопитающих. При этом, при участии кислорода и его активированных форм NO, являясь короткоживущим соединением, может превращаться в нитриты и нитраты. При этом как эндогенные, так и экзогенные нитриты и нитраты в свою очередь могут быть источником NO, а ионы NO_2 восстанавливаются до NO при участии гемсодержащих белков, находящихся в дезоксиформе.

Концентрация кислорода выше 7%, используемая в исследовании, вызывала рост фракции оксигемоглобина. Вероятно, данные условия являются оптимальными для NO-синтезирующих ферментов эритроцитов. При моделировании экстремальных условий (1% кислорода в атмосфере) к 90-й мин наблюдения также регистрировался рост внутриклеточного содержания NO эритроцитов. При этом было выявлено снижение фракции оксигемоглобина на 10%. Тот факт, что увеличение внутриклеточной концентрации NO может происходить как при росте, так и при снижении фракции HbO_2 в эритроцитах, может указывать на доминирование внутриклеточных механизмов образования и утилизации NO над кислородтранспортной функцией гемоглобина эритроцита. Относительную независимость этих процессов подтверждает выявленная нами слабая корреляционная связь между внутриклеточным содержанием NO в эритроцитах и фракцией оксигемоглобина цельной крови.

Аппликация донора NO при изучении функционирования L-аргинин-NO-системы эритроцитов в условиях различного парциального давления кислорода показала, что несмотря на значительный рост внутриклеточного NO (образование и депонирование NO-производных гемоглобина) и при 1%, и при 12% содержании кислорода в модельных газовых смесях при низком значении кислорода регистрировалось снижение фракции HbO_2, а при 12% – значительный ее рост. Следова-

тельно, молсидомин не оказывает влияние на сродство гемоглобина к кислороду в условиях гипоксии, а характер образования NO-производных гемоглобина при его введении определяется парциальным напряжением кислорода плазмы крови.

В отличие от молсидомина, введение неселективного ингибитора фермента NO-синтазы L-NAME оказало влияние на реакцию эритроцитов на гипоксию, особенно на условия, близкие к аноксии. Фракция оксигемоглобина при меньших значениях кислорода в модельных смесях (1 и 4%) была больше, чем при 7%-ном содержании кислорода в атмосфере перчаточного бокса. Выявленный феномен, вероятно, связан как с высокой активностью NO-синтазной системы эритроцитов при 7%-ном содержания кислорода, так и с участием в этих процессах фермента NO-синтазы.

В кровотоке эритроциты находятся в условиях с различными уровнями кислорода, который может достигать 10–13% O_2 [13] в артериях, альвеолах легких и печени, 3–5% O_2 в венозной крови, 0.5–7% O_2 в костном мозге и головном мозге и до 1% O_2 в хрящевой ткани [14]. Адаптация к гипоксии [15] является кислородзависимой, обеспечивается сенсорной и волюморецепторной функцией гемоглобина [16]. Наши исследования методом световой микроскопии показали, что функционирования L-аргинин-NO-системы эритроцитов в условиях низких значений парциального давления кислорода *in vitro* не включает в себя морфологических изменений клеток. Значимые изменения площади поверхности красных кровяных телец происходили только при аппликации молсидомина.

На основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Анализ кинетики внутриклеточного содержания NO в эритроцитах методом проточной цитометрии выявил феномен спонтанного роста флуоресценции NO-специфического внутриклеточного зонда, который блокировался предварительным введением ингибитора фермента NO-синтазы.

2. Парциальное давление кислорода и экспозиция воздействия гипо-/гипероксических экспериментальных газовых смесей влияет на внутриклеточное содержание NO эритроцитов: 12%-ное содержание кислорода и 90-минутная экспозиция вызывала наибольший рост внутриклеточного содержания NO. Рост NO в эритроцитах отмечался и при продолжительной (90 мин) гипоксии с уровнем кислорода близким к аноксии (1%).

3. Сродство гемоглобина к кислороду в условиях гипоксии зависит от активности фермента NO-синтазы, но не молсидомина. NO-синтазная система красных кровяных телец при гипоксии сохраняет свою активность.

4. Аппликация молсидомина на фоне применения гипо-/гипероксических экспериментальных газовых смесей сопровождалось ростом площади поверхности эритроцитов, введение ингибитора фермента NO-синтазы в этих экспериментальных условиях изменений площади диффузионной поверхности красных кровяных телец не вызывало.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнялась в рамках программы ГПНИ 4 “Трансляционная медицина”, Подпрограмма 4.1 “Экспериментальная медицина”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Н.В.А. и В.В.З.), сбор данных (Н.В.А.), обработка данных (Н.В.А.), написание и редактирование манускрипта (Н.В.А. и В.В.З.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mikhael MR, Roshan T, Soe-Lin S, Apte S, Ponka P* (2013) Nitrogen monoxide inhibits haem synthesis in mouse reticulocytes. Biochem J 451: 61–67. https://doi.org/10.1042/BJ20121649
2. *Buehler PW, Abdu IA* (2007) Oxidation of hemoglobin: mechanisms of control in vitro and *in vivo*. Transfus Alternat in Transfus Med 9: 204–212. https://doi.org/10.1111/j.1778-428X.2007.00081.x
3. *Kleinbongard P, Schulz R, Rassaf T, Lauer T, Dejam A, Jax T, Kumara I, Gharini P, Kabanova S, Ozüyaman B, Schnürch HG, Gödecke A, Weber AA, Robenek M, Robenek H, Bloch W, Rösen P, Kelm M* (2006) Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase. Blood 107: 2943–2951. https://doi.org/10.1182/blood-2005-10-3992
4. *Böhmer A, Beckmann B, Sandmann J, Tsikas D* (2012) Doubts concerning functional endothelial nitric oxide synthase in human erythrocytes. Blood 119: 1322–1323. https://doi.org/10.1182/blood-2011-11-393124
5. *Leo F, Suvorava T, Heuser SK, Li J, LoBue A, Barbarino F, Piragine E, Schneckmann R, Hutzler B, Good ME, Fernandez BO, Vornholz L, Rogers S, Doctor A, Grandoch M, Stegbauer J, Weitzberg E, Feelisch M, Lundberg JO, Isakson BE, Kelm M, Cortese-Krott MM* (2021) Red Blood Cell and Endothelial eNOS Independently Regulate Circulating Nitric Oxide Metabolites and Blood Pressure. Circulation 14: 870–889. https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.049606
6. *Li N, Sul JY, Haydon PG* (2003) A calcium-induced calcium influx factor, nitric oxide, modulates the refilling of calcium stores in astrocytes. J Neurosci 23: 10302–10310. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-32-10302.2003
7. *Faber DJ, Aalders MC, Mik EG, Hooper BA, van Gemert MJ, van Leeuwen TG* (2004) Oxygen saturation-dependent absorption and scattering of blood. Phys Rev Lett 93: 028102. https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.93.028102
8. *Briggs C* (2009) Quality counts: new parameters in blood cell counting. Int J Lab Hematol 31: 277–297. https://doi.org/10.1111/j.1751-553X.2009.01160.x
9. *Dybas J, Alcicek FC, Wajda A, Kaczmarska M, Zimna A, Bulat K, Blat A, Stepanenko T, Mohaissen T, Szczesny-Malysiak E, Perez-Guaita D, Wood BR, Marzec KM* (2022) Trends in biomedical analysis of red blood cells – Raman spectroscopy against other spectroscopic, microscopic and classical techniques. TrAC Trends Analyt Chem 146: 116481.
10. *Helms CC, Gladwin MT, Kim-Shapiro DB* (2018) Erythrocytes and Vascular Function: Oxygen and Nitric Oxide. Front Physiol 9: 125. https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00125
11. *Grygorczyk R, Orlov SN* (2017) Effects of Hypoxia on Erythrocyte Membrane Properties-Implications for Intravascular Hemolysis and Purinergic Control of Blood Flow. Front Physiol 8: 1110. https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01110
12. *Menshikova EB, Zenkov NK, Reutov VP* (2000) Nitric oxide and NO-synthases in mammals in different functional states. Biochemistry (Mosc) 65(4): 409–426. PMID: 10810177
13. *Hung SP, Ho JH, Shih Y-RV, Lo T, Lee OK* (2012) Hypoxia promotes proliferation and osteogenic differentiation potentials of human mesenchymal stem cells. J Orthop Res 30: 260–266. https://doi.org/10.1002/jor.21517
14. *Brennan MD, Rexius-Hall ML, Elgass LJ, Eddington DT* (2014) Oxygen control with microfluidics. Lab Chip 14: 4305–4318. https://doi.org/10.1039/c4lc00853g
15. *Zhao Y, Wang X, Noviana M, Hou M* (2018) Nitric oxide in red blood cell adaptation to hypoxia. Acta Biochim Biophys Sinica 50: 621–634. https://doi.org/10.1093/abbs/gmy055
16. *Barvitenko NN, Adragna NC, Weber RE* (2005) Erythrocyte signal transduction pathways, their oxygenation dependence and functional significance. Cell Physiol Biochem 15: 1–18. https://doi.org/10.1159/000083634

The Role of the L-Arginine-NO System of the Erythrocyte at Different Values of Oxygen Partial Pressure

N. V. Akulich[a], *, and V. V. Zinchuk[b]

[a] *National Anti-Doping Laboratory, Minsk, region Lyasny, Belarus*
[b] *Grodno State Medical University, Grodno, Belarus*
**e-mail: akulich_n@antidoping.by*

The L-arginine-NO system of erythrocytes at various values of the partial pressure of oxygen was investigated. Determination of intracellular NO was performed by flow cytometry and spectrofluorimetry using a diacetyl derivative of 4-amino-5-methylamino-2',7'-difluorofluorescein. The surface area of erythrocytes was measured by morphodensitometry. Flow cytometry revealed the phenomenon of spontaneous growth of fluorescence of a NO-specific intracellular probe, which was blocked by preliminary administration of an inhibitor of the enzyme NO-synthase. It was found that the partial pressure of oxygen and the exposure to the effects of experimental gas mixtures affect the intracellular content of nitrogen monoxide in erythrocytes. The affinity of hemoglobin for oxygen under hypoxic conditions depends on the activity of the enzyme NO synthase, but not molsidomine. The erythrocyte L-arginine-NO system participates in the activity of erythrocytes during hypoxia without changing the area of the diffusion surface of red blood cells, the use of molsidomine caused an increase in the surface area of erythrocytes.

Keywords: hypoxia, nitric oxide, flow cytometry, erythrocyte, molsidomine, L-NAME

EDN: EMGVEL
РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2022, том 108, № 4, с. 443–454

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ДИНАМИКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РИТМОВ ЭЭГ, ПРЕДШЕСТВУЮЩАЯ МОМЕНТУ ПРОБУЖДЕНИЯ, С ПОСЛЕДУЮЩИМ ВОССТАНОВЛЕНИЕМ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПОСЛЕ КРАТКОВРЕМЕННЫХ ЭПИЗОДОВ ЗАСЫПАНИЙ

© 2022 г. **И. А. Яковенко[1, *], Н. Е. Петренко[1], Е. А. Черемушкин[1], В. Б. Дорохов[1]**

[1]*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*
**E-mail: irinayakovenko@mail.ru*

Поступила в редакцию 11.01.2022 г.
После доработки 16.02.2022 г.
Принята к публикации 17.02.2022 г.

Исследование перехода от сна к бодрствованию, сопровождаемого восстановлением деятельности, дает возможность изучения процессов активации последовательных уровней сознания при пробуждении. Экспериментальной моделью для исследования восстановления деятельности при пробуждении служил непрерывно-дискретный психомоторный тест. Задачей исследования был анализ динамики взаимодействия ритмов ЭЭГ на 20-секундном отрезке, предшествующем моменту когнитивного пробуждения (появлению выраженного альфа-ритма с последующим восстановлением деятельности). Для анализа многоканальной ЭЭГ использовали вейвлет-преобразование на основании материнского вейвлета Морле. Амплитудное взаимодействие ритмов ЭЭГ (дельта, тета, альфа1, альфа2, бета, гамма) оценивалось с помощью коэффициента корреляции Кендалла. Показано, что процесс пробуждения является пролонгированным явлением со сложной динамикой взаимодействия ритмов ЭЭГ. Было выделено три блока связей ритмов ЭЭГ. В интервале 20–15 с до пробуждения преобладал блок связей альфа-ритма с бета- и гамма-ритмами, хотя присутствовали единичные связи дельта-тета, тета-альфа1 и бета-гамма. Следующий интервал (15–5 с) до пробуждения характеризовался присоединением к уже действующему блоку связей альфа-ритма блока связей тета-ритма с более быстрыми ритмами. А в интервале 5–0 с добавлялся третий блок, а именно связей дельта-ритма с тета- и альфа-ритмами.

Ключевые слова: когнитивное пробуждение, психомоторный тест, многоканальная ЭЭГ, вейвлет-преобразование, взаимодействие ритмов ЭЭГ

DOI: 10.31857/S0869813922040094

Проблема соотношения состояний сон–пробуждение–бодрствование остается актуальной и в настоящее время. В этой триаде состояние пробуждения является переходным, предшествующим состоянию спокойного бодрствования или же состоянию активности, если перед сном осуществлялась какая-либо деятельность. Почему интересно именно пробуждение? Если исходить из предположения, что во сне также есть сознание, то оно безусловно отличается от сознания в бодрствовании [1, 2]. Поэтому важно понимать, что происходит в период пробуждения, какие нейрофизиологические процессы способствуют выходу сознания на качественно иной уровень. Изучены два вида пробуждения: когнитивное и поведенческое, причем первое предшествует второму [3]. Состояние пробуждения сопровождается увеличением связей нейронных сетей как кортико-кортикальных, так и кортико-

таламических. Показано участие ретикулярной активирующей системы в процессе пробуждения путем объединения влияний из различных структур мозга, тем самым определяя общий уровень активности ЦНС. При пробуждении после ночного сна, в первые 10 мин, регистрируется увеличение мощности потенциалов в диапазоне 1–9 Гц и уменьшение в диапазоне 18–24 Гц. Низкочастотная активность преобладала в окципитальной области коры больших полушарий [4, 5]. Проводилось изучение спонтанных пробуждений и пробуждений, вызванных внешней стимуляцией, в опытах с ночным сном у больных эпилепсией. Установлено, что частотные характеристики ЭЭГ во время пробуждения отличаются как от состояния бодрствования, так и от сна. Электрическая активность таламуса вне зависимости от типа пробуждения остается одинаковой, и ее спектральный состав соответствует промежуточному состоянию между бодрствованием и сном. В течение NREM сна (Non-rapid eye movement sleep, медленноволновой сон), она характеризовались снижением всей частотной полосы, в то время как во время быстрого сна это снижение активности было ограничено полосами дельта-сигма. Паттерны кортикальной активности во время пробуждения были неоднородными; их многообразные спектральные композиции в основном связаны с такими факторами как стадия сна, зона коры и тип пробуждения (самопроизвольный или вызванный внешней стимуляцией) [4]. Исследование brain defoult networks показало, что функциональная связь между сетями мозга была сильно нарушена как через 5 мин после пробуждения ото сна, так и через 25 мин по сравнению с состоянием перед сном. Установлены значительные корреляции между мощностью дельта ЭЭГ и функциональной связью между сетями внимания по умолчанию и дорсальной сетью внимания [5]. Показано сокращение функциональной связности в сети DMN (default mode network – сеть пассивного режима работы мозга) у пациентов с легкими когнитивными нарушениями с ночными пробуждениями по сравнению с такими же пациентами, но с неповрежденным сном. Эти сокращения охватывают области мозга, которые играют решающую роль в процессах сна и памяти [6].

В настоящее время сохраняется интерес к проблеме взаимодействия ритмов ЭЭГ [7, 8], изучаемых как на здоровых людях при выполнении ими различных заданий и соответственно находящихся в разных функциональных состояниях, так и на больных. Известно фазово-амплитудное, фазово-фазовое и амплитудно-амплитудное взаимодействие ритмов ЭЭГ. Механизмы взаимодействия ритмов ЭЭГ по мнению разных авторов существенно различаются. Фазово-амплитудное взаимодействие ритмов отражает коммуникацию нейрональных сетей [9]. Фазово-фазовая связь проявляется в фазовом выравнивании между нейронными колебаниями, которое может отражать частотно-специфическую характеристику взаимодействия нейронов [10].В основе кросс-частотной фазовой синхронизации процессов лежит нейрональное взаимодействие или коммуникация нейронных популяций [11]. Rodriguez-Martinez с соавт. предполагают, что основой амплитудно-амплитудного взаимодействия ритмов является функциональное взаимодействие между генераторами ритмов [12]. Связь по амплитуде отражает временную комодуляцию амплитуды (или мощности) нейронных колебаний. Она является не только результатом взаимодействия нейронов, но также может регулировать эти взаимодействия путем временного выравнивания дистантных процессов. Амплитудная связь выражена в хорошо структурированных корковых сетях, которые соответствуют известным анатомическим и функциональным связям [10].

Кросс-частотное взаимодействие ритмов ЭЭГ может служить механизмом для передачи информации из крупных мозговых сетей в локальные, тем самым интегрируя функциональные системы [13].

В последнее время появился ряд работ по исследованию взаимодействия ритмов ЭЭГ во сне [14, 15]. На основании кросс-частотного взаимодействия ритмов ЭЭГ

пытались создавать классификаторы для автоматического стадирования сна [16, 17]. В работах на животных выявлен факт взаимодействия быстрых и медленных ритмов на 3-й стадии сна у приматов [18], также показано взаимодействие тета- и гамма-ритмов в парадоксальной стадии сна у мышей [19]. При исследовании взаимодействия ритмов на первой стадии сна показано отсутствие связей тета-ритма с другими ритмами и наличием связей ритмов альфа-бета1, альфа-бета2 и бета1-бета2 [20]. Однако анализ взаимодействия ритмов при пробуждении в литературе отсутствует.

Целью настоящего исследования являлось изучение процесса пробуждения, предшествующего психомоторному тесту. Задачей представленной работы – исследование амплитудно-амплитудного взаимодействия (cross-frequency coupling) ритмов ЭЭГ на стадии когнитивного пробуждения во время дневного сна, предшествующего осуществлению вышеуказанного теста.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Испытуемые

В эксперименте приняли участие 23 человека (16 женщин и 7 мужчин, возраст от 19 до 22 лет, все студенты, правши). Все испытуемые были ознакомлены с процедурой исследования и дали письменное согласие на участие в нем. Исследование соответствовало этическим нормам Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации “Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека” с поправками 2000 г. и “Правилами клинической практики в Российской Федерации”, утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Оценивали уровень дневной сонливости по опроснику KSS (Каролинская шкала сонливости).

Процедура исследования

Время эксперимента: с 13.00 до 16.00. Продолжительность – от 55 мин до 1 ч. Испытуемые располагались на кушетке в затемненной, звукоизолированной и проветриваемой камере. В помещении поддерживалась постоянная комфортная температура.

В эксперименте использовали непрерывно-дискретный психомоторный тест, разработанный В.Б. Дороховым [21]. Обследуемые должны были считать “про себя” от 1 до 10. Одновременно при каждом отсчете они должны нажимать на кнопку, зафиксированную на указательном пальце, большим пальцем правой руки. Далее они продолжали считать “про себя” от 1 до 10, но уже без нажатий. Чередование счета с нажатиями и без нажатий продолжалось до тех пор, пока испытуемые не засыпали или не спали до конца опыта. В случае засыпания и последующего спонтанного пробуждения они должны были немедленно возобновить выполнение психомоторного теста. В инструкции особо подчеркивалось, что при просыпании надо сначала выполнять счет с нажатием на кнопку и только потом без нажатия.

Регистрировали ЭЭГ с поверхности головы от 17 электродов, расположенных по схеме 10–20% (F3, F4, F7, F8, Fz, C3, C4, Cz, T3, T4, P3, P4, Pz,T5, T6, O1, O2). Отведение ЭЭГ монополярное, референтный электрод – объединенный ушной. Параллельно с ЭЭГ регистрировали электроокулограмму (ЭОГ), электромиограмму (ЭМГ) и механограмму нажатия на кнопку. Для регистрации нажатий использовали пневматическую кнопку, чувствительную к силе нажатий. Одновременно с регистрацией механограммы нажатия на кнопку регистрировали электромиограмму короткой мышцы, отводящей большой палец кисти правой руки (*musculus abductor pollicis brevis*). Регистрацию всех показателей проводили с помощью системы Neo-

cortex-Pro (“Neurobotics”, Россия). Частота дискретизации – 250 Гц. Полоса пропускания частот: 0.5–70 Гц. ЭЭГ регистрировали с помощью специального шлема с хлорсеребряными электродами, с сопротивлением, не превышающим 5 КОм.

Перед выполнением психомоторного теста в течение 5 мин записывали ЭЭГ испытуемого в состоянии спокойного бодрствования при закрытых глазах.

Анализ данных

Изучали 20-секундные отрезки ЭЭГ перед пробуждением.

Критерием самопроизвольного пробуждения служил момент возникновения альфа-ритма в большинстве отведений ЭЭГ с последующим возобновлением психомоторного теста. Этот критерий ЭЭГ активации во сне используется в ряде работ [4, 21]. Отметим, что появление выраженного альфа-ритма предшествовало началу нажатий на кнопку, причем данный промежуток варьировался от 1 до 8 с, в среднем составляя 3–4 с. Выбранный нами критерий соответствует критериям Американской ассоциации по нарушениям сна (ASDA). Пробуждения определяются как резкие сдвиги частоты ЭЭГ, возникающие после не менее 10 с стабильного сна и продолжительностью 3–15 с [22]. Всего для анализа выделили 65 отрезков ЭЭГ, при этом время сна (микросон) перед пробуждением варьировалось от 1.5 до 14 мин. Количество спонтанных пробуждений в анализируемой выборке у испытуемых варьировало от 1 до 8 пробуждений (в среднем 3.47 ± 0.58).

Оценка характеристик ЭЭГ в период перед пробуждением для соответствующих отрезков записи ЭЭГ осуществлялась с использованием непрерывного вейвлет-преобразования на основе “материнского” комплексного Morlet-вейвлета (Matlab 78.01, параметры для скриптов брали из [23]). По всем выделенным отрезкам ЭЭГ, записанным перед пробуждениями, строили карты распределения значений модуля коэффициента вейвлет-преобразования (КВП) в полосе 0.5–40 Гц с шагом 0.5 Гц и разрешением по времени 1 мс. Для каждого испытуемого КВП усредняли по числу его пробуждений в эксперименте.

Далее проводили усреднение КВП в частотных диапазонах дельта (0.5–3.5 Гц), тета (4–7.5 Гц), альфа-1 (8–10.5 Гц), альфа-2 (11–14.5 Гц), бета (15–19.5 Гц) и гамма (20–40 Гц). Полученные величины усредняли по времени: в целом по 20 с и по 4- и 5-секундным интервалам. Потом для каждого испытуемого по отдельности, для каждого из выделенных диапазонов ЭЭГ усредненные по времени значения КВП усреднялись вторично по всем регистрируемым отведениям. Таким образом, ЭЭГ каждого испытуемого для каждого из 4-х временны́х интервалов, выделенных перед пробуждением, описывалось 6-ю частотными характеристиками (по числу 6 избранных для анализа частотных диапазонов).

Мерой взаимодействия ритмов ЭЭГ выбирали коэффициент корреляции Кендалла (КК). Например, для определения силы взаимодействия дельта- и альфа-1-ритмов брали вычисленные показатели дельта и альфа-1 ЭЭГ для каждого испытуемого ($n = 23$) и между ними вычисляли КК. Эту операцию проводили для всех пар ритмов – как в целом по 20-секундному анализируемому временно́му отрезку, так и по каждому из 4- и 5-секундных интервалов, на которые этот отрезок был поделен.

На основании предположения, что оценки внутри и между субъектами измеряют сопоставимую конструкцию, с целью повышения статистической значимости оценок межсубъектные и внутрисубъектные корреляции объединили в одну общую генеральную выборку. При этом полагаем, что усреднение позволяет освободиться от индивидуальных особенностей испытуемых и выявить на их фоне общую связь ритмов ЭЭГ.

Статистическая обработка осуществлялась с помощью пакета программ “SPSS, v.12”.

Таблица 1. Взаимодействие ритмов ЭЭГ по коэффициенту корреляции Кендалла в состоянии спокойного бодрствования (20 с)

Ритмы ЭЭГ		Тета	Альфа1	Альфа2	Бета	Гамма
Дельта	R	0.53	0.36			0.33
	p	<0.01	<0.05			<0.05
Тета	R		0.57	0.52	0.56	0.48
	p		<0.001	<0.01	<0.001	<0.01
Альфа1	R			0.77	0.6	0.59
	p			<0.001	<0.001	<0.001
Альфа2	R				0.79	0.76
	p				<0.001	<0.001
Бета	R					0.84
	p					<0.001

Примечание: R – величина коэффициента корреляции Кендала; *p* – уровень значимости.

Таблица 2. Взаимодействие ритмов ЭЭГ по коэффициенту корреляции Кендалла суммарно на 20 с до момента пробуждения

Ритмы ЭЭГ		Тета	Альфа1	Альфа2	Бета	Гамма
Дельта	R	0.421				
	p	<0.01				
Тета	R		0.674	0.347		
	p		<0.001	<0.05		
Альфа1	R			0.653	0.516	0.432
	p			<0.001	<0.01	<0.01
Альфа2	R				0.7376	0.484
	p				<0.001	<0.01
Бета	R					0.705
	p					<0.001

Примечание: R – величина коэффициента корреляции Кендалла; *p* – уровень значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе проведено исследование взаимодействия ритмов ЭЭГ за 20 с до когнитивного пробуждения при выполнении психомоторного тестаи в состоянии спокойного бодрствования с закрытыми глазами перед началом эксперимента. Состояние спокойного бодрствования характеризовалось самым большим числом достоверно связанных ритмов ЭЭГ (13 пар, табл. 1).

Исследование взаимодействия ритмов ЭЭГ на 20-секундном временном отрезке, предшествующем пробуждению, выявило 8 пар достоверных связей ритмов ЭЭГ (табл. 2).

Был произведен более детальный анализ по каждому 5-секундному интервалу на исследуемом 20-секундном временном отрезке, который показал сложную динамику взаимодействия ритмов ЭЭГ в процессе пробуждения. Во-первых, от самого отставленного по времени 5-секундного отрезка к самому близкому к пробужде-

Таблица 3. Взаимодействие ритмов ЭЭГ по коэффициенту корреляции Кендалла на 20–15 с до момента пробуждения

Ритмы ЭЭГ		Тета	Альфа1	Альфа2	Бета	Гамма
Дельта	R	0.495				
	p	<0.01				
Тета	R		0.442			
	p		<0.01			
Альфа1	R			0.674	0.463	
	p			<0.001	<0.01	
Альфа2	R				0.705	0.4
	p				<0.001	<0.01
Бета	R					0.589
	p					<0.001

Примечание: R – величина коэффициента корреляции Кендалла; *p* – уровень значимости. Светло-серый фон ячеек – связи дельта-ритма (1-й блок связей ритмов ЭЭГ); средне-серый – связи тета-ритма (2-й блок связей); темно-серый – связи альфа и бета-ритмов (3-й блок связей).

Таблица 4. Взаимодействие ритмов ЭЭГ по коэффициенту корреляции Кендалла на 15–10 с до момента пробуждения

Ритмы ЭЭГ		Тета	Альфа1	Альфа2	Бета	Гамма
Дельта	R	0.379				
	p	<0.05				
Тета	R		0.558	0.4	0.347	
	p		<0.001	<0.05	<0.05	
Альфа1	R			0.611	0.516	
	p			<0.001	<0.01	
Альфа2	R				0.674	0.337
	p				<0.001	<0.05
Бета	R					0.6
	p					<0.001

Примечание: R – величина коэффициента корреляции Кендалла; *p* – уровень значимости. Светло–серый фон ячеек связи дельта-ритма (1-й блок связей ритмов ЭЭГ); средне-серый – связи тета-ритма (2-й блок связей); темно-серый – связи альфа- и бета-ритмов (3-й блок связей).

нию увеличивалось число достоверных связей ритмов. Если на самом отдаленном 5-секундном интервале выявлено 6 пар связей ритмов ЭЭГ, то на самом близком – 10. Во-вторых, меняется характер взаимодействия ритмов, что выражается в формировании или разрушении их связей в зависимости от приближения момента пробуждения.

Первый пятисекундный отрезок, 20–15 с, до пробуждения характеризовался наличием 6 пар ритмов ЭЭГ (табл. 3).

На втором временном отрезке, 15–10 с, к уже существующим связям добавилась связь тета-бета ритмов ЭЭГ (табл. 4.)

Таблица 5. Взаимодействие ритмов ЭЭГ по коэффициенту корреляции Кендалла на 10–5 с до момента пробуждения

Ритмы ЭЭГ		Тета	Альфа1	Альфа2	Бета	Гамма
Дельта	R					
	p					
Тета	R		0.6	0.337		
	p		<0.001	<0.05		
Альфа1	R			0.611	0.495	0.389
	p			<0.001	<0.01	<0.05
Альфа2	R				0.737	0.484
	p				<0.001	<0.01
Бета	R					0.684
	p					<0.001

Примечание: R – величина коэффициента корреляции Кендалла; *p* – уровень значимости. Светло-серый фон ячеек – связи дельта-ритма (1-й блок связей ритмов ЭЭГ); средне-серый – связи тета-ритма (2-й блок связей); темно-серый – связи альфа- и бета-ритмов (3-й блок связей).

Таблица 6. Взаимодействие ритмов ЭЭГ по коэффициенту корреляции Кендалла на 5–0 с до момента пробуждения

Ритмы ЭЭГ		Тета	Альфа1	Альфа2	Бета	Гамма
Дельта	R	0.6	0.474			
	p	<0.001	<0.01			
Тета	R		0.579	0.358		0.347
	p		<0.001	<0.05		<0.05
Альфа1	R			0.737	0.505	0.516
	p			<0.001	<0.01	<0.01
Альфа2	R				0.705	0.547
	p				<0.001	<0.001
Бета	R					0.716
	p					<0.001

Примечание: R –величина коэффициента корреляции Кендалла; *p* – уровень значимости. Светло-серый фон ячеек – связи дельта-ритма (1-й блок связей ритмов ЭЭГ); средне-серый – связи тета-ритма (2-й блок связей); темно-серый – связи альфа- и бета-ритмов (3-й блок связей).

На 10–5-секундном отрезке отмечено появление связи альфа1-гамма и отсутствие связи дельта-тета ритмов ЭЭГ (табл. 5).

Самый близкий временной отрезок к моменту пробуждения, четвертый пятисекундный отрезок, 5–0 с, существенно отличается от предыдущих отрезков. Возникают связи дельта-ритма с медленными ритмами (дельта–тета, дельта–альфа) и тета–гамма, чего не наблюдалось на предыдущем временном отрезке (табл. 6).

Более пристальное внимание к изменениям взаимодействия ритмов ЭЭГ на протяжении 20 с перед когнитивным пробуждением показало три блока связей. 1-й блок характеризуется взаимодействием обоих поддиапазонов альфа-ритма с бета- и гамма-ритмами, а также бета с гамма. Объединение в единый блок произведено на основе того, что эти связи (иногда в сокращенном виде) наблюдаются на протяжении всего исследуемого временного периода (табл. 2–5, темно-серый фон ячеек). 2-й блок

отражает изменения взаимодействия тета-ритма с остальными ритмами. На отрезке 20–15 с до пробуждения отмечена единичная связь тета–альфа1-ритмов. Количественный скачок связей наблюдается на отрезке 15–10 с до пробуждения. Здесь отмечены связи тета-ритма с альфа1- и альфа2-, а также с бета-ритмами. Непосредственно перед пробуждением (5–0 с) сохраняются связи тета-ритма с альфа1- и альфа2-ритмами, и вместо связи тета–бета появляется тета–гамма (табл. 2–5, средне-серый фон ячеек). 3-й блок отражает связи дельта-ритма. (табл. 2–5, темно-серый фон ячеек). Он достаточно условный, поскольку связи дельта-ритма с другими ритмами ЭЭГ единичны.

Итак, было установлено, что непосредственно перед пробуждением образуется максимальное число связей ритмов ЭЭГ. Выявлены изменения взаимодействия ритмов ЭЭГ во времени по мере приближения момента когнитивного пробуждения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование взаимодействия ритмов ЭЭГ в течение 20 с перед когнитивным пробуждением с последующим выполнением психомоторного теста выявило интересную динамику этих связей, которая менялась по мере приближения момента пробуждения. В интервале 20–15 с до пробуждения мы видим связи обоих поддиапазонов альфа-ритма с бета- и гамма-ритмами. Традиционно таламо-кортикальную корково-подкорковую систему связывают с появлением в ЭЭГ альфа-ритма. Вероятно, включение бета-ритма в комплекс бета-альфа позволяет поддерживать необходимый уровень активации этой корково-подкорковой системы во сне. Также показаны единичные связи ритмов дельта–тета, тета–альфа и бета–гамма. Поскольку изучаемый период относится ко второй стадии сна, для которой характерно наличие тета-ритма, К-комплекса и веретен, можно предположить, что единичные связи медленных ритмов являются их характеристикой. В работе [24] показано, что К-комплекс характеризуется увеличением сигнала (по данным MRI) в таламусе, гиппокампе и различных регионах коры. Веретена связывают с активностью билатерального таламуса, скорлупы и отдельных корковых зон.

В интервале 15–10 с отмечено расширение связей тета-ритма с обоими поддиапазонами альфа-ритма и с бета-ритмом. Считается, что тета-ритм отражает работу кортико-гиппокампальной корково-подкорковой системы. Опираясь на эти данные, можно сделать предположение о том, что такое структурно-функциональное объединение выходит на какой-то более высокий уровень активации, а также начинает более широко взаимодействовать с таламо-кортикальной системой. Интересно то, что на этом этапе сохраняются связи альфа-ритма с бета- и гамма-ритмами.

Следующий временной интервал 10–5 с до пробуждения характеризуется разрушением связей ритмов дельта–тета и тета–бета. При этом добавляется связь альфа1–гамма.

За 5 с до пробуждения возникают связи дельта-ритма с тета- и альфа- ритмами при сохранении связей, наблюдаемых на предыдущих временных отрезках. Описаны данные, свидетельствующие о том, что после сна меняются широкие функциональные связи, при этом сеть режима по умолчанию, а также дельта- и бета-диапазоны играют решающую роль в изменениях сети при переходе от сна к бодрствованию [25]. В работе [24] говорится о том, что дельта-ритм как спокойного бодрствования, так и сна связан с работой медиальных фронтальных корковых регионов. Дельта-ритм также обеспечивается таламо-кортикальной системой [26]. В нашей работе показано объединение дельта-ритма с тета- и альфа-ритмами в течение 5 с перед пробуждением. Можно предполагать не просто совместное, но связанное участие таламо-кортикальной и кортико-гиппокампальной структур-

но-функциональных систем в процессе пробуждения. Объединение этих систем отличается от такового на интервале 20–15 с, где, скорее всего, их участие ограничивалось К-комплексом и веретенами. Здесь же объединение достаточно большое и, вероятно, имеет иную природу (пространственно-временную организацию потенциалов), хотя также может включать в себя эти показатели второй стадии сна. Фактически, мы наблюдаем постепенное увеличение количества связей ритмов перед когнитивным пробуждением. Но возникновение связей отнюдь не хаотично.

Исходя из этого, мы позволили себе сформулировать гипотезу о трех блоках связей, предшествующих пробуждению.

1-й блок – блок связей альфа-ритма с быстрыми ритмами, бета и гамма. Эти связи присутствуют на протяжении всего исследуемого временного периода, куда входит частично вторая стадия сна и подготовка к пробуждению. В нашей предыдущей работе показано наличие подобных связей на первой стадии сна и при спокойном бодрствовании [20]. Классически амплитуда колебаний альфа-ритма при спокойном бодрствовании выше, чем на первой стадии сна [27]. Опираясь на полученные данные, можно сделать предположение о том, что связи альфа-ритма с бета- и гамма-ритмами обеспечивают некий базовый уровень активации (тонус или arousal) таламо-кортикальной системы, позволяющий мозгу во время дневного сна быстро восстановить некий рабочий уровень после пробуждения. Возможно, эта связь обеспечивает некий базовый уровень активации, позволяющий человеку реагировать во сне на какие-либо стимулы, возможно, релевантные.

2-й блок – блок связей тета-ритма, отражающий работу кортико-гиппокампальной корково-подкорковой системы. Количество связей тета-ритма с альфа-, бета- и гамма-ритмами начинает нарастать за 15 с до пробуждения. Можно сделать предположение об определенном уровне активации кортико-гиппокампальной системы за счет объединения с быстрыми ритмами, которые подключают таламо-кортикальную систему и, вероятно, дополнительные области мозга или дополнительные нейронные сети в пределах одной корково-подкорковой системы. Если можно так сказать, то это блок подготовки к пробуждению. Поскольку здесь мы наблюдаем разнообразные связи тета-ритма, который, как известно, связан с работой гиппокампа, можно предположить, что именно в этот временной отрезок происходит извлечение из памяти инструкции, которая в дальнейшем запускает деятельность испытуемого.

3-й блок – блок связей объединение дельта-ритма с тета- и альфа-ритмами. В нашей предыдущей работе был отмечен рост амплитудных значений этих ритмов [20]. Известно, что дельта- и альфа-ритмы традиционно связывают с работой таламо-кортикальной системы, а тета-ритм, как мы уже писали выше, с кортико-гиппокампальной. Судя по наличию связей дельта-ритма с альфа- и тета-ритмами, можно сделать предположение об объединении двух вышеуказанных корково-подкорковых систем. Описано участие ретикулярной активирующей системы в процессе пробуждения путем объединения влияний из различных структур мозга, определяя общий уровень активности ЦНС [28]. Вероятно, вышеуказанное объединение медленных ритмов, а, следовательно, корково-подкорковых систем происходит при участии ретикулярной формации ствола мозга, что может привести к еще большей интеграции, включая гипоталамо-лимбические и неокортикальные структуры.

Мы постарались описать, какие же условия могут приводить к пробуждению, и выявили довольно сложную динамическую систему взаимодействия ритмов ЭЭГ.

При этом в нашей работе есть еще один интересный момент – это возврат к прерванной засыпанием деятельности. В данной работе мы его не рассматривали. Этот момент требует дальнейшего изучения и связан со вторым видом пробужде-

ния, поведенческим. Но уже сейчас можно говорить об участии ретикулярной формации, таламуса и гипоталамуса, которые оказывают восходящее активирующее влияние на кору больших полушарий. Известно, что такое влияние не прекращается даже во сне. И именно работа ретикулярных структур позволяет вернуться к исходному состоянию сознания. С нашей точки зрения проявлением работы активирующих систем как раз и является 1-й блок связей, а именно, связей альфа-ритма с более быстрыми ритмами, поскольку этот блок нами был отмечен и на первой и на второй стадии сна, а также принимал участие в подготовке к пробуждению.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процесс пробуждения является пролонгированным процессом со сложной динамикой взаимодействия ритмов ЭЭГ. В интервале 20–15 с до пробуждения в основном преобладают связи альфа-ритма с бета- и гамма-ритмами (1-й блок связей ритмов ЭЭГ). Здесь также присутствуют единичные связи дельта–тета, тета–альфа1 и бета–гамма. В интервале 15–5 с до пробуждения увеличивается количество связей тета-ритма с более быстрыми ритмами (2-й блок связей). И в интервале 5–0 с к уже имеющимся добавляются связи дельта-ритма с тета- и альфа-ритмами (3-й блок связей). Объединение этих трех блоков связей и приводит к когнитивному пробуждению. Это может свидетельствовать о функциональном объединении таламо-кортикальной, кортико -гиппокампальной и ретикулярной формации (вероятно, она и объединяет эти две корково-подкорковые системы).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках госзадания ИВНД и НФ РАН и при частичной поддержке Российского фонда фундаментальный исследований, грант № 20-013-00683а.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

И.А.Я. – идея анализа ритмических взаимодействий ЭЭГ, интерпретация результатов, подготовка первого варианта статьи и последующая ее переработку. Н.Е.П. – постановка экспериментов, первичный анализ ЭЭГ данных, статистическая обработку материала. Е.А.Ч. – проведение экспериментов и обработка экспериментального материала. В.Б.Д. – концепция и дизайн исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Horton CL* (2017) Consciousness across sleep and wake: discontinuity and continuity of memory experiences as a reflection of consolidation processes. Front Psychiatry 8: art 159. https://doi.org/10.3389/fpsyt.2017.00159
2. *Windt J M* (2020) Consciousness in sleep: How findings from sleep and dream research challenge our understanding of sleep, waking, and consciousness. Philosophy Compass e12661: 1–16. https://doi.org/10.1111/phc3.12661
3. *Voss U* (2010) Changes in EEG pre and post awakening. Int Rev Neurobiol 93: 23–55. https://doi.org/10.1016/S0074-7742(10)93002-X
4. *Peter-Derex L, Magnin M, Bastuji H* (2015) Heterogeneity of arousals in human sleep: A stereo-electroencephalographic study. NeuroImage 123: 229–244. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.07.057
5. *Vallat R, Meunier D, Nicolas A, Ruby P* (2019) Hard to wake up? The cerebral correlates of sleep inertia assessed using combined behavioral, EEG and fMRI measures. Neuroimage 184: 266–278. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.09.033
6. *McKinnon AC, Duffy SL, Cross NE, Terpening Z, Grunstein RR, Lagopoulos J, Batchelor J, Hickie IB, Lewis SJ, Shine JM, Naismith SL* (2017) Functional Connectivity in the Default Mode Network

is Reduced in Association with Nocturnal Awakening in Mild Cognitive Impairment. J Alzheimers Dis 56(4): 1373–1384.
https://doi.org/10.3233/JAD-160922

7. *Hyafil A, Giraud A-L, Fontolan L, GutkinB* (2015) Neural cross-frequency coupling: connecting architectures, mechanisms, and functions. Trends Neurosci 38(11): 725–740.
https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.09.001
8. *Márton CD, Fukushima M, Camalier CR, Schultz CR, Averbeck BB* (2019) Signature Patterns for Top-Down and Bottom-Up Information processing via cross-frequency coupling in macaque auditory cortex. eNeuro 6(2) e0467-18: 1–14.
https://doi.org/10.1523/ENEURO.0467-18.2019
9. *Salimpour Y, William SA* (2019) Cross-Frequency Coupling Based Neuromodulation for Treating Neurological Disorders. Front Neurosci 13: Article 125.
https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00125
10. *Siems M, Siegel M* (2020) Dissociated neuronal phase- and amplitude-coupling patterns in the human brain. Neuroimage 209: 116538.
https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.116538
11. *Schanze T, Eckhorn R* (1997) Phase correlation among rhythms present at different frequencies: spectral methods, application to microelectrode recordings from visual cortex and functional implications. Int J Psychophysiol 26: 171–189.
https://doi.org/10.1016/s0167-8760(97)00763-0
12. *Rodriguez-Martinez EI, Barriga-Paulino CI, Rojas-Benjumea MA, Gomez CM* (2015) Co-maturation of theta and low-beta rhythms during child development. Brain Topogr 28: 250–260.
https://doi.org/10.1007/s10548-014-0369-3
13. *Canolty RT, Knight RT* (2010) The functional role of cross-frequency coupling. Trends Cogn Sci 14(11): 506–517.
https://doi.org/10.1016/j.tics.2010.09.001
14. *Amiri M, Frauscher B, Gotman J* (2016) Phase-amplitude coupling is elevated in deep sleep and in the onset of focal epileptic seizures. Front Human Neurosci 10: 387.
https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.0038
15. *Ladenbauer J, Ladenbauer J, Külzow N, de Boor R, Avramova E, Grittner U, Floel A* (2017) Promoting sleep oscillations and their functional coupling by transcranial stimulation enhances memory consolidation in mild cognitive impairment. J Neurosci 37(30): 7111–7124.
https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0260-17.2017
16. *Sanders TH, McCurry M, Clements MA* (2014) Sleep stage classification with cross frequency coupling. 36th Ann Int Confer of the IEEE 4579-4582.
https://doi.org/10.1109/EMBC.2014.6944643
17. *Dimitriadis SI, Salis C, Linden D* (2018) A novel, fast and efficient single-sensor automatic sleep-stage classification based on complementary cross-frequency coupling estimates. Clin Neurophysiol 129(4): 815–828.
https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.12.039
18. *Takeuchi S, Mima T, Murai R, Shimazu H, Isomura Y, Tsujimoto T* (2015) Gamma oscillations and their cross-frequency coupling in the primate hippocampus during sleep. Sleep 38(7): 1085–1091.
https://doi.org/10.5665/sleep.4818
19. *Scheffzuk C, Kukushka VI, Vyssotski AL, Draguhn A, Tort ABL, Brankačk J* (2011) Selective coupling between theta phase and neocortical fast gamma oscillations during REM-sleep in mice. PLoS One 6(12): e28489.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028489
20. *Yakovenko IA, Shumov DE, Petrenko NE, Kozlov MK, Dorokhov VB* (2019) The study of rhythmic component coupling at the first stage of day sleep. Moscow Univer Biol Sci Bull 74(2): 98–102.
https://doi.org/10.3103/S0096392519020111
21. *Dorokhov VB, Malakhov DG, Orlov VA, Ushakov V* (2018) Experimental model of study of consciousness at the awakening: FMRI, EEG and behavioral methods. In book: Biologically Inspired Cognitive Architectures. Springer Cham 82–87.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-99316-4_11
22. *Черемушкин ЕА, Петренко НЕ, Генджалиева МС, Яковенко ИА, Малахов ДГ, Дорохов ВБ* (2019) ЭЭГ активность мозга, предшествующая спонтанному восстановлению психомоторной деятельности после эпизодов микросна. Рос физиол журн им ИМ Сеченова 105(8): 1002–1012. [*Cheremushkin EA, Petrenko NE, Yakovenko IA, Malakhov DG, Dorokhov VB* (2019) EEG brain activity preceding spontaneous recovery of psychomotor activity after episodes microsleep. Russ J Physiol 105(8): 1002–1012. (In Russ)].
https://doi.org/10.1134/S086981391908003X
23. *Tallon-Baudry C, Bertrand O, Peronnet F, Pernier J* (1998) Indused gamma band activity during the delay of a visual short term memory task in humans. J Neurosci 18(11): 4244–4254.
https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-11-04244.1998

24. *Caporro M, Haneef Z, Yeh HJ, Lenartowicz A, Buttinelli C, Parvizi J, Stern JM* (2012) Functional MRI of sleep spindles and K-complexes. Clin Neurophysiol 123: 303–309. https://doi: 10.1016/*j*.clinph.2011.06.018
25. *Hilditch C J, Bansal K, Chachad R, Wong LR, Bathurst NG, Feick NH, Santamaria A, Shattuck NL, Garcia JO, Flynn-Evans EE* (2021) Reconfigurations in brain networks upon awakening from slow wave sleep: Interventions and implications in neural communication. bioRxiv The preprint server for biology. https://doi.org/10.1101/2021.12.07.471633
26. *Harmony T* (2013) The functional significance of delta oscillations in cognitive processing. Front IntegrNeurosci7:83. https://doi.org/10.3389/fnint.2013.00083
27. *Steriade M* (2006) Grouping of brain rhythms in cortico thalamic systems. Neuroscience 137(4): 1087–1106. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.10.029.
28. *Gao S, Proekt A, Renier N, Calderon DP, Pfaff DW* (2019) Activating an anterior nucleus gigantocellularis subpopulation triggers emergence from pharmacologically-induced coma in rodents. Nature Communicat 10: article number: 2897. https://doi.org/10.1038/s41467-019-10797-7

Dynamics of Interaction of EEG Rhythms Preceding the Moment of Awakening, with Subsequent Recovery of Activity after Short-Term Episodes of Falling Asleep

I. A. Yakovenko[a], *, N. E. Petrenko[a], E. A. Cheremoushkin[a], and V. B. Dorohov[a]

[a] *Institute of higher nervous activity and neurophysiology RAS, Moscow, Russia*

**e-mail: irinayakovenko@mail.ru*

The study of the transition from sleep to wakefulness, accompanied by the restoration of activity, makes it possible to study the processes of activation of successive levels of consciousness during awakening. A continuous-discrete psychomotor test served as an experimental model for the study of activity recovery during awakening. The aim of the study was to analyze the dynamics of the coupling of EEG rhythms in the 20-second interval preceding the moment of cognitive awakening (the appearance of a pronounced alpha rhythm). To analyze the multi-channel EEG, we used a wavelet transform based on the mother Morlet wavelet. The resulting material was divided into traditional frequencies: delta, theta, alpha1, alpha 2, beta, and gamma. The amplitude interaction of EEG rhythms was estimated using the Kendall correlation coefficient. It is shown that the process of awakening is a prolonged phenomenon with complex dynamics of EEG rhythms coupling. Three blocks of EEG rhythms coupling were identified, which manifested themselves differently as they approached the moment of cognitive awakening. In the 20–15 s interval before awakening, a block of alpha-rhythm connections with beta and gamma rhythms prevailed, although single delta–theta, theta–alpha1, and beta–gamma connections were present. The next interval (15–5 seconds) before awakening was characterized by joining the already active block of alpha-rhythm coupling of the block theta-rhythm connections with faster rhythms. A third block was added in the 5–0 s interval, namely, the delta rhythm links with theta and alpha rhythms.

Keywords: cognitive awakening, psychomotor test, multichannel EEG, wavelet transform, the interaction of EEG rhythms

EDN: QMPZJV
РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2022, том 108, № 4, с. 455–473

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ПРОИЗВОЛЬНОЕ ВНИМАНИЕ И КАЧЕСТВО ЖИЗНИ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 И 2 ТИПА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

© 2022 г. Н. Э. Тадевосян[1], А. С. Хачунц[1], М. Гогаргани[2], А. А. Саакян[1], А. А. Туманян[1, *]

[1]Институт Физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА, Ереван, Республика Армения
[2]Университет медицинских наук Ясудж, Ясудж, Исламская республика Иран
**E-mail: tumanyanaa@mail.ru*

Поступила в редакцию 22.12.2021 г.
После доработки 09.03.2022 г.
Принята к публикации 10.03.2022 г.

Статья посвящена изучению когнитивных процессов у больных СД 1-го и 2-го типа с длительностью заболевания менее 6 лет, от 6 до 10 лет и более 10 лет. В исследовании использовались модифицированный аналог d2 теста – тест “Clocks Carrousel” и опросник SF-36 для самооценки качества жизни. У больных СД 1-го и 2-го типа было выявлено умеренное когнитивное нарушение, а именно снижение уровня произвольного внимания, а также снижение качества жизни. Было показано, что продолжительность заболевания влияет на когнитивные процессы у больных СД, однако эти изменения носят различный характер в зависимости от типа заболевания. У пациентов с СД 1-го типа наблюдалась стабильность и некоторое улучшение характеристик внимания с увеличением длительности заболевания. Выявленные изменения характеристик внимания у пациентов с СД 2-го типа свидетельствовали о снижении уровня произвольного внимания с увеличением длительности заболевания. Сравнительный анализ показал, что пациенты с СД 1-го типа имели более низкий уровень внимания по сравнению с пациентами с СД 2-го типа. Эти различия были наиболее выражены у пациентов с длительностью заболевания менее 6 лет. Результаты теста SF-36 выявили схожую тенденцию изменения психологического статуса больных СД в зависимости от типа и длительности заболевания, что и изменения характеристик произвольного внимания.

Ключевые слова: сахарный диабет 1 типа, сахарный диабет 2 типа, произвольное внимание, качество жизни, длительность заболевания

DOI: 10.31857/S0869813922040082

В последние годы наблюдается стремительный рост заболеваемости сахарным диабетом (СД). По данным Международной диабетической федерации (IDF), число больных СД в 2021 г. составляло 537 млн человек (20–79 лет), а к 2030 г. прогнозируется увеличение этого числа до 643 млн [1]. Диабет представляет собой хроническое метаболическое заболевание, связанное с нарушением секреции инсулина или нарушением его взаимодействия с клеткой-мишенью. В результате развивается гипергликемия, то есть стойкое повышение уровня глюкозы в крови [2]. Это приводит к развитию ретинопатии, нефропатии, периферической невропатии, а также сердечно-сосудистых и других осложнений, снижающих качество жизни больных [3, 4].

Другой мишенью диабета является центральная нервная система (ЦНС). В ряде работ было показано, что состояния гипергликемии и гипогликемии, являющиеся следствием инсулинорезистентности и инсулиновой недостаточности, приводят к развитию когнитивных нарушений при СД [5–7]. Во многих исследованиях выявлены структурные, функциональные и метаболические изменения в головном мозге больных СД, которые обуславливают когнитивные дисфункции. Показано снижение плотности серого вещества во фронтальном, заднем и темпоральном отделах коры у больных СД 1-го типа и уменьшение его объема у больных СД 2-го типа по сравнению со здоровыми лицами [8, 9]. У лиц среднего возраста с СД 1-го типа наблюдается уменьшение объема белого вещества и снижение фракционной анизотропии, отражающей плотность волокон, диаметр аксонов и миелинизацию белого вещества в задних отделах мозга [10]. При МРТ обследовании у больных СД 2-го типа выявляется гиперинтенсивность белого вещества (ГИБВ), т. е. поражение белого вещества возле желудочков головного мозга и в глубоких подкорковых отделах [11]. В популяции больных СД 2-го типа отмечена атрофия медиальных отделов височной доли, особенно гиппокампа и префронтальной коры [12, 13]. Помимо структурной атрофии наблюдаются и функциональные изменения головного мозга, такие как нарушение функциональных связей гиппокампа, сети пассивного режима работы мозга (DMN) и других систем [14, 15]. Исследования больных СД 1-го типа с применением функциональных нейровизуализационных методов показали широко распространенные нарушения сетевой активности в лобно-теменной сети и передней поясной коре (области мозга, связанные с функцией внимания) при выполнении различных когнитивных задач [10]. Отмеченные структурно-функциональные изменения головного мозга приводят к снижению когнитивных функций и скорости обработки информации у больных СД [10–15].

С учетом вышесказанного, СД является существенным и независимым фактором риска развития когнитивных нарушений, которые не являются общепризнанными осложнениями СД. Когнитивные нарушения могут варьировать от минимальной дисфункции до деменции. Для переходного состояния между нормальным когнитивным состоянием и деменцией используется термин “легкие когнитивные нарушения” (MCI, mild cognitive impairment) [16, 17]. Но даже MCI могут оказывать отрицательное влияние на течение СД, вызывая трудности в самообслуживании больных и снижение качества жизни (КЖ). Многочисленные исследования показали ухудшение результатов нейрокогнитивного тестирования у больных СД по сравнению со здоровыми испытуемыми того же возраста [18–20]. Когнитивные нарушения наблюдаются при СД обоих типов, но характер дисфункции у больных СД 1-го и 2-го типа различен. У больных СД 1-го типа когнитивная дисфункция характеризуется снижением скорости обработки информации, психомоторной активности, внимания, ухудшением когнитивного мышления и зрительного восприятия. Помимо этих, наиболее часто встречающихся когнитивных нарушений, у больных СД 1-го типа отмечается нарушение таких когнитивных функций, как соматосенсорное восприятие, обучение, память и исполнительная функция, а также снижение словарного запаса и общего интеллекта [5, 21, 22]. У больных СД 2-го типа наблюдается снижение скорости психомоторных реакций, скорости обработки информации, сосредоточенного внимания, способности к обучению, ухудшение рабочей и вербальной памяти, зрительной ретенции (удерживание), когнитивного мышления и нарушение исполнительной функции. Данные о зрительно-пространственной памяти и концентрации противоречивы [21, 23, 24].

Таким образом, СД наряду с другими системами поражает и ЦНС, что приводит к нарушению когнитивных процессов. Это, в свою очередь, снижает КЖ больных СД. Однако многие вопросы, касающиеся когнитивных процессов у больных СД, остаются невыясненными. В данной работе изучалось произвольное внимание и

КЖ у больных СД 1-го и 2-го типа в зависимости от длительности заболевания. Во многих исследованиях для оценки различных когнитивных функций, в том числе внимания, в основном используются тесты Краткая шкала оценки психического статуса (MMSE) и Монреальская шкала когнитивной оценки (MoCA) [25–27]. В отличие от этих тестов, дающих суммарную оценку когнитивного состояния, используемый в нашем исследовании тест внимания позволяет получить такие параметры, как объем обрабатываемой информации и скорость ее обработки, точность выполнения, время дифференциации символов, концентрацию и продуктивность внимания. Сравнение всех этих параметров позволяет получить детальное представление о процессе внимания. В нашем исследовании мы используем одни и те же тесты у больных СД 1-го и 2-го типа, что позволяет получить сопоставимые данные. Это обеспечивает комплексный подход к изучению когнитивных процессов у больных СД. Следует отметить, что научные работы, охватывающие все вышеперечисленные аспекты в рамках одного исследования, немногочисленны и не столь убедительны.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Испытуемые

В исследовании приняли участие 29 здоровых испытуемых (от 22 до 54 лет), 42 пациента с СД 1-го типа (от 22 до 34 лет) и 43 пациента с СД 2-го типа (от 22 до 52 лет). Пациенты обоих типов СД были разделены на три группы по длительности заболевания. Первая группа включала пациентов с длительностью заболевания <6 лет (СД1Т-I и СД2Т-I), вторая группа – пациентов с длительностью заболевания от 6 до 10 лет (СД1Т-II и СД2Т-II) и третья группа – пациентов с длительностью заболевания >10 лет (СД1Т- III и СД2Т-III). В контрольные группы (КГ-I и КГ-II) вошли здоровые испытуемые, сопоставимые по возрасту с группами пациентов.

Все участники были правшами и имели нормальное или скорректированное до нормального зрение. Пациенты с СД1Т применяли инъекционную терапию инсулином, а пациенты с СД2Т получали пероральные гипогликемические препараты, то есть не принимали инсулин. Большинство пациентов поддерживали оптимальный уровень глюкозы в крови. Все пациенты, независимо от длительности заболевания, имели легкую степень тяжести заболевания, без выраженных осложнений (нейропатия, нефропатия, ретинопатия, атеросклеротические изменения и др.). Критериями исключения для всех испытуемых были наличие в анамнезе инфаркта, травмы головы и других серьезных неврологических и психических заболеваний, прием нейротропных препаратов, злоупотребление психоактивными веществами (например, алкоголем). Из исследования также исключались пациенты, которым в первые часы после пробуждения был необходим прием инсулина или гипогликемических препаратов. В табл. 1 приводятся некоторые демографические данные и клинические характеристики испытуемых.

Все процедуры, выполненные в данном исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам Национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из пациентов было получено информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Краткая форма опросника оценки качества жизни – SF-36

Для оценки качества жизни испытуемых использовался адаптированный компьютеризированный тест SF-36, представляющий собой краткую форму опросника оценки состояния здоровья, состоящий из 36 вопросов, сгруппированных в

Таблица 1. Демографические данные и клинические характеристики групп

Характеристика	СД1Т группы			
	КГ-I (n = 15)	СД1Т-I (n = 15)	СД1Т-II (n = 13)	СД1Т-III (n = 14)
Возраст, лет	27.7 ± 3.7	25.7 ± 3.5	25.9 ± 3.6	27.6 ± 4.2
Пол (муж/жен)	9/6	8/7	8/5	9/5
Высшее обр., %	73.7	63.0	69.2	77.5
ИМТ, кг/м^2	23.6 ± 0.5	22.9 ± 1.2	23.2 ± 2.0	22.8 ± 1.2
Длит. забол., лет	–	4.5 ± 0.7	8.6 ± 1.7	13.2 ± 1.6
Ур. глюк. нат., мг/дл	79.8 ± 13.7	217.3 ± 54.7	210.2 ± 53.2	194.2 ± 49.6
Доза инсулина, ЕД	–	38.8 ± 4.4	39.4 ± 3.8	40.8 ± 1.9

Характеристика	СД2Т группы				
	КГ-I (n = 15)	СД2Т-I (n = 18)	СД2Т-II (n = 12)	КГ-II (n = 14)	СД2Т-III (n = 13)
Возраст, лет	27.7 ± 3.7	27.8 ± 3.5	29.3 ± 4.3	46.3 ± 4.7	48.3 ± 3.6
Пол (муж/жен)	9/6	11/7	6/6	6/8	7/6
Высшее обр., %	73.7	81.9	75.0	78.6	66.7
ИМТ, кг/м^2	23.6 ± 0.5	26.1 ± 1.2	25.8 ± 0.9	24.7 ± 2.1	27.2 ± 2.8
Длит. забол., лет	–	3.6 ± 1.3	7.8 ± 0.7	–	12.9 ± 1.8
Ур. глюк. нат., мг/дл	79.8 ± 13.7	131.4 ± 14.6	140.0 ± 15.8	87.4 ± 10.3	163.6 ± 24.4

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение. СД1Т: сахарный диабет 1 типа, СД2Т: сахарный диабет 2 типа, КГ: контрольная группа, СД1Т-I/СД2Т-I группы: длительность заболевания <6 лет, СД1Т-II/СД2Т-II группы: длительность заболевания от 6 до 10 лет, СД1Т-III/СД2Т-III группы: длительность заболевания >10 лет, Высшее обр.: высшее образование; ИМТ: индекс массы тела; Длит. забол.: длительность заболевания; Ур. глюк. нат.: уровень глюкозы в крови натощак.

8 шкал: физическое функционирование, ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием, интенсивность боли, общее состояние здоровья, жизненная активность, социальное функционирование, ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием и психическое здоровье. На основе этих восьми шкал, с использованием алгоритмов, рекомендованных разработчиками опросника, рассчитываются два суммарных показателя: физический компонент здоровья (ФКЗ) и психический компонент здоровья (ПКЗ) [28]. Стандартная форма опросника предлагает участникам ответить на вопросы в соответствии с тем, как они себя чувствовали в течение предыдущих четырех недель. Для измерения восьми шкал и двух суммарных компонентов здоровья используется шкала Лайкерта. Показатели каждой шкалы варьируют от 0 до 100 баллов. Чем выше балл, тем выше уровень качества жизни. В тесте SF-36 используются алгоритмы оценки на основе нормализации для всех восьми шкал (преобразование в Т-баллы со средним значением 50 ± 10 [SD]). Если балл по шкале ниже 50, состояние здоровья считается ниже среднего, и каждый балл составляет одну десятую стандартного отклонения. Выполнение теста занимает около 10–15 мин [29].

Психофизиологический тест

Для исследования когнитивных функций, в частности произвольного внимания (избирательное внимание), использовался психофизиологический компьютеризированный тест “Карусель часов”. Применяемый тест был разработан по аналогии с

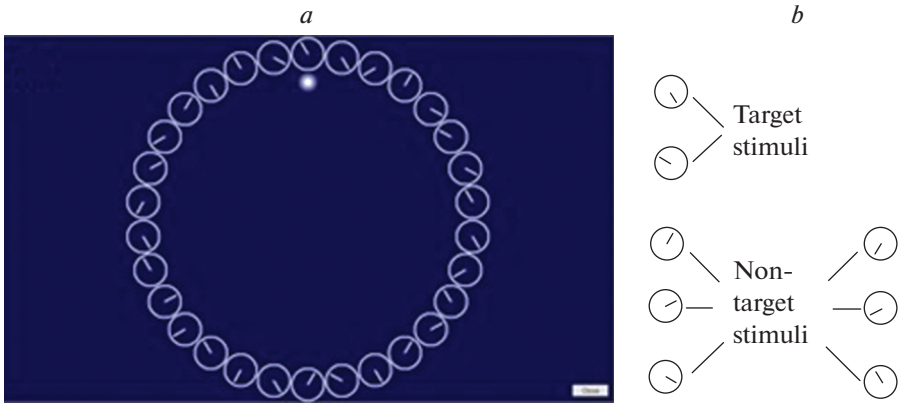


Рис. 1. *a* – скриншот рабочего окна психофизиологического теста “Карусель часов”. *b* – целевые и нецелевые стимулы. Target stimuli – целевые стимулы, non-target stimuli – нецелевые стимулы.

d2 тестом [30], с введением ряда модификаций. В тесте “Карусель часов” стимулами являлись циферблаты без чисел, имеющие только часовую стрелку, указывающую “время” – все, кроме 3, 6, 9 и 12 ч. Стимулы располагались по кругу в центре монитора. Размер монитора составлял 48.26 см (ширина х высота: 42.06 см × 23.66 см), диаметр каждого стимула – 2.2 см, а диметр круга – 19.3 см. Когда до завершения круга оставалось 10%, последовательность стимулов менялась автоматически. Стимулы были разделены на две группы – целевые (циферблат со стрелкой, указывающей “время” 5 и 10) и нецелевые (циферблат со стрелкой, указывающей “время” 1, 2, 4, 7, 8 и 11) (рис. 1).

При выполнении теста испытуемые сидели на расстоянии 60–70 см от монитора. До начала теста испытуемым давалась подробная инструкция: для перехода от стимула к стимулу испытуемые должны были нажать на клавишу управления курсором (→), тем самым фиксируя время обработки каждого стимула, а при виде целевых стимулов – сразу же нажать на клавишу пробела, при этом пропуская нецелевые стимулы, без нажатия какой-либо клавиши. Для должного понимания теста было дано достаточное количество попыток. Тренировочная сессия завершалась после того, как испытуемые могли дифференцировать символы. Для дифференциации символов обычно было достаточно 1–2 попыток. Случайный алгоритм предъявления последовательности символов в тесте исключал привыкание у испытуемых. Фиксированная продолжительность теста составляла 10 мин. Все правильно отмеченные (выбор целевых стимулов) и правильно пропущенные символы (пропуск нецелевых стимулов) считались правильными ответами. Неправильно пропущенные (пропуск целевых стимулов) и неправильно отмеченные символы (выбор нецелевых стимулов) считались ошибками.

Нами оценивались количественные, качественные и временные показатели произвольного внимания. Количественные параметры: ОКС – общее количество символов (количество просмотренных символов за 10 мин), КПС/мин – количество просмотренных символов за минуту, КНПС – количество неправильно пропущенных символов, КНОС – количество неправильно отмеченных символов, ОКНО – общее количество неправильных ответов (КНПС + КНОС), ОКПО – общее количество правильных ответов (ОКС-ОКНО). В данной статье рассчитывался процент КНПС, КНОС, ОКНО, ОКПО от ОКС (КНПС%, КНОС%, ОКНО%, ОКПО% соответственно). Качественные параметры: ИК – индекс концентрации

(КПОС-КНОС, где КПОС – это количество правильно отмеченных символов), ПВ/мин – продуктивность внимания за минуту (ОКС*(КПОС/(КПОС + КНПС)) [30, 31]. Также изучались временные параметры: НПС_во – время обработки неправильно пропущенных символов (мс), НОС_во – время обработки неправильно отмеченных символов (мс).

Процедура исследования

Исследование проводилось утром в одно и то же время в бесшумной комнате. До начала исследования измерялся уровень глюкозы в крови натощак с помощью глюкометра Contour Plus (в 9.00–9.30 ч). Процедура исследования начиналась с измерения пульса и артериального давления (АД) в положении сидя. Пульс измерялся пальпаторно на A.radialis за одну минуту. АД измерялось трижды с помощью автоматического монитора АД (Omron M6). Прибор также выдавал значение пульса. Рассчитывалось среднее значение трех измерений пульса и АД. Результаты измерения пульса в целом были сопоставимы. Параметры пульса и АД учитывались для оценки общего физиологического состояния испытуемых. Испытуемые с высокими значениями пульса и АД (выше возрастной нормы – ЧСС = 90 уд/мин, АД = 120/80 мм рт. ст. [32] и таргетных клинических значений – АД ≥ 140/90 мм рт. ст. [33, 34]) были исключены из исследования.

Далее испытуемые заполняли опросник SF-36 и выполняли Психофизиологический тест. Продолжительность исследования составляла ~45 мин. После завершения исследования пациенты принимали инсулин или гипогликемические препараты.

Анализ данных

Сравнительный анализ изучаемых показателей проводился: а) между контрольной группой и группой диабетиков, б) между группами одного типа диабета с разной длительностью заболевания, в) между группами двух типов диабета с одинаковой длительностью заболевания.

Группа СД2Т_III имела значимые возрастные различия по сравнению с остальными группами. Для этой группы была создана отдельная, соответствующая по возрасту контрольная группа. Сравнительный анализ изучаемых показателей для группы СД2Т_III проводился только с контрольной группой (КГ-II). Между всеми остальными группами достоверных возрастных различий не было.

Статистический анализ

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение. Проверка данных на нормальность проводили с помощью критерия Шапиро–Уилка, а однородность дисперсии определяли с помощью критерия Левене. При нормальном распределении данных и однородности дисперсии для сравнения групп использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). В случае выявления значимого эффекта длительности заболевания для установления различий между средними значениями проводился апостериорный анализ с помощью критерия Даннетта (между контрольной группой и группой диабетиков) и критерия Бонферрони (между группами диабетиков). При ненормальном распределении данных оценивался Н-критерий Краскела–Уоллиса, а для выявления достоверных различий между группами проводился апостериорный анализ с применением критерия Манна–Уитни.

Оценка достоверности различий между КГ-II и СД2Т_III, СД1Т-I и СД2Т-I, СД1Т-II и СД2Т-II группами проводилась с помощью непарного двустороннего

t-критерия при нормальном распределении данных и U-критерия Манна–Уитни при ненормальном распределении данных.

Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0.05$. Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения SPSS (Версия 16.0 для Windows).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка качества жизни (SF-36)

При анализе суммарных показателей теста SF-36 обнаружены межгрупповые различия (Таблица 2). Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и критерий Краскела–Уоллиса выявили достоверный эффект длительности заболевания для физического и психического компонентов здоровья (ФКЗ и ПКЗ) у пациентов с СД1Т ($F_{3, 53} = 11.40$, $p < 0.001$ для ФКЗ и $\chi^2 = 17.63$, $p < 0.001$ для ПКЗ). Апостериорный анализ (post-hoc test) показал, что эти параметры были ниже у СД1Т групп по сравнению с контрольной группой. ПКЗ был также значительно ниже у СД1Т-I группы, чем у СД1Т-II и СД1Т-III групп. Достоверных различий по показателю ФКЗ между СД1Т группами не обнаружено.

У пациентов с СД2Т наблюдался значительный эффект длительности заболевания для показателей ФКЗ и МКЗ ($\chi^2 = 5.23$, $p < 0.05$ для ФКЗ и $F_{2, 42} = 5.33$, $p < 0.01$ для МКЗ), указывающий на более низкие значения параметров у СД2Т-II группы по сравнению с контрольной и СД2Т-I группами. Достоверных различий по этим

Таблица 2. Показатели SF-36, пульса и артериального давления

Показатель	СД1Т группы			
	КГ-I (n = 15)	СД1Т-I (n = 15)	СД1Т-II (n = 13)	СД1Т-III (n = 14)
ФКЗ, балл	54.3 ± 3.7	45.6 ± 5.3***	44.1 ± 5.6***	46.6 ± 4.8***
ПКЗ, балл	51.6 ± 7.0	37.9 ± 8.3***	44.2 ± 8.7*#	44.4 ± 6.0*#
ЧСС, уд./мин	75.9 ± 4.2	73.9 ± 5.3	73.5 ± 5.2	73.6 ± 3.3
САД, мм рт. ст.	116.1 ± 7.9	118.9 ± 6.0	119.7 ± 6.0	119.1 ± 4.1
ДАД, мм рт. ст.	76.6 ± 3.9	76.7 ± 5.1	79.2 ± 5.4	77.9 ± 3.8

Показатель	СД2Т группы				
	КГ-I (n = 15)	СД2Т-I (n = 18)	СД2Т2-II (n = 12)	КГ-II (n = 14)	СД2Т-III (n = 13)
ФКЗ, балл	54.3 ± 3.7	53.5 ± 5.9	49.0 ± 5.0*#	53.3 ± 3.1	45.4 ± 6.9*
ПКЗ, балл	51.6 ± 7.0	50.8 ± 6.4	42.8 ± 6.0**#	51.6 ± 6.0	38.0 ± 7.0**
ЧСС, уд./мин	75.9 ± 4.2	78.9 ± 6.9	80.5 ± 5.8	77.9 ± 8.0	76.1 ± 7.7
САД, мм рт. ст.	116.1 ± 7.9	119.8 ± 4.4	124.4 ± 6.5*	113.7 ± 11.4	126.1 ± 7.4*
ДАД, мм рт. ст.	76.6 ± 3.9	78.8 ± 5.3	81.5 ± 5.3*	77.4 ± 8.4	83.1 ± 5.8*

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение. СД1Т: сахарный диабет 1 типа, СД2Т: сахарный диабет 2 типа, КГ: контрольная группа, СД1Т-I/СД2Т-I группы: длительность заболевания <6 лет, СД1Т-II/СД2Т-II группы: длительность заболевания от 6 до 10 лет, СД1Т-III/СД2Т-III группы: длительность заболевания >10 лет, ФКЗ: физический компонент здоровья, ПКЗ: психический компонент здоровья, ЧСС: частота сердечных сокращений, САД: систолическое артериальное давление, ДАД: диастолическое артериальное давление.

* Достоверное различие по сравнению с Контрольной группой; # Достоверное различие по сравнению с СД1Т-I или СД2Т-I группой; *$p < 0.05$, **$p < 0.01$, ***$p < 0.001$.

параметрам между контрольной и СД2Т-I группами не обнаружено. Т-тест показал, что ФКЗ и МКЗ были ниже у СД2Т-III по сравнению с контрольной группой (КГ-II).

Сравнительный анализ параметров выявил достоверно низкие значения ФКЗ и МКЗ у СД1Т-I группы по сравнению с СД2Т-I группой ($p < 0.001$ для обоих параметров). Между СД1Т-II и СД2Т-II группами достоверных различий по показателям ФКЗ и МКЗ не обнаружено.

Оценка пульса и артериального давления

Результаты статистического анализа пульса и АД представлены в таблице 2. Данные участников с высокими значениями пульса и АД не включены в таблицу. У пациентов с СД1Т межгрупповых различий по показателям ЧСС, САД и ДАД не обнаружено ($F_{3, 53} = 0.86$, $p > 0.05$ для ЧСС, $F_{3, 53} = 0.92$, $p > 0.05$ для САД и $F_{3, 53} = 0.86$, $p > 0.05$ для ДАД).

ANOVA анализ выявил значительный эффект длительности заболевания для САД и ДАД у пациентов с СД2Т ($F_{2, 42} = 2.89$, $p < 0.05$ для САД и $F_{2, 42} = 3.23$, $p < 0.05$ для ДАД). Однако post-hoc анализ показал достоверные различия по этим параметрам только между контрольной и СД2Т-II группами с более высокими значениями у СД2Т-II группы. Из таблицы 2 видно, что СД2Т-III группа также имела более высокие значения САД и ДАД, чем контрольная группа (КГ-II). По показателю ЧСС межгрупповых различий не выявлено.

Из результатов статистического анализ данных видно, что СД2Т-I и СД2Т-II группы имели более высокие значения ЧСС по сравнению с СД1Т-I и СД1Т-II группами ($p < 0.05$ для обеих групп). СД2Т-II группа также имела более высокое значение САД, чем СД1Т-II группа ($p < 0.05$). Других различий по показателям САД и ДАД в зависимости от типа диабета не выявлено.

Психофизиологическое исследование

Результаты психофизиологического исследования представлены в табл. 3.

У пациентов с СД1Т был обнаружен значительный эффект длительности заболевания для общего количества символов и количества просмотренных символов за минуту (ОКС и КПС/мин) ($F_{3, 53} = 41.95$, $p < 0.001$ для обоих показателей). Результаты post-hoc анализа показали, что у всех СД1Т групп ОКС и КПС/мин были достоверно меньше, чем у контрольной группы. СД1Т-III группа отличалась большими значениями ОКС и КПС/мин по сравнению с СД1Т-I группой. Других значимых различий по этим параметрам между СД1Т группами не обнаружено. Значительный эффект длительности заболевания выявлен также для общего количества правильных и неправильных ответов (ОКПО%, ОКНО%) и количества неправильно отмеченных и неправильно пропущенных символов (КНОС%, КНПС%) ($\chi^2 = 27.86$, $p < 0.001$ для ОКПО% и ОКНО%, $\chi^2 = 22.78$, $p < 0.001$ для КНОС%, $\chi^2 = 27.45$, $p < 0.001$ для КНПС%). У СД1Т групп, по сравнению с контрольной группой, ОКПО% было достоверно ниже, а ОКНО% – выше. Однако между группами СД1Т по показателям ОКПО% и ОКНО% достоверных отличий не отмечалось. Дальнейший анализ ошибок показал, что СД1Т-II группа имела больше КНОС% по сравнению с контрольной и остальными СД1Т группами. Однако КНПС% было достоверно ниже у СД1Т-II группы, чем у СД1Т-I и СД1Т-III групп. Все СД1Т группы имели больше КНПС% по сравнению с контрольной группой. Других межгрупповых различий не наблюдалось.

При исследовании временных параметров был обнаружен значительный эффект длительности заболевания ($F_{3, 53} = 31.90$, $p < 0.001$ для НОС_во и $F_{3, 53} = 35.41$,

Таблица 3. Показатели произвольного внимания

Показатель	СД1Т группы			
	КГ-I (n = 15)	СД1Т-I (n = 15)	СД1Т-II (n = 13)	СД1Т-III (n = 14)
ОКС	943.0 ± 59.5	663.0 ± 75.3***	737.0 ± 77.2***	773.6 ± 70.5***$^{\#\#\#}$
КПС/мин	94.3 ± 6.0	66.3 ± 7.5***	73.7 ± 7.7***	77.4 ± 7.0***$^{\#\#\#}$
ОКПО, %	92.3 ± 1.6	87.5 ± 1.7***	88.4 ± 2.1***	88.2 ± 2.3***
ОКНО, %	7.7 ± 1.6	12.5 ± 1.7***	11.6 ± 2.1***	11.8 ± 2.3***
КНОС, %	1.6 ± 0.4	1.7 ± 0.4	2.9 ± 0.6***$^{\#\#\#}$	1.4 ± 0.4$^{\Delta\Delta\Delta}$
КНПС, %	6.1 ± 1.4	10.9 ± 1.6***	8.7 ± 2.3*$^{\#}$	10.4 ± 2.5***$^{\Delta}$
НОС_во, мс	737.7 ± 95.0	1088.5 ± 98.3***	975.1 ± 89.8***$^{\#}$	969.1 ± 104.9***$^{\#}$
НПС_во, мс	700.9 ± 96.7	994.6 ± 102.2***	1075.8 ± 95.1***	891.8 ± 100.1***$^{\#\Delta\Delta\Delta}$
ИК, у. е.	304.5 ± 21.5	182.4 ± 25.6***	208.5 ± 19.4***$^{\#}$	218.4 ± 29.4***$^{\#\#}$
ПВ/мин, у. е.	79.9 ± 5.4	48.3 ± 6.4***	55.3 ± 4.7***$^{\#\#}$	57.4 ± 7.8***$^{\#\#}$

Показатель	СД2Т группы				
	КГ-I (n = 15)	СД2Т-I (n = 18)	СД2Т-II (n = 12)	КГ-II (n = 14)	СД2Т-III (n = 13)
ОКС	943.0 ± 59.5	822.5 ± 80.8***	827.5 ± 52.4***	828.5 ± 77.4	738.3 ± 72.6**
КПС/мин	94.3 ± 6.0	82.3 ± 8.1***	82.8 ± 5.2***	82.9 ± 7.7	73.8 ± 7.3**
ОКПО, %	92.3 ± 1.6	91.0 ± 1.4*	89.0 ± 1.9***$^{\#}$	94.3 ± 0.9	91.2 ± 0.9***
ОКНО, %	7.7 ± 1.6	9.0 ± 1.4*	11.0 ± 1.9***$^{\#}$	5.7 ± 0.9	8.8 ± 0.9***
КНОС, %	1.6 ± 0.4	1.8 ± 0.4	1.4 ± 0.5	1.4 ± 0.4	1.3 ± 0.2
КНПС, %	6.1 ± 1.4	7.2 ± 1.3*	9.6 ± 1.9***$^{\#\#}$	4.3 ± 0.7	7.5 ± 0.9***
НОС_во, мс	737.7 ± 95.0	857.5 ± 90.9***	953.9 ± 87.2***$^{\#}$	826.2 ± 88.7	990.4 ± 98.1***
НПС_во, мс	700.9 ± 96.7	917.2 ± 86.2***	957.4 ± 60.0***	718.5 ± 94.8	868.7 ± 97.2**
ИК, у. е.	304.5 ± 21.5	255.7 ± 32.0***	239.9 ± 21.1***	284.0 ± 26.6	230.7 ± 26.0***
ПВ/мин, у. е.	79.9 ± 5.4	67.6 ± 8.2***	63.0 ± 5.6***	73.9 ± 7.0	60.1 ± 6.8***

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение. СД1Т: сахарный диабет 1 типа, СД2Т: сахарный диабет 2 типа, КГ: контрольная группа, СД1Т-I/СД2Т-I группы: длительность заболевания <6 лет, СД1Т-II/СД2Т-II группы: длительность заболевания от 6 до 10 лет, СД1Т-III/СД2Т-III группы: длительность заболевания >10 лет, ОКС: общее количество символов, КПС/мин: количество просмотренных символов за минуту, ОКПО: общее количество правильных ответов, ОКНО: общее количество неправильных ответов, КНОС: количество неправильно отмеченных символов, КНПС: количество неправильно пропущенных символов, НОС_во: время обработки неправильно отмеченных символов (мсек), НПС_во: время обработки неправильно пропущенных символов, ИК: индекс концентрации, ПВ/мин: продуктивность внимания за минуту.
* Достоверное различие по сравнению с Контрольной группой; # Достоверное различие по сравнению с СД1Т-I или СД2Т-I группой; Δ Достоверное различие по сравнению с СД1Т- II; *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

p < 0.001 для НПС_во). Как показано в табл. 3, СД1Т группы потратили больше времени на обработку символов, чем контрольная группа. Статистический анализ выявил, что СД1Т-I группе понадобилось значительно больше времени на обработку НОС, чем СД1Т-II и СД1Т-III группам. СД1Т-III группа потратила больше времени на обработку НПС по сравнению с СД1Т-I и СД1Т-II группами. Других достоверных различий не отмечалось.

Значительный эффект длительности заболевания был обнаружен и для показателей индекса концентрации (ИК) и продуктивности внимания в мин (ПВ/мин) ($F_{3, 53}$ = 68.17, p < 0.001 для ИК и $F_{3, 53}$ = 67.84, p < 0.001 для ПВ/мин), указывающий на более низкие ИК и ПВ/мин у СД1Т групп по сравнению с контрольной груп-

пой. Post-hoc анализ также показал, что эти параметры были ниже у СД1Т-I группы, чем у СД1Т-II и СД1Т-III групп. Других межгрупповых различий по показателям ИК и ПВ/мин не обнаружено.

ANOVA анализ выявил значительный эффект длительности заболевания для общего количества символов и количества просмотренных символов за минуту (ОКС и КПС/мин) у пациентов с СД2Т ($F_{2, 42} = 14.22$, $p < 0.001$ для обоих показателей). Эти показатели были достоверно ниже у СД2Т групп по сравнению с контрольной группой. Однако между СД2Т группами различий по показателям ОКС и КПС/мин не отмечалось. Значительный эффект длительности заболевания был обнаружен также для общего количества правильных и неправильных ответов (ОКПО%, ОКНО%) и количества неправильно пропущенных символов (КНПС%) ($F_{2, 42} = 11.71$, $p < 0.001$ для ОКПО% и ОКНО%, $\chi^2 = 14.55$, $p < 0.001$ для КНПС%). Статистический анализ показал, что СД2Т группы имели достоверно низкие значения ОКПО% и высокие значения ОКНО% и КНПС%, чем контрольная группа. Нами также обнаружено достоверно низкое значение ОКПО% и высокие значения ОКНО% и КНПС% у СД2Т-II группы по сравнению с СД2Т-I группой. По количеству неправильно отмеченных символов (КНОС%) межгрупповых различий не выявлено ($\chi^2 = 3.27$, $p > 0.05$).

Сравнение временных параметров выявило значительный эффект продолжительности заболевания ($F_{2, 42} = 15.68$, $p < 0.001$ для НОС_во и $F_{2, 42} = 33.24$, $p < 0.001$ для НПС_во). Апостериорный анализ показал, что СД2Т группы потратили больше времени на обработку символов, чем контрольная группа. Различия между двумя группами диабетиков наблюдались только для времени обработки НОС с более высоким значением у СД2Т-II группы.

Значительный эффект длительности заболевания был обнаружен и для показателей индекса концентрации (ИК) и продуктивности внимания в минуту (ПВ/мин) ($F_{2, 42} = 20.26$, $p < 0.001$ для ИК и $F_{2, 42} = 20.55$, $p < 0.001$ для ПВ/мин), указывающий на более низкие ИК и ПВ/мин у СД2Т групп по сравнению с контрольной группой. Между СД2Т группами различий по этим параметрам не отмечалось.

Статистический анализ показал, что различия между контрольной группой (КГ-II) и СД2Т-III группой по всем параметрам произвольного внимания имели аналогичный характер, что и различия между контрольной группой (КГ-I) и СД2Т-I/СД2Т-II группами (табл. 3).

Сравнительный анализ СД1И и СД2Т групп выявил достоверные различия по всем показателям, кроме КНОС % ($p > 0.05$). Так, СД2Т-I группа имела более высокие значения ОКС, КПС/мин, ОКПО, ИК, ПВ/мин и более низкие значения ОКНО% и КНПС% по сравнению с СД1Т-I группой ($p < 0.001$ для всех параметров). Достоверные различия между этими группами выявлены и по временным параметрам с более низкими значениями у СД2Т-I группы ($p < 0.001$ для НОС_во и $p < 0.05$ для НПС_во).

При сравнении СД1Т-II и СД2Т-II групп было установлено, что СД2Т-II группа имела более высокие значения ОКС, КПС/мин, ИК, ПВ/мин и низкие значения КНОС%, НПС_во, чем СД1Т-II группа ($p < 0.01$ для ОКС, КПС/мин, ИК, НПС_во, $p < 0.001$ для КНОС% и $p < 0.05$ для ПВ/мин). Другие межгрупповые сравнения показателей не достигли значимости.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Статья посвящена изучению процесса произвольного внимания и оценке качества жизни (КЖ) у пациентов с СД 1 и 2 типа. Анализ самооценки КЖ показал, что пациенты с СД 1-го и 2-го типа имели сравнительно низкий физический и психи-

ческий статус по сравнению со здоровыми испытуемыми. При СД1Т эти различия начали уже проявляться у пациентов с длительностью заболевания <6 лет, а при СД2Т позже, то есть у пациентов с длительностью заболевания от 6 до 10 лет. Снижение КЖ у пациентов с СД2Т также показано в ряде исследований [35, 36]. Согласно некоторым исследованиям, факторы, влияющие на КЖ пациентов с СД2Т, включают ограничение физической активности и выбора продуктов питания, изменение пищевых привычек, частота контроля уровня глюкозы, артериальная гипертензия и депрессия [37, 38]. Плохое КЖ было продемонстрировано и у пациентов с СД1Т, но эти исследования проводились в основном среди пациентов до 18 лет [39, 40]. В нашем исследовании изменения КЖ у пациентов с СД1Т выявлены в возрастной группе 22–34 лет.

Результаты исследования также указывают на изменения КЖ в зависимости от длительности заболевания, которые по-разному проявлялись у пациентов с СД 1-го и 2-го типа. Пациенты с СД1Т с длительностью заболевания от 6 до 10 и >10 лет имели более высокий уровень психического здоровья по сравнению с пациентами с СД1Т с длительностью заболевания <6 лет. В то же время межгрупповых различий физического состояния пациентов с СД1Т в зависимости от длительности заболевания не обнаружено. У пациентов с СД2Т выявлено снижение физического и психического здоровья с увеличением продолжительности заболевания. Связь между длительностью диабета и КЖ до конца не выяснена. В некоторых исследованиях приводятся данные о том, что более длительная продолжительность заболевания была связана с более низким КЖ у пациентов с СД2Т. Это может быть связано с тем, что с увеличением продолжительности заболевания у больных отмечается тенденция к ухудшению гликемического контроля, что может повлиять на КЖ [38, 41]. Однако в других исследованиях показано отсутствие корреляции между длительностью диабета и КЖ у пациентов с СД 1-го и 2-го типа [42, 43].

Полученные в нашем исследовании результаты самооценки КЖ показывают, что у пациентов с СД1Т с длительностью заболевания <6 лет КЖ было хуже, чем у пациентов с СД2Т с той же длительностью заболевания. Однако уровень физического и психического здоровья у пациентов с СД 1-го и 2-го типа с длительностью заболевания от 6 до10 лет не отличался.

Результаты нашего исследования указывают на отсутствие достоверных различий в показателях ЧСС и АД между здоровыми испытуемыми и пациентами с СД1Т, а также между СД1Т группами в зависимости от длительности заболевания. Однако у пациентов с СД2Т с длительностью заболевания от 6 до 10 и >10 лет значение АД было выше, чем у здоровых лиц. Между тем межгрупповых различий по показателям ЧСС и АД у них не выявлено. У пациентов с СД2Т выявлена повышенная ЧСС по сравнению с таковой у пациентов с СД1Т при той же длительности заболевания (длительность заболевания < 6 и 6–10 лет). У пациентов с СД 1-го и 2-го типа при одинаковой длительности заболевания значения АД не различались.

Наше исследование выявило существенные изменения процесса произвольного внимания у пациентов с СД 1-го и 2-го типа. Так, пациенты с СД обоих типов отличались меньшим объемом обрабатываемой информации и более низкой скоростью ее обработки по сравнению со здоровыми испытуемыми. Снижение ОКПО и увеличение ОКНО за счет увеличения КНПС свидетельствовало о снижении общей эффективности и точности выполнения у пациентов с СД. В то же время пациентам с СД требовалось больше времени для идентификации и дифференциации символов. Они также имели более низкий уровень концентрации внимания и его продуктивности. Таким образом, сравнительный анализ показал, что пациенты с СД 1-го и 2-го типа уступали здоровым испытуемым по всем характеристикам внимания независимо от длительности заболевания. В ряде работ показано снижение когнитивных процессов, в частности внимания, исполнительных функций, концен-

трации и обработки информации у пациентов с СД 1-го и 2-го типа [25, 44, 45]. Предполагается, что эти когнитивные изменения, по всей вероятности, связаны с гипергликемией, эпизодами гипогликемии, развитием инсулинорезистентности, микрососудистыми заболеваниями [6, 7, 46]. Мы разделяем точку зрения относительно факторов риска когнитивных нарушений у пациентов с СД.

Среди предполагаемых механизмов, лежащих в основе нарушений когнитивных функций, вызванных гипергликемией, можно выделить резистентность ЦНС к инсулину и амилоидогенез. Результаты имеющихся исследований показали, что инсулинорезистентность (ИР) может влиять на нейропластичность гиппокампа, метаболизм белка-предшественника амилоида (APP) и тау-белка. Известно, что нейровоспаление, окислительный стресс и митохондриальная дисфункция усиливают резистентность ЦНС к инсулину. Это сопровождается накоплением бета-амилоида. Длительное воздействие гипергликемии и гиперинсулинемии, а также высокие уровни бета-амилоида в головном мозге могут привести к повреждению структуры и ухудшению функции нейронов, нарушению их целостности, вызывая снижение когнитивных функций у пациентов с СД [47, 48]. Считается, что гипергликемия также приводит к микрососудистым повреждениям головного мозга, что может нарушить когнитивные функции. Одним из механизмов, посредством которого гипергликемия повреждает ткани микрососудов, является увеличение количества активных форм кислорода, что приводит к окислительному стрессу. Гипергликемическая среда способствует образованию конечных продуктов гликирования (AGE) – механизм, посредством которого гипергликемия содействует развитию атеросклероза [49]. В снижении когнитивных функций при СД свою определенную роль играет и гипогликемия. В качестве потенциального механизма повреждения нейронов, вызванного гипогликемией, был предложен механизм эксайтотоксического действия повышенного уровня нейротрансмиттеров, в частности глутамата, приводящий к чрезмерной стимуляции рецепторов [13].

Эндотелиальная дисфункция сосудов, наблюдаемая при диабете, связана с накоплением в них токсичных липидов и агрегированных белков. Белковые отложения на стенках кровеносных сосудов повреждают эндотелиальные клетки и нарушают выработку сосудорасширяющих веществ, снижая мозговой кровоток, что приводит к нейроваскулярному разобщению и гипоксическому повреждению нейронов. Результаты исследований подтверждают, что снижение мозгового кровотока препятствует способности мозга понимать, обрабатывать, интегрировать информацию [27, 46]. Сосудистая эндотелиальная дисфункция активирует медиаторы воспаления, которые могут нарушать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Нарушение ГЭБ подвергает паренхиму мозга воздействию потенциально нейротоксичных белков крови, тромбина, фибрина, плазмина и гемоглобина, а также железа из лизированных эритроцитов. Снижение негерметичности ГЭБ вызывает аномальную активность нейронов, приводящую к снижению когнитивной функции [46].

Нами также выявлены различия характеристик внимания в зависимости от длительности заболевания. Сравнительный анализ показателей внимания у пациентов с СД1Т выявил тенденцию увеличения объема обрабатываемой информации и скорости ее обработки с увеличением продолжительности заболевания. Несмотря на то, что межгрупповых различий в общем количестве правильных и неправильных ответов не было, тем не менее, были обнаружены различия в количестве каждого типа ошибок. Межгрупповые различия в количестве каждого типа ошибок рассматривались, сопоставляя со временем их обработки. СД1Т-I группа, имеющая меньшее количество НОС и большее количество НПС, чем СД1Т-II группа, тратила соответственно больше или столько же времени на идентификацию и дифференциацию каждого символа. Несмотря на то, что СД1Т-I группа не отличалась

от СД1Т-III группы по количеству ошибок обоих типов, тем не менее, СД1Т-I группе требовалось больше времени для идентификации и дифференциации символов. При сравнении СД1Т-II и СД1Т-III групп видно, что СД1Т-III группа имела меньшее количество НОС и большее количество НПС, при этом затрачивая, соответственно, столько же или меньше времени на их обработку. Итак, сопоставляя количество ошибок обоих типов и время их обработки, можно сказать, что СД1Т-III группа дифференцировала символы легче, чем СД1Т-I и СД1Т-II группы. СД1Т-I группа отличалась от остальных групп наиболее низкой способностью дифференцировать символы. Анализ качественных показателей выявил самый низкий уровень концентрации внимания и его продуктивности у СД1Т-I группы.

Имеющиеся данные относительно влияния продолжительности диабета на когнитивные функции у пациентов с СД1Т противоречивы. Результаты некоторых исследований показали негативное влияние продолжительности заболевания на такие когнитивные функции, как психомоторная скорость, отсроченное припоминание, зрительно-моторная интеграция, в то время как в других исследованиях не отмечалось влияние продолжительности заболевания на отсроченное припоминание, словарный запас, психомоторную скорость, обучение и память [21, 50]. Согласно данным другого исследования, снижение когнитивных функций у взрослых с СД1Т в целом остается достаточно стабильным по мере прогрессирования заболевания [46].

Хорошо известно, что инсулин оказывает нейромодулирующее действие на мозг. Он стимулирует мембраны синаптических ГАМК-А рецепторов и способствует увеличению ГАМК-А-индуцированных тонических токов в пирамидных нейронах гиппокампа и префронтальной коры, модифицируя активность нейронных цепей в этих отделах мозга. Этим можно объяснить влияние изменений в передаче сигналов инсулина на изменения когнитивных процессов [51]. Инсулин оказывает стимулирующее действие на рост нейритов и играет роль в пролиферации, дифференцировке нейронов, т.е. имеет нейротрофическое действие. Среди нейропротекторных эффектов инсулина можно выделить защитные эффекты против пагубного воздействия окислительного стресса на ЦНС, при котором захват ГАМК и глутамата снижается, и эти нейромедиаторы накапливаются в экстрасинаптосомальном пространстве [52, 53]. Показано, что у пациентов с СД при изменении содержания Aβ и тау-белка в спинномозговой жидкости снижается уровень когнитивных функций, в то время как применение инсулина и агентов, которые стимулируют передачу его сигналов, может уменьшить невропатологию и улучшить когнитивные функции при диабете [54].

Таким образом, инсулин можно использовать для предотвращения патологических эффектов, вызванных развитием инсулинорезистентности и дефицитом инсулина в ЦНС [50]. Многие исследования указывают на улучшающее действие интраназального инсулина на когнитивные процессы у здоровых людей и лиц с нарушением когнитивных функций [55–57]. Нейровизуализационные исследования показали, что интраназальный инсулин изменяет активацию когнитивных областей мозга и связь между областью гиппокампа и сетью пассивного режима работы мозга (DMN) [53]. Если данные о положительном эффекте однократного введения интраназального инсулина противоречивы, то данные относительно эффекта длительного применения интраназального инсулина более убедительны. При длительном интраназальном применении инсулина наблюдалось его положительное влияние на когнитивные процессы (4 × 40 ЕД/сут в течение 8 нед., 40 ЕД/сут в течение 3 нед., 20 ЕД/сут в течение 3 нед.) [52, 55, 58]. Мы полагаем, что стабильность и некоторое улучшение характеристик внимания у пациентов с СД1Т в нашем исследовании также могут быть обусловлены длительным введением инсулина (~40 ЕД/сут).

У пациентов с СД2Т сравнительный анализ параметров внимания проводился только между 1-ой и 2-ой группами, так как возраст пациентов 3-ей группы достоверно отличался от возраста пациентов остальных двух групп. У пациентов с СД2Т в зависимости от длительности заболевания изменений объема обрабатываемой информации и скорости ее обработки не выявлено. Однако в СД2Т-II группе наблюдалось снижение общей эффективности и точности выполнения. Исследование типов ошибок и времени их обработки показало, что СД2Т-II группа не отличалась от СД2Т-I группы по количеству НОС и имела большее количество НПС. В то же время СД2Т-II группе требовалось соответственно больше или столько же времени на их обработку. Итак, у пациентов с СД2Т с увеличением длительности заболевания отмечалось снижение способности дифференцировать символы. У них также выявлена тенденция к снижению показателей концентрации внимания и его продуктивности в зависимости от длительности заболевания.

В ряде работ продемонстрировано отрицательное влияние продолжительности заболевания на некоторые когнитивные функции, включая внимание, исполнительные функции, обработку информации, память, психомоторную эффективность, беглость речи и обучение у пациентов с СД2Т [26, 59]. Показано, что риск когнитивных нарушений значительно повышен у пациентов с СД2Т с длительностью заболевания более 15 лет. По мере увеличения продолжительности заболевания, по всей вероятности, имеет место усиление повреждающего действия на нейроны макро- и микрососудистых дисфункций, окислительного стресса и инсулинорезистентности [27]. В нашем исследовании не столь выраженные различия в характеристиках внимания между СД2Т-I и СД2Т-II группами, скорее всего, связаны с меньшей (менее 10 лет) длительностью заболевания.

Известно, что когнитивные функции тесно связаны с психическим здоровьем [60]. Не случайно, что у пациентов с СД 1-го и 2-го типа наблюдались те же изменения психического компонента здоровья, что и характеристик внимания в зависимости от длительности заболевания.

Анализ различий характеристик внимания у пациентов с СД 1-го и 2-го типа при длительности заболевания <6 лет показал, что у пациентов с СД1Т значения показателей внимания были ниже, чем у пациентов с СД2Т. Несмотря на то, что пациенты с СД 1-го и 2-го типа имели одинаковое количество НОС, пациентам с СД1Т требовалось значительно больше времени на их обработку. В то же время пациенты с СД1Т, имеющие значительно большее количество НПС, тратили больше времени на их обработку.

При сравнении характеристик произвольного внимания у пациентов с СД 1-го и 2-го типа с длительностью заболевания от 6 до10 лет, межгрупповые различия наблюдались в следующих характеристиках. Так, СД1Т-II группа имела меньший объем обрабатываемой информации и низкую скорость ее обработки, низкую концентрацию и продуктивность внимания по сравнению с СД2Т-II группой. Вместе с тем СД1Т-II группа отличалась большим количеством НОС по сравнению с СД2-II группой, при этом затрачивая столько же времени на их обработку. Хотя количество НПС у этих групп не отличалось, однако СД1Т-II группе понадобилось значительно больше времени для идентификации и дифференциации символов. Сравнение количества ошибок обоих типов и времени их обработки свидетельствует о сравнительно низкой способности к дифференциации символов у пациентов с СД1Т.

Мы предполагаем, что выявленные различия в характеристиках произвольного внимания и качества жизни между пациентами с СД 1-го и 2-го типа, скорее всего, обусловлены характерным для каждого типа течением заболевания. У пациентов с СД1Т в первые годы (< 6 лет) скорость прогрессирования заболевания высока и снижается в последующие годы (6–10 лет). У пациентов с СД2Т заболевание про-

грессирует медленно и в первые годы (<6 лет) скорость прогрессирования отстает от скорости развития заболевания у пациентов с СД1Т. В последующие годы (6–10 лет) у пациентов с СД2Т заболевание продолжает прогрессировать, что приводит к уменьшению различий между группами двух типов СД.

Данное исследование имеет некоторые ограничения. Размер выборки был относительно небольшим, но, несмотря на это, были получены статистически значимые различия в параметрах. Уровень HbA1c, который является более информативным тестом, чем уровень сахара в крови натощак для оценки состояния гликемического контроля у пациентов с диабетом, не определялся, поэтому связь между уровнем сахара в крови и когнитивной дисфункцией не обсуждалась. В этом исследовании учитывались факторы возраста и продолжительности заболевания, хотя было несколько других сопутствующих факторов, которые не были скорректированы. Другие факторы, такие как режим терапевтического лечения, пол, ИМТ, привычки в еде и курении, социально-экономические факторы, могут играть важную роль и должны учитываться в дальнейших исследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие когнитивных нарушений у пациентов с СД 1-го и 2-го типа имеет много общего, но есть также существенные различия. В нашем исследовании выявлено снижение уровня произвольного внимания и качества жизни у пациентов с СД 1-го и 2-го типа по сравнению со здоровыми испытуемыми. Нами также обнаружены изменения уровня произвольного внимания у пациентов с СД в зависимости от длительности заболевания. У пациентов с СД2Т с увеличением продолжительности заболевания наблюдалось снижение показателей произвольного внимания. Однако у пациентов с СД1Т с увеличением длительности заболевания выявлена стабильность и некоторое улучшение характеристик произвольного внимания. Показан более низкий уровень внимания у пациентов с СД1Т по сравнению с пациентами с СД2Т. В то же время эта разница была более выражена у пациентов с длительностью заболевания < 6 лет. Изменения КЖ (психического статуса) пациентов с СД в зависимости от типа и длительности заболевания имели ту же тенденцию, что и изменения характеристик произвольного внимания.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (Н.Э.Т.), набор испытуемых и сбор данных (М.Г., А.А.С.), статистический анализ и написание статьи (Н.Э.Т., А.А.Т.), редактирование статьи (А.С.Х., А.А.Т.)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *International Diabetes Federation* (2021) IDF Diabetes Atlas, 10th edn. Brussels, Belgium. Available at: https://www.diabetesatlas.org
2. *American Diabetes Association* (2014) Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 37 Suppl 1: S81–90. https://doi.org/10.2337/dc14-S081
3. *Leung WK, Gao L, Siu PM, Lai CW* (2016) Diabetic nephropathy and endothelial dysfunction: Current and future therapies, and emerging of vascular imaging for preclinical renal-kinetic study. Life Sci 166: 121–130. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.10.015

4. *Cole JB, Florez JC* (2020) Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. Nat Rev Nephrol 16(7): 377–390.
https://doi.org/10.1038/s41581-020-0278-5
5. *Kawamura T, Umemura T, Hotta N* (2012) Cognitive impairment in diabetic patients: Can diabetic control prevent cognitive decline? J Diabetes Investig 3(5): 413–423.
https://doi.org/10.1111/j.2040-1124.2012.00234.x
6. *Hamed SA* (2017) Brain injury with diabetes mellitus: evidence, mechanisms and treatment implications. Expert Rev Clin Pharmacol 10(4): 409–428.
https://doi.org/10.1080/17512433.2017.1293521
7. *Zhou J, Zhang Z, Zhou H, Qian G* (2020) Diabetic Cognitive Dysfunction: From Bench to Clinic. Curr Med Chem 27(19): 3151–3167.
https://doi.org/10.2174/1871530319666190206225635
8. *Moran C, Münch G, Forbes JM, Beare R, Blizzard L, Venn AJ, Phan TG, Chen J, Srikanth V* (2015) Type 2 diabetes, skin autofluorescence, and brain atrophy. Diabetes 64(1): 279–283.
https://doi.org/10.2337/db14-0506
9. *Saedi E, Gheini MR, Faiz F, Arami MA.* (2016) Diabetes mellitus and cognitive impairments. World J Diabetes (17): 412–422.
https://doi.org/10.4239/wjd.v7.i17.412
10. *Shalimova A, Graff B, Gąsecki D, Wolf J, Sabisz A, Szurowska E, Jodzio K, Narkiewicz K* (2019) Cognitive Dysfunction in Type 1 Diabetes Mellitus. J Clin Endocrinol Metab 104(6): 2239–2249.
https://doi.org/10.1210/jc.2018-01315
11. *Tamura Y, Araki A* (2015) Diabetes mellitus and white matter hyperintensity. Geriatr Gerontol Int 15 Suppl 1: 34–42.
https://doi.org/10.1111/ggi.12666
12. *Musen G, Jacobson AM, Bolo NR, Simonson DC, Shenton ME, McCartney RL, Flores VL, Hoogenboom WS* (2012) Resting-state brain functional connectivity is altered in type 2 diabetes. Diabetes 61(9): 2375–2379.
https://doi.org/10.2337/db11-1669
13. *Lee JH, Choi Y, Jun C, Hong YS, Cho HB, Kim JE, Lyoo IK* (2014) Neurocognitive changes and their neural correlates in patients with type 2 diabetes mellitus. Endocrinol Metab (Seoul) 29(2): 112–121.
https://doi.org/10.3803/EnM.2014.29.2.112
14. *Zhang H, Hao Y, Manor B, Novak P, Milberg W, Zhang J, Fang J, Novak V* (2015) Intranasal insulin enhanced resting-state functional connectivity of hippocampal regions in type 2 diabetes. Diabetes 64(3): 1025–1034.
https://doi.org/10.2337/db14-1000
15. *Yang SQ, Xu ZP, Xiong Y, Zhan YF, Guo LY, Zhang S, Jiang RF, Yao YH, Qin YY, Wang JZ, Liu Y, Zhu WZ* (2016) Altered Intranetwork and Internetwork Functional Connectivity in Type 2 Diabetes Mellitus With and Without Cognitive Impairment. Sci Rep 6: 32980.
https://doi.org/10.1038/srep32980
16. *Luchsinger JA, Reitz C, Patel B, Tang MX, Manly JJ, Mayeux R* (2007) Relation of diabetes to mild cognitive impairment. Arch Neurol 64(4): 570–575.
https://doi.org/10.1001/archneur.64.4.570
17. *Roberts RO, Geda YE, Knopman DS, Christianson TJ, Pankratz VS, Boeve BF, Vella A, Rocca WA, Petersen RC* (2008) Association of duration and severity of diabetes mellitus with mild cognitive impairment. Arch Neurol 65(8): 1066–1073.
https://doi.org/10.1001/archneur.65.8.1066
18. *Musen G, Tinsley LJ, Marcinkowski KA, Pober D, Sun JK, Khatri M, Huynh R, Lu A, King GL, Keenan HA* (2018) Cognitive Function Deficits Associated With Long-Duration Type 1 Diabetes and Vascular Complications. Diabetes Care 41(8): 1749–1756.
https://doi.org/10.2337/dc17-1955
19. *Pelimanni E, Jehkonen M* (2019) Type 2 Diabetes and Cognitive Functions in Middle Age: A Meta-Analysis. J Int Neuropsychol Soc 25(2): 215–229.
https://doi.org/10.1017/S1355617718001042
20. *Самойлова ЮГ, Ротканк МА, Жукова НГ, Матвеева МВ, Толмачев ИВ, Кудлай ДА* (2018) Маркеры когнитивных нарушений и вариабельности гликемии у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа. Журнал неврологии и психиатрии им СС Корсакова 118(4): 48–51. [*Samoilova YG, Rotkank MA, Zhukova NG, Matveeva MV, Tolmachev IV, Kudlay DA* (2018) Markers for cognitive impairments and variability of glycaemia in patients with type 1 diabetes mellitus. Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova 118(4): 48–51. (In Russ)].
https://doi.org/10.17116/jnevro20181184148-51
21. *Moheet A, Mangia S, Seaquist ER* (2015) Impact of diabetes on cognitive function and brain structure. Ann N Y Acad Sci 1353: 60–71.
https://doi.org/10.1111/nyas.12807
22. *Embury CM, Wiesman AI, McDermott TJ, Proskovec AL, Heinrichs-Graham E, Lord GH, Brau KL, Drincic AT, Desouza CV, Wilson TW* (2019) The impact of type 1 diabetes on neural

activity serving attention. Hum Brain Mapp 40(4): 1093–1100.
https://doi.org/10.1002/hbm.24431
23. *Zhang YW, Zhang JQ, Liu C, Wei P, Zhang X, Yuan QY, Yin XT, Wei LQ, Cui JG, Wang J* (2015) Memory dysfunction in type 2 diabetes mellitus correlates with reduced hippocampal CA1 and subiculum volumes. Chin Med J (Engl) 128(4): 465–471.
https://doi.org/10.4103/0366-6999.151082
24. *Zilliox LA, Chadrasekaran K, Kwan JY, Russell JW* (2016) Diabetes and Cognitive Impairment. Curr Diab Rep 16(9): 87.
https://doi.org/10.1007/s11892-016-0775-x
25. *Ding X, Fang C, Li X, Cao YJ, Zhang QL, Huang Y, Pan J, Zhang X* (2019) Type 1 diabetes-associated cognitive impairment and diabetic peripheral neuropathy in Chinese adults: results from a prospective cross-sectional study. BMC Endocr Disord 19(1): 34.
https://doi.org/10.1186/s12902-019-0359-2
26. *Roy S, Kim N, Desai A, Komaragiri M, Baxi N, Jassil N, Blessinger M, Khan M, Cole R, Desai N, Terrigno R, Hunter K* (2015) Cognitive Function and Control of Type 2 Diabetes Mellitus in Young Adults. N Am J Med Sci 7(5): 220–226.
https://doi.org/10.4103/1947-2714.157627
27. *Sun L, Diao X, Gang X, Lv Y, Zhao X, Yang S, Gao Y, Wang G* (2020) Risk Factors for Cognitive Impairment in Patients with Type 2 Diabetes. J Diabetes Res 2020: 4591938.
https://doi.org/10.1155/2020/4591938
28. *Gandek B, Sinclair SJ, Kosinski M, Ware JE Jr* (2004) Psychometric evaluation of the SF-36 health survey in Medicare managed care. Health Care Financ Rev 25(4): 5–25.
29. *Ware JE Jr.* (2000) SF-36 health survey update. Spine (Phila Pa 1976) 25(24): 3130–3139.
https://doi.org/10.1097/00007632-200012150-00008
30. *Brickenkamp R* (2012) d2, Test de Atención: Manual. Adaptación española: Nicolas Seisdedos Cubero. 4ed. Madrid: TEA Ediciones, S.A.U.
31. *Сидоров КР (*2012) Количественная оценка продуктивности внимания в методике “Корректурная проба” Б. Бурдона. Вестн Удмуртск универ Вып 4 50–57. [*Sidorov KR* (2012) Qualitative Assessment of the Efficiency of Attention in the Methodology of “Cancellation Test” by B. Bourdon. Bull Udmurt State University 4: 50–57. (In Russ)].
32. *Lin J-D, Chen Y-L, Wu C-Z, Hsieh C-H, Pei D, Liang Y-J, Chang J-B* (2016) Identification of Normal Blood Pressure in Different Age Group. Medicine (Baltimore) 95(14): e3188.
https://doi.org/10.1097/MD.0000000000003188
33. *Eguchi K.* (2015) Blood Pressure Management in Patients with Type 2 Diabetes. Intern Med 54(18): 2285–2289.
https://doi.org/10.2169/internalmedicine.54.5617
34. *Dederer J, Bewarder Y, Mahfoud F, Böhm M* (2019) Blutdruckziele bei Patienten mit Diabetes mellitus : Was sind optimale Werte? [Blood pressure targets in patients with diabetes mellitus : What are optimum values?]. Herz 44(3): 231–237. German.
https://doi.org/10.1007/s00059-019-4796-5
35. *Mokhtari Z, Gheshlagh RG, Kurdi A* (2019) Health-related quality of life in Iranian patients with type 2 diabetes: An updated meta-analysis. Diabetes Metab Syndr 13(1): 402–407.
https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.10.007
36. *Krzemińska S, Bąk E, Šáteková L, Polanská A, Hašová K, Laurinc M* (2020) Comparison of Diabetes-Dependent Quality of Life (ADDQoL) in Patients with T2DM in Poland, The Czech Republic, and Slovakia. Diabetes Metab Syndr Obes 13: 3773–3786.
https://doi.org/10.2147/DMSO.S273339
37. *Zurita-Cruz JN, Manuel-Apolinar L, Arellano-Flores ML, Gutierrez-Gonzalez A, Najera-Ahumada AG, Cisneros-González N* (2018) Health and quality of life outcomes impairment of quality of life in type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional study. Health Qual Life Outcomes 16(1): 94.
https://doi.org/10.1186/s12955-018-0906-y
38. *Jing X, Chen J, Dong Y, Han D, Zhao H, Wang X, Gao F, Li C, Cui Z, Liu Y, Ma J* (2018) Related factors of quality of life of type 2 diabetes patients: a systematic review and meta-analysis. Health Qual Life Outcomes 16(1): 189.
https://doi.org/10.1186/s12955-018-1021-9
39. *Abdul-Rasoul M, AlOtaibi F, Abdulla A, Rahme Z, AlShawaf F* (2013) Quality of life of children and adolescents with type 1 diabetes in Kuwait. Med Princ Pract 22(4): 379–384.
https://doi.org/10.1159/000347052
40. *Bhavani N, Prince S, Menon AS, Abraham N, Pavithran PV, Menon UV, Nair V, Kumar H* (2021) Health related quality of life in pediatric onset Type 1 diabetes mellitus in Kerala, India. Pediatr Diabetes 22(2): 369–373.
https://doi.org/10.1111/pedi.13151
41. *Spasić A, Radovanović R, Đorđević A, Stefanović N, Cvetković T* (2014) Quality of Life in Type 2 Diabetic Patients. Acta Facultatis Medicae Naissensis 31(3):193-200.
https://doi.org/10.2478/afmnai-2014-0024

42. *PrasannaKumar HR, Mahesh MG, Menon VB, Srinath KM, Shashidhara KC, Ashok P* (2018) Patient Self-reported quality of life assessment in Type 2 diabetes mellitus: A pilot study. Niger J Clin Pract 21(3): 343–349.
https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_433_16
43. *Bąk E, Nowak-Kapusta Z, Dobrzyn-Matusiak D, Marcisz-Dyla E, Marcisz C, Krzemińska SA* (2019) An assessment of diabetes-dependent quality of life (ADDQoL) in women and men in Poland with type 1 and type 2 diabetes. Ann Agric Environ Med 26(3): 429–438.
https://doi.org/10.26444/aaem/99959
44. *McCrimmon RJ, Ryan CM, Frier BM* (2012) Diabetes and cognitive dysfunction. Lancet 379(9833): 2291–2299.
https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60360-2
45. *Ryan CM, van Duinkerken E, Rosano C* (2016) Neurocognitive consequences of diabetes. Am Psychol 71(7): 563–576.
https://doi.org/10.1037/a0040455
46. *Biessels GJ, Despa F* (2018) Cognitive decline and dementia in diabetes mellitus: mechanisms and clinical implications. Nat Rev Endocrinol 14(10): 591–604.
https://doi.org/10.1038/s41574-018-0048-7
47. *Lee HJ, Seo HI, Cha HY, Yang YJ, Kwon SH, Yang SJ* (2018) Diabetes and Alzheimer's Disease: Mechanisms and Nutritional Aspects. Clin Nutr Res 7(4): 229–240.
https://doi.org/10.7762/cnr.2018.7.4.229
48. *Zhao X, Han Q, Lv Y, Sun L, Gang X, Wang G* (2017) Biomarkers for cognitive decline in patients with diabetes mellitus: evidence from clinical studies. Oncotarget 9(7): 7710–7726.
https://doi.org/10.18632/oncotarget.23284
49. *Mayeda ER, Whitmer RA, Yaffe K* (2015) Diabetes and cognition. Clin Geriatr Med 31(1): 101–115, ix.
https://doi.org/10.1016/j.cger.2014.08.021
50. *Brismar T, Maurex L, Cooray G, Juntti-Berggren L, Lindström P, Ekberg K, Adner N, Andersson S* (2007) Predictors of cognitive impairment in type 1 diabetes. Psychoneuroendocrinology 32(8–10): 1041–1051.
https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.08.002
51. *Trujeque-Ramos S, Castillo-Rolón D, Galarraga E, Tapia D, Arenas-López G, Mihailescu S, Hernández-López S* (2018) Insulin Regulates $GABA_A$ Receptor-Mediated Tonic Currents in the Prefrontal Cortex. Front Neurosci 12: 345.
https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00345
52. *Ghasemi R, Haeri A, Dargahi L, Mohamed Z, Ahmadiani A* (2013) Insulin in the brain: sources, localization and functions. Mol Neurobiol 47(1): 145–171.
https://doi.org/10.1007/s12035-012-8339-9
53. *Arnold SE, Arvanitakis Z, Macauley-Rambach SL, Koenig AM, Wang HY, Ahima RS, Craft S, Gandy S, Buettner C, Stoeckel LE, Holtzman DM, Nathan DM* (2018) Brain insulin resistance in type 2 diabetes and Alzheimer disease: concepts and conundrums. Nat Rev Neurol 14(3): 168–181.
https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.185
54. *Arvanitakis Z, Wang HY, Capuano AW, Khan A, Taïb B, Anokye-Danso F, Schneider JA, Bennett DA, Ahima RS, Arnold SE* (2020) Brain Insulin Signaling, Alzheimer Disease Pathology, and Cognitive Function. Ann Neurol 88(3): 513–525.
https://doi.org/10.1002/ana.25826
55. *Gaddam M, Singh A, Jain N, Avanthika C, Jhaveri S, De la Hoz I, Sanka S, Goli SR* (2021) A Comprehensive Review of Intranasal Insulin and Its Effect on the Cognitive Function of Diabetics. Cureus 13(8): e17219.
https://doi.org/10.7759/cureus.17219
56. *Benedict C, Hallschmid M, Schmitz K, Schultes B, Ratter F, Fehm HL, Born J, Kern W* (2007) Intranasal insulin improves memory in humans: superiority of insulin aspart. Neuropsychopharmacology 32(1): 239–243.
https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301193
57. *Ritze Y, Kern W, Ebner EM, Jahn S, Benedict C, Hallschmid M* (2018) Metabolic and Cognitive Outcomes of Subchronic Once-Daily Intranasal Insulin Administration in Healthy Men. Front Endocrinol (Lausanne) 13 9: 663.
https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00663
58. *Shemesh E, Rudich A, Harman-Boehm I, Cukierman-Yaffe T* (2012) Effect of intranasal insulin on cognitive function: a systematic review. J Clin Endocrinol Metab 97(2): 366–376.
https://doi.org/10.1210/jc.2011-1802
59. *Gao Y, Xiao Y, Miao R, Zhao J, Zhang W, Huang G, Ma F* (2015) The characteristic of cognitive function in Type 2 diabetes mellitus. Diabetes Res Clin Pract 109(2): 299–305.
https://doi.org/10.1016/j.diabres.2015.05.019
60. *Jeste DV* (2019) Frailty and mental health: association with cognition, sleep, and well-being in older adults. Int Psychogeriatr 31(6): 755–757.
https://doi.org/10.1017/S1041610219000863

Voluntary Attention and Quality of Life in Patients with Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus: Differences in Changes Depending on Disease Type and Duration

N. E. Tadevosyan[a], A. S. Khachunts[a], M. Gohargani[b], A. A. Sahakyan[a], and A. A Tumanian[a, *]

[a] *Orbeli Institute of Physiology NAS RA, Yerevan, Armenia*
[b] *Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Islamic Republic of Iran*
**e-mail: tumanyanaa@mail.ru*

The article covers the study of cognitive processes in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus (DM) with disease duration of <6 years, 6–10 years and >10 years. In this study a modified analog of the d2 Test – "Clocks Carrousel" Test and SF-36 questionnaire for a self-assessment of quality of life were used. A mild cognitive impairment, namely, decrease in the level of voluntary attention, and a reduced quality of life were found in patients with type 1 and type 2 DM. It was shown that the duration of the disease affects the cognitive processes in DM patients. However, the changes differ in nature depending on the type of diabetes. In patients with T1DM the stability and some improvement of attention characteristics was observed with an increase in disease duration. The revealed changes in attention characteristics in patients with T2DM indicated some decrease in the level of voluntary attention with an increase in disease duration. The comparative analysis showed that the patients with T1DM had a lower level of attention compared with patients with T2DM. These differences were more expressed in patients with disease duration of <6 years. The SF-36 test results revealed the same tendency of changes in mental status of the patients with DM depending on type and disease duration as changes in the characteristics of voluntary attention.

Keywords: Type 1 Diabetes Mellitus, Type 2 Diabetes Mellitus, Voluntary Attention, Quality of Life, Disease Duration

EDN: TQHDSI
РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2022, том 108, № 4, с. 474–489

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ РЕШЕНИЕ ОБРАТНОЙ ЗАДАЧИ ЭЭГ ИССЛЕДОВАНИЯ В ПОКОЕ И В УСЛОВИЯХ СЛУХОРЕЧЕВОЙ НАГРУЗКИ

© 2022 г. С. А. Гуляев*

Федеральный центр мозга и нейротехнологий Федерального медико-биологическое агентства России, Москва, Россия

**E-mail: s.gulyaev73@gmail.com*

Поступила в редакцию 26.01.2022 г.
После доработки 15.02.2022 г.
Принята к публикации 18.02.2022 г.

Речь – основной механизм интеграции человека в общество и освоения им накопленных знаний, поэтому ее нарушения вызывают выраженную социальную дезадаптацию. В настоящее время требуется разработка объективного метода функционального исследования, позволяющего выявлять быстропротекающие процессы в нейронных сетях головного мозга, фиксировать их и формировать результаты исследований, связанные с базовыми анатомическими представлениями о структуре мозга. Однако такой диагностический метод должен иметь высокую степень временного разрешения, чтобы иметь возможности выявлять последовательности процессов возбуждения и торможения, протекающих в структуре нейронных сетей, формирующих речь. В нашем исследовании сделана попытка разработки технологии регистрации последовательностей активации мозговых структур при слухоречевой нагрузке на основании метода решения обратной задачи ЭЭГ. Полученные результаты демонстрируют особенности нейрофизиологической регистрации ЭЭГ-сигнала, его общую реакцию на функциональную нагрузку и связь с физиологическими состояниями мозговой ткани.

Ключевые слова: речь, речевая функция, обратная задача ЭЭГ, мозговые ритмы

DOI: 10.31857/S0869813922040033

Речь – основной механизм интеграции человека в общество и освоения им накопленных знаний, поэтому ее нарушения уже более 100 лет привлекают внимание исследователей как главный субстрат социального взаимодействия. В отличие от животных, социальные аспекты человеческой жизни настолько важны, что делают существование человека вне общества неполноценным не только на психологическом, но и на физическом уровне, поскольку именно социальное взаимодействие формирует в постнатальном периоде развития новые структурные элементы, необходимые для усвоения накопленных человечеством знаний.

Клинические наблюдения за людьми, утратившими речь в результате развития заболевания, и постмортальные находки позволили исследователям сформировать четкое представление о реализации речи как активности определенных участков мозга, но бурное развитие диагностических технологий в конце прошлого века заставило пересмотреть эти “устоявшиеся” воззрения и предложить новые модели реализации речевой функции, однако их внедрение в практику потребовало изменений понимания не только паталогоанатомических принципов формирования заболевания, но и новых знаний о медицинской технологии.

УНИКАЛЬНОСТЬ РЕЧИ КАК МОДЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА

Речь – филогенетически относительно молодая мозговая функция, формирование которой строго ограничено по времени. Любое нарушение этого процесса, наблюдаемое среди феральных детей или вследствие первичного поражения слуховых центров, приводит либо к отсутствию данной функции, либо к ее замещению на иные коммуникационные системы.

Речь имеет два главных функциональных центра, отвечающих за понимание внешних фонем и за продукцию собственных. Их взаимодействие обеспечивает реализацию речевой функции, а нарушение – развитие различного рода состояний, называемых афазиями.

В 1982 г. Mishkin и Ungerleider [1], изучая слуховую кору обезьян и проводя сравнения с реализацией речевой функции у человека, формулируют новую идею реализации речевой функции, получившей название “Двухпотоковой теории”, основным постулатом которой является организация человеческой речи как двух взаимосвязанных потоков информации. Данная модель показала, что в реализации речевой функции принимает участие практически весь мозг, а не ограниченное число латерализованных корковых центров, что позволило описать практически все виды клинически проявляющихся у человека афазий. Дальнейшее развитие этой идеи позволило Sporns с соавт. [2] ввести новый термин – мозговой коннектом как общую связь между функциональными элементами в модели многоуровневой функциональной нейронной сети [3].

В результате, на сегодняшний день в научной среде возникла острая необходимость в объективно-доказательных методах, позволяющих исследовать речь как комплекс, состоящий из речевых центров и речевых связей, и способных выявлять последовательности их активаций при реализации речевой функции [4].

РАЗВИТИЕ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕЧЕВОЙ ФУНКЦИИ

Работы Broca и Wernicke, положившие основу научному исследованию речевой функции, реализовывали подтверждения своих клинических наблюдений последующим патоморфологическим подтверждением дефекта мозговых структур [5, 6]. Но уже к началу XX века стало ясно, что такой подход не позволяет произвести большие исследования на уровне мономорфных групп, поэтому внимание исследователей сосредоточилось на клинических методах исследований с помощью различных тестов и их объединений. Наиболее впечатляющих результатов в этих исследованиях добились представители школы Выгодского, а Лурия практически завершил их совершенствование, доказав, что в формировании речи наиболее важна связь активности всех речевых центров, что и формирует понятие единой речевой функции. Однако клинический метод, при всех его достоинствах, оказался чрезвычайно зависимым от субъективных факторов, а убедительных методов инструментального подтверждения клинических находок, основанных на иных, чем патоморфологическое исследование принципах, еще не было разработано [7].

В 40-х годах прошлого века Penfild, стараясь преодолеть ограничения объективных методик, построенных на постмортальном исследовании или нейрохирургическом вмешательстве, обращает внимание на развитие функциональных нарушений у больных фокальной эпилепсией и предлагает новый неинвазивный подход к исследованию функциональной активности головного мозга – “Эпилептический метод”. В 1957 г. Landau и Kleffner доказали его эффективность, открыв специфическую форму эпилептической афазии [8].

В 1980 г. Kutas и Hillyard [9] обнаружили, что восприятие слуховой парадигмы с семантическими ошибками вызывает появление негативного пика через 400 мс по-

сле предъявления стимула N400, который они связали с процессом лексико-семантической интеграции слова в контекст. Использование парадигм с синтаксическими и морфосинтаксическими аномалиями, проведенное Osterhout, Holcomb и Swinney в 1992 г., сопровождалось регистрацией позитивного потенциала через 600 мс после предъявления стимула, возникновение которого было связано с трудностями обработки синтаксической информации и процессом синтаксического реанализа [10, 11].

В настоящее время методики регистрации вызванных потенциалов активно используются для получения объективной информации о механизмах реализации речи [7, 12]. Однако такой подход не позволяет сформировать представления о реализации речевой функции как непрерывной последовательности в структуре нейронной сети и ее связи с базовыми анатомическими образованиями мозга [13].

Активно развивающаяся магнитно-резонансная томография (МРТ) внутричерепных структур, дополненная в 80-х годах прошлого века технологией определения BOLD (Blood Oxygen Level Dependent)-сигнала, позволила визуализировать основные мозговые центры, активно участвующие в реализации речевой функции, а применение методов диффузионно взвешенных изображений сместило интерес исследователей от изучения отдельных невральных структур к исследованию их функционального взаимодействия. Тем не менее, из-за высокой инертности, функциональная МРТ (фМРТ) не позволяет отследить динамику изучаемого процесса. Решение этого вопроса представляется в виде создания гибридных технологий с попыткой получать взаимодополняющую информацию об изучаемых объектах, связях мозговых центров и последовательностях их активации, однако такие системы чрезвычайно подвержены воздействию различных артефактных сигналов, возникающих в процессе реализации исследования, что фактически нивелирует все их преимущества [14].

Таким образом, в настоящее время требуется разработка объективного метода функционального исследования, позволяющего выявлять быстропротекающие процессы в нейронных сетях головного мозга, фиксировать их и формировать результаты исследований, связанные с базовыми анатомическими представлениями о структуре мозга [15].

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ РЕЧЕВОГО КОННЕКТОМА НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

Как было сказано выше, использование физических принципов построения фМРТ изображений не отвечают временным требованиям, необходимым для исследования реализующих последовательностей работы речевого коннектома. Это ограничение можно частично обойти, выбирая методы реализации простых функциональных заданий, но тем не менее, в результате исследователь получает суммарную картину активации всей нейронной сети.

Использование стимуляционных нейрофизиологических методик, выявляющих общие ответы на унифицированный раздражитель с амплитудной суммацией реакции на повторный стимул, требует физиологической конгруэнтности нейронных сетей, формирующих речевой коннектом, что в реальных условиях не реализуемо со стороны анатомических особенностей каждого индивидуума. В результате такие исследования дают обобщенную информацию по активности главных нейронных центров, которая хорошо сочетается и гибридизируется с данными фМРТ, но по информативности не превосходит их. Также в организации данного исследования весьма трудно реализовать исследование реакции мозга именно на морфо-фонетические сочетания, которые формируют человеческую речь, избегая ложной реакции на избранные стимулы и ритмы.

Решением данного методического вопроса является анализ периодов стабилизации спектральных характеристик общего энергетического поля скальпа – ЭЭГ-микросостояний. Во время анализа спектральных ЭЭГ-топограмм Lehmann с соавт. в 1998 г. обратил внимание на феномен дискретности перехода одной энергетической конфигурации скальпового поля к другой, во время которого одно стабильное состояние фиксировалось в течение некоего периода времени, а затем быстро сменялось другим, имеющим свои временные характеристики без переходных вариантов [16]. Этот феномен был интерпретирован на представлениях, согласно которым стабильное состояние генерируется скоординированной активностью отдельных нейронных макросетей, выполняющих одну или схожие функции. Это позволило выделить несколько базовых характеристик описания каждого из микросостояний, таких как 1) процент вовлеченности микросостояния в формирование спектрального поля скальпа, характеризующий активную нейронную сеть, формирующую микросостояние; 2) продолжительность отдельного микросостояния, отражающую сохранность структуры этой макросети, и 3) частота представленности отдельного микросостояния в секунду, характеризующее передачу активности между отдельными макросетями [17].

Таким образом, в настоящее время последовательность ЭЭГ-микросостояний рассматривается исследователями как прямое отражение состояния базовых механизмов реализации высших нервных функций посредством последовательной активации нейронных макросетей головного мога [18].

Цель данной работы заключалась в попытке предложить новый методический подход к исследованию динамики мозговых процессов, лежащих в основе речевой функции человека, с помощью современных нейрофизиологических методов регистрации последовательностей динамических процессов, протекающих в отдельных нейронных макросетях головного мозга.

Важность данной проблемы обусловлена тем фактом, что на сегодняшний момент не существует методик, способных оценить полную нейрофизиологическую картину реализации речевой функции в условиях реального течения времени.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Испытуемые

Основная группа исследования была составлена из 33 праворуких русскоговорящих здоровых взрослых, не имевших скрытых нарушений когнитивного статуса и скрытого течения внутренних болезней.

Возрастной диапазон участников исследования колебался от 19 до 60 лет, средний возраст составил 32.4 ± 9.4 лет. По гендерному признаку добровольцы распределялись следующим образом: 11 женщин (33%) и 12 (36%) мужчин. Все обследуемые имели высшее образование – 33 (100%); на момент исследования все (100% участников исследования) работали на производстве, связанном с умственной деятельностью. Русский язык для всех участников был родным.

Этические нормы и правила

Каждому участнику был разъяснен смысл и цели исследования, а также возможные побочные эффекты. Все процедуры, выполненные в исследованиях, соответствовали этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. с последующими изменениями. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие. Общий план исследования был одобрен локальным Этическим комитетом ФГБУ “ФЦМН” ФМБА России и утверждено приказом от 15.06.2021 № 148-1.

Регистрация ЭЭГ

В качестве базового метода исследования была выбрана непрерывная электроэнцефалография высокой плотности записи с последующей кластеризацией и выделением отдельных классов ЭЭГ-микросостояний. Такой режим регистрации данных лучше соответствовал идее исследования и позволял минимизировать множественные мимические артефакты, связанные с реакцией на парадигму повторяющихся раздражителей (особенно на этапе нагрузки с прослушиванием речи). Запись ЭЭГ проводилась в затемненной комнате с относительной звукоизоляцией, в состоянии расслабленного бодрствования с закрытыми глазами. Изменения исходного состояния осуществлялось либо с помощью прослушивания аудиозаписи короткого рассказа на родном языке, либо при пересказе такового. Таким образом, на выходе исследователь получал три эквивалентные по времени и физиологическому состоянию испытуемого записи, содержащие как фоновое (базовое) состояние, так и реакции мозговых структур на восприятие речи и на ее активную продукцию.

Все исследования проводили в первой половине дня, с 10 до 14 ч. Накануне пациенту разъяснялись цели и задачи, а также исключался прием снотворных или стимулирующих веществ. Ночной сон составлял не менее 8 ч, при нарушении этих условий исследование переносилось на другой день.

ЭЭГ регистрировали с помощью оригинальной 128-канальной системы Hydrocel-128 (США) с усредненным референтом. Запись, коммутация и аппаратная фильтрация биоэлектрического ЭЭ-сигнала была проведена с помощью биоусилителя “EGI-GES-300” (Magstim, США). Полученный сигнал был преобразован в цифровую форму посредством дискретизации с частотой Найквиста 500 Гц, что позволило исключать искажение сигнала на частотах от 1 до 250 Гц. Полоса пропускания сигнала составляла от 0.5 до 70 Гц с включением режекторного сетевого фильтра 50 Гц, что включало основные диапазоны интереса (1–40 Гц). Подэлектродное сопротивление электродов (импеданс) не превышало 10 кОм и контролировалось в ходе всего исследования согласно рекомендациям фирмы-производителя. Помимо этого, выключались сторонние электрические приборы, создающие паразитные электромагнитные поля, контролировалось подэлектродное сопротивление интерфейса, регулировалась температура в помещении, минимизировались паразитные движения мышц путем выбора удобной позы.

В исследовании использовался весь пул из 128 активных электродов для исключения искажения получаемого результата на этапе проводимой постобработки. Применяемые ранее попытки удаления помех методом “bad electrodes reject” из записи неизменно приводили к значимым искажениям и невозможности сравнения результатов исследования ЭЭГ, поэтому было решено отказаться от данной практики на используемой в исследовании системе записи ЭЭГ. Такой подход к организации исследования позволял уменьшить влияние физических и физиологических факторов на запись и уменьшить количество первичных артефактных сигналов.

Математическая обработка и анализ полученных результатов проводились в несколько этапов. На первом этапе полученный пул данных проходил процедуру первичной фильтрации с помощью широкополосного фильтра 1–70 Гц, т.е. стандартизацию базового монтажа в единое электродное пространство. Общая энергия поля скальпа (общая структура спектра общего скальпового поля) определялась как совокупность спектральных мощностей сигнала ЭЭГ, полученных методом быстрого преобразования Фурье для каждого электрода, и интерполяцией полученных результатов на общую площадь скальповой поверхности.

На втором этапе выполнялась процедура выделения независимых компонент сигнала (ICA) с распознаванием его вида и типа через пакет прикладных программ

EEGLAB R2020a (2020 г.). Эта процедура позволяла убрать различные артефакты физической и биологической природы, которые имели частотные характеристики в пределах окна фильтра предварительной фильтрации.

На третьем этапе проводилась сегментация ЭЭГ-сигнала с выделением отдельных ЭЭГ-микросостояний методом кластеризации K-средних или методом адгезии – распыления с выделением 6 типов отдельных микросостояний (4 класса стабильных и два класса дополнительных), учитывая рекомендации Koening по вариабельности 5-го и 6-го класса и использованием плагина Microstates программного комплекса EEGLAB по методике [20] с учетом эквивалентной полярности. Выбор 6 классов ЭЭГ-микросостояний вместо 4 был сделан для возможности более полного анализа изменений биоэлектрической активности, регистрируемых во время реализации речевой функции с учетом двухпотоковой модели ее организации в головном мозге.

Заключительный этап исследования включал анализ локализации источника активности каждого из выделенных классов ЭЭГ-микросостояний по методике Pascual-Marqui (пакет прикладных программ sLORETA), методом анализа изменений спектральных характеристик энергии скальпового поля [21, 22].

В результате подобной системы обработки сигнала была получена информация о 6 отдельных классах ЭЭГ-микросостояний, включающая: время жизни микростостояния (Duration) – в мкс; частоту его регистрации в 1 с (Occurrence); объема вклада ЭЭГ-микросостояния в общую структуру спектральной плотности скальпового поля (Coverage), а также информацию об активности основного коркового поля, согласно атласа Бродмана, формирующего текущее ЭЭГ-микросостояние.

Статистическая обработка полученных результатов

Статистический анализ полученных результатов производился с помощью статистического пакета GNU-PSPP под управлением ОС Linux Mate 10.10. Общая структура статистического анализа включала следующие этапы. Проверку данных на достоверность и соответствия полученных данных модели альфа с помощью метода Кронбаха (0.5 < альфа), после которой для дальнейшего анализа использовался метод факторного анализа для выделения ведущих факторов. Для сравнения результатов применялся метод парного *t*-сравнения, поскольку изменения оценивались в одной группе наблюдения, соответственно поправка Бонферрони на множественность сравнений не вводилась из-за малого количества таковых. Во всех расчетах использовалась одна степень свободы, уровень доказательности был принят как альфа >0.05. Вся методика анализа была разработана согласно рекомендациям [24].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ ЭЭГ-микросостояний в период расслабленного пассивного бодрствования с закрытыми глазами показал общую нестабильность последовательностей всех классов ЭЭГ-микросостояний. На рис. 1 показано процентное соотношение вклада каждого из классов ЭЭГ-микросостояний в структуру спектра общего скальпового поля во время пребывания участников эксперимента в состоянии пассивного расслабленного бодрствования.

Как видно из представленного рисунка, регистрировался выраженный полиморфизм данного показателя по всем 6 исследованным классам ЭЭГ-микросостояний, формирующий хаотичное распределение на пространственной фигуре.

Однако в случае изменения условий окружающей среды, связанного с прослушиванием испытуемым текста на родном языке, картина представленности вклада всех классов ЭЭГ-микросостояний изменилась в сторону более упорядоченной последовательной структуры (рис. 2 и 3).

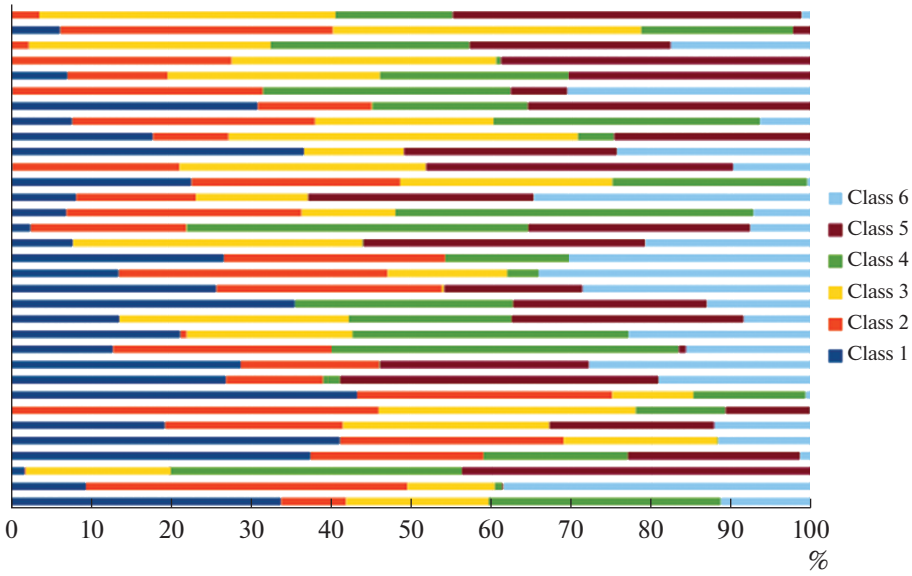


Рис. 1. Характеристика показателя вклада каждого из 6 классов ЭЭГ-микросостояний в формирование спектральной плотности скальпового поля в состоянии пассивного расслабленного бодрствования.

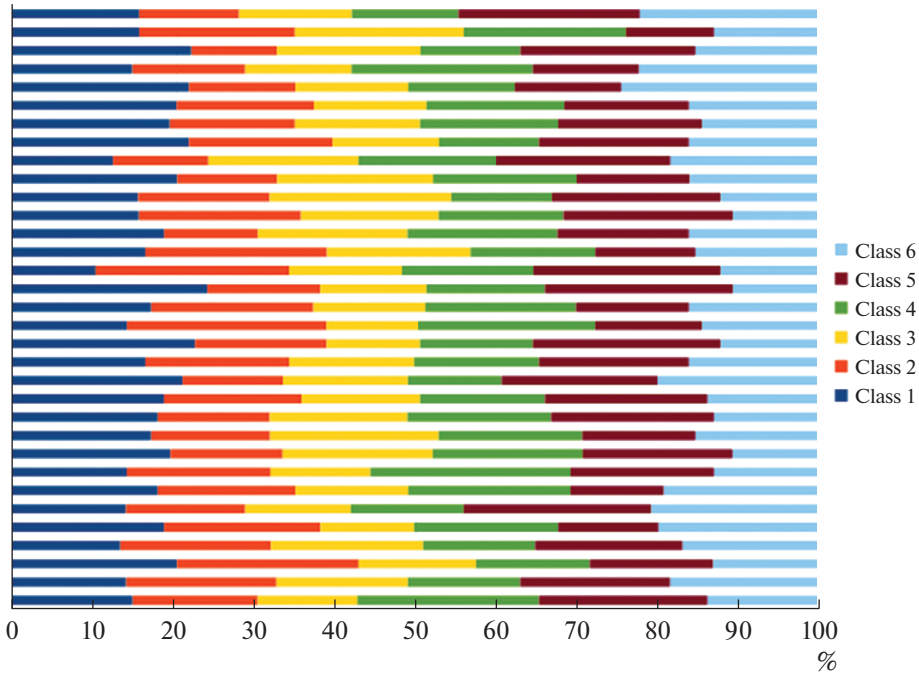


Рис. 2. Нормализация и упорядочивание последовательностей 6 классов ЭЭГ-микросостояний в условиях прослушивания речи на родном языке.

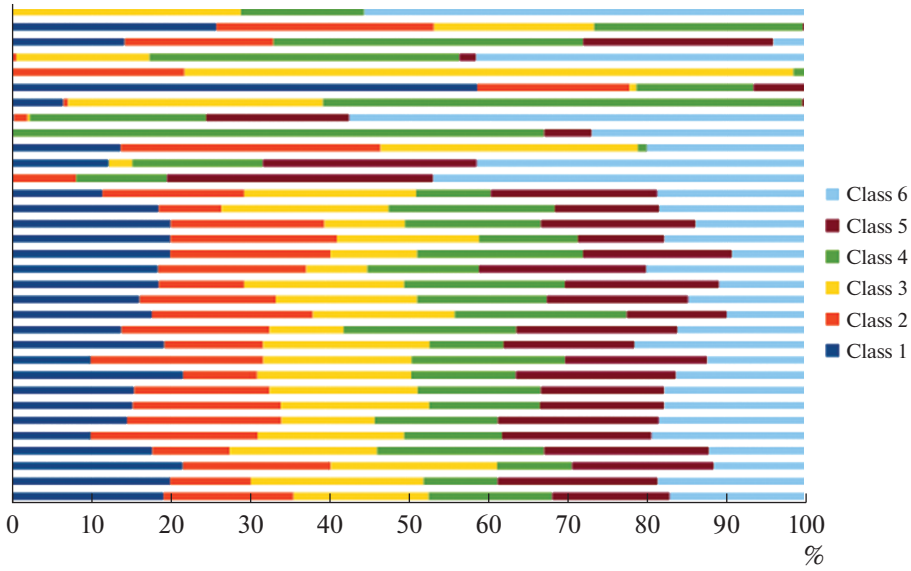


Рис. 3. Нормализация и упорядочивание последовательностей 6 классов ЭЭГ-микросостояний в условиях активной речевой продукции на родном языке.

Активная речевая продукция также вызывала формирование упорядоченной структуры последовательностей ЭЭГ-микросостояний, однако у части обследуемых (10 человек) наблюдались выраженные артефакты вследствие активности артикуляционных и мимических мышц, искажающих запись и неустранимых с помощью стандартно выполняемых процедур фильтрации и независимого анализа компонент. Данные результаты представляли именно физиологические особенности, так как исследования проводилось на единой аппаратуре, в близкие моменты времени, но в разные дни, наряду с участниками, продемонстрировавшими упорядоченную структуру организации микросостояний.

Сравнительная характеристика ЭЭГ-микросостояний, регистрируемых во время реализации речевой функции

Сравнительный анализ характеристик ЭЭГ-микросостояний в состоянии расслабленного бодрствования, прослушивания и активной речевой продукции, проведенный с помощью парного *t*-теста показал, что все три основные показателя – продолжительность существования, частота встречаемости и процент вклада, статистически значимо ($p < 0.05$) отличались во время прослушивания или активной речевой продукции от состояния пассивного расслабленного бодрствования. В то же время, статистически достоверная разница между величинами основных показателей состояния прослушивания и активной речевой продукции отсутствовала (рис. 4–6).

Анализ источника активности микросостояний посредством решения обратной задачи ЭЭГ и локализации в соответствии с атласом полей Бродмана

На основании полученных данных о существовании достоверной реакции мозговых сетей на слухоречевое раздражение, было проведено исследование каждого из микросостояний с целью выделения основного источника, ответственного за

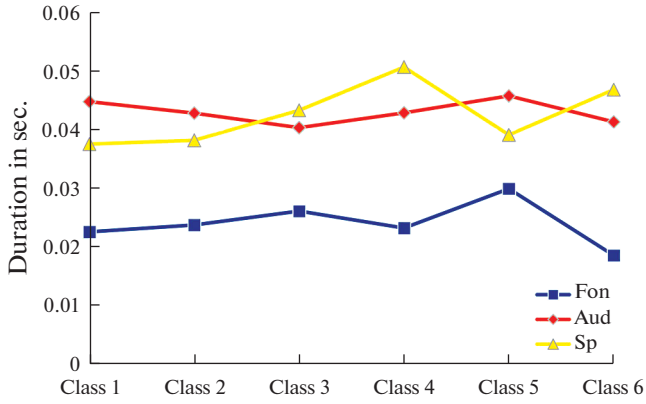


Рис. 4. Парное сравнение изменений продолжительности (Duration) в секундах. 1–6-е классы ЭЭГ-микросостояний в состоянии пассивного расслабленного бодрствования и при слухоречевой стимуляции, пара покой–прослушивание – $p < 0.001$; пара покой–активная речь – $p = 0.002$; пара прослушивание–активная речь – $p = 0.9$ (в представлении усредненных значений по классу ЭЭГ-микросостояний).

формирование регистрируемого класса текущего микросостояния, с помощью процедуры анализа источников сигнала, реализованного в программном пакете eLORETA.

Поскольку каждое из выделенных в ходе исследования ЭЭГ-микросостояний представляло собой относительно устойчивое во времени изменение структуры спектральной характеристики поля скальпа, решение обратной задачи ЭЭГ по методике [21] позволило осуществить построение трех основных последовательностей активации полей Бродмана у каждого обследованного, которые были объединены в общие матрицы, отражающие состояние фоновой активности при пассивном расслабленном бодрствовании, слуховой нагрузке и речевой продукции для всех обследованных (рис. 7–9).

Решение обратной задачи ЭЭГ с выделением источника для каждого из исследуемых классов ЭЭГ-микросостояний (согласно представления корковых полей Бродмана) показало следующие результаты. Так, в состоянии пассивного расслабленного бодрствования преимущественно выделялось поле 47, ответственное за музыкальное восприятие, а поля речевого анализатора не демонстрировали ритмической активности. Однако во время прослушивания текста выделялись как 44-е и 45-е поля Бродмана, соответствующих корковой локализации центра Брока, так и поля 39, 40, характеризующих корковое представительство центра Вернике.

В то же время при активной речи 44-е и 45 е поля Бродмана не определись, но при этом регистрировалась ритмическая активность полей 39 и 40 (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нестабильность ЭЭГ-микросостояний в период пассивного расслабленного бодрствования было описано ранее в работах [20, 25]. Однако нами был выявлен феномен формирования их спонтанной организации при предъявлении слухоречевой нагрузки. Возможно, имеет место не самоорганизация 6 классов ЭЭГ-микросостояний покоя, а организация нативного ЭЭГ-сигнала в ответ на функциональное раздражение с включением специфических нейронных сетей, требуемых для реализации выбранной функции, что подтверждалось результатами парного

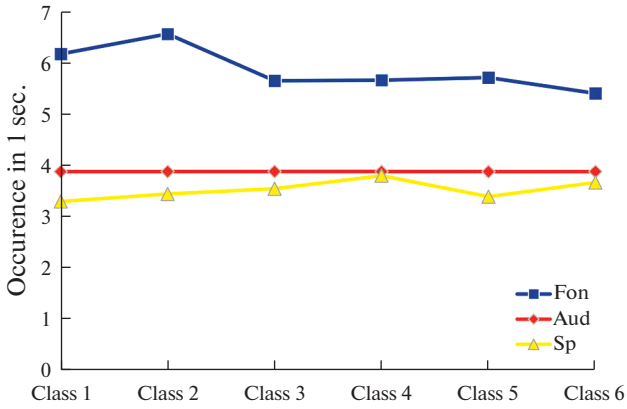


Рис. 5. Парное сравнение изменений частот встречаемости (Occurence) 1–6 классов ЭЭГ-микросостояний в течение 1 с в состоянии пассивного расслабленного бодрствования и при слухоречевой стимуляции, пара покой–прослушивание – $p < 0.001$; пара покой–активная речь – $p < 0.001$; пара прослушивание–активная речь – $p = 0.005$ (в представлении усредненных значений по классу ЭЭГ-микросостояний).

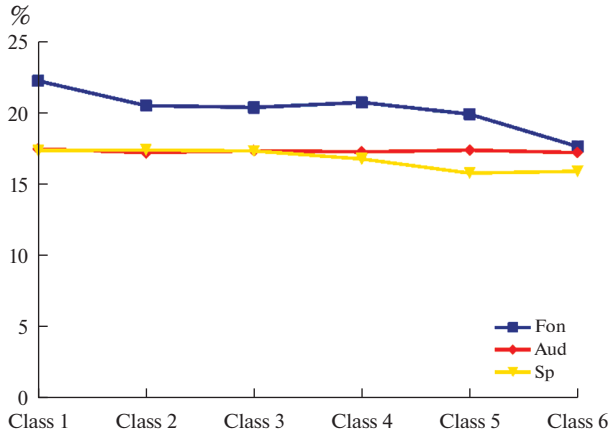


Рис. 6. Парное сравнение изменений показателя вклада (Coverage) каждого из классов ЭЭГ-микросостояний 1–6 классов в структуру общей спектральной плотности общего поля скальпа (в %) в состоянии пассивного расслабленного бодрствования и при слухоречевой стимуляции. Пара покой–прослушивание – $p < 0.005$; пара покой–активная речь – $p < 0.001$; пара прослушивание–активная речь – $p = 0.12$ (в представлении усредненных значений по классу ЭЭГ-микросостояний).

t-теста, продемонстрировавшими статистически значимые различия показателей ЭЭГ периода пассивного расслабленного бодрствования и ЭЭГ-периодов аудиоречевой стимуляции. Данные изменения характеризуются формированием упорядоченных последовательностей ЭЭГ-микросостояний различных классов, что, вероятно, характеризует существование единых путей передачи возбуждения между отдельными корковыми нейронными структурами, принимающими участие в реализации речевой функции. Несмотря на общую упорядоченность, эти последо-

# of case	Class 1	Class 2	Class 3	Class 4	Class 5	Class 6
1	11	19	19	21	19	18
2	47	19	19	18	19	18
3	18	47	19	19	18	19
4	21	19	19	19	18	11
5	19	18	19	18	19	47
6	19	18	18	19	47	19
6	19	19	19	18	18	47
8	19	18	19	21	19	11
9	19	11	19	21	18	19
10	19	19	19	11	18	21
11	18	11	19	21	19	19
12	47	19	18	19	19	18
13	11	19	19	19	21	18
14	11	19	19	21	19	18
15	19	19	47	19	18	18
16	18	11	21	19	19	19
17	19	47	18	18	19	19
18	19	19	18	18	19	47
19	11	19	19	19	21	18
20	18	18	47	19	19	19
21	21	11	19	19	19	18
22	19	11	19	18	19	21
23	19	11	18	19	19	21
24	18	19	18	47	19	19
25	11	19	19	18	21	19
26	19	19	18	18	19	47
27	18	11	21	19	19	19
28	19	47	19	18	18	19
29	47	18	19	18	19	19
30	19	11	18	19	19	21
31	19	18	18	19	19	47
32	18	11	19	19	21	19
33	19	19	47	18	19	18

Рис. 7. Последовательности регистрации “ритмической активности” полей Бродмана в условиях пассивного расслабленного бодрствования у обследованных, согласно классу ЭЭГ-микросостояния. (Выделены поля Бродмана, над которыми была зарегистрирована ритмическая ЭЭГ-активность).

Таблица 1. Регистрация “ритмической активности” полей Бродмана в состоянии пассивного расслабленного бодрствования и во время слухоречевой нагрузки (данные 33 наблюдений)

	Абс. количество	Процент
“Активность” Центра Брока при прослушивании [поля 44, 45]	8	24%
“Активность” Центра Вернике при прослушивании [поля 39, 40]	8	24%
“Активность” Центра Брока при активной речи [поля 44, 45]	0	0%
“Активность” Центра Вернике при активной речи [поля 39,40]	16	48%
“Активность” центра музыки при прослушивании [поле 47]	3	9%
“Активность” центра музыки при активной речи [поле 47]	1	3%
“Активность” центра музыки в покое [поле 47]	16	47%

# of case	Class 1	Class 2	Class 3	Class 4	Class 5	Class 6
1	39	19	19	18	19	37
2	21	19	7	19	10	44
3	19	19	21	10	39	19
4	47	11	37	18	19	39
5	44	11	19	10	19	19
6	19	37	44	21	7	37
6	40	21	37	19	39	10
8	18	10	19	19	19	18
9	10	19	7	21	7	22
10	19	19	19	39	19	18
11	18	22	37	19	7	19
12	19	21	39	10	11	45
13	19	19	19	21	18	7
14	39	37	47	19	21	7
15	37	19	18	21	7	21
16	18	10	19	7	7	19
17	11	19	19	37	18	39
18	7	19	19	37	47	39
19	19	10	19	19	19	39
20	7	21	37	19	19	22
21	11	37	19	45	10	44
22	37	19	19	19	10	22
23	10	19	20	10	19	19
24	10	19	19	19	19	21
25	19	18	19	10	21	7
26	19	22	19	18	18	19
27	19	19	44	18	11	19
28	19	21	7	7	19	19
29	37	37	19	44	19	10
30	19	18	19	19	10	19
31	11	18	21	21	19	19
32	19	11	38	37	21	7
33	19	19	19	39	18	19

Рис. 8. Последовательности регистрации “ритмической активности” полей Бродмана в условиях прослушивания у обследованных, согласно классу ЭЭГ-микросостояния. (Выделены поля Бродмана, над которыми была зарегистрирована ритмическая ЭЭГ-активность).

вательности различны для состояний прослушивания и активной речевой продукции, и, вероятно, уникальны у каждого человека в отдельности. Такая уникальность может быть как генетически детерминированной, так и развиваться вследствие уникальности развития каждого человека. Также не исключено, что эти два фактора могут оказывать сложное комбинированное влияние на процесс формирования человеческой речи.

В то же время решение обратной задачи ЭЭГ с помощью процедур локализации источника сигнала [17], основанных на данных спектральной плотности энергетического поля скальпа, не может быть гибридизировано с результатами фМРТ исследования из-за принципиальных технологических особенностей технологии исследования, демонстрирующего изменения МР характеристик гемоглобина, теряющего молекулу кислорода в функционально активных зонах.

В то же время процедура локализации источника сигнала путем решения обратной задачи ЭЭГ учитывает в качестве исходных данных характеристики спектральной плотности энергетического поля скальпа, которые выше у участков мозговой

# of case	Class 1	Class 2	Class 3	Class 4	Class 5	Class 6
1	2	19	19	21	10	21
2	19	22	18	19	7	21
3	7	18	19	19	39	10
4	19	2	20	19	19	18
5	21	7	18	20	10	11
6	21	19	10	19	37	2
6	10	21	21	19	37	2
8	10	39	11	19	19	21
9	37	21	10	21	2	38
10	10	19	7	37	19	2
11	10	21	19	21	11	19
12	39	21	37	21	10	2
13	7	22	21	2	18	19
14	37	19	19	7	21	10
15	19	2	39	19	10	21
16	39	19	10	39	37	39
17	20	10	19	11	38	19
18	22	10	7	19	21	19
19	10	11	39	21	19	19
20	18	7	19	21	20	7
21	21	19	7	39	10	39
22	39	19	19	39	17	18
23	10	19	17	18	39	11
24	19	18	7	20	10	10
25	19	19	19	19	19	19
26	19	19	47	19	19	18
27	19	39	18	18	19	19
28	18	18	19	18	39	37
29	19	19	19	18	19	18
30	19	19	6	19	11	19
31	6	7	19	19	18	19
32	19	19	7	10	19	19
33	7	18	19	18	6	19

Рис. 9. Последовательности регистрации “ритмической активности” полей Бродмана в условиях активной продукции речи на родном языке у обследованных, согласно классу ЭЭГ-микросостояния. (Выделены поля Бродмана, над которыми была зарегистрирована ритмическая ЭЭГ-активность).

коры, продуцирующих ритмическую активность, и ниже у участков, продуцирующих низкоамплитудные хаотические сигналы [26].

Первоначальная специализация данного алгоритма, предназначенная для выявления патологических ЭЭГ-ритмов объемных внутричерепных образований или эпилептических очагов, не позволяет выделить состояние возбуждения физиологически нормальной нервной ткани, характеризующейся общей десинхронизацией и дезорганизацией ритмической активности, отражающейся на показателях спектральной плотности поля скальпа в качестве участков с минимально выраженной активностью. Данная находка объясняет большинство неудачных попыток ЭЭГ-картирования мозговых структур из-за отсутствия соответствия ЭЭГ данных, в том числе и полученных в ходе решения обратной задачи ЭЭГ, с результатами фМРТ, поскольку эти методики фиксируют совершенно различные состояния нервной ткани. фМРТ регистрирует участки повышенной активности на основании высокого потребления кислорода в фиксированном объеме нервной ткани, в то время как ЭЭГ фиксирует участок, продуцирующий специфический ритм, а не пребывающий в состоянии возбуждения.

Продукция ЭЭГ-ритма, вероятно [26], характеризует синхронную активность гигантских пирамидных клеток, которая предшествует активации полиморфного слоя мозговой коры, формируя специфическое состояние “ожидания” активности нервного центра, предшествующее функциональному возбуждению. В то же время, истинное возбуждение коркового представительства невральной функции, характеризующееся большим количеством разнонаправленных постсинаптических потенциалов полиморфного слоя коры, не будет фиксироваться из-за малой спектральной плотности характерной для хаотических и псевдохаотических процессов.

При анализе результатов, полученных при исследовании последовательностей активации полей Бродмана, важный вопрос составляла точность полученных предлагаемым методом результатов. Согласно нашим данным, точность составляла 40–50%, что в целом характерно для самого ЭЭГ-метода, используемого в качестве базовой технологии. Однако требуются дальнейшие исследования, чтобы окончательно ответить на данный вопрос с использованием более строгих критериев отбора в формировании основной группы исследования или применения близнецового метода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований была разработана методика выделения отдельных последовательностей возбуждения полей Бродмана, соответствующих реализации речевой функции. Однако данная методика рассматривает процессы в корне отличные от процессов, регистрируемых фМРТ, фактически технология решения обратной задачи ЭЭГ позволяет определить не активные центры мозгового коннектома, участвующие в реализации функции в текущий момент времени, а те образования, которые мозг подготавливает к процессу реализации функции. В этих условиях исследование человеческой речи представляет уникальные возможности для исследователей, позволяющих более полно понять сам процесс работы головного мозга и формирования мышления.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена за счет средств госбюджета.

ВКЛАД АВТОРОВ

С.А.Г. – разработка методики, сбор материала, анализ материала, формирование манускрипта.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mishkin M, Ungerleider LG* (1982) Contribution of striate inputs to the visuospatial functions of parieto-preoccipital cortex in monkeys. Behav Brain Res 6.1.57.77. https://doi.org/10.1016/0166.4328.82.90081
2. *Sporns O, Tononi G, Kotter R* (2005) The human connectome: A structural description of the human brain. PLoS Comput Biol 1(4): e42. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.0010042
3. *Howell BR, Styner MA, Gao W* (2018) The UNC/UMN Baby Connectome Project [BCP]: An overview of the study design and protocol development. Neuroimage 185.891.905. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.03.049

4. *Sato M* (2020) The neurobiology of sex differences during language processing in healthy adults: A systematic review and a meta-analysis. Neuropsychologia 16.140.107404. https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2020.107404
5. *Broca P* (2011 [1861]) Remarks on the Seat of Spoken Language, Followed by a Case of Aphasia. Neuropsychol Rev 21.3]15: 227–229. https://doi.org/10.1007/s11065-011-9174-x
6. *Wernicke K* (1897) Grundriss der Psychiatrie in klinischen Vorlesungen. Theil II, Die paranoischen Zustände. Leipzig: Verlag von Georg Thieme. Am J Psychiatry 53[4]: 581–583. https://doi.org/10.1176/ajp.53.4.581
7. *Карлов ВА, Шкловский ВМ, Золовкина ВС* (2017) Развитие представлений об организации речевой системы. Журн неврол психиатр им СС Корсакова 117(5): 4–8. [*Karlov VA, Shklovsky VM, Zolovkina VS* (2017) Development of ideas about the organization of the speech system. J Neurol Psychiatry SS Korsakov 117(5): 4–8. (In Russ)]. https://doi.org/10.17116/jnevro2017117514-8
8. *Королёва НВ, Колесников СИ, Воробьев СВ* (2011) Электроэнцефалографический атлас эпилепсий и эпилептических синдромов у детей. ГЭОТАР-Медиа. [*Koroleva NV, Kolesnikov SI, Vorobyov SV* (2011) Electroencephalographic atlas of epilepsy and epileptic syndromes in children. GEOTAR-Media. (In Russ)]. ISBN 978-5-4235-0047-4
9. *Kutas M, Hillyard SA* (1984) Brain potentials during reading reflect word expectancy and semantic association. Nature 12-18; 307(5947): 161–163. https://doi.org/10.1038/307161a0
10. *Osterhout L, Holcomb PJ, Swinney DA* (1994) Brain potentials elicited by garden-path sentences: evidence of the application of verb information during parsing. J Exp Psychol Learn Mem Cogn 20[4]: 786–803. https://doi.org/10.1037//0278-7393.20.4.786
11. *Alday PM, Kretzschmar F* (2019) Speed-Accuracy Tradeoffs in Brain and Behavior: Testing the Independence of P300 and N400 Related Processes in Behavioral Responses to Sentence Categorization. Front Hum Neurosci 27 (13) 285. https://doi.org/10.3389/fnhum.2019.00285
12. *Емелина ДА, Макаров ИВ, Гасанов РФ* (2019) Методика вызванных потенциалов головного мозга в исследовании специфических расстройств речи у детей. Соц клин психиатрия 29(2): 104–111. [*Emelina DA, Makarov IV, Gasanov RF* (2019) Method of evoked potentials of the brain in the study of specific speech disorders in children. Soc Clin Psychiatry 29(2): 104–111. (In Russ)]. ISSN: 0869-4893
13. *Kearney E, Guenther FH* (2019) Articulating: The Neural Mechanisms of Speech Production. Lang Cogn Neurosci 34(9): 1214–1229. https://doi.org/10.1080/23273798.2019.1589541
14. *Bullock M, Jackson GD, Abbott DF* (2021) Artifact Reduction in Simultaneous EEG-fMRI: A Systematic Review of Methods and Contemporary Usage. Front Neurol 11;12: 622719. https://doi.org/10.3389/fneur.2021.622719
15. *Журавлев ИВ, Нистратов АА, Поликарпов МА, Тарасов ЕФ* (2019) Картирование речевых зон мозга как научная проблема. Вопр психолингвистики 3(41): 107–121. [*Zhuravlev IV, Nistratov AA, Polikarpov MA, Tarasov EF* (2019) Mapping of speech areas of the brain as a scientific problem. Quest Psycholinguistics 3(41): 107–121. (In Russ)]. https://doi.org/10.30982/2077.5911.2019.41.3.107.121
16. *Lehmann D, Strik WK, Henggeler B, Koenig T, Koukkou M* (1998) Brain electric microstates and momentary conscious mind states as building blocks of spontaneous thinking: I. Visual imagery and abstract thoughts. Int J Psychophysiol 29(1): 1–11. https://doi.org/10.1016/s0167-8760(97)00098-6
17. *Lehmann D, Faber PL, Gianotti LR, Kochi K, Pascual-Marqui RD.* (2005) Coherence and phase locking in the scalp EEG and between LORETA model sources, and microstates as putative mechanisms of brain temporo-spatial functional organization. J Physiol (Paris) 99(1): 29–36. https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2005.06.005
18. *Van De Ville D, Britz J, Michel CM* (2010) EEG microstate sequences in healthy humans at rest reveal scale-free dynamics. Proc Natl Acad Sci USA 107 (42): 18179–18184. https://doi.org/10.1073/pnas.1007841107
19. *Abreu R, Jorge J, Leal A, Koenig T, Figueiredo P* (2020) EEG Microstates Predict Concurrent fMRI Dynamic Functional Connectivity States. Brain Topogr 34(1): 41–55. https://doi.org/10.1007/s10548-020-00805-1
20. *Mishra A, Englitz B, Cohen MX* (2020) EEG microstates as a continuous phenomenon. Neuroimage 208: 116454. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage2019.116454
21. *Pascual-Marqui RD* (2002) Standardized low-resolution brain electromagnetic tomography [sLORETA]: technical details. Methods Find Exp Clin Pharmacol 24 Suppl D: 5–12.

22. *Lu G, Hou Y, Chen Y, Guo F* (2022) Neuroimaging of EEG Rhythms at Resting State in Normal Elderly Adults: A Standard Low-Resolution Electromagnetic Tomography Study. J Clin Neurophysiol 1;39(1): 72–77.
https://doi.org/10.1097/WNP.0000000000000780
23. *Khanna A, Pascual-Leone A, Michel CM, Farzan F* (2015) Microstates in resting-state EEG: current status and future directions. Neurosci Biobehav Rev 49: 105–113.
https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.12.010
24. *Sarter M, Fritschy JM* (2008) Reporting statistical methods and statistical results in EJN. Eur J Neurosci 28(12): 2363–2364. PMID:
https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06581.x19087166
25. *He B, Astolfi L, Valdes-Sosa PA, Marinazzo D, Palva S, Benar CG, Michel CM, Koenig T* (2019) Electrophysiological Brain Connectivity: Theory and Implementation. IEEE Trans Biomed Eng.
https://doi.org/10.1109/TBME.2019.2913928
26. *Choi J, Lim E, Park MG, Cha W* (2020) Assessing the Retest Reliability of Prefrontal EEG Markers of Brain Rhythm Slowing in the Eyes-Closed Resting State. Clin EEG Neurosci 51(5): 348–356.
https://doi.org/10.1177/1550059420914832

Neurophysiological Solution of the Inverse Problem of EEG Research at Rest and under Conditions of Auditory-Speech Load

S. A. Gulyaev*

Federal Center for Brain and Neurotechnologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Moscow, Russia

**e-mail: s.gulyaev73@gmail.com*

Speech is the main mechanism for a person soial inegration and mastering the accumulated knowledge, therefore its violations cause pronounced social maladaptation. At present, the development of an objective method of functional research is required, which makes it possible to identify fast processes in the neural networks of the brain, record them and form research results related to the basic anatomical ideas about the structure of the brain. However, such a diagnostic method must have a high degree of temporal resolution in order to be able to identify the sequences of excitation and inhibition processes occurring in the structure of neural networks that form speech. In our study, an attempt was made to develop a technology for recording activation sequences of brain structures during auditory-speech stress based on the method of solving the inverse EEG problem. The results obtained demonstrate the features of the neurophysiological registration of the EEG signal, its general response to the functional load and the relationship with the physiological states of the brain tissue.

Keywords: speech, speech function, EEG inverse solution, brain rhythms

EDN: KRJRRX
РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2022, том 108, № 4, с. 490–504

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ДЕЙСТВИЕ АНАКИНРЫ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ, АКТИВИРУЕМЫХ ПЕРОКСИСОМНЫМ ПРОЛИФЕРАТОРОМ В МОЗГЕ КРЫС В ЛИТИЙ-ПИЛОКАРПИНОВОЙ МОДЕЛИ ЭПИЛЕПСИИ

© 2022 г.
А. И. Рогинская[1], А. В. Дёмина[1], А. А. Коваленко[1], М. В. Захарова[1], А. П. Шварц[1], Т. Б. Мелик-Касумов[2], О. Е. Зубарева[1, *]

[1]*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

[2]*Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь*

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

Поступила в редакцию 24.02.2022 г.
После доработки 03.03.2022 г.
Принята к публикации 04.03.2022 г.

В последние годы широко обсуждается роль нейровоспаления в механизмах эпилептогенеза. Одним из факторов, влияющих на воспалительные процессы в мозге, может быть изменение экспрессии ядерных транскрипционных факторов, в частности, рецепторов, активируемых пероксисомным пролифератором (PPARs). Агонисты этих рецепторов обладают выраженным нейропротекторным действием в моделях эпилепсии. Исследования, проведенные на клетках различных тканей организма, выявляют тесную функциональную связь, существующую между генами PPARs, провоспалительного цитокина интерлейкина-1β (IL-1β) и противовоспалительного цитокина – антагониста рецепторов интерлейкина 1 (IL-1ra). Целью данной работы явилось изучение особенностей экспрессии генов *Ppars* в структурах мозга крыс в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии и оценка возможного влияния IL-1ra (препарат анакинра) на эти показатели. Пилокарпин вводили крысам Вистар в возрасте 7–8 нед., через сутки после инъекций LiCl. Введение анакинры осуществляли в течение недели после пилокарпина (первая инъекция 100 мкг/кг через час после судорог, далее – 5 дней по 100 мкг/кг и 2 дня по 50 мкг/кг), после чего производился забор образцов мозга для биохимического анализа. Оценку экспрессии генов *Ppara*, *Ppard* и *Pparg* производили методом обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией в реальном времени в дорзальном и вентральном гиппокампе, височной коре и миндалине. Показано, что пилокарпин-индуцированные судороги приводят к усилению экспрессии генов *Ppard* и *Pparg* в вентральном гиппокампе и снижению экспрессии гена *Ppara* во всех обследованных областях мозга. Анакинра усиливает снижение экспрессии гена *Ppara*, не влияет на продукцию мРНК *Ppard* и нивелирует усиление экспрессии гена *Pparg*. Таким образом, экспрессия генов *Ppars* в мозге меняется в процессе эпилептогенеза, анакинра разнонаправлено регулирует продукцию мРНК *Ppara* и *Pparg*, но не влияет на экспрессию гена *Ppard*.

Ключевые слова: литий-пилокарпиновая модель эпилепсии, рецепторы, активируемые пероксисомным пролифератором, антагонист рецепторов интерлейкина 1, анакинра

DOI: 10.31857/S0869813922040070

Височная эпилепсия является одним из наиболее распространенных и трудно поддающихся лечению неврологических заболеваний [1]. Около трети случаев эпилепсии остаются лекарственно-устойчивыми [2]. Во многом сложности лечения эпилепсии связаны с недостаточной изученностью ее патогенетических механизмов. Наряду с традиционными представлениями, рассматривающими в качестве основного патогенетического механизма эпилепсии нарушение баланса активности возбуждающих (глутаматергических) и тормозных (ГАМК-ергических) систем мозга [3], в последние годы широко обсуждается возможная роль нейровоспаления в развитии эпилептических процессов [4, 5]. Нейровоспаление связано, в частности, с повышенным синтезом в клетках мозга провоспалительных цитокинов – интерлейкина 1β (IL-1β), интерлейкина-6 (IL-6) и фактора некроза опухоли α (TNFα) [6]. Роль провоспалительных цитокинов в развитии психоневрологических нарушений в экспериментальных моделях эпилепсии была доказана, в том числе с помощью введений антагониста рецепторов интерлейкина-1 (препарат анакинра, аналог эндогенного белка IL-1ra) [7–9]. Негативное действие провоспалительных цитокинов в мозге ограничивается рядом нейропротекторных механизмов, один из которых связан с активацией рецепторов, активируемых пероксисомными пролифераторами (PPARs) [10].

PPARs – это ядерные транскрипционные факторы, регулирующие экспрессию целого ряда генов, участвующих в обмене углеводов и липидов, и других процессах, включая клеточную дифференцировку и апоптоз [11–13]. Семейство PPARs включает три типа рецепторов: PPARα, PPARβ и PPARγ, экспрессия которых выявлена в различных клетках организма, включая клетки центральной нервной системы [14]. Несмотря на то, что отдельные виды PPARs отличаются друг от друга по распределению в различных тканях, некоторой специфичности лигандов и физиологическим функциям [15], общим для них является участие в регуляции воспалительных процессов [16, 17]. Предполагается, что именно с противовоспалительным действием во многом связаны нейропротекторные свойства агонистов PPARs, показанные в различных моделях эпилепсии, включая литий-пилокарпиновую модель [18–21]. При этом особенности экспрессии генов PPARs при развитии эпилептических процессов исследованы недостаточно. Следует также отметить тесную двустороннюю функциональную связь, существующую между генами, кодирующими PPARs, IL-1β и IL-1ra, в различных клетках организма. Предполагается, что PPARs могут ингибировать воспалительные сигнальные пути, связанные с интерлейкином-1β в клетках мозга [22]. Доказано, что экспрессия гена IL-1ra в клетках печени регулируется PPARα [23]. С другой стороны, IL-1β вызывает подавление продукции мРНК PPARγ в клетках бурой жировой ткани [24]. Однако возможные эффекты активации рецепторов IL-1 на экспрессию генов PPARs в мозге при развитии эпилептических процессов в мозге остаются неисследованными.

Целью данной работы явилось изучение особенностей экспрессии генов PPARs в структурах мозга крыс в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии и оценка возможного влияния анакинры на эти показатели.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились в соответствии с протоколом работы с лабораторными животными, утвержденным этическим комитетом Института эволюционной физиологии и биохимиии РАН и основанным на директиве Европейского сообщества о гуманном обращении с лабораторными животными (Directive #86/609 for the Care of Laboratory Animals) и инструкциях ARRIVE.

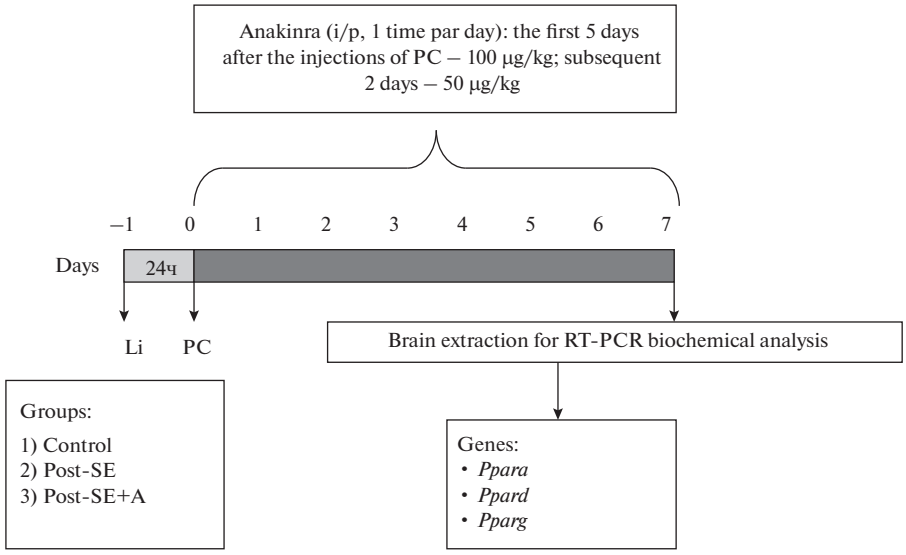


Рис. 1. Схема экспериментов: PC – пилокарпин, SE – эпилептический статус, A – анакинра.

Схема экспериментов

Эксперименты выполнены на самцах крыс Вистар в возрасте 7–8 нед. Крысы содержались в стандартных условиях, со свободным допуском к воде и пище, при 12-часовом цикле освещения (с 8:00 до 20:00 – день, с 20:00 до 8:00 – ночь). Отбор крыс в различные группы был случайным. Схема эксперимента представлена на рис. 1. Использована литий-пилокарпиновая (PC) модель эпилепсии. Особенностью этой модели является то, что однократное введение PC индуцирует развитие длительных эпилептических процессов в мозге [25]. За сутки до введения PC всем крысам, включая контрольных, была произведена инъекция хлорида лития (LiCl) в/б в дозе 127 мг/кг (LiCl; Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури, США). За час до введения пилокарпина, животным был введен метилбромидскополамин (1 мг/кг, в/б; Sigma-Aldrich) для блокады периферических мускариновых рецепторов. PC (Sigma-Aldrich) вводили в/б, дробно в дозе 20–40 мг/кг (по 10 мг/кг, 2–4 инъекции с интервалом 30 мин) до развития судорог 4 балла по шкале Racine [26]. По истечении 75 мин, после развития 4-й стадии, эпилептический статус (SE) блокировали введением диазепама (10 мг/кг, в/б; Sigma-Aldrich).

Эксперименты выполнены на 26 животных, которых разделили на три группы: 1) контроль (животным вводился LiCl и физиологический раствор), 2) крысы, перенесшие судороги, нелеченые (LiCl, PC, физиологический раствор), 3) крысы, перенесшие судороги, леченые (LiCl, PC +анакинра). Анакинра (НИИ Особо чистых биопрепаратов, Санкт-Петербург, Россия) вводилась в течение недели, в/б, растворенная в физиологическом растворе, первая инъекция 100 мкг/кг через час после судорог, далее 1 раз в день, 5 дней по 100 мкг/кг в день, 2 дня по 50 мкг/кг в день. Объем вводимого препарата – 0.5 мл/100 г массы тела.

Доза препарата анакинра была подобрана в предшествующей работе, в которой были обнаружено благоприятное воздействие лечения на психоневрологическое состояние животных, которое проверялось с помощью поведенческих и гистологических методов [7].

Крыс декапитировали через 7 дней после введения РС. Мозг быстро извлекали, замораживали и хранили при –80°С. Дорзальную и вентральную области гиппокампа (DH, VH), височную кору (TC) и миндалевидное тело (Am) выделяли по атласу мозга крыс [27] с помощью микротома-криостата OTF5000 (BrightInstruments, Лутон, Великобритания). Данные области мозга были выбраны в связи с их важной ролью в процессах эпилептогенеза. Для оценки экспрессии генов интереса: *Ppara* (белок – PPARα), *Ppard* (белок – PPARβ/δ) и *Pparg* (белок – PPARγ), а также генов домашнего хозяйства, описанных ниже, использовали метод обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией в реальном времени. Для этого сначала экстрагировали тотальную РНК. Выделение проводили с использованием реагента ExtractRNA (Евроген, Москва, Россия) в соответствии с инструкциями производителя. Образцы РНК обрабатывали ДНКазой RQ1 (Promega, Мэдисон, Висконсин, США) в течение 15 мин с последующим осаждением LiCl и промывкой этанолом. Концентрацию и чистоту РНК оценивали с помощью спектрофотометра NanoDrop ™ Lite (ThermoFisherScientific, Уолтем, Массачусетс, США).

Далее проводили обратную транскрипцию. Для синтеза кДНК использовали 1 мкг (VH и Am) или 2 мкг (TC и DH) тотальной РНК, олиго-dT (0.5 мкг на 1 мкг РНК, ООО “ДНК Синтез”, Москва, Россия) и обратную транскриптазу M-MLV (100 ЕД на 1 мкг РНК; Promega, Мэдисон, Висконсин, США) согласно инструкции производителя.

Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени применяли технологию TaqMan. ПЦР проводили в триплетах, с использованием полимеразы TaqM (“Алкор Био”, Санкт-Петербург, Россия), зондов и праймеров, синтезированных ООО “ДНК-Синтез” (Москва, Россия). Последовательности использованных праймеров и зондов представлены в табл. 1. Референсные гены для нормализации данных экспрессии были выбраны на основе анализа экспрессии 9 стабильных генов, путем всестороннего ранжирования с использованием онлайн-инструмента RefFinder (https://www.heartcure.com.au/reffinder/) и сравнительных алгоритмов delta CT. В табл. 1 приведены последовательности праймеров и зондов генов домашнего хозяйства, которые были использованы в данной работе. Относительную экспрессию генов рассчитывали с использованием метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [36], нормирование проводили относительно среднего значения контрольной группы и среднего геометрического для трех наиболее стабильных референсных генов анализируемых областей мозга: DH и VH – *Gapdh*, *Pgk1*, *Ywhaz*; TC – *Gapdh*, *Hprt1*, *Pgk1*; Am – *Pgk1*, *Ppia*, *Rpl13a*.

Статистический анализ

Статистический анализ был выполнен с использованием пакета программ SPSS Statistics 23 (IBM, Армонк, США). Для проверки нормальности распределения использовался критерии Колмогорова–Смирнова. Равенство дисперсий оценивалось по критерию Ливеня. В случае равенства дисперсий использовался однофакторный дисперсионный анализ с апостериорными сравнениями групп с помощью критерия Тьюки. В случае, когда предположение об однородности дисперсии было нарушено, применялся критерий Уэлча и апостериорный критерий Геймса–Ховелла. Для всех тестов групповые различия считались статистически значимыми при уровне $p \leq 0.05$. Данные на рисунках представлены в виде среднего и стандартной ошибки.

Таблица 1. Последовательности праймеров и зондов

Символ гена и его номер в базе данных	Кодируемый белок	Последовательности праймеров и зондов (прямой, обратный, TaqMan зонд)	Ссылки
Ppara NM_013196.2	Рецептор, активируемый пероксисомным пролифератором – альфа PPARα	AATCCACGAAGCCTACCTGA GTCTTCTCAGCCATGCACAA FAM-AGGCCCGGGTCATACTCGCAGGAA-BHQ1	[28] (праймеры) Зонд подобран авторами
Ppard NM_013141.2	Рецептор, активируемый пероксисомным пролифератором – бета/дельта PPARβ/δ	CAAACCCACGGTAAAGGCGG TGGCTGTTCCATGACTGACC HEX-CCAGGCCTGCAGGCGCCACGCCA-BHQ2	Праймеры и зонд подобраны авторами
Pparg NM_013124.3	Рецептор, активируемый пероксисомным пролифератором – гамма PPARγ	CCTGAAGCTCCAAGAATACC GATGCTTTATCCCCACAGAC HEX-CCCTCATGGCCATCGAGTGCC-BHQ2	[29] (праймеры) Зонд подобран авторами
Gapdh NM_017008	Глицеральдегид-3-фосфатдегидро-геназа GAPDH	TGCACCACCAACTGCTTAG GGATGCAGGGATGATGTTC R6G-ATCACGCCACAGCTTTCCAGAGGG-BHQ2	[30]
Rpl13a NM_173340	60S рибосомный белок L13a RPL13A	GGATCCCTCCACCCTATGACA CTGGTACTTCCACCCGACCTC FAM-CTGCCCTCAAGGTTGTGCGGCT-BHQ1	[31] (праймеры) [32] (зонд)
Ppia NM_017101	Пептидил-пролилцис-транс-изомераза А/Циклофилин А PPIA/CyPA	AGGATTCATGTGCCAGGGTG CTCAGTCTTGGCAGTGCAGA ROX-CACGCCATAATGGCACTGGTGGCA-BHQ1	[33]
Hprt1 NM_012583	Гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза HGPRT	TCCTCAGACCGCTTTTCCCGC TCATCATCACTAATCACGACGCTGG FAM-CCGACCGGTTCTGTCATGTCGACCCT-BHQ1	[34] (праймеры) [32] (зонд)
Pgk1 NM_053291	Фосфоглицерат-киназа 1 PGK 1	ATGCAAAGACTGGCCAAGCTAC AGCCACAGCCTCAGCATATTTC R6G-TGCTGGCTGGATGGGCTTGGA-BHQ2	[35] (праймеры) [32] (зонд)
Ywhaz NM_013011	14-3-3 белокзета/дельта/ Белок-ингибитор киназы С 1 KCIP-1	GATGAAGCCATTGCTGAACTTG GTCTCCTTGGGTATCCGATGTC ROX-TGAAGAGTCGTACAAAGACAGCACGC-BHQ1	[35] (праймеры) [32] (зонд)

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Показано, что у животных, перенесших судороги, экспрессия гена *Ppara* (рис. 2) снижается в дорзальном гиппокампе ($F_{(2;23)} = 6.3$; $p < 0.01$), вентральном гиппокампе ($F_{(2;14.9)} = 10.9$; $p < 0.01$), височной коре ($F_{(2;10.9)} = 6.0$; $p = 0.02$) и амигдале ($F_{(2;26)} = 5.3$; $p = 0.01$). Анакинра не только не уменьшила эти изменения, но даже усилила их. Апостериорные сравнения выявляют достоверное снижение у нелеченых крыс только в дорзальном гиппокампе, у леченых – во всех обследованных структурах мозга.

В отношении гена *Ppard* (рис. 3) достоверные различия между группами были найдены только в вентральном гиппокампе. У нелеченых экспериментальных животных выявлено усиление экспрессии данного гена ($F_{(2;11.3)} = 87.4$; $p < 0.01$). Анакинра не влияла на эти изменения.

Изменения экспрессии гена *Pparg* (рис. 4) также были наиболее выражены в вентральном гиппокампе ($F_{(2;21)} = 3.6$; $p = 0.04$), однако в этом случае анакинра нивелировала действие пилокарпина: апостериорные сравнения с группой контроля выявляют увеличение уровня мРНК *Pparg* у нелеченых животных, перенесших пилокарпин-индуцированные судороги, но не у экспериментальных крыс, которым вводили анакинру.

Таким образом, пилокарпин-индуцированный эпилептический статус приводил к снижению экспрессии гена *Ppara* в обследованных областях мозга, а также к усилению экспрессии генов *Ppard* и *Pparg* в вентральном гиппокампе. Анакинра усиливала эффекты эпилептического статуса в отношении продукции мРНК *Ppara,* нивелировала увеличение экспрессии гена *Pparg* в вентральном гиппокампе и не влияла на продукцию мРНК *Ppard*.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Первой задачей проведенного исследования было изучение особенностей экспрессии генов семейства *Ppar* в литий-пилокарпиновой модели эпилепсии. Нами показано, что через 7 дней после пилокарпин-индуцированного эпилептического статуса происходит изменение экспрессии генов *Ppara*, *Ppard* и *Pparg*, причем характер и выраженность этих изменений зависит от типа рецептора и структуры мозга. Ранее особенности экспрессии генов этих рецепторов в экспериментальных моделях эпилепсии исследованы не были. Однако результаты фармакологических исследований, доказавших нейропротекторные свойства агонистов PPARα и PPARγ в различных моделях эпилепсии [18–21, 36, 37] показывают, что обнаруженные нами изменения могут иметь функциональное значение.

Наиболее выраженные изменения обнаружены для гена *Ppara*, причем направленность этих изменений носила иной характер, чем у генов *Ppard* и *Pparg:* продукция мРНК PPARβ/δ и PPARγ увеличивалась, в то время как PPARα – снижалась. Уменьшение экспрессии *Ppara* может иметь негативные последствия, приводить к снижению антиоксидантных и противовоспалительных процессов [38], способствуя развитию связанных с судорогами неврологических нарушений. С другой стороны, оно, возможно, носит компенсаторный характер, связанный с вовлеченностью PPARα (но не PPARβ и PPARγ) в регуляцию аппетита, массы тела и пищевого поведения [39–41], поскольку было показано, что активация PPARα вызывает сытость и замедляет увеличение массы тела [39]. Известно, что введение пилокарпина и индуцируемый им эпилептический статус приводит к длительному снижению массы тела экспериментальных животных [7]. Возможно, выявленное нами уменьшение экспрессии гена *Ppara* отражает запуск защитных механизмов, направленных на предотвращение дальнейшей потери массы.

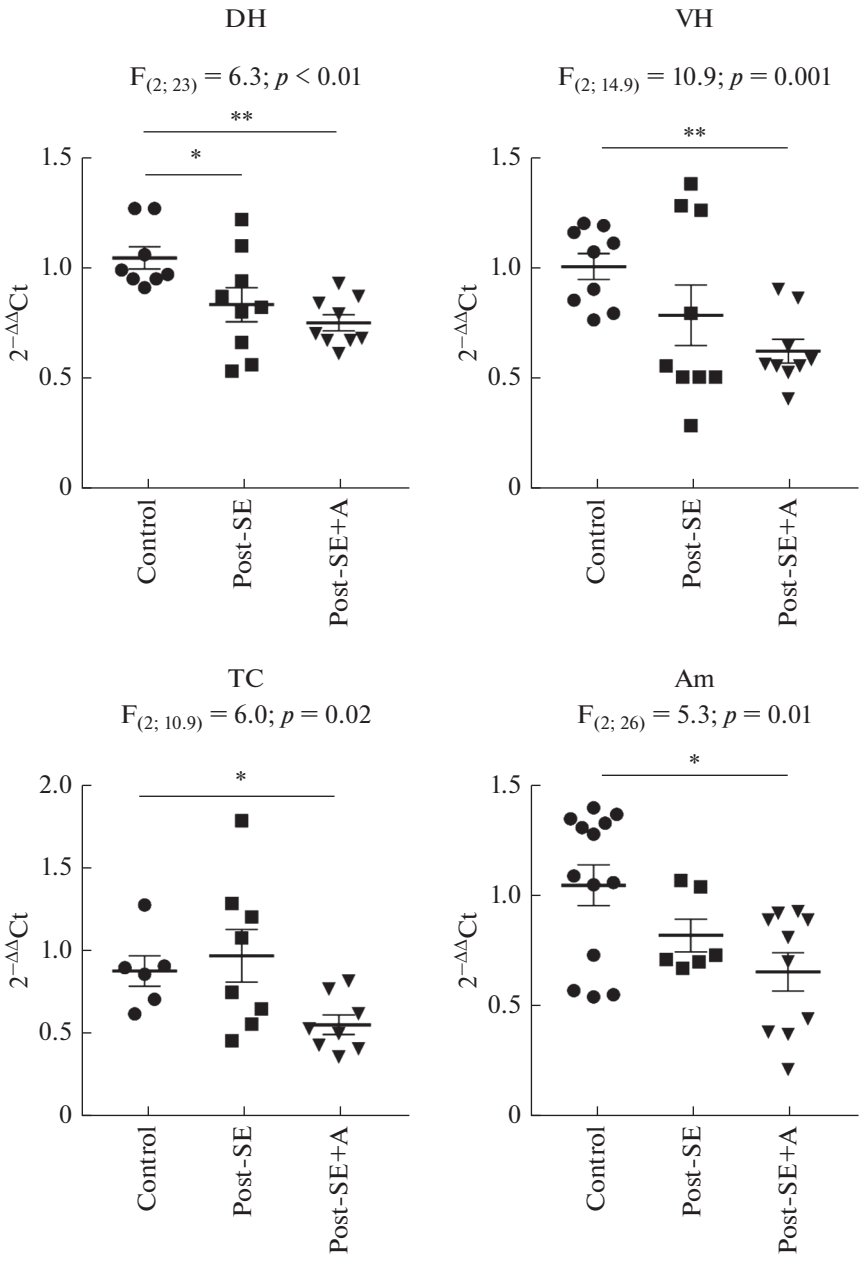


Рис. 2. Экспрессия гена *Ppara* в структурах мозга контрольных крыс (Control) и через 7 дней после пилокарпин-индуцированного эпилептического статуса, в течение которых вводили физиологический раствор (Post-SE) либо анакинру (Post-SE+A). DH – дорзальный гиппокамп, VH – вентральный гиппокамп, TC – височная кора, Am – миндалина. F – критерий Фишера, однофакторный дисперсионный анализ, либо критерий Уэлча. * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$ соответственно, апостериорные сравнения с помощью критерия Тьюки или Геймса–Ховелла.

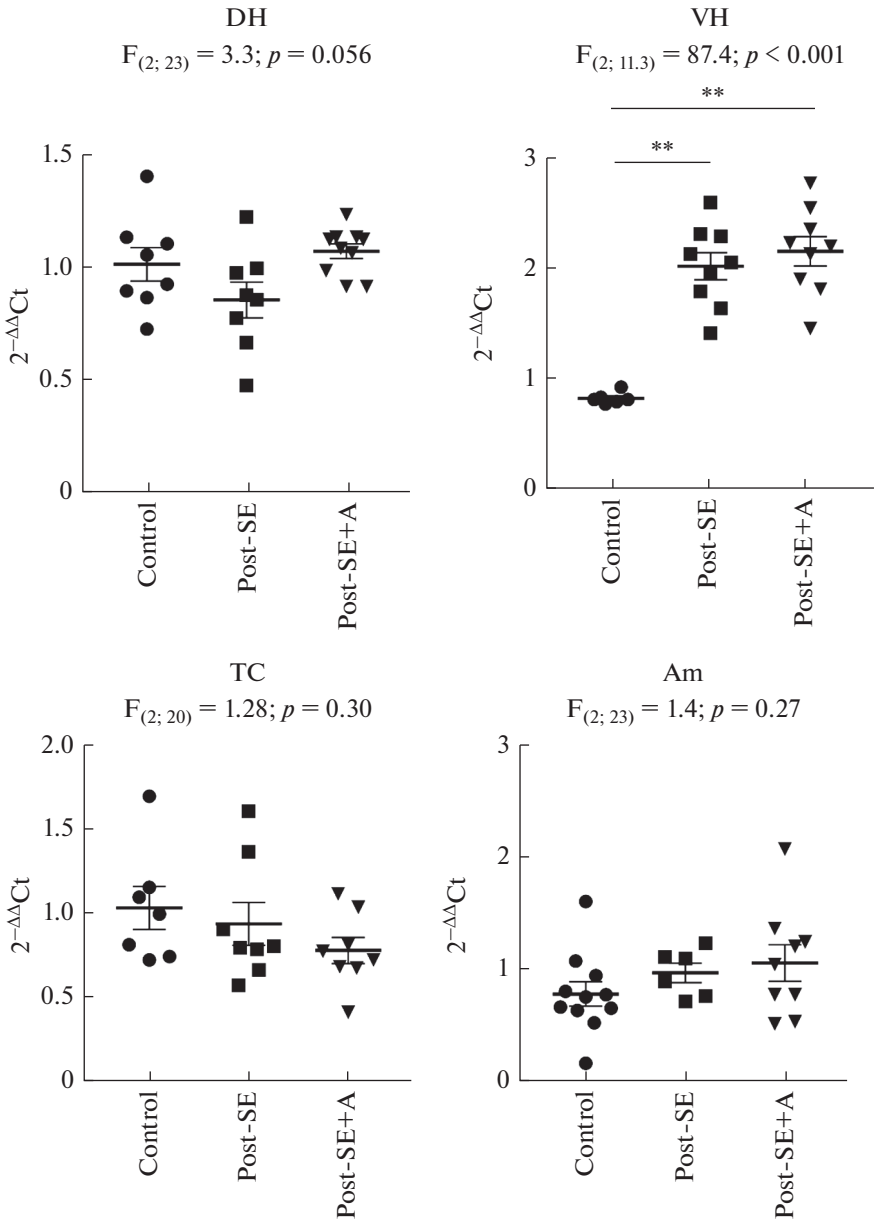


Рис. 3. Экспрессия гена *Ppard* в структурах мозга контрольных крыс (Control) и через 7 дней после пилокарпин-индуцированного эпилептического статуса, в течение которых вводили физиологический раствор (Post-SE) либо анакинру (Post-SE + A). DH – дорзальный гиппокамп, VH – вентральный гиппокамп, TC – височная кора, Am – миндалина. F –критерий Уэлча. ** – $p < 0.01$, апостериорные сравнения с помощью критерия Геймса–Ховелла.

Защитным механизмом, вероятно, является и показанное в данной работе усиление экспрессии гена *Pparg* в вентральном гиппокампе. Гиппокамп является одной из структур мозга наиболее уязвимых для действия судорог: повреждение и гибель нейронов обнаруживается уже в первые часы и дни после введения пилокар-

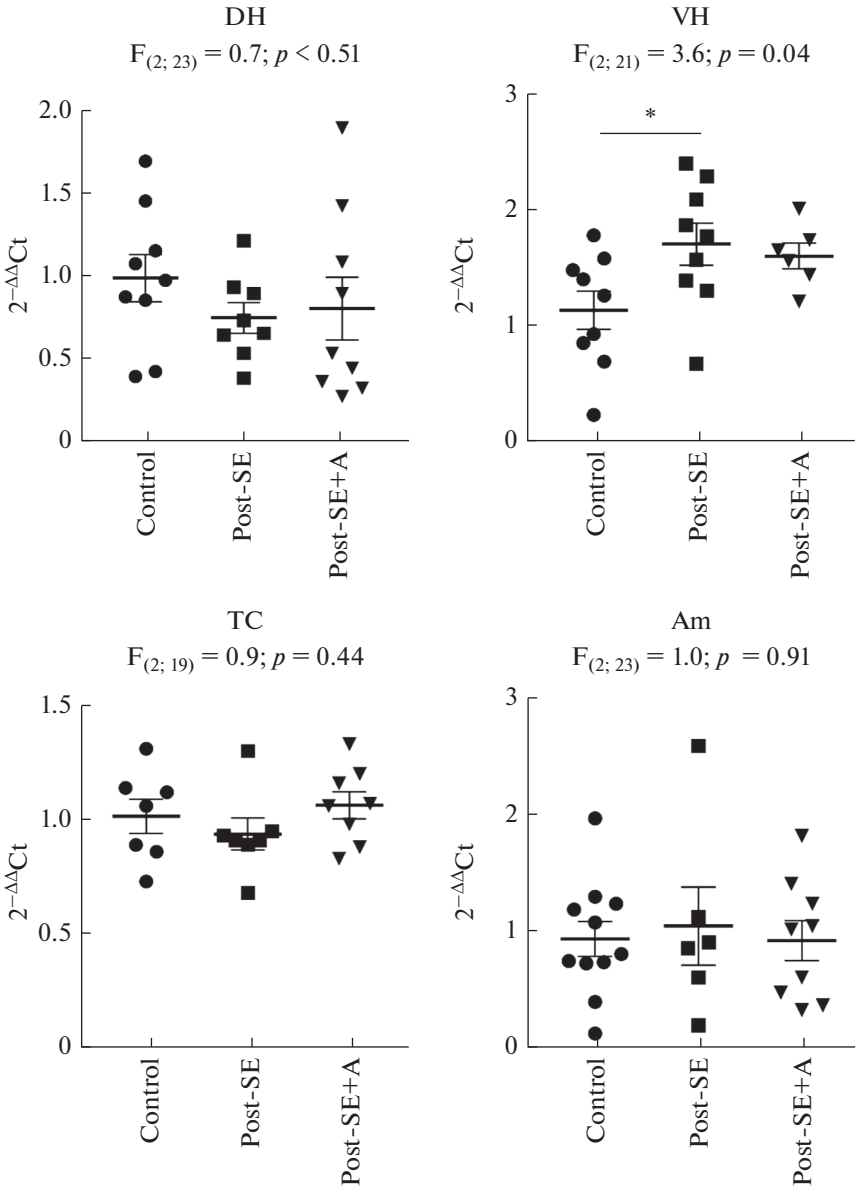


Рис. 4. Экспрессия гена *Pparg* в структурах мозга контрольных крыс (Control) и через 7 дней после пилокарпин-индуцированного эпилептического статуса, в течение которых вводили физиологический раствор (Post-SE) либо анакинру (Post-SE + A). DH – дорзальный гиппокамп, VH – вентральный гиппокамп, TC – височная кора, Am – миндалина. F – критерий Фишера, однофакторный дисперсионный анализ. * – $p < 0.05$, апостериорные сравнения с помощью критерия Тьюки.

пина [42]. Активация PPARγ опосредует нейропротекцию, помогает уменьшить гибель нейронов при различных видах нервной патологии. В частности, агонисты PPARγ показали большой нейропротекторный потенциал в экспериментальных моделях болезней Паркинсона [43] и Альцгеймера [44], они стимулируют нейрогенез в модели нейродегенеративной патологии, вызванной введением бактериаль-

ного эндотоксина [45]. Агонист PPARγ росиглитазон предотвращает гибель нейронов в височной коре и гиппокампе [46], а также уменьшает активацию астроцитов и ослабляет когнитивный дефицит [47], развивающиеся после пилокарпин-индуцированного эпилептического статуса. Нейропротекторные свойства агонистов PPARγ реализуются за счет регуляции разных сигнальных путей [48]: благодаря активации Wnt-пути, связанного с клеточной дифференцировкой и регенерацией [49]; активации Nrf2-пути, ответственного за защиту клеток от оксидативного стресса [50], подавления каскадов, опосредованных NF-κB [51], также связанных с оксидативным стрессом и воспалением. Вовлеченность PPARγ в регуляцию воспалительных процессов показана во многих работах (обзор [52]). В частности, выявлено, что агонист этих рецепторов пиоглитазон уменьшает активацию эндотоксин-стимулированных микроглиальных клеток, подавляя продукцию индуцибельной NO-синтазы и провоспалительных цитокинов IL-6, TNF-α и IL-1β [53].

В отличие от PPARα и PPARγ возможная роль PPARβ/δ в эпилептогенезе остается малоизученной. При этом их нейропротекторные свойства показаны на мышах, нокаутных по гену *Ppard*, при ишемии, вызванной окклюзией средней мозговой артерии [54]. Применение агониста PPARβ/δ GW0742 снижало продукцию IL-1β и TNF-α в мозге мышей в модели индуцированного коллагеназой внутримозгового кровоизлияния [55]. Эти данные свидетельствуют, что активация PPARβ/δ, так же как и активация PPARγ и PPARα, способствует подавлению нейровоспаления. Поэтому активацию экспрессии *Ppard,* выявленную нами в вентральном гиппокампе, можно рассматривать как защитную реакцию, направленную на уменьшение воспалительных процессов.

При достаточно большом количестве данных о влиянии агонистов PPARs на воспалительные процессы, в частности на продукцию IL-1β в клетках различных тканей, обратный процесс – эффекты активации рецепторов IL-1 на экспрессию генов *Ppara*, *Ppard* и *Pparg* исследованы недостаточно. Нам известна лишь работа Mracek с соавт. [24], показавших, что стимуляция клеток бурой жировой ткани интерлейкином-1β подавляет в них экспрессию гена *Pparg*. В данной работе нами показано, что активация рецепторов ИЛ-1 может играть определенную роль в усилении экспрессии гена *Pparg*, вызванной пилокарпин-индуцированным эпилептическим статусом. В отличие от *Pparg*, экспрессия *Ppard* не менялась после введения антагониста рецепторов ИЛ-1. Возможно, данный факт свидетельствует о разной роли, которую могут играть эти рецепторы в патогенезе эпилепсии.

Уменьшение экспрессии гена *Ppara*, выявленное у нелеченых, перенесших судороги крыс, не только не блокировалось введением анакинры, но даже было более выраженным. Можно предположить, что это связано с различной экспрессией PPARα в нейронах и микроглии исследованных областей мозга. Известно, что изменение нейроглиального соотношения является одним из ключевых признаков нейродеструкции в литий-пилокарпиновой модели: количество нейронов в ходе этого процесса уменьшается, в то время как пролиферация и функциональная активность микроглии увеличивается [56]. Исходя из этого, обнаруженный нами эффект уменьшения экспрессии гена *Ppara* после перенесенных судорог можно объяснить в том числе гибелью нейронов. Это уменьшение может частично компенсироваться повышенной экспрессией PPARα в активированной микроглии. Вместе с тем, в случае применения анакинры, которая может подавлять нейровоспаление за счет антагонизма к рецептору IL-1, экспрессия рецептора на клетках микроглии выражена в меньшей степени, что сказывается на еще большем снижении экспрессии гена *Ppara*. Это предположение, тем не менее, требует дальнейшего экспериментального подтверждения.

Таким образом, результаты проведенного исследования показывают, что в ходе первой недели после эпилептического статуса в литий-пилокарпиновой модели

происходит разнонаправленное изменение экспрессии генов *Ppars* в гиппокампе: экспрессия *Ppara* уменьшается в дорсальной области гиппокампа, тогда как экспрессия *Ppard* и *Pparg* увеличивается в его вентральной области. Применение анакинры усиливает отмеченный эффект в случае *Ppara*, при этом он проявляется также в других отделах мозга. В случае *Pparg* анакинра, напротив, нивелирует увеличение экспрессии гена в вентральном гиппокампе. Наконец, в случае *Ppard* применение анакинры не влияет на продукцию его мРНК. Отличия во влиянии анакинры на экспрессию различных подтипов PPARs в использованной модели височной эпилепсии позволяет предполагать разную роль, которую они могут играть в регуляции процессов эпилептогенеза.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Поддержано РФФИ, грант № 20-515-00020 и БРФФИ, грант № М20Р-328.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (О.Е.З., Т. Б.М.-К.), написание и редактирование манускрипта (А.И.Р., О.Е.З., Т. Б.М.-К., А.А.К.), сбор и обработка данных (А.В.Д., А.А.К., М.В.З., А.П.Ш.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, Patten SB, Kwon C-S, Dykeman J, Pringsheim T, Lorenzetti DL, Jetté N* (2017) Prevalence and incidence of epilepsy. Neurology 88: 296–303. https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003509
2. *Fattorusso A, Matricardi S, Mencaroni E, Dell'Isola GB, Di Cara G, Striano P, Verrotti A* (2021) The Pharmacoresistant Epilepsy: An Overview on Existant and New Emerging Therapies. Front Neurol 12: 674483. https://doi.org/10.3389/fneur.2021.674483
3. *Sears SM, Hewett SJ* (2021) Influence of glutamate and GABA transport on brain excitatory/inhibitory balance. Exp Biol Med 246: 1069–1083. https://doi.org/10.1177/1535370221989263
4. *Pracucci E, Pillai V, Lamers D, Parra R, Landi S* (2021) Neuroinflammation: A Signature or a Cause of Epilepsy? Int J Mol Sci 22: 6981. https://doi.org/10.3390/ijms22136981
5. *Devinsky O, Vezzani A, Najjar S, De Lanerolle NC, Rogawski MA* (2013) Glia and epilepsy: excitability and inflammation. Trends Neurosci 36: 174–184 . https://doi.org/10.1016/j.tins.2012.11.008
6. *Vezzani A, Balosso S, Ravizza T* (2008) The role of cytokines in the pathophysiology of epilepsy. Brain Behav Immun 22: 797–803. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2008.03.009
7. *Dyomina A V, Zubareva OE, Smolensky I V, Vasilev DS, Zakharova M V, Kovalenko AA, Schwarz AP, Ischenko AM, Zaitsev A V* (2020) Anakinra Reduces Epileptogenesis, Provides Neuroprotection, and Attenuates Behavioral Impairments in Rats in the Lithium–Pilocarpine Model of Epilepsy. Pharmaceuticals 13: 340. https://doi.org/10.3390/ph13110340
8. *Mazarati AM, Pineda E, Shin D, Tio D, Taylor AN, Sankar R* (2010) Comorbidity between epilepsy and depression: Role of hippocampal interleukin-1β. Neurobiol Dis 37: 61–467. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.11.001
9. *Marchi N, Fan Q, Ghosh C, Fazio V, Bertolini F, Betto G, Batra A, Carlton E, Najm I, Granata T, Janigro D* (2009) Antagonism of peripheral inflammation reduces the severity of status epilepticus. Neurobiol Dis 33: 171–181. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.10.002

10. *Korbecki J, Bobiński R, Dutka M* (2019) Self-regulation of the inflammatory response by peroxisome proliferator-activated receptors. Inflamm Res 68: 443–458.
https://doi.org/10.1007/s00011-019-01231-1
11. *Zolezzi JM, Santos MJ, Bastías-Candia S, Pinto C, Godoy JA, Inestrosa NC* (2017) PPARs in the central nervous system: roles in neurodegeneration and neuroinflammation. Biol Rev 92: 2046–2069.
https://doi.org/10.1111/brv.12320
12. *Hong F, Pan S, Guo Y, Xu P, Zhai Y* (2019) PPARs as Nuclear Receptors for Nutrient and Energy Metabolism. Molecules 24: 2545.
https://doi.org/10.3390/molecules24142545
13. *Fidaleo M, Fanelli F, Ceru M, Moreno S* (2014) Neuroprotective Properties of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha (PPARα) and its Lipid Ligands. Curr Med Chem 21: 2803–2821.
https://doi.org/10.2174/0929867321666140303143455
14. *Heneka M, Landreth G* (2007) PPARs in the brain. Biochim Biophys Acta – Mol Cell Biol Lipids 1771: 1031–1045.
https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2007.04.016
15. *Grygiel-Górniak B* (2014) Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications – a review. Nutr J 13: 17.
https://doi.org/10.1186/1475-2891-13-17
16. *Blanquart C, Barbier O, Fruchart JC, Staels B, Glineur C* (2003) Peroxisome proliferator-activated receptors: regulation of transcriptional activities and roles in inflammation. J Steroid Biochem Mol Biol 85: 267–273.
https://doi.org/10.1016/S0960-0760(03)00214-0
17. *Strosznajder AK, Wójtowicz S, Jeżyna MJ, Sun GY, Strosznajder JB* (2021) Recent Insights on the Role of PPAR-β/δ in Neuroinflammation and Neurodegeneration, and Its Potential Target for Therapy. NeuroMolecular Med 23: 86–98.
https://doi.org/10.1007/s12017-020-08629-9
18. *Hong S, Xin Y, HaiQin W, GuiLian Z, Ru Z, ShuQin Z, HuQing W, Li Y, Ning B, YongNan L* (2013) The PPARγ agonist rosiglitazone prevents neuronal loss and attenuates development of spontaneous recurrent seizures through BDNF/TrkB signaling following pilocarpine-induced status epilepticus. Neurochem Int 63: 405–412.
https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.07.010
19. *Sun H, Huang Y, Yu X, Li Y, Yang J, Li R, Deng Y, Zhao G* (2008) Peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonist, rosiglitazone, suppresses CD40 expression and attenuates inflammatory responses after lithium pilocarpine-induced status epilepticus in rats. Int J Dev Neurosci 26: 505–515.
https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2008.01.009
20. *Porta N, Vallée L, Lecointe C, Bouchaert E, Staels B, Bordet R, Auvin S* (2009) Fenofibrate, a peroxisome proliferator-activated receptor-α agonist, exerts anticonvulsive properties. Epilepsia 50(4): 943–948.
https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01901.x
21. *Wong S-B, Cheng S-J, Hung W-C, Lee W-T, Min M-Y* (2015) Rosiglitazone Suppresses In Vitro Seizures in Hippocampal Slice by Inhibiting Presynaptic Glutamate Release in a Model of Temporal Lobe Epilepsy. PLoS One 10: e0144806.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144806
22. *O'Léime CS, Cryan JF, Nolan YM* (2017) Nuclear deterrents: Intrinsic regulators of IL-1β-induced effects on hippocampal neurogenesis. Brain Behav Immun 66: 394–412.
https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.07.153
23. *Stienstra R, Mandard S, Tan NS, Wahli W, Trautwein C, Richardson TA, Lichtenauer-Kaligis E, Kersten S, Müller M* (2007) The Interleukin-1 receptor antagonist is a direct target gene of PPARα in liver. J Hepatol 46: 869–877.
https://doi.org/10.1016/j.jhep.2006.11.019
24. *Mráček T, Cannon B, Houštěk J* (2004) IL-1 and LPS but not IL-6 inhibit differentiation and downregulate PPAR gamma in brown adipocytes. Cytokine 26: 9–15.
https://doi.org/10.1016/j.cyto.2003.12.001
25. *Ahmed Juvale II, Che Has AT* (2020) The evolution of the pilocarpine animal model of status epilepticus. Heliyon 6: e04557.
https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04557
26. *Phelan KD, Shwe UT, Williams DK, Greenfield LJ, Zheng F* (2015) Pilocarpine-induced status epilepticus in mice: A comparison of spectral analysis of electroencephalogram and behavioral grading using the Racine scale. Epilepsy Res 117: 90–96.
https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2015.09.008
27. *Paxinos G, Watson C* (2007) The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier.
28. *Cernecka H, Doka G, Srankova J, Pivackova L, Malikova E, Galkova K, Kyselovic J, Krenek P, Klimas J* (2016) Ramipril restores PPARβ/δ and PPARγ expressions and reduces cardiac

NADPH oxidase but fails to restore cardiac function and accompanied myosin heavy chain ratio shift in severe anthracycline-induced cardiomyopathy in rat. Eur J Pharmacol 791: 244–253. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.08.040
29. *Chistyakov DV, Aleshin SE, Astakhova AA, Sergeeva MG, Reiser G* (2015) Regulation of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) α and -γ of rat brain astrocytes in the course of activation by toll-like receptor agonists. J Neurochem 134: 113–124. https://doi.org/10.1111/JNC.13101
30. *Lin W, Burks CA, Hansen DR, Kinnamon SC, Gilbertson TA* (2004) Lin. J Neurophysiol 92: 2909–2919. https://doi.org/10.1152/jn.01198.2003
31. *Swijsen A, Nelissen K, Janssen D, Rigo J-M, Hoogland G* (2012) Validation of reference genes for quantitative real-time PCR studies in the dentate gyrus after experimental febrile seizures. BMC Res Notes 5: 685. https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-685
32. *Schwarz AP, Malygina DA, Kovalenko AA, Trofimov AN, Zaitsev AV* (2020) Multiplex qPCR assay for assessment of reference gene expression stability in rat tissues/samples. Mol Cell Probes 53: 101611. https://doi.org/10.1016/j.mcp.2020.101611
33. *Malkin SL, Amakhin D V, Veniaminova EA, Kim KK, Zubareva OE, Magazanik LG, Zaitsev A V* (2016) Changes of AMPA receptor properties in the neocortex and hippocampus following pilocarpine-induced status epilepticus in rats. Neuroscience 327: 146–155. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.04.024
34. *Cook NL, Vink R, Donkin JJ, van den Heuvel C* (2009) Validation of reference genes for normalization of real-time quantitative RT-PCR data in traumatic brain injury. J Neurosci Res 87: 34–41. https://doi.org/10.1002/jnr.21846
35. *Langnaese K, John R, Schweizer H, Ebmeyer U, Keilhoff G* (2008) Selection of reference genes for quantitative real-time PCR in a rat asphyxial cardiac arrest model. BMC Mol Biol 9: 53. https://doi.org/10.1186/1471-2199-9-53
36. *Adabi Mohazab R, Javadi-Paydar M, Delfan B, Dehpour AR* (2012) Possible involvement of PPAR-gamma receptor and nitric oxide pathway in the anticonvulsant effect of acute pioglitazone on pentylenetetrazole-induced seizures in mice. Epilepsy Res 101: 28–35. https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2012.02.015
37. *Saha L, Bhandari S, Bhatia A, Banerjee D, Chakrabarti A* (2014) Anti-kindling Effect of Bezafibrate, a Peroxisome Proliferator-activated Receptors Alpha Agonist, in Pentylenetetrazole Induced Kindling Seizure Model. J Epilepsy Res 4: 45–54. https://doi.org/10.14581/jer.14011
38. *Wójtowicz S, Strosznajder AK, Jeżyna M, Strosznajder JB* (2020) The Novel Role of PPAR Alpha in the Brain: Promising Target in Therapy of Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Disorders. Neurochem Res 45: 972–988. https://doi.org/10.1007/s11064-020-02993-5
39. *Fu J, Gaetani S, Oveisi F, Lo Verme J, Serrano A, Rodríguez de Fonseca F, Rosengarth A, Luecke H, Di Giacomo B, Tarzia G, Piomelli D* (2003) Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR-α. Nature 425: 90–93. https://doi.org/10.1038/nature01921
40. *Sihag J, Jones PJH* (2018) Oleoylethanolamide: The role of a bioactive lipid amide in modulating eating behaviour. Obes Rev 19: 178–197. https://doi.org/10.1111/obr.12630
41. *Pan W, Liu C, Zhang J, Gao X, Yu S, Tan H, Yu J, Qian D, Li J, Bian S, Yang J, Zhang C, Huang L, Jin J* (2019) Association Between Single Nucleotide Polymorphisms in PPARA and EPAS1 Genes and High-Altitude Appetite Loss in Chinese Young Men. Front Physiol 10: 59. https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00059
42. *Curia G, Longo D, Biagini G, Jones RSG, Avoli M* (2008) The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. J Neurosci Methods 172: 143–157. https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2008.04.019
43. *Carta AR* (2013) PPARγ: Therapeutic Prospects in Parkinson's Disease. Curr Drug Targets 14: 743–751. https://doi.org/10.2174/1389450111314070004
44. *Chang KL, Wong LR, Pee HN, Yang S, Ho PC-L* (2019) Reverting Metabolic Dysfunction in Cortex and Cerebellum of APP/PS1 Mice, a Model for Alzheimer's Disease by Pioglitazone, a Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPARγ) Agonist. Mol Neurobiol 56: 7267–7283. https://doi.org/10.1007/s12035-019-1586-2
45. *Ormerod BK, Hanft SJ, Asokan A, Haditsch U, Lee SW, Palmer TD* (2013) PPARγ activation prevents impairments in spatial memory and neurogenesis following transient illness. Brain Behav Immun 29: 28–38. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.10.017

46. *Peng J, Wang K, Xiang W, Li Y, Hao Y, Guan Y* (2019) Rosiglitazone polarizes microglia and protects against pilocarpine-induced status epilepticus. CNS Neurosci Ther 25: 1363–1372. https://doi.org/10.1111/cns.13265
47. *Hong S, Xin Y*, HaiQin W, GuiLian Z, Ru Z, ShuQin Z, HuQing W, Li Y, Yun D (2012) The PPARγ agonist rosiglitazone prevents cognitive impairment by inhibiting astrocyte activation and oxidative stress following pilocarpine-induced status epilepticus. Neurol Sci 33: 559–566. https://doi.org/10.1007/s10072-011-0774-2
48. *Prashantha Kumar BR, Kumar AP, Jose JA, Prabitha P, Yuvaraj S, Chipurupalli S, Jeyarani V, Manisha C, Banerjee S, Jeyabalan JB, Mohankumar SK, Dhanabal SP, Justin A* (2020) Minutes of PPAR-γ agonism and neuroprotection. Neurochem Int 140: 104814. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2020.104814
49. *Inestrosa N, Godoy J, Quintanilla R, Koenig C, Bronfman M* (2005) Peroxisome proliferator-activated receptor γ is expressed in hippocampal neurons and its activation prevents β-amyloid neurodegeneration: role of Wnt signaling. Exp Cell Res 304: 91–104. https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2004.09.032
50. *Cai W, Yang T, Liu H, Han L, Zhang K, Hu X, Zhang X, Yin K-J, Gao Y, Bennett MVL, Leak RK, Chen J* (2018) Peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ): A master gatekeeper in CNS injury and repair. Prog Neurobiol 163–164: 27–58. https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2017.10.002
51. *Wu J-S, Tsai H-D, Cheung W-M, Hsu CY, Lin T-N* (2016) PPAR-γ Ameliorates Neuronal Apoptosis and Ischemic Brain Injury via Suppressing NF-κB-Driven p22phox Transcription. Mol Neurobiol 53: 3626–3645. https://doi.org/10.1007/s12035-015-9294-z
52. *Bernardo A, Minghetti L* (2006) PPAR-gamma agonists as Regulators of Microglial Activation and Brain Inflammation. Curr Pharm Des 12: 93–109. https://doi.org/10.2174/138161206780574579
53. *Ji H, Wang H, Zhang F, Li X, Xiang L, Aiguo S* (2010) PPARγ agonist pioglitazone inhibits microglia inflammation by blocking p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways. Inflamm Res 59: 921–929. https://doi.org/10.1007/s00011-010-0203-7
54. *Arsenijevic D, de Bilbao F, Plamondon J, Paradis E, Vallet P, Richard D, Langhans W, Giannakopoulos P* (2006) Increased Infarct Size and Lack of Hyperphagic Response after Focal Cerebral Ischemia in Peroxisome Proliferator-Activated Receptor β-Deficient Mice. J Cereb Blood Flow Metab 26: 433–445. https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600200
55. *Tang X, Yan K, Wang Y, Wang Y, Chen H, Xu J, Lu Y, Wang X, Liang J, Zhang X* (2020) Activation of PPAR-β/δ Attenuates Brain Injury by Suppressing Inflammation and Apoptosis in a Collagenase-Induced Intracerebral Hemorrhage Mouse Model. Neurochem Res 45: 837–850. https://doi.org/10.1007/s11064-020-02956-w
56. *Borges K* (2003) Neuronal and glial pathological changes during epileptogenesis in the mouse pilocarpine model. Exp Neurol 182: 21–34. https://doi.org/10.1016/S0014-4886(03)00086-4

Effect of Anakinra on the Gene Expression of Receptors Activated by the Peroxisome Proliferator in the Rat Brain in the Lithium Pilocarpine Model of Epilepsy

A. I. Roginskaya[a], A. V. Dyomina[a], A. A. Kovalenko[a], M. V. Zakharova[a], A. P. Schwarz[a], T. B. Melik-Kasumov[b], and O. E. Zubareva[a, *]

[a] *Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

[b] *Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

**e-mail: ZubarevaOE@mail.ru*

In recent years, the role of neuroinflammation in the mechanisms of epileptogenesis has been widely discussed. One of the factors influencing inflammatory processes in the brain may be a change in the expression of nuclear transcription factors, in particular, peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs). Agonists of these receptors have a pronounced neuroprotective effect in models of epilepsy. Studies conducted on cells from various tissues of the body reveal a close functional relationship that exists between the genes of PPARs, the pro-inflammatory cytokine interleukin-1β (IL-1β), and the anti-inflammatory cytokine – interleukin 1 receptor antagonist (IL-1ra). This work aimed to study the features of *Ppars* gene expression in rat brain areas in a lithium-pilocarpine

model of epilepsy and to assess the possible effect of IL-1ra (anakinra drug) on these parameters. Pilocarpine was administered to Wistar rats at the age of 7–8 weeks, one day after LiCl injections. Anakinra was administered within a week after pilocarpine (the first injection of 100 μg/kg one hour after seizures, then 5 days at 100 μg/kg and 2 days at 50 μg/kg), after which brain samples were taken for biochemical analysis. The expression of the *Ppara*, *Ppard*, and *Pparg* genes was assessed by reverse transcription followed by a real-time polymerase chain reaction in the dorsal and ventral hippocampus, temporal cortex, and amygdala. It has been shown that pilocarpine-induced seizures lead to an increase in the expression of the *Ppard* and *Pparg* genes in the ventral hippocampus and a decrease in the expression of the *Ppara* gene in all brain regions examined. Anakinra enhances the decrease in the expression of the *Ppara* gene, does not affect the production of *Ppard* mRNA, and levels out the increase in the expression of the *Pparg* gene. Thus, the expression of the *Ppars* genes in the brain changes during epileptogenesis; anakinra regulates the production of *Ppara* and *Pparg* mRNAs in different directions but does *not affect the Ppard gene expression*.

Keywords: lithium-pilocarpine model of epilepsy, receptors activated by peroxisome proliferator, interleukin 1 receptor antagonist, anakinra

EDN: GMRIZR
РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2022, том 108, № 4, с. 505–520

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ДВИГАТЕЛЬНЫХ СИНЕРГИЙ НА РАЗНЫХ УРОВНЯХ УПРАВЛЕНИЯ СЛОЖНОКООРДИНАЦИОННЫМ ДВИЖЕНИЕМ ЧЕЛОВЕКА

© 2022 г. С. А. Моисеев[1, *], С. М. Иванов[1], Р. М. Городничев[1]

[1]*Великолукская государственная академия физической культуры и спорта, Великие Луки, Россия*
**E-mail: sergey_moiseev@vlgafc.ru*

Поступила в редакцию 01.02.2022 г.
После доработки 09.03.2022 г.
Принята к публикации 10.03.2022 г.

В работе рассматриваются синергетические эффекты, проявляющиеся на уровне взаимодействия различных звеньев опорно-двигательного аппарата с паттернами биоэлектрической активности скелетных мышц в рамках концепции иерархического, модульного принципа управления. Двигательные синергии изучались на мышечном, кинематическом и нейрональном уровнях. Рассматривали пространственно-временную структуру двигательных синергий при выполнении короткого прямого удара боксерами высокой квалификации. Синергии извлекали с помощью факторного анализа методом выделения главных компонент. Установлено, что мышцы, образующие пространственную структуру первой синергии, имеют характерные для синергии паттерны импульсной активности управляющих сигналов. Пространственно-временные характеристики перемещений сегментов тела, а также параметры электроактивности скелетных мышц, в структуре синергий демонстрируют высокую стабильность при многократных реализациях двигательного действия и низкую вариативность при внутри- и межиндивидуальном сравнении. Межмышечное взаимодействие, характерное для синергии может быть достигнуто разными стратегиями организации импульсной активности двигательных единиц. Сложное по координации движение может иметь разные временные паттерны активации синергий, но при этом паттерны одной формы могут быть смещены во времени относительно друг друга при их сравнении в ходе многократных реализаций модельного движения.

Ключевые слова: мышечные синергии, кинематические синергии, факторный анализ, двигательная координация, бокс

DOI: 10.31857/S0869813922040057

Проблема координации движений человека как преодоление избыточности степеней свободы, сформулированная Н.А. Бернштейном, и на сегодняшний день остается актуальной [1]. Одна из теорий, рассматривающая решение этой фундаментальной проблемы, базируется на представлении о модульной организации нейрональных сетей, осуществляющих координацию широкого спектра произвольных движений, призванной снизить вычислительную нагрузку на структуры центральной нервной системы. Это может быть реализовано путем организации многоуровневой системы, где высший в иерархии уровень регулирует лишь некоторые параметры работы низшего уровня, функционирующего независимо [2]. Несомненное преимущество иерархической организации управления можно про-

следить при рассмотрении взаимодействия активности нейрональных сетей, контролирующих движения суставов одной конечности, двух конечностей одной пары, иннервируемых одним сегментом спинного мозга и, наконец, координации, объединяющей различные сегменты спинного мозга при осуществлении сложных многосуставных билатеральных движений. Первые два аспекта довольно широко представлены в отечественной и зарубежной литературе. Убедительные доказательства в пользу существования модульной структуры управления получены при изучении синергетических эффектов (эффектов взаимодействия различных параметров моторного выхода) в структуре движений, осуществляемых изолированно одной из верхних конечностей при создании условий искусственного ограничения степеней свободы [3]. Ярким примером рассмотрения синергетического взаимодействия звеньев одной пары конечностей являются локомоции, изучению которых посвящено немало работ [4–6]. Однако вопрос интеграции различных уровней управления многосуставными движениями представлен крайне немногочисленными исследованиями.

Как правило, синергетические эффекты рассматриваются на одном из трех уровней, а в качестве исходных данных используют различные характеристики и параметры моторного выхода. На мышечном уровне таковыми являются параметры биоэлектроактивности скелетных мышц, на кинематическом – пространственно-временные характеристики движений. Нейрональный уровень исследования синергий включает рассмотрение центральных управляющих сигналов с применением методов электроэнцефалографии и электронейромиографии. Регистрируемые сигналы рассматривают изолированно, либо сочетано в зависимости от задач и уровня исследования, чаще с применением методов факторизации данных, позволяющих представить структуру изучаемых движений в виде временных паттернов активации извлекаемых модулей (синергий) и их пространственной архитектуры [7, 8]. Несмотря на существование ряда недостатков и ограничений такого подхода он широко применяется при исследовании координации произвольных движений и может дать представление о том, как параметры двигательной задачи кодируются в структуре двигательных синергий [9, 10]. Таким образом, двигательные синергии имеют характерные черты, которые могут быть выявлены с помощью методов факторизации матриц, предполагающие одновременное, но не обязательно однонаправленное изменение регистрируемых параметров моторного выхода на определенном уровне исследования синергий. На мышечном уровне таковыми являются характеристики биоэлектроактивности скелетных мышц, на кинематическом – взаимодействие суставных углов и пространственно-временных характеристик движения, а на нейрональном – согласованное изменение центральных управляющих сигналов.

Исходя из вышесказанного, задачами данного исследования явилось выявление синергетических эффектов, проявляющихся на уровне взаимодействия различных звеньев опорно-двигательного аппарата (межзвенные синергетические эффекты), и установление взаимосвязи конкретных функций (перемещение звеньев тела с определенными пространственно-временными характеристиками) с паттернами биоэлектрической активности скелетных мышц в рамках концепции иерархическогомодульного принципа управления.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 8 боксерах мужского пола, имеющих звание кандидата в мастера спорта и мастера спорта, в возрасте от 19 до 24 лет. Исследования проведены на базе Научно-исследовательского института проблем спорта и оздоровительной физической культуры Великолукской государственной академии фи-

зической культуры и спорта в лаборатории физиологии нервной и мышечной систем. Все исследования проведены с соблюдением требований и принципов биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинской декларации 1964 г., и одобрены локальным биоэтическим комитетом. Каждый участник представил добровольное письменное информированное согласие на участие в исследованиях.

Испытуемые выполняли три серии прямых коротких ударов по лапам, удерживаемым оппонентом, по 11 в каждой с интервалом отдыха между ними до субъективного ощущения полного восстановления. Первый и последний удар в каждой серии исключали из анализа, и в общей сложности анализировали структуру 216 ударов. Во время движений спортсмена регистрировали электромиограммы (ЭМГ) шестнадцати поверхностных скелетных мышц туловища, верхних и нижних конечностей при помощи телеметрического многоканального биомонитора ME6000 и программного обеспечения MegaWin (MegaElectronics LTD, Финляндия). Регистрировали ЭМГ следующих билатеральных мышц: двуглавой и трехглавой плеча, трапециевидной (верхние пучки), дельтовидной (передняя часть), большой грудной, прямой живота (средняя часть), двуглавой и прямой бедра. Для отведения ЭМГ применяли накожные одноразовые самоклеющиеся электроды с токопроводящим гелем и активной площадью контакта 2.5 см^2, 36 × 45 мм (Swaromed, Австрия). Электроды накладывались биполярно, при этом активный располагался в области проекции двигательной точки исследуемой мышцы, а референтный прикреплялся по ходу ее волокон с межэлектродным расстоянием 2 см,предусматривался дополнительный электрод заземления на каждой мышце [11]. ЭМГ-сигналы усиливались биомонитором с полосой пропускания частот от 10 до 10000 Гц и оцифровывали с частотой 2000 Гц.

Зарегистрированные ЭМГ обрабатывались двумя способами. В первом случае они фильтровались полосовым фильтром с полосой пропускания 20–450 Гц, силой подавления 60 дБ, затем выпрямлялись с интервалом усреднения 0.002 с и повторно применяли фильтр низких частот (ФНЧ)15 Гц, используя программное обеспечение MegaWin. Во втором случае при рассмотрении эффектов взаимодействия потенциалов интерференционной ЭМГ к сигналам не применяли фильтры. Поскольку источником каждого отклонения потенциала в интерференционной ЭМГ является потенциал действия двигательной единицы, динамика таких отклонений может дать информацию об импульсной активности двигательных единиц (ДЕ) в области отведения ЭМГ [12]. Вариационный ряд ЭМГ делили на двадцать равных отрезков, в каждом из которых рассчитывали количество турнов (поворотов). За единицу турна принимали изменение направления кривой ЭМГ вне зависимости от пересечения нулевой линии с амплитудой от пика до пика не менее 10 мкВ [12, 13]. Обработанные двумя способами ЭМГ экспортировали в систему Statistica (StatSoft, Inc., version 10).

Видеозахват движений спортсмена осуществляли с помощью системы 3D-видеозахвата Qualisys (Qualisys, Швеция), включающей 8 высокоскоростных камер Oqus. Светоотражающие маркеры крепились на билатеральных антропометрических точках сегментов тела: лобной, шейной, плечевой, лучевой, шиловидной, вертельной, верхнеберцовой, нижнеберцовой, конечной [14]. Частота кадров видеозахвата составляла 500 Гц. Начало движения спортсмена (короткого прямого удара) определяли по началу изменения угла в коленном суставе правой ноги, а окончание определялось моментом завершения перемещения шиловидной точки на цели. Первичную обработку видеоряда осуществляли в программной среде Qualisys Track Manager, рассчитывали перемещение антопометрических точек, их скорость и ускорение, величины суставных углов. Оцифрованные данные, содержащие вариационные ряды перемещений, скоростей, ускорений, величин сустав-

Таблица 1. Процедуры обработки, применяемые к вариационным рядам данных и количество анализируемых сигналов

Процедуры обработки	Вариационные ряды				
	ЭМГ	величины суставных углов	перемещение	скорость	ускорение
Количество	16	10	16	16	16
Полосовая фильтрация 20–450 Гц	+	–	–	–	–
Выпрямление (интервал = 0.002 с)	+	–	–	–	–
ФНЧ (15 Гц)	+	–	–	–	–
Простое экспоненциальное сглаживание ($\alpha = .050$)	–	–	+	+	+
Стандартизация ($M = 0$, $SD = 1$)	+	+	+	+	+

ных углов, а также маркеры, определяющие граничные моменты начала и окончания движения, экспортировались в систему Statistica.

В системе Statistica формировали матрицу исходных данных (X), размерностью ($I \times J$), где I – число точек (измерений в момент времени) двигательного действия (для каждого движения – 300 точек), а J – число независимых переменных (вариационных рядов ЭМГ, суставных углов, кинематических параметров – всего 74), общая размерность матрицы 2700 × 74. Все вариационные ряды были интерполированы относительно единой точки отсчета. К рядам, содержащим данные о перемещении, скорости и ускорении точек сегментов тела, применяли простое экспоненциальное сглаживание ($\alpha = .050$). Все данные в матрице были стандартизированы к единице стандартного отклонения (табл. 1).

Аналогично формировали отдельную матрицу данных такой же размерности, где I – число точек (измерений в момент времени) двигательного действия (для каждого движения – 20 точек), а J – число независимых переменных (вариационных рядов количества турнов ЭМГ – всего 16), общая размерность матрицы 180 × 16. Данные в матрице были стандартизированы к единице стандартного отклонения.

Из матриц извлекали синергии с помощью факторного анализа (FA) методом выделения главных компонент без вращения факторов. Факторный анализ использовали как метод снижения размерности данных и как метод их классификации. В качестве критерия эффективности извлечения синергий использовали процент общей дисперсии, учитываемый каждым фактором в общем наборе данных (VAF). Допустимым уровнем эффективности реконструкции исходных данных считали VAF не менее 80%. Рассматривали факторы, имеющие собственные значения (eigenvalues) больше единицы и учитывающие не менее 5% общей дисперсии.

Матрица X разлагалась на произведение двух матриц: $X = T \times P + E$, где T – матрица счетов (“scores”), P – матрица нагрузок (“loadings”), E – матрица остатков (рис. 1). Матрица нагрузок несет информацию о взаимосвязи или независимости переменных относительно новых, формальных переменных, полученных в процессе разложения матриц – “векторы синергии”. Матрица счетов определяет временную организацию выявленных синергий и представляет собой проекции исходных данных на подпространство главных компонент – “коэффициенты активации”. Разложение матриц осуществляли в среде Statistica 10.0, используя стандартный модуль “Advanced/Multivariate–Mult/Exploratory–Factor”.

Математико-статистическая обработка данных выполнена в Statistica 10.0 и включала расчет среднего арифметического (M), ошибки среднего арифметического (SE), стандартного отклонения (SD), коэффициента вариации (CV). Для сравнения параметров извлекаемых синергий применяли анализ коэффициентов

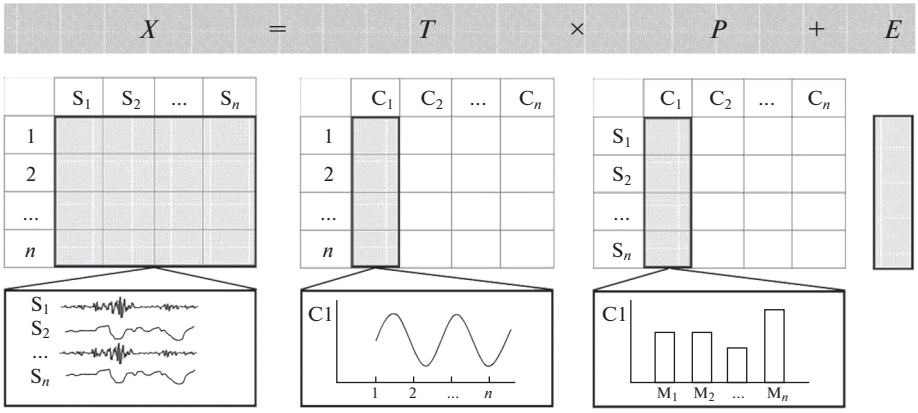


Рис. 1. Схема разложения исходной матрицы. *X* – исходная матрица, *T* – матрица счетов, *P* – матрица нагрузок, *E* – матрица остатков. S1, 2, *n* – исходные сигналы (ЭМГ, величины углов и пр.), *C* – главный компонент, 1, 2, ... *n* – значение в момент времени.

корреляции Пирсона и максимальных значений кросскорреляционных функций с учетом смещения относительно нуля, где 1 – полное соответствие, 0 – отсутствие взаимосвязи.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате разложения матрицы данных установлено три фактора (синергии) с общей долей объясняемой дисперсии 85.42 ± 1.28. Коэффициенты активации первой синергии характеризовались одним пиком активности, приходящимся на первую половину движения, затем следовало постепенное снижение ее активности (рис. 2*c*). Следует отметить высокую степень воспроизводимости временной структуры первой синергии при многократных реализациях удара, где максимальные значения кросскорреляционных функций составляли в среднем по группе 0.83 ± 0.05, а *CV* не превышали 15.73%.

Временная структура второй выявленной синергии демонстрировала два паттерна активации с разнонаправленными пиками активности во второй половине движения (рис. 2*c*). Оба паттерна активации синергии имели высокие коэффициенты соответствия при их сравнении в разных попытках – 0.73 ± 0.05 и 0.71 ± 0.06, следует отметить их низкие коэффициенты вариативности 12.20 и 15.31% соответственно. Коэффициенты активации третьей синергии были представлены тремя характерными паттернами. Первый характеризовался плавным возрастанием коэффициентов к середине движения и постепенным их снижением к его окончанию, второй паттерн имел два выраженных пика активности в первой и второй половинах упражнения, коэффициенты третьего паттерна снижались к середине упражнения и возрастали к концу третьей четверти рассматриваемого двигательного действия (рис. 2*c*).

Исходя из задач работы, были рассмотрены векторы извлеченных синергий. Было установлено взаимодействие шести скелетных мышц, входящих в структуру первой синергии: трехглавой плеча правой и левой руки, дельтовидной, двуглавой мышцы бедра правой стороны и прямой бедра левой нижней конечности (рис. 3*a*). Эти мышцы входили в структуру первой синергии в 100% попыток, реализуемых всеми испытуемыми, причем *CV* не превышали 11.86%, а, например, для прямой

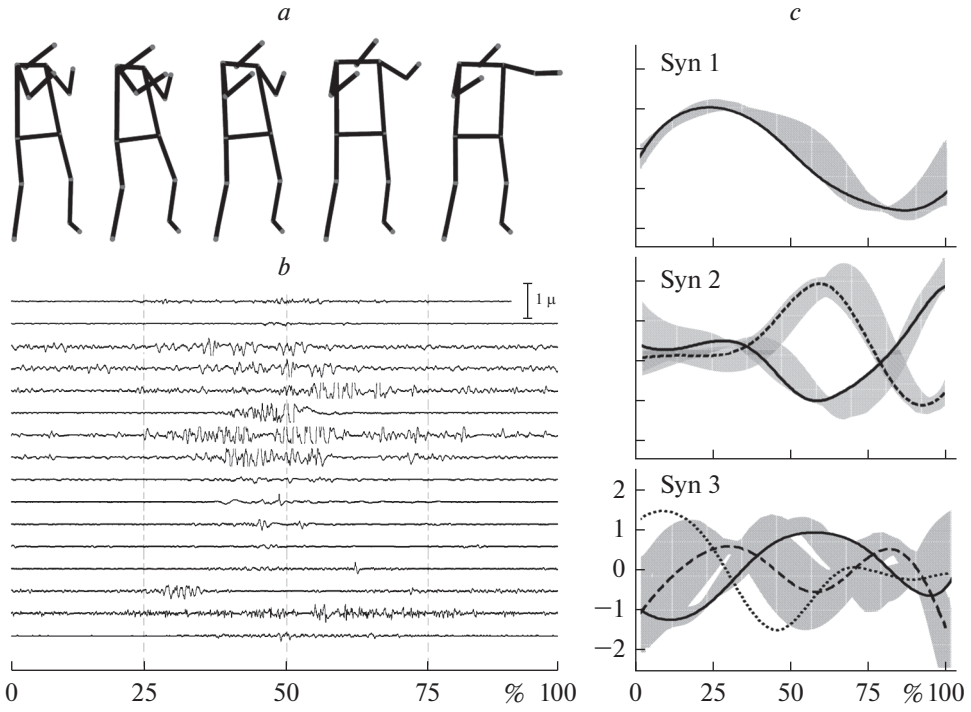


Рис. 2. Кинематограмма (*a*), образец электромиограммы (*b*) и коэффициенты активации двигательных синергий (*c*) при выполнении прямого удара в боксе. Syn 1, 2, 3 – номер синергии. По оси абсцисс – прогресс упражнения (%), по оси ординат – у.е. На рис. *b* – мышцы сверху вниз: двуглавая плеча пр., трехглавая плеча пр., трапециевидная (верхние пучки) пр., дельтовидная (передняя часть) пр., двуглавая плеча лев., трехглавая плеча лев., трапециевидная (верхние пучки) лев., дельтовидная (передняя часть) лев., большая грудная пр., большая грудная лев., прямая живота пр., прямая живота лев., двуглавая бедра пр., прямая бедра пр., двуглавая бедра лев., прямая бедра лев. Сплошные и пунктирные линии на графике – усредненные паттерны. Штриховкой показаны границы крайних значений коэффициентов активации синергий.

мышцы бедра левой стороны отмечалась очень низкая вариативность и высокая степень повторяемости ее включения в структуру первой синергии – 4.79%.

Следует отметить, что помимо названных мышц в структуру первой синергии в диапазоне 61–86% от общего числа попыток входили также дельтовидная левой стороны, большие грудные и прямая мышца живота правой стороны тела. В целом векторы первой синергии демонстрировали низкую вариативность и высокую воспроизводимость, коэффициенты корреляции составляли 0.71 ± 0.02, а *CV* не превышали 15.46%. Структура других выявленных синергий, преимущественно, была представлена одной скелетной мышцей, имеющей высокие коэффициенты взаимосвязи с новой (формальной) компонентой – дельтовидной левой руки (55.6% случаев, 0.57 ± 0.03, *CV* – 20.62%) во второй синергии и двуглавой плеча правой руки в 54.6% случаев (0.51 ± 0.09, *CV* – 52.46%) в третьей. В отдельных случаях было выявлено подключение к синергиям трапециевидных мышц, прямой живота правой стороны, прямой бедра правой и двуглавой мышцы бедра левой нижней конечности (рис. 3*a*). Эти подключения показаны на рисунке как крайние значения (outliers). Векторы этих синергий демонстрировали среднюю степень сходства – не

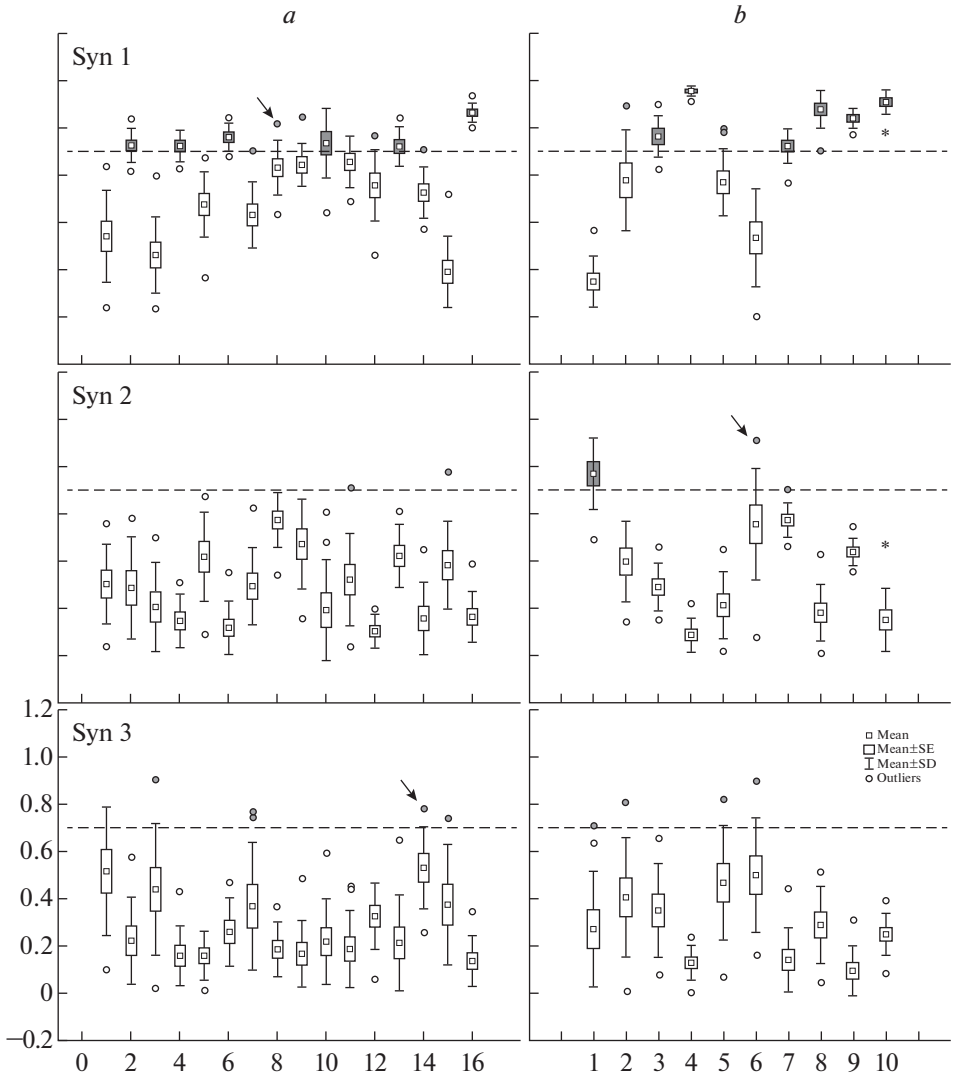


Рис. 3. Векторы двигательных синергий при выполнении прямого удара в боксе. Syn 1, 2, 3 – номер синергии. *a* – мышечные синергии, *b* – кинематические синергии (коактивация суставных углов). На рис. *a*: 1 – двуглавая плеча пр., 2 – трехглавая плеча пр., 3 – трапециевидная (верхние пучки) пр., 4 – дельтовидная (передняя часть) пр., 5 – двуглавая плеча лев., 6 – трехглавая плеча лев., 7 – трапециевидная (верхние пучки) лев., 8 – дельтовидная (передняя часть) лев., 9 – большая грудная пр., 10 – большая грудная лев., 11 – прямая живота пр., 12 – прямая живота лев., 13 – двуглавая бедра пр., 14 – прямая бедра пр., 15 – двуглавая бедра лев., 16 – прямая бедра лев. На рис. *b*: 1 – тазобедренный лев., 2 – тазобедренный пр., 3 – голеностопный лев., 4 – голеностопный пр., 5 – коленный лев., 6 – коленный пр., 7 – локтевой лев., 8 – локтевой пр., 9 – плечевой лев., 10 – плечевой пр. По оси ординат – факторные нагрузки. Данные на рисунке представлены в виде $M \pm SE \pm SD$.

более 0.65 ± 0.02, а вариативность оценивалась как низкая – *CV* не более 14.1%. Таким образом, пространственная структура второй и третьей мышечных синергий оказывалась вариативной при рассмотрении их компонентного состава и воспроизводимости в разных попытках в среднем по группе боксеров.

Пространственная организация первой синергии в 100% случаев определялась коактивацией тазобедренных, плечевых и локтевых суставов обеих сторон тела (рис. 3*b*). Названные суставные углы демонстрировали высокие факторные нагрузки, а их вариативность оценивалась как низкая, например, *CV* голеностопного правого и плечевого левого суставов не превышали 4.96% при сравнении их в разных реализациях. Векторы синергии также показывали высокое соответствие в разных попытках – 0.84 ± 0.03, а *CV* составляли 11.87%. Следует отметить, что в 87% реализаций удара в первую синергию оказывались вовлечены локтевой сустав левой руки и реже – тазобедренный сустав правой стороны тела – 56% случаев. Таким образом, в группе испытуемых было выявлено синергетическое взаимодействие восьми из десяти регистрируемых суставных углов. Вторая синергия характеризовалась взаимодействием тазобедренного сустава левой (в 90% случаев, *CV* = 19.8%) и коленных суставов обеих нижних конечностей (рис. 3*b*). Векторы данной синергии демонстрировали высокую степень сходства, коэффициенты корреляции в среднем по группе составляли не менее 0.92 ± 0.01, а их вариативность оценивалась как крайне низкая (*CV* = 3.1%). Третья синергия преимущественно включала динамику величин углов тазобедренных и коленных суставов, однако лишь в некоторых реализациях коэффициенты данных углов достигали установленного нами порога отнесения к синергии– 0.7. Тем не менее, векторы третьей синергии демонстрировали высокую воспроизводимость в разных попытках (0.78 ± 0.02) и очень низкую вариативность, *CV* не превышали 9.92%.

Пространственная организация выявленных кинематических синергий представлена на рис. 4. Установлено, что первая синергия включала синергетические паттерны перемещения большей части антропометрических точек. Так, во всех реализациях всеми испытуемыми наблюдались сочетанные движения верхних конечностей, головы и нижних конечностей за исключением верхнеберцовых антропометрических точек. Факторные нагрузки точек верхних конечностей при их меж- и внутрииндивидуальном рассмотрении демонстрировали очень низкие коэффициенты вариативности – не более 7.63%, а нижнеберцовые и конечные демонстрировали несколько бóльшие значения – от 10.14 до 24.84%. В целом векторы первой кинематической синергии, определяемой сочетанным перемещением антропометрических точек сегментов тела в среднем составляли 0.89 ± 0.01, а их вариативность была очень низкой – 4.28% (рис. 4*a*).

Установлено, что сегменты тела, имеющие характерные синергетические паттерны перемещений, имели схожую динамику изменений скоростей и ускорений соответствующих антропометрических точек (рис. 4*b*). Их вариативность также была низкой и отмечалась высокая степень сходства векторов синергии (0.88 ± 0.01, *CV* – 6.49% и 0.66 ± 0.05, *CV* – 2.12% соответственно).

Вторая выявленная синергия характеризовалась соответствующими паттернами перемещений лучевой, шиловидной и верхнеберцовой антропометрических точек правой стороны тела, синергетическое взаимодействие этих сегментов было отмечено в большинстве регистрируемых движений. Векторы данной синергии показывали высокую степень соответствия – 0.78 ± 0.03. Также установлено, что структура второй синергии определялась не только паттернами перемещений, но и характерными сочетанными изменениями скоростей тех же сегментов тела, демонстрирующих высокое соответствие векторов синергии при многократных реализациях удара – 0.79 ± 0.03 (рис. 4*b*). Коэффициенты вариативности сегментов тела в структуре второй синергии в разных реализациях удара оценивались как

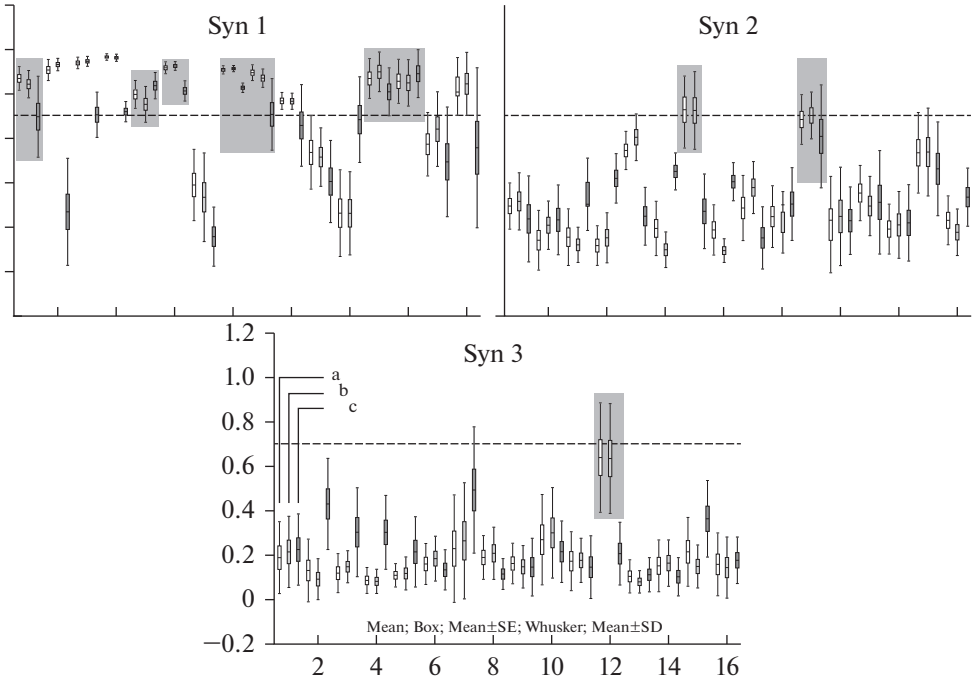


Рис. 4. Векторы кинематических синергий при выполнении прямого удара в боксе. *a* – перемещение, *b* – скорость, *c* – ускорение. По оси абсцисс – антропометрические точки: 1 – лобная, 2 – шейная, 3 – плечевая пр., 4 – плечевая лев., 5 – лучевая пр., 6 – лучевая лев., 7 – шиловидная пр., 8 – шиловидная лев., 9 – вертельная пр., 10 – вертельная лев., 11 – верхнеберцовая пр., 12 – верхнеберцовая лев., 13 – нижнеберцовая пр., 14 – нижнеберцовая лев., 15 – конечная пр., 16 – конечная лев. По оси ординат – факторные нагрузки. Syn 1, 2, 3 – номер синергии. Данные на рисунке представлены в виде $M \pm SE \pm SD$.

низкие, *CV* находились в диапазоне от 15.03 до 24.22%. Векторы второй синергии также демонстрировали низкую вариативность – 14.42%. Следует отметить, что в ряде реализаций движения (не более 34% случаев) в структуру второй синергии дополнительно включалась конечная точка правой нижней конечности, имеющая схожую динамику перемещений и скоростей.

Сочетанное перемещение и скорость правой шиловидной и верхнеберцовой антропометрических точек левой нижней конечности определяли структуру третьей рассматриваемой синергии (рис. 4). Коэффициенты вариативности факторных нагрузок данных точек оценивались как средние, как при рассмотрении паттернов перемещений, так и скоростей при многократных реализациях прямого удара, а другие рассматриваемые сегменты демонстрировали высокую вариативность. Векторы третьей синергии показывали высокую степень сходства – 0.70 ± 0.03 и 0.73 ± 0.04 соответственно для перемещений и скоростей и низкую вариативность – не более 19.12%. Паттерны ускорений регистрируемых сегментов тела в большинстве случаев были более вариативны и не имели характерных для синергии изменений по показателям перемещений и скоростей.

Анализ временнóй структуры паттернов синергетического взаимодействия центральных управляющих сигналов показал наличие двух разных стратегий управления движением. Первая характеризовалась возрастанием импульсной активности

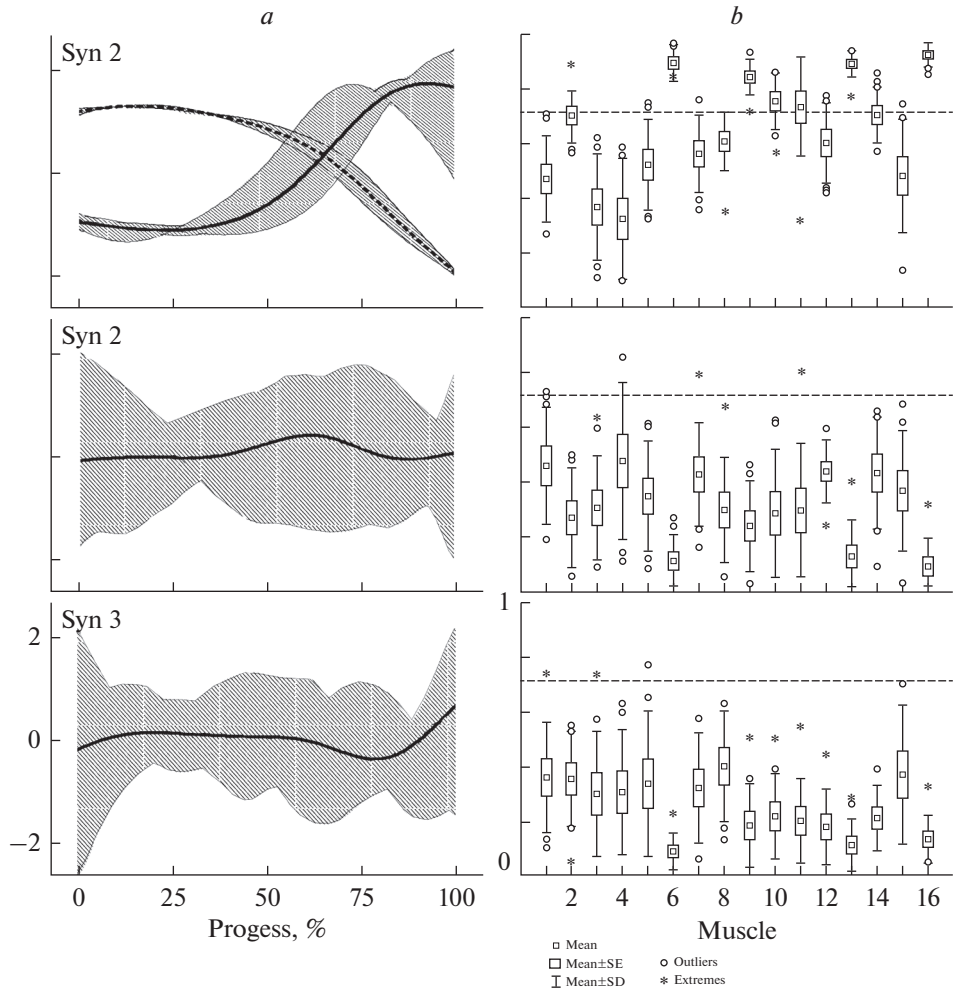


Рис. 5. Паттерны синергетического взаимодействия импульсной активности двигательных единиц при реализации прямого удара в боксе. *a* – коэффициенты активации, по оси абсцисс – прогресс движения (%), по оси ординат – у. е.; *b* – пространственная структура синергий, по оси ординат – факторные нагрузки, по оси абсцисс – скелетные мышцы: 1 – двуглавая плеча пр., 2 – трехглавая плеча пр., 3 – трапециевидная (верхние пучки) пр., 4 – дельтовидная (передняя часть) пр., 5 – двуглавая плеча лев., 6 – трехглавая плеча лев., 7 – трапециевидная (верхние пучки) лев., 8 – дельтовидная (передняя часть) лев., 9 – большая грудная пр., 10 – большая грудная лев., 11 – прямая живота пр., 12 – прямая живота лев., 13 – двуглавая бедра пр., 14 – прямая бедра пр., 15 – двуглавая бедра лев., 16 – прямая бедра лев. Syn 1, 2, 3 – номер синергии.

ДЕ во второй половине движения и достигала максимума к его окончанию, вторая демонстрировала постепенное снижение активности (рис. 5*a*).

Оба паттерна активации имели высокую степень воспроизводимости, что подтверждается высокими значениями максимумов кросскорреляционных функций – 0.92 ± 0.23 и 0.84 ± 0.03. Коэффициенты вариативности, полученные при сравнении коэффициентов активации данных синергий множественных реализаций уда-

ров, не превышали 11.21%, что свидетельствует о низкой вариативности. Следует отметить, что по большей части регистрировались максимальные значения кросскорреляционных функций со смещением их в отрицательную сторону. Вторая и третья установленные синергии имели выраженные пики активности в третьей и последней четвертях рассматриваемого движения, коэффициенты их активации демонстрировали среднюю воспроизводимость от удара к удару, а *CV* были низкими, но достигали несколько больших значений, чем в первой синергии – 25.32%.

В абсолютном большинстве случаев пространственная организация первой синергии включала характерные паттерны импульсной активности ДЕ трехглавой мышцы плеча левой руки, большой грудной мышцы правой стороны, двуглавой бедра правой и прямой мышцы бедра левой нижней конечности (рис. 5*b*). При внутри- и межиндивидуальном сравнении электроактивность данных мышц демонстрировала высокие факторные нагрузки – от 0.84 ± 0.02 и выше, в некоторых реализациях они достигали 0.91 ± 0.01, при этом отмечалась крайне низкая вариативность в диапазоне от 4.68 до 7.95%. В целом векторы первой синергии демонстрировали высокое сходство при многократных повторениях движения (0.74 ± 0.02), а их вариативность оценивалась как низкая. В диапазоне от 50 до 80% из общего числа регистрируемых ударов первая синергия также включала активность трехглавой мышцы плеча правой руки, большой грудной левой, прямой живота правой и прямой мышцы бедра правой нижней конечности.Вторая и третья установленные синергии демонстрировали среднюю воспроизводимость векторов синергии (0.57 ± 0.06 и 0.31 ± 0.03 соответственно) при низкой вариативности достигающей 27.95%. Следует отметить, что векторы этих синергий в среднем по группе не достигали установленного порога 0.7, однако в некоторых реализациях (до 30% от общего числа движений) ко второй синергии можно отнести импульсную активность двуглавой плеча и дельтовидной мышцы правой руки, а к третьей – двуглавой плеча, трапециевидной правой стороны, двуглавой плеча, дельтовидной левой руки, а также двуглавой бедра левой нижней конечности. На рис. 5*b* эти значения представлены как крайние, резко отличающиеся значения от среднего (outliers extremes).

Таким образом, при многократных реализациях прямого удара в боксе структура первой синергии представлена двумя разными временными паттернами активации, а пространственная структура включала более половины исследуемых скелетных мышц с характерными синергетическими паттернами импульсной активности двигательных единиц. Другие выявленные синергии демонстрировали характерную для синергии временную динамику, но отличались нестабильной пространственной организацией.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В нашем исследовании были получены от 4 до 5 извлекаемых факторов (синергий) в разных реализациях прямого удара, однако для рассмотрения были оставлены три синергии, поскольку остальные в большинстве случаев не отвечали установленным требованиями к эффективности извлечения методом факторного анализа, и кроме того, данным этих факторов трудно придать приемлемую физиологическую интерпретацию. Схожее количество извлекаемых модулей было получено при рассмотрении ациклических движений, в реализации которых задействованы различные сегменты тела, при этом отмечается, что обнаруженные методами факторизации данных синергии не являются вычислительным артефактом, а отражают основные аспекты организации паттернов активации мышц, лежащих в основе двигательного поведения [15, 16].

В ряде работ указывается на необходимость соблюдения осторожности при выборе исходных сигналов, включаемых в анализ, поскольку количество ЭМГ при

анализе мышечных синергий и количество повторений изучаемого движения влияет на результаты их извлечения и адекватность интерпретации получаемых данных. Приводятся данные о возможных расхождениях в результатах рассмотрения синергий даже при рассмотрении схожих по биомеханической структуре движений [10, 17]. Возможно, результаты извлечения синергий оказываются чувствительны к исходному набору данных в связи с особенностями алгоритма факторного анализа. Так, при анализе главных компонент выделение факторов осуществляется последовательно с максимизацией остаточной дисперсии, чтобы новые выделенные факторы были ортогональными (некоррелированными). Это наводит на мысль о том, что, например, мышечные синергии, извлекаемые из исходного набора данных, содержащих только данные ЭМГ, будут отличаться от таковых, извлеченных из более широкого набора сигналов. На первый взгляд, этот факт может показаться недостатком метода, однако подход с включением в анализ разнообразных сигналов и соответствующей предварительной математической обработкой, на наш взгляд, наиболее целесообразен,поскольку только в этом случае учитываются сочетанные изменения параметров движения, отражающие все уровни его исследования.

Согласованная активация скелетных мышц, приводящая к соответствующему взаимодействию суставных углов, характерным паттернам перемещений и скоростей различных звеньев тела, вероятно, не является простым следствием биомеханического взаимодействия сегментов тела и тем более вычислительным артефактом, а обусловлено контролем структур ЦНС. Этот вопрос довольно часто ставится исследователями координации движений и все чаще приводятся доказательства в пользу нейронального контроля управления посредством образования и модуляции двигательных синергий [18, 19]. Подтверждение нейронального происхождения синергий находится в наших данных при рассмотрении межмышечной координации и характерных паттернов импульсной активности ДЕ ряда скелетных мышц. Оказывается, что мышцы, образующие пространственную структуру первой синергии, имеют и характерные для синергии сочетанные паттерны импульсной активности управляющих сигналов. Кроме того, пространственно-временные характеристики сегментов тела, а также скелетные мышцы в структуре синергий, демонстрируют высокую стабильность при многократных реализациях стандартного движения и очень низкую вариативность при внутри- и межиндивидуальном сравнении. Эта закономерность прослеживается у разных испытуемых, несмотря на довольно существенные различия в их антропометрических данных.Таким образом, выявляемые синергии, вероятно, являются отдельными морфо-функциональными единицами, в основе функционирования которых лежит активность нейрональных сетей, обеспечивающих надежное управление сложным двигательным навыком, объединяющих рефлексы, организованные на разных уровнях спинного мозга и реализующих сочетанное однонаправленное изменение параметров моторного выхода.

Помимо образования функциональных синергий, проблема избыточности степеней свободы может быть решена путем разделения параметров управления на существенные и несущественные [20]. В действительности, такие параметры управления могут быть обнаружены и в структуре извлекаемых двигательных синергий, на что указывает закономерность проявления вариативности их пространственно-временной архитектуры. В наших исследованиях в большинстве случаев параметры, проявляющие синергетическое взаимодействие в структуре извлеченных синергий, имели низкий или крайне низкий уровень вариативности. Кроме того, отмечалась тенденция к возрастанию вариативности параметров тех сегментов тела, которые совершают меньшее перемещение – это нижнеберцовые и конечные антропометрические точки, в то время как верхний плечевой пояс демонстрировал низкую вариативность в структуре синергий. Очевидно, что последние имеют

определяющее значение в эффективности реализаций целевого движения и управляющая система в этом случае осуществляет более жесткий контроль параметров, но все же допускает незначительную вариативность. Вышеуказанное согласуется в определенной мере с понятием “двигательной эквивалентности”, согласно которому управляющая система может генерировать разные стратегии движения даже при неизменных внешних условиях [18]. В структуре двигательных синергий рассматриваемого нами движения динамика ЭМГ-активности и пространственно-временных характеристик отдельных сегментов тела демонстрировала высокую стабильность при многократных реализациях удара. Другой принцип управления, тесно связанный с проявлением вариативности движений, заключается в способности управляющей системы достигать цели посредством разных стратегий – “двигательная константность”. В наших исследованиях находится подтверждение и данному принципу применительно к структуре двигательных синергий. Было установлено, что в ряде реализаций движения, в синергию оказывались вовлечены дополнительные мышцы, что приводило к появлению дополнительных эффектов коактивации некоторых суставных углов. Такая закономерность прослеживалась и на уровне управляющих сигналов. Временна́я структура некоторых выявленных нами синергий также демонстрировала эту способность управляющей системы, что проявлялось в формировании совершенно разных временных паттернов активации при реализации удара в стандартных экспериментальных условиях. Так, структура первой синергии на мышечном уровне определялась одним паттерном активации, а на уровне взаимодействия управляющих сигналов эта же синергия демонстрировала два характерных паттерна. Таким образом, межмышечное синергетическое взаимодействие может быть достигнуто разными стратегиями организации импульсной активности двигательных единиц.

Разные временные паттерны и пространственная структура синергий могут быть связаны с переходом от дискретных движений к ритмическим, которые имеют разные способы управления в ЦНС. Сообщается, что генерация синергий при ритмических движениях может обеспечить большую вычислительную эффективность, т.е. в большей степени снизить нагрузку на высшие управляющие отделы [22, 23]. Мы не исключаем такую возможность, поскольку протокол исследований не предполагал установление темпа выполнения движений, а анализ временных интервалов между ударами одной серии показал их уменьшение в сравнении с началом серии. Кроме того, известны так называемые одномоментные синергии, рассматриваемые в настоящей работе, и синергии, изменяющиеся во времени [24]. Выявление последних возможно с применением анализа кросскорреляционных функций, где смещение максимумов относительно нуля свидетельствует об опережении либо запаздывании одного процесса относительно другого [12]. Получаемые коэффициенты кросскорреляционных функций в наших исследованиях, преимущественно, были смещены в отрицательную сторону в ряде реализаций ударов. Это свидетельствует о том, что стандартное движение может иметь разные временные паттерны активации синергий, но при этом паттерны одной формы могут быть смещены во времени относительно друг друга при их сравнении в ходе многократных реализаций модельного движения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пространственная структура двигательных синергий, организованных на мышечном уровне и на уровне управляющих сигналов, демонстрирует высокое сходство и стабильность при многократных реализациях стандартного движения, что свидетельствует в пользу утверждения о нейрональной природе управления движе-

нием посредством объединения различных сегментов спинного мозга в единую систему контроля.

Высокая стабильность пространственно-временной структуры извлекаемых синергетических модулей, организованных на разных уровнях управляющей системы, а также формирование разных временных паттернов активации синергий при многократных реализациях сложного движения демонстрирует способность управляющей системы генерировать различные стратегии решения двигательной задачи в стандартных, относительно неизмененных условиях ее выполнения.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Финансирование осуществлено в рамках плановой работы ФГБОУ ВО Великолукская государственная академия физической культуры и спорта.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

С.А.М. – планирование, организация и участие в проведении экспериментов, регистрация и анализ полученных данных, обработка данных, подготовка текста рукописи; Р.М.Г. – общий контроль экспериментов, участие в подготовке рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бернштейн НА* (1990) Физиология движений и активность М. Наука. [*Bernshtejn NA* (1990) Physiology of movements and activity. M. Nauka. (In Russ)].
2. *Гурфинкель ВС, Коц ЯМ, Шик МЛ* (1965) Регуляция позы человека. Москва. Наука. [*Gurfinkel' VS, Kocz YaM, Shik ML* (1965) Regulation of human posture. Moskva. Nauka. (In Russ)].
3. *Muceli S, Boye A, d'Avella A, Farina D* (2010) Identifying representative synergy matrices for describing muscular activation patterns during multidirectional reaching in the horizontal plane. J Neurophysiol 103(3): 1532–1542.
https://doi.org/10.1152/jn.00559.2009
4. *Santuz A, Ekizos A, Kunimasa Y, Kijima K, Ishikawa M, Arampatzis A* (2020) Lower complexity of motor primitives ensures robust control of high-speed human locomotion. Heliyon 6(10): e05377.
https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05377
5. *Escalona M, Bourbonnais D, Goyette M, Le Flem D, Duclos C, Gagnon D* (2021) Effects of varying overground walking speeds on lower-extremity muscle synergies in healthy individuals. Motor Control 27: 1–18.
https://doi.org/10.1123/mc.2020-0008
6. *Kerkman J, Bekius A, Boonstra T, Daffertshofer A, Dominici N* (2020) Muscle synergies and coherence networks reflect different modes of coordination during walking. Front Physiol 11: 751.
https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00751
7. *Tresch M, Cheung V, d'Avella A* (2006) Matrix factorization algorithms for the identification of muscle synergies: evaluation on simulated and experimental data sets. J Neurophysiol 95(4): 2199–2212.
https://doi.org/10.1152/jn.00222.2005
8. *Rabbi M, Pizzolato C, Lloyd D, Carty C, Devaprakash D, Diamond* (2020) Non-negative matrix factorization is the most appropriate method for extraction of muscle synergies in walking and running. Sci Rep 10(1): 8266.
https://doi.org/10.1038/s41598-020-65257-w
9. *Моисеев С,Пухов А, Михайлова Е, Городничев Р* (2021) Методологические и вычислительные аспекты извлечения обширных мышечных синергий при локомоциях умеренной интенсивности. Рос физиол журн им ИМ Сеченова108(1):24-35. [*Moiseev A, Pukhov A, Mikhailova E, Gorodnichev R* (2021) Methodological and Computational Aspects of Extracting Extensive Muscle Synergies in Moderate-Intensity Locomotions. Russ J Physiol 108(1): 24–35.

(In Russ)].
https://doi.org/10.31857/S0869813922010101
10. *Santos P, Vaz J, Correia P, Valamatos M, Veloso A, Pezarat-Correia P* (2020) Muscle synergies reliability in the power clean exercise. J Funct Morphol Kinesiol 5(4): 75.
https://doi.org/10.3390/jfmk5040075
11. *Altenburger K, Bumke O, Foerster O* (1937) Allgemeine neurologie. Handbuch der Neurologie. Berlin.
12. *Персон Р* (1969) Электромиография в исследованиях человека. Москва. Наука. [*Person R (*1969) Electromyography in human studies. Moskva. Nauka. (In Russ)].
13. *Команцев В, Заболотных В* (2001) Методические основы клинической электронейромиографии. СПб. Лань. [*Komancev V, Zabolotny'x V* (2001) Methodological foundations of clinical electromyography. SPb. Lan. (In Russ)].
14. *Clauser C, McConville J, Yoing J* (1969) Weight, volume and center of mass of segment of the human body. AMRL T.R. Ohio.
15. *Santos P, Vaz J, Correia P, Valamatos M, Veloso A, Pezarat-Correia P* (2021) Intermuscular coordination in the power clean exercise: comparison between olympic weightlifters and untrained individuals-a preliminary study. Sensors (Basel) 21(5): 1904.
https://doi.org/10.3390/s21051904
16. *Hasanbarani F, Latash M* (2020) Performance-stabilizing synergies in a complex motor skill: analysis based on the uncontrolled manifold hypothesis. Motor Control 24(2): 238–252.
https://doi.org/10.1123/mc.2019-0049
17. *Augenstein T, Washabaugh E, Remy C, Krishnan C* (2020) Motor modules are impacted by the number of reaching directions included in the analysis. IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng 28(9): 2025–2034.
https://doi.org/10.1109/TNSRE.2020.3008565
18. *Mileti I, Serra A, Wolf N, Munoz-Martel V, Ekizos A, Palermo E, Arampatzis A, Santuz A* (2020) Muscle activation patterns are more constrained and regular in treadmill than in overground human locomotion. Front Bioeng Biotechnol 8: 581619.
https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.581619
19. *Cheung V, Cheung B, Zhang J, Chan Z, Ha S, Chen C, Cheung R* (2020) Plasticity of muscle synergies through fractionation and merging during development and training of human runners. Nat Commun 11(1): 4356.
https://doi.org/10.1038/s41467-020-18210-4
20. *Гельфанд И, Цетлин М* (1962) О некоторых способах управления сложными системами. УМН 17.1(103): 3–25. [*Gel'fand I, Cetlin M* (1962) About some ways of managing complex systems. UMN 17.1(103): 3–25. (In Russ)].
21. *Фельдман А* (1979) Центральные и рефлекторные механизмы управления движениями. М. Наука. [*Fel'dman A* (1979) Central and reflex motion control mechanisms. M. Nauka. (In Russ)].
22. *Sternad D, Marino H, Charles S, Duarte M, Dipietro L, Hogan N* (2013) Transitions between discrete and rhythmic primitives in a unimanual task. Front Comput Neurosci 7: 90.
https://doi.org/10.3389/fncom.2013.00090
23. *Hogan N, Sternad D* (2013) Dynamic primitives in the control of locomotion. Front Comput Neurosci 7: 71.
https://doi.org/10.3389/fncom.2013.00071
24. *Overduin S, d'Avella A, Carmena J, Bizzi E* (2014) Muscle synergies evoked by microstimulation are preferentially encoded during behavior. Front Comput Neurosci 8: 20.
https://doi.org/10.3389/fncom.2014.00020

The Motor Synergies' Organization Features at Different Levels of Motor Control during High Coordinated Human's Movement

S. A. Moiseev[a], *, S. M. Ivanov[a], and R. M. Gorodnichev[a]

[a] *Velikiye Luki State Academy of Physical Education and Sports, Velikiye Luki, Russia*
**e-mail: sergey_moiseev@vlgafc.ru*

The paper considers synergetic effects revealed at the level of musculoskeletal system various parts interaction with skeletal muscles' bioelectric activity patterns in terms of the concept of hierarchical, modular motor control principle. Motor synergies were studied at the muscular, kinematic and neuronal levels. The motor synergies' spatial-

temporal structure was considered during “jab” performing by highly qualified boxers. The synergies were extracted using factor analysis by the principle components separation method. It is established that the muscles which forming the spatial structure of the first synergy have specific combined patterns of control signals’ impulse activity. The spatio-temporal characteristics of the body segments’ movements, as well as the skeletal muscles’ electroactivity parameters, in the synergies structure demonstrate high stability during multiple implementations of motor action and low variability in intra- and inter-individual comparison. The intermuscular interaction typical for particular synergy can be achieved by different strategies of the motor units’ impulse activity organization. A high coordinated movement may have different time patterns of synergy activation, but patterns of the same shape can be implemented at different motor action time moments.

Keywords: muscle synergies, kinematic synergies, factor analysis, motor control, boxing