

# СОДЕРЖАНИЕ

Том 47, номер 4, 2021

Июль—Август

Статьи журнала по соглашению авторов с компанией Pleiades Publishing, Inc. публикуются на английском языке в журнале “*Human Physiology*” ISSN 0362-1197, Pleiades Publishing, Inc.

- Сенсомоторные и локомоторные перестройки при хроническом посттравматическом поражении взрослого спинного мозга человека как свидетельство активность-зависимой нейропластичности  
*Е. Ю. Шапкова, Д. В. Емельяников, Ю. Е. Ларионова* 5
- Особенности поддержания вертикальной позы полезависимых и полнезависимых испытуемых в условиях отсутствия зрительной и звуковой информации  
*О. П. Тимофеева, И. Г. Андреева* 17
- Применение “космической” электромиостимуляции в земной клинической кардиологии  
*М. Г. Полтавская, В. П. Свириденко, А. В. Бранд, Д. А. Андреев, Ю. А. Коряк, Г. О. Велиев, О. Н. Дикур, В. М. Куликов, Ю. Д. Вайсман, Е. С. Томиловская* 26
- Альтернативный сплайсинг мРНК титина в *m. soleus* крысы после семисуточной гравитационной разгрузки  
*А. М. Ермаков, Ю. В. Грицына, С. П. Белова, Т. Л. Немировская, Б. С. Шенкман, И. М. Вихлянец* 36
- Увеличение синхронизации барорефлекторных волн артериального давления и частоты сердечных сокращений при воздействии отрицательного давления на нижнюю часть тела  
*В. О. Негуляев, Е. А. Орлова, А. П. Шарова, О. С. Тарасова, О. Л. Виноградова, А. С. Боровик* 44
- Оценка эффекта курса краткосрочных сеансов “сухой” иммерсии на автономную регуляцию у больных с паркинсонизмом  
*Л. И. Герасимова-Мейгал, Н. В. Сиренева, А. Ю. Мейгал* 51
- Баланс тела человека в “гибридных позах” между стоянием и сидением в пассивном экзоскелете нижних конечностей  
*Н. Д. Бабанов, И. В. Меркурьев, О. В. Кубряк* 58
- Биомеханические характеристики ходьбы и бега при разгрузке опорно-двигательного аппарата человека методом вертикального вывешивания  
*А. В. Шпаков, А. В. Воронов, А. А. Артамонов, Д. О. Орлов, А. А. Пучкова* 68
- Кардио-респираторная координация при острой гипоксии у легкоатлетов-бегунов  
*С. Г. Кривошеков, Д. Ю. Урюмцев, В. В. Гультяева, М. И. Зинченко* 80
- Посттрансляционные окислительные модификации белков плазмы крови космонавтов после продолжительного полета. Часть II  
*И. М. Ларина, А. Г. Бржозовский, А. М. Носовский, М. И. Индейкина, А. С. Кононихин, Е. Н. Николаев, О. И. Орлов* 91
- Физиологии почки и водно-солевого гомеостаза человека: новые проблемы  
*Ю. В. Наточин* 103
- Потенциалы, связанные с событиями, в тесте на сравнение пар слов в зрительной и слуховой модальности  
*И. С. Никишена, В. А. Пономарев, Ю. Д. Кропотов* 115

## **ОБЗОРЫ**

Роль сигма-1 рецепторов в регуляции деятельности сердца.  
Часть 2. Роль сигма-1 рецепторов в кардиопротекции

*С. А. Крыжановский, И. А. Мирошкина, Е. О. Ионова*

124

**ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ ДЛЯ АВТОРОВ**

135

# CONTENTS

Vol. 47, No. 4, 2021

July–August

A simultaneous English language translation of this journal is available from Pleiades Publishing, Inc.

Distributed worldwide by Springer. *Human Physiology* ISSN 0362-1197.

- 
- 
- Sensorimotor and Locomotor Adjustments in the Chronic Post-Traumatic Spinal Cord Damage in Human Adults as Evidence of Activity-Dependent Neuroplasticity  
*E. Yu. Shapkova, D. V. Emelyannikov, Yu. E. Larionova* 5
- Postural Control Features of Field-Dependent and Field-Independent Subjects in the Absence of Visual and Audio Information  
*O. P. Timofeeva, I. G. Andreeva* 17
- The Use of “Space” Electrical Myostimulation in the Clinical Cardiology on Earth  
*M. G. Poltavskaya, V. P. Sviridenko, A. V. Brand, D. A. Andreev, Yu. A. Koryak, G. O. Veliev, O. N. Dikur, V. M. Kulikov, Yu. D. Vaisman, E. S. Tomilovskaya* 26
- Alternative Splicing of Titin mRNA in Rat Soleus after Seven-Day Gravitational Unloading  
*A. M. Ermakov, Yu. V. Gritsyna, S. P. Belova, T. L. Nemirovskaya, B. S. Shenkman, I. M. Vikhlyantsev* 36
- Synchrony of Baroreflex Waves of Arterial Pressure and Heart Rate Increases in Lower Body Negative Pressure Conditions  
*V. O. Negulyaev, E. A. Orlova, A. P. Sharova, O. S. Tarasova, O. L. Vinogradova, A. S. Borovik* 44
- Estimation of the Effect of the Course of Short-Term Sessions of Dry Immersion on Autonomic Regulation in Patients with Parkinsonism  
*L. I. Gerasimova-Meigal, N. V. Sireneva, A. Yu. Meigal* 51
- Balance of the Human Body in “Hybrid Poses” Between Standing and Sitting in a Passive Exoskeleton of the Lower Limbs  
*N. D. Babanov, I. V. Merkurjev, O. V. Kubryak* 58
- Biomechanical Characteristics of Walking and Running During Unloading of Musculoskeletal System by Vertical Handing  
*A. V. Shpakov, A. V. Voronov, A. A. Artamonov, D. O. Orlov, A. A. Puchkova* 68
- Cardiorespiratory Coordination in Acute Hypoxia in Runners  
*S. G. Krivoshchekov, D. Yu. Uryumtsev, V. V. Gulyaeva, M. I. Zinchenko* 80
- Post-Translation Oxidation Modifications of Blood Plasma’ Proteins of Cosmonauts after a Long-Term Flight. Part II  
*I. M. Larina, A. G. Brzhzovsky, A. M. Nosovsky, M. I. Indeykina, A. S. Kononikhin, E. N. Nikolaev, O. I. Orlov* 91
- Physiology of the Kidneys and Water-Salt Homeostasis of Human: New Problems  
*Yu. V. Natochin* 103
- Event-Related Potentials in a Test for Comparing Word Pairs in Visual and Auditory Modality  
*I. S. Nikishena, V. A. Ponomarev, J. D. Kropotov* 115

## REVIEWS

The Role of Sigma-1 Receptors in the Heart Activities Regulation.  
Part 2. The Role of Sigma-1 Receptors in Cardioprotection

*S. A. Kryzhanovskii, I. A. Miroshkina, E. O. Ionova*

124

**RULES FOR AUTHORS OF THE HUMAN PHYSIOLOGY**

135

*Глубокоуважаемые читатели!  
В этом номере мы продолжаем публикацию статей,  
посвященных памяти известного ученого Инессы Бенедиктовны Козловской  
(начало см. Физиология человека. 2021. Т. 47. № 3)*

## **СЕНСОМОТОРНЫЕ И ЛОКОМОТОРНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ВЗРОСЛОГО СПИННОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА КАК СВИДЕТЕЛЬСТВО АКТИВНОСТЬ-ЗАВИСИМОЙ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ**

© 2021 г. Е. Ю. Шапкова<sup>1,2,\*</sup>, Д. В. Емельяников<sup>1</sup>, Ю. Е. Ларионова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центр патологии позвоночника ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» МЗ России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Институт трансляционной биомедицины Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: eyshapkova@gmail.com

Поступила в редакцию 11.02.2021 г.

После доработки 16.02.2021 г.

Принята к публикации 23.03.2021 г.

Тренировка нарушенных двигательных функций формирует активность-зависимую пластичность, направленную на компенсацию функционального дефекта. У лиц с моторно полным травматическим поражением спинного мозга в хронической стадии наличие нейропластического потенциала и возможность его мобилизации являются дискуссионными. Цель исследования – оценить наличие, частоту и величину позитивных сдвигов в локомоторных возможностях, сенсорных и моторных характеристиках пациентов с двигательными полными парезами при повторных курсах комплексной нейрореабилитации. Для анализа были отобраны 37 пациентов (18 мужчин и 19 женщин, возраст 18–55 лет) с последствиями травмы грудного и поясничного отделов спинного мозга с давностью травмы более 1 года (1–32 года) и тяжестью поражения по стандарту Американской ассоциации спинальных хирургов *AIS (ASIA Impairment Scale) A (30) и B (7)*, завершивших 3 стационарных курса комплексной реабилитации с применением тренировок ходьбы в экзоскелете (два курса по 22 дня и курс 14 дней, с перерывами 1 мес.). Каждый курс включал ходьбу в экзоскелете (40 мин/день), тренировку вертикальной позы с электростимуляцией мышц, пневмостимуляцию опорных зон стопы, общий и лимфодренажный массаж, занятия лечебной гимнастикой (суммарно не менее 3–4 ч/день); третий курс дополнительно включал чрескожную электростимуляцию спинного мозга в стационарном режиме и фазовую в ходьбе. Динамику показателей тактильной (*AIS<sub>LT</sub>*) и болевой (*AIS<sub>PP</sub>*) чувствительности и контроля/силы мышц ног (*AIS<sub>MOTOR</sub>*) оценивали перед началом и по окончании каждого курса. Локомоторные возможности участников оценивали по времени и потребности во внешней помощи при выполнении тетрапедальных тестов вперед и назад. Инструментально оценивали возбудимость мотонейронов поясничного утолщения. За период наблюдения прирост *AIS<sub>LT</sub>* выявлен у 28 пациентов (76%) в среднем на 9.4 балла, *AIS<sub>PP</sub>* – у 22 пациента (60%) на 8.0 балла, *AIS<sub>MOTOR</sub>* – у 15 пациентов (40.5%) на 3.9 балла. Динамика в неврологических показателях могла начаться на первом, втором или третьем курсе, позитивные сдвиги с сопоставимой частотой происходили в ходе курса и между курсами и носили накопительный характер. В отдельных случаях после перерыва в тренировках наблюдали возврат к исходному уровню, случаев существенного ухудшения показателей не выявлено. Изменения чувствительности преобладали в ходе первого и второго курсов, прогресс в силе мышц наблюдали в курсе с электростимуляцией спинного мозга. Прогресс в локомоторных возможностях, чувствительности и контроле мышц и изменения возбудимости мотонейронов поясничного утолщения, наблюдавшиеся у пациентов с полными моторными парезами при интенсивных тренировках ходьбы в экзоскелете, расценены как результат сенсомоторных перестроек и проявление активность-зависимой пластичности. Полученные данные подтверждают возможность мобилизовать нейропластический потенциал взрослого хронически пораженного спинного мозга с помощью интенсивных стимулирующих и тренирующих воздействий, при этом тренировки ходьбы в экзоскелете в большей степени мобилизуют сенсорную, в электростимуляции спинного мозга – моторную составляющие.

*Ключевые слова:* нейропластичность, сенсомоторные характеристики, локомоторные возможности, нейрореабилитация, экзоскелет для тренировки ходьбы, тетрапедальные тесты, спинномозговая травма, классификация *ASIA/Frankel*.

**DOI:** 10.31857/S0131164621040147

В нервной системе, завершившей возрастное развитие, пластичность обеспечивает адаптацию к внешним и внутренним изменениям, в том числе к потере какой-либо функции, и реорганизацию нервной системы для компенсации этого нарушения [1–3]. Процессы нейропластичности проявляются как в головном мозге [4–6], так и в спинном мозге [7–10], и возникают на разных уровнях: от молекулярного до поведенческого [11–13]. Нейропластические перестройки можно индуцировать или направить специальными воздействиями, например, афферентной [14, 15], химической [15–18] или электрической стимуляцией [19–21]. Выделяют активность-зависимую пластичность, включающую эндогенные перестройки, обусловленные естественной или специально организованной деятельностью.

Известно, что спинной мозг млекопитающих содержит нейронные сети, генерирующие локомоторный ритм при отсутствии супраспинальных команд и афферентных сигналов с периферии [21, 22]. Представления о способности изолированного спинного мозга к ритмогенезу и возможности перевести функционально изолированные нейронные сети в активное состояние [23] стали основой для разработки реабилитационных технологий для пациентов с травматическим поражением спинного мозга. Повышение возбудимости мотонейронов и активацию локомоторных сетей обеспечивают с помощью магнитной стимуляции [5, 24] или электростимуляции спинного мозга, осуществляемой в эпидуральном [25–27] или чрескожном [25, 28, 29] режимах. Эффект усиливает дополнительная сенсорная стимуляция, например, при воздействии на опорные зоны стопы [30]. Формирование активность-зависимой нейропластичности связывают с физическими упражнениями [1, 31, 32] и тредмил-терапией – тренировками на беговой дорожке с вертикальной разгрузкой веса тела и ручной, либо роботизированной помощью в осуществлении шага [33]. Дальнейшим развитием технологии в последнее годы стали тренировки ходьбы в экзоскелетах – активных роботических устройствах, обеспечивающих вертикальную позу и передвижение парализованного человека [34–37]. Показано, что ходьба в экзоскелете увеличивает независимость [37] лиц с позвоночно-спинномозговой травмой. В недавних публикациях отмечена эффективность совмещения тренировок ходьбы в экзоскелете с функциональной электростимуляцией мышц [38–41], эпидуральной [42–44] и чрескожной ([https://www.researchgate.net/publication/342131182\\_](https://www.researchgate.net/publication/342131182_)

[Design\\_of\\_a\\_hybrid\\_FNS-exoskeleton\\_system\\_to\\_restore\\_locomotion\\_in\\_patients\\_with\\_SCI](#)) [45–47] электростимуляцией спинного мозга. Дополнение навязанной экзоскелетом кинематики ходьбы искусственной активацией мышц представляется весьма перспективным.

В исследовании [47] мы выявили эффекты прироста силы мышц и чувствительности в ходе короткого курса тренировок ходьбы в экзоскелете в сочетании с тонической электростимуляцией спинного мозга у пациентов с полным и неполным поражением спинного мозга, тогда как в контрольной группе, при тренировках ходьбы в экзоскелете без дополнительной стимуляции, эффект наблюдался только при неполных плегиях. Эффективность реабилитационных воздействий у пациентов с клинически полным поражением спинного мозга описана в работах [27, 48–50], однако это ограниченные случаи.

В настоящем исследовании представлена серия наблюдений в ходе интенсивной реабилитации с применением тренировок ходьбы в экзоскелете, направленной на компенсацию длительной депривации локомоторной функции у пациентов с моторно полным поражением спинного мозга. Тренировки дополнены афферентной стимуляцией и электростимуляцией спинного мозга, в связи с чем оценивается не вклад каждого метода, а их кумулятивный эффект, характеризующий диапазон проявлений активность-зависимой нейропластичности. Таким образом, задача исследования – выявить наличие, частоту и величину позитивных сдвигов в локомоторных возможностях, сенсорных и моторных характеристиках пациентов с двигательными полными плегиями при повторных курсах комплексной нейрореабилитации.

## МЕТОДИКА

Проведено проспективное, одностороннее, нерандомизированное исследование с контролем относительно исходного состояния, в ходе которого осуществляли три последовательных курса комплексной реабилитации с применением экзоскелета для ходьбы: 2 курса по 22–24 дня каждый и третий курс длительностью 14 дней с перерывом между курсами в 4 нед. Курсы 1 и 2 проводили в рамках клинической апробации Протокола 2017-7-11 [37], курс 3 – в рамках плановой научной темы. Конструкция экзоскелета и методика обучения ходьбе подробно описаны в [37, 51].

**Таблица 1.** Содержание комплексной реабилитации с применением экзоскелета (суммарно за 3 курса)

Реабилитационные процедуры	Длительность процедур, мин	Кратность
Ходьба в экзоскелете (1-ый и 2-ой курс)	40–60	18 × 2
Ходьба в экзоскелете с электростимуляцией спинного мозга (3-ий курс)	40–60	12–14
Электростимуляция спинного мозга стационарная (3-ий курс)	40	
Тренировка вертикальной позы с электростимуляцией мышц	30	40
Пневмостимуляция опорных зон стопы	30	40
Лечебная гимнастика (групповые и инд. занятия)	50	40
Массаж общий	50	24
Массаж лимфодренажный	30	24

В исследование были включены пациенты с посттравматическим хроническим (давность травмы более 1 года) моторно полным (тип *A* и *B* согласно стандарту Американской ассоциации спинальных хирургов – *ASIA Impairment Scale, AIS*) поражением спинного мозга, завершивших три курса тренировок ходьбы в экзоскелете. Из 52 участников, вступивших в исследование, 3 курса завершили 44 чел., из анализа исключены 4 пациента с неполным моторным поражением спинного мозга (*AIS* тип *C*) и 4 – с давностью травмы менее 1 года, 1 пациент соответствовал обоим критериям исключения. Таким образом, отобрали 37 участников, из которых типу *AIS A* соответствовали 30 и *AIS B* – 7. В соответствии с классификацией *Frankel* эти же пациенты расценены как тип *A* – 17, тип *B* – 15, тип *C* – 5. В отобранную группу вошли 19 женщин и 18 мужчин с последствиями травмы грудного (*Th1-Th12*), груднопоясничного (*Th12-L1*) и верхне-поясничного (*L1-L2*) отделов позвоночника в возрасте от 18 до 55 лет (*mean* ± *SD*; 32.3 ± 9.5), со сроком после травмы от 1 до 32 лет (*mean* 6.9).

Комплексное реабилитационное лечение включало тренировку ходьбы в экзоскелете *ExoAtlet®*, тренировку вертикальной позы с электростимуляцией мышц, пневмостимуляцию опорных зон стопы, лечебную гимнастику, общий и лимфодренажный массаж. Сведения об объеме и кратности реабилитационных процедур представлены в табл. 1.

Чрескожную электростимуляцию спинного мозга (*ЭССМ*) проводили стационарно, в положении лежа на спине, и при ходьбе в экзоскелете. В стационарном режиме *ЭССМ* применялась как потенцирующая процедура (40 мин), предваряющая тренировку ходьбы в экзоскелете. При стационарной *ЭССМ* применяли двухканальный монтаж для активации локомоторных интернейронных сетей с воздействием на поясничное утолщение мозга (канал 1) и проводящие пути (канал 2) спинного мозга. Активный электрод располагали на коже над позвонками *Th12-L1*,

индифферентный – накожно центрально на передней поверхности живота. По второму каналу (только в стационарном режиме) одновременно стимулировали проводящие пути и проприоспинальные интернейронные системы спинного мозга, с расположением пары электродов (–) – на уровне шейного утолщения (позвонки *C7-Th1*), (+) – на уровне предутолщения/верхней части поясничного утолщения (позвонки *Th10-Th11*). Электростимуляцию проводили в тоническом режиме импульсами тока прямоугольной формы длительностью 0.5 мс частотой 3 имп./с. Амплитуду стимуляции подбирали по двигательной реакции – сокращению мышц передней брюшной стенки и ног (патент РФ № 2130326, патент РФ № 2142737, патент РФ № 2204423). Для усиления эффекта на протяжении всей процедуры стационарной *ЭССМ* осуществляли пневмостимуляцию опорных зон стопы имитатором опорной нагрузки “Корвит”. *ЭССМ* при ходьбе в экзоскелете проводили с помощью многоканального портативного электростимулятора в соответствии с фазами ходьбы (заявка на изобретение *RU 2020101607*, приоритет от 16.01.2020). Тренировку вертикальной позы проводили стоя с опорой рук на параллельные брусья и дополнительной опорой на уровне коленных суставов; электростимуляцию подавали на *m. gluteus max.* в поочередном режиме (2 с/2 с), в соответствии с ним пациент ритмично смещал вес тела с правой ноги на левую и обратно. Физические упражнения для развития силы сохраненных мышц, увеличения подвижности в суставах и остальные процедуры (табл. 1) осуществляли в рутинном режиме.

Неврологический статус участников оценивали по шкалам *AIS*: силу произвольных движений/напряжений ног – по 10 ключевым сегментам спинного мозга, иннервирующим ноги (*max* – 50 баллов *AIS*); болевую и тактильную чувствительность – по 28 сегментам (*max* – 112 баллов каждая). Полноту поражения спинного мозга классифицировали в соответствии со стандартом *ASIA*, основанном на сохранности/отсутствии

произвольной и рефлекторной активности ануса и чувствительности в анальной зоне, и по *Frankel* (1969 г.), ориентированной на сохранность или отсутствие произвольных движений и чувствительности ниже уровня поражения спинного мозга. Оценивали статическую и динамическую составляющие тонуса мышц с качественной оценкой: сниженный, физиологический, повышенный. При повышенном (спастическом) тонусе проводили оценку спастичности по шкале *Ashworth* (1993 г.).

*Локомоторные возможности пациентов* оценивали при тетрапедальной ходьбе, включающей преодоление 4 м вперед и назад [37], с контролем затраченного времени и самостоятельности выполнения задания. Все тесты документировали видеозаписью. Потребность в помощи оценивали в баллах: минимальная помощь для частичной разгрузки или облегчения движений одной ноги — 1 балл; существенная помощь одного человека — 2 балла; существенная помощь одного или двоих человек с прохождением менее 4 м — 3 балла; полностью пассивное выполнение теста — 4 балла. Улучшением считали сокращение времени самостоятельного выполнения теста более чем на 5% от исходного; для выполняющих тесты с помощью — уменьшение помощи на 1 балл [37]. Задачи максимально быстрого преодоления дистанции перед пациентами не ставили. Тестирование локомоторных возможностей проводили в начале и по окончании каждого курса.

*Нейрофизиологическое тестирование.* Оценивали возбудимость мотонейронов поясничного утолщения спинного мозга методом *H*-рефлекса (стимуляция *n. tibialis* на уровне подколенной ямки с регистрацией ответов в *m. gastrocnemius lat.*) и амплитуду вызванных ответов *m. tibialis anterior* при стимуляции *n. peroneus*. Для подтверждения рефлекторного характера вызванных ответов при *H*-рефлексе использовали амплитудное подавление [52].

*Статистическая обработка данных* включала оценку описательных статистик и дисперсионный анализ (*ANOVA*) измеряемых показателей до и после курса. Факторами анализа были полнота поражения спинного мозга (тип по *Frankel*) и сроки после травмы (ранги: до 2 лет, от 2 до 5 лет, свыше 5 лет). В связи с несбалансированностью выборки использовали универсальную линейную модель в пакете *Minitab 16*. Уровень значимости различий определен как  $p = 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

*Динамика неврологических характеристик.* При первичном тестировании произвольный контроль мышц ног отсутствовал полностью у 22 из 37 участников ( $AIS_{МОТОР} 0$ ), суммарно сила мышц

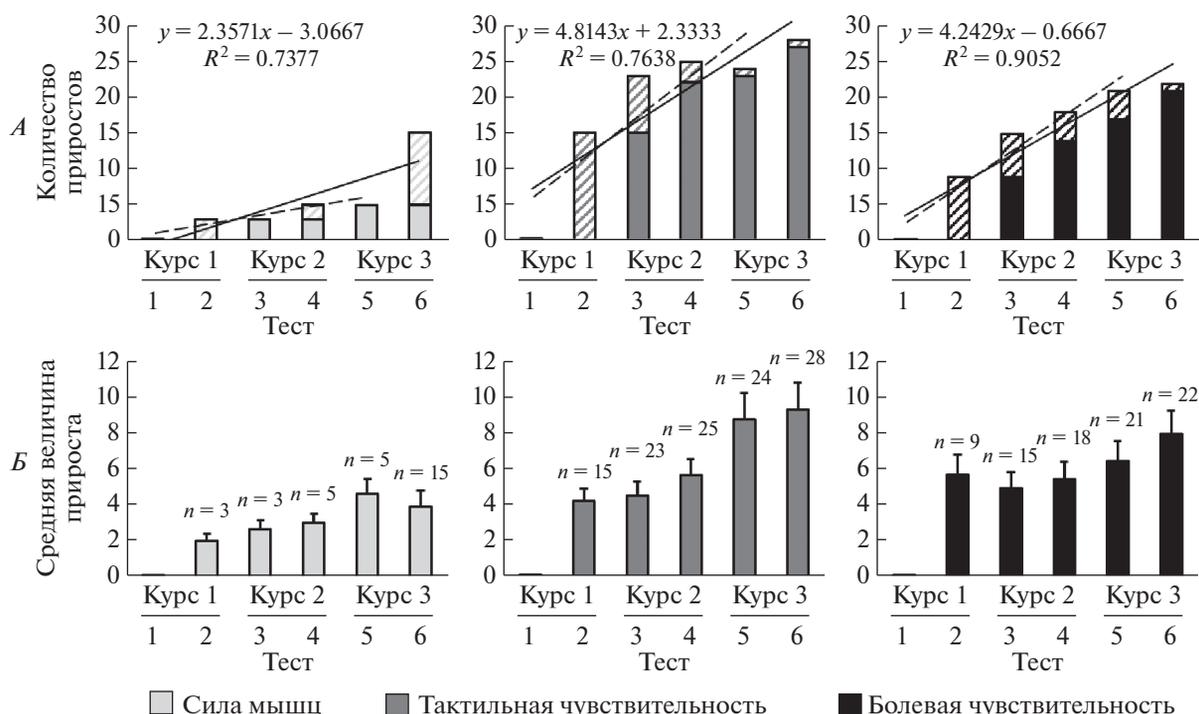
ног до 10 баллов *AIS* (из  $max 50$ ) выявлена у 9 участников, от 11 до 20 баллов — у 6 участников (5 из них отнесены к типу *C* по *Frankel*). Тактильная чувствительность варьировала от 34 до 109, болевая от 32 до 94 баллов *AIS*.

В ходе реабилитации динамика неврологических показателей выявлялась как в ходе курса, так и между курсами, в связи с этим анализировали не результаты курсов, а приросты по результатам всех 6 тестирований (рис. 1). В целом позитивные сдвиги носили накопительный характер, в отдельных случаях после перерыва в тренировках наблюдался возврат к исходному уровню с последующим ростом, случаев ухудшения показателей по отношению к исходному уровню не выявлено. Индивидуальная динамика могла выявиться впервые при любом тестировании и продолжиться либо прекратиться в последующих.

По тактильной и болевой чувствительности за первый курс позитивные сдвиги возникли у 15 и 9 пациентов соответственно, за последующие 4 нед. (перерыв в тренировках) сдвиги впервые появились еще у 8 и 6, а продолжились у 15 и 9 участников. За время второго курса впервые возникли сдвиги у 3 и 4, а продолжились у 22 и 14 пациентов, после второго и в ходе третьего курсов случаи прироста продолжали нарастать до 27 и 21 случая, а впервые выявляемые приросты сократились до 1 (рис. 1, А). Средняя величина прироста нарастала по тактильной чувствительности от 4.5 до 9.4, по болевой — от 5.5 до 8 баллов *AIS* (рис. 1, Б).

Изменения в силе мышц в ходе первых двух курсов выявляли редко — 3 случая после первого курса и суммарно 5 случаев к началу 3 курса. При 5 тестированиях, к началу 3 курса отмечено увеличение прироста до 4.6 баллов *AIS* без изменения количества случаев. На третьем курсе, при дополнительном применении электростимуляции спинного мозга в стационарном режиме и в ходьбе выявлен существенный прирост (+10 случаев) увеличения силы мышц с некоторым снижением величины прироста (3.9 баллов *AIS*).

Таким образом, суммарно за период наблюдений прирост тактильной чувствительности выявлен у 28 чел. ( $9.4 \pm 1.5$  баллов *AIS*,  $mean \pm SE$ ), болевой — у 22 ( $8.0 \pm 1.3$  балла *AIS*), силы мышц — у 15 чел. ( $3.9 \pm 0.9$  балла). Динамика внутрикурсовых приростов по силе мышц и по чувствительности выявила противоположно направленные тенденции — наибольшая частота и величина приростов по обоим видам чувствительности выявлены на первом и втором курсах, на третьем курсе количество новых приростов минимально при значительной средней величине прироста. По силе мышц, напротив, приросты на протяжении 1 и 2 курсов минимальны, а наибольшее количество случаев прироста выявлено в третьем



**Рис. 1.** Динамика частоты (А) и объема (Б) прироста силы мышц, тактильной и болевой чувствительности по отношению к исходному тестированию в ходе экзорезабилитации в 6 контрольных точках (до начала и по окончании каждого курса тренировок).

Штриховкой показаны случаи впервые выявленных приростов, заливкой – продолжения прироста, возникшего ранее, *n* – количество участников, улучшивших неврологические характеристики. Линии тренда рассчитаны по 5 (пунктирная линия) и 6 (сплошная линия) контрольным тестам.

курсе, при совместном применении тренировок ходьбы в экзоскелете и ЭССМ. Электростимуляция спинного мозга (курс 3) не увеличила среднего прироста силы, но в 3 раза увеличила количество участников с положительной динамикой в контроле мышц.

**Динамика локомоторных возможностей. Тетрапедальная ходьба.** К выполнению локомоторных тестов допущен 31 пациент, для количественного анализа времени выполнения тестов отобраны пациенты, выполняющие тесты самостоятельно: вперед 23, назад 17 чел. Исходно время выполнения тестов сильно варьировало среди участников: вперед – от 5 до 202 с (*mean* 56 с), назад – от 5 до 255 с (*mean* 62 с), результаты последующих тестов нормировали по первичным.

Время выполнения тестов в ходе курса у большинства участников сокращалось, однако некоторые пациенты отмечали утомление к окончанию курса, либо увеличение спастичности, снижавшее результаты тестирования. После перерыва в тренировках следовало облегчение ходьбы, подтвержденное улучшением результатов в начале следующего курса. Распределение случаев сокращения/увеличения времени выполнения тестов в конце каждого курса, по отношению к его началу, представлены в табл. 2. Количество и

диапазон позитивных сдвигов превосходили негативные во всех курсах по обоим тестам.

В среднем по группе время выполнения тетрапедальных тестов сокращалось в ходе каждого курса и по его окончании, за весь период наблюдений время выполнения тетрапедальных тестов вперед сократилось на 35%, назад – на 50% (рис. 2). Наибольшее снижение времени отмечено в первом курсе, что может быть связано с обучением новому навыку. У двоих участников отсутствовала существенная динамика времени выполнения тестов на протяжении всей реабилитации.

Дисперсионный анализ (*ANOVA*) времени выполнения тестов показал достоверные различия каждого последующего тестирования с исходным, вперед ( $p = 0.001 F = 10.2 error 129$ ), назад ( $p = 0.001 F = 12.5 error 93$ ), существенных различий между тестами 2–6 не выявлено.

В группе пациентов, нуждающихся в помощи, потребность в ней значимо сократилась ( $p < 0.05$ ): при тесте вперед у 6/8, назад – у 12/14, изменений не выявлено у двоих участников. Зависимости положительной динамики в локомоторных возможностях от сохранности/отсутствия чувствительности (типы А и В) не установлено ( $p > 0.5$ ).

**Таблица 2.** Динамика времени выполнения тетрапедальных тестов в ходе курса (распределение результатов внутри группы)

Тетрапедальные тесты	Курс	Количество участников	Количество и диапазон сдвигов к концу курса (время выполнения теста, % от начала курса)		
			сокращение	без динамики	увеличение
Вперед	1	23	18 (57–93%)	1	4 (106–125%)
	2	23	11 (53–92%)	7	5 (111–133%)
	3	23	10 (62–92%)	8	5 (106–122%)
Назад	1	17	14 (40–94%)	3	0
	2	17	7 (59–90%)	4	6 (107–129%)
	3	17	10 (54–58%)	5	2 (110–159%)

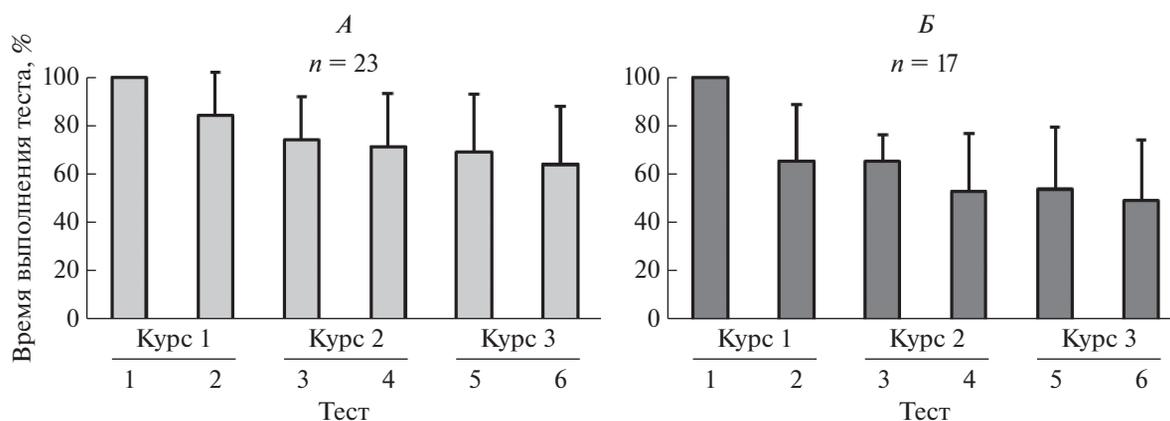
Таким образом, улучшение локомоторных возможностей в виде снижения потребности в помощи, либо сокращения времени выполнения тестов, наблюдалось у 27 из 31 чел. (87%), у четверых динамика отсутствовала.

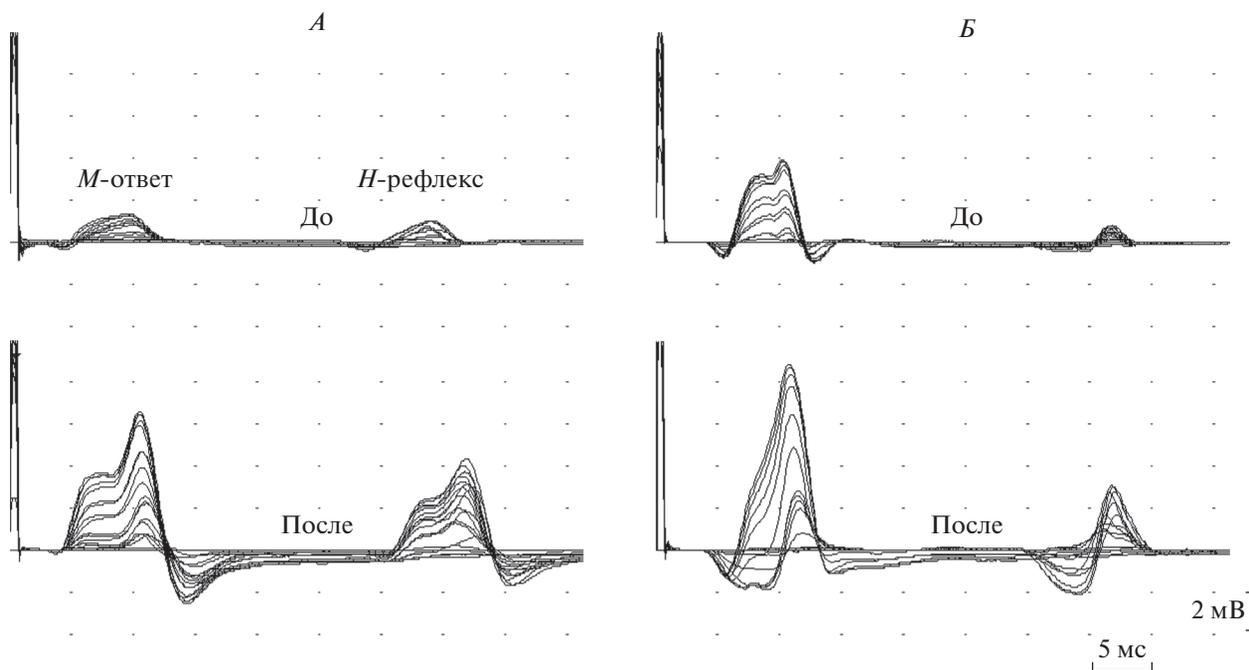
*Динамика нейрофизиологических параметров в ходе экзорейабилитации.* Амплитуду вызванных ответов на электростимуляцию периферических нервов ног оценивали в каждой конечности, вне зависимости от би- или унilaterальной регистрации ответов. Из анализа исключены случаи низкоамплитудных ответов, динамика которых создает гигантские приросты (5). В анализ включены *M*-ответы *m. gastrocnemius lat.* у 24 ( $n = 46$ ), в *m. tibialis anterior* – у 23 пациентов ( $n = 44$ ), у части – унilaterально. *H*-рефлекс в *m. gastrocnemius lat.* зарегистрирован у 20 чел., из них у 7 – унilaterально ( $n = 33$ ).

Реакция нейрональных структур на тренировочную нагрузку проявлялась в виде повышения либо снижения амплитуды вызванных мышечных и/или рефлекторных ответов. При исходно низких ответах (характерно для вялых пlegий) типичной реакцией было повышение возбудимости

в виде увеличения амплитуды мышечного и рефлекторного ответов, либо только одного из них. При исходно высокой амплитуде вызванных ответов (характерно для спастических пlegий) рефлекторный ответ мог как снижаться, так и повышаться. Выявленные изменения оценивали с учетом абсолютных значений и соотношения *H/M*, считая эталонным соотношением 0.4–0.6.

Примеры регистраций с позитивным изменением соотношения амплитуд *H/M* представлены на рис. 3. При первичном тестировании (рис. 3, А) амплитуды *M*- и *H*-ответов сопоставимы, соотношение *H/M* высокое (0.88), после реабилитации – заметный рост обоих потенциалов с преобладанием увеличения амплитуды *M*-ответа, что снижает соотношение *H/M* до 0.67. На рис. 3, на панели *Б* пример роста обоих потенциалов в ходе реабилитации с преобладанием роста рефлекторного ответа с изменением соотношения *H/M* от 0.24 до 0.52. Оба примера иллюстрируют рост амплитуды мышечных и рефлекторных ответов, расцененные как результат позитивных сенсомоторных перестроек в ответ на применяющуюся интервенцию.

**Рис. 2.** Динамика времени выполнения тетрапедальных тестов вперед (А) и назад (Б) в сравнении с исходным тестированием (групповые данные).



**Рис. 3.** Увеличение амплитуды мышечных и рефлекторных ответов в ходе реабилитации: регистрация в *m. gastrocnemius lateralis* при стимуляции *n. tibialis* (сравнение тестов 1 и 6) со снижением (А) и увеличением (Б) соотношения Н/М. Инд. данные пациентов Г.А. и С.О.

Амплитуда вызванных мышечных и рефлекторных ответов на этапах реабилитации с применением тренировок ходьбы в экзоскелете и тренировок ходьбы в экзоскелете с электростимуляцией спинного мозга широко варьировала, отражая активизацию нейрональных структур и изменения их возбудимости. Данные о распределении приростов и снижений амплитуды ответов, по отношению к исходному тестированию, представлены в табл. 3.

Количество случаев увеличения амплитуды мышечных ответов *m. gastrocnemius lat.* и *m. tibialis ant.* росло на протяжении всего периода наблюдений (тесты 2-6). Амплитуда ответов *m. gastrocnemius lat.* постепенно увеличивалась в ходе реабилитации, от 33% в тесте 2 до 79% в тесте 6, тогда как амплитуда *m. tibialis ant.* резко возросла в ходе первого курса (на 76%) и в дальнейшем несколько снизилась при одновременном увеличении случаев прироста. Амплитуда Н-рефлекса увеличилась у половины пациентов, изменения происходили скачкообразно: увеличение амплитуды ответов в ходе каждого курса реабилитации с некоторым снижением между ними при сохраняющейся тенденцией к увеличению. Наибольший прирост амплитуды Н-рефлекса выявлен в ходе 3 курса, при применении ЭССМ.

Таким образом, у большинства участников исследования нейрофизиологическое тестирование выявило увеличение амплитуды вызванных ответов в мышцах голени, более выраженное в *m. gas-*

*trocnemius lat.*, чем в *m. tibialis ant.* Увеличение амплитуды Н-рефлекса в *m. gastrocnemius lat.* было более выраженным на первом (эффект активизации в ответ на тренировки ходьбы в экзоскелете) и третьем курсах (реакция на ЭССМ). Однако достоверно разделить накопительный эффект от трех курсов (потенцирование при расширении двигательного режима) и вклад собственно ЭССМ не представляется возможным. Выявленные изменения вызванных мышечных и рефлекторных ответов, несмотря на различные типы реакций, подтверждают активную реакцию нейронных структур поясничного утолщения на комплексное тренирующее и стимулирующее воздействие.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Можно предположить, что принудительная ходьба, инициируемая экзоскелетом, обеспечивает локомоторную деятельность пациентов и этим направляет активность-зависимую пластичность. Однако при тяжелом поражении спинного мозга, с длительной депривацией ходьбы, одной ходьбы в экзоскелете недостаточно для начала пластических перестроек, поэтому локомоторные тренировки дополнены тренировками вертикальной позы и широким комплексом дополнительных стимулирующих воздействий — пневмостимуляцией опорных зон стопы, упражнениями и массажем. Прирост по одному или обоим видам чувствительности на 1 балл AIS и более зарегистри-

**Таблица 3.** Динамика амплитуды вызванных мышечных и рефлекторных ответов в ходе реабилитации (распределение результатов внутри группы) при контрольных тестированиях

Параметр	Тест	Количество случаев	Количество и диапазон сдвигов (% от исходного)				
			увеличение		без динамики	снижение	
			количество случаев	величина прироста		количество случаев	величина снижения
<i>M</i> -ответ <i>m. gastrocnemius lat.</i>	2	46	23	+33%	9	14	-15%
	3		25	+46%	9	12	-15%
	4		27	+53%	6	13	-16%
	5		28	+68%	6	12	-14%
	6		31	+79%	6	9	-11%
<i>H</i> -рефлекс <i>m. gastrocnemius lat.</i>	2	33	16	+53%	3	14	-22%
	3		16	+38%	3	14	-20%
	4		13	+51%	8	1	-20%
	5		19	+44%	0	14	-28%
	6		16	+78%	3	14	-28%
<i>M</i> -ответ <i>m. tibialis ant.</i>	2	44	16	+76%	10	18	-18%
	3		19	+61%	8	17	-19%
	4		21	+51%	3	20	-22%
	5		22	+60%	6	16	-20%
	6		24	+56%	9	11	-18%

**Таблица 4.** Линии тренда, характеризующие изменения неврологических характеристик

Линия тренда	Тактильная чувствительность, <i>LT</i>	Болевая чувствительность, <i>PP</i>	Сила мышц, <i>Motor</i>
Линейная (тесты 1–5)	$y = 5.78x + 0.08$ $R^2 = 0.7632$	$y = 5.08x - 2.62$ $R^2 = 0.9395$	$y = 1.18x - 0.32$ $R^2 = 0.8612$
Линейная (тесты 1–6)	$y = 4.8143x + 2.3333$ $R^2 = 0.7638$	$y = 4.8143x + 2.3333$ $R^2 = 0.7638$	$y = 2.3571x - 3.0667$ $R^2 = 0.7377$

стрирован более чем у 80% участников, при этом средний прирост за 3 курса достиг 8 и 9 баллов, а максимальный – 23 и 16 баллов *AIS*. Наблюдавшийся в ходе первого и второго курсов прирост чувствительности показал, что эти воздействия достаточны для получения значимых сдвигов в чувствительности, но не в силе мышц. На третьем курсе реабилитации уже привычные пациентам воздействия дополнены ЭССМ в стационарном режиме и в ходьбе для активации локомоторных сетей спинного мозга. Эти суммарные воздействия сопровождалась приростом силы мышц у пациентов с моторно-полным поражением спинного мозга в хронической стадии, причем преодолеть порог моторных пластических перестроек удалось 40% участников.

Динамика чувствительности и контроля мышц в ходе реабилитации различались, что подтверждается сравнением линий тренда, рассчитан-

ным с помощью линейной регрессии по 5 и 6 контрольным тестам (рис. 1, табл. 4).

Линия тренда по 5 контрольным точкам определяет ожидаемый по результатам двух курсов результат, по 6 точкам – фактическое изменение тренда по результатам заключительного тестирования: выявлено уменьшение угла наклона кривой по обоим видам чувствительности и увеличение по приросту силы. Связь прироста силы с применением ЭССМ представляется очень вероятной, тогда как снижение частоты прироста чувствительности может быть следствием реализации нейропластического ресурса ранее, на первых двух курсах. Очевидно, что умеренные позитивные сдвиги, наблюдающиеся у большинства пациентов, не обеспечивают пациенту самостоятельной ходьбы, но даже минимальные сдвиги за относительно короткий период после многолетнего от-

сутствия позитивной динамики демонстрируют возможность мобилизовать нейропластический потенциал и расширить функциональные возможности пациентов. Об эффективности реабилитации с применением ЭССМ с локомоторными тренировками при моторно полных плегиях сообщали и другие авторы [27, 47–50]. Вероятно, традиционно применяемые методы реабилитации недостаточны для мобилизации нейропластического потенциала при хроническом поражении спинного мозга, что требует большего объема и интенсивности тренирующих воздействий.

Количественная оценка силы мышц, болевой и тактильной чувствительности в баллах *AIS* стандарта *ASIA* является достаточно точным инструментом тестирования пациентов с повреждениями спинного мозга. Этот же стандарт определяет полноту поражения спинного мозга в зависимости от наличия/отсутствия произвольного либо рефлекторного сокращения ануса и чувствительности в анальной зоне как наиболее каудальной зоны произвольного контроля мышц и чувствительности. В отличие от этого, классификации *Frankel* определяет полноту поражения по наличию/отсутствию движений и чувствительности ниже зоны поражения. В нашем исследовании для отбора пациентов использован стандарт *ASIA*, но одновременно учитывался и статус по *Frankel*. Оказалось, что пациенты, показавшие прогресс в силе мышц в ходе первого и второго курсов, относятся к типу *C* по *Frankel*, т.е. эти случаи могут рассматриваться как неполная плегия. Пользуясь обеими классификациями, мы пришли к мнению о неоправданно расширительной трактовке “полных” плегий в стандарте *ASIA* и предпочтительности использования классификации *Frankel*.

Локомоторные возможности, на которые непосредственно направлена тренировка ходьбы в экзоскелете, оценивали по выполнению тетрапедальной ходьбы вперед и назад, доступной большинству участников. Несмотря на то, что тренировки в экзоскелете реализовали бипедальную, а не тетрапедальную ходьбу, тестирование показало статистически значимое улучшение: выполняющие тесты самостоятельно сократили время их выполнения, а нуждающихся в помощи — потребность в ней. Суммарно прогресс зарегистрирован у 90% участников, т.е. абсолютное большинство участников расширило локомоторные возможности на доступном уровне.

Адаптивные перестройки, проявившиеся в изменении локомоторных возможностей и сенсорных и моторных характеристик, сопровождались увеличением амплитуды вызванных ответов в мышцах ног на всем протяжении реабилитации, тогда как динамика амплитуды *H*-рефлекса в *m. gastrocnemius lat.* была более выраженной на первом (эффект активизации в ответ на трени-

ровки ходьбы в экзоскелете) и третьем курсах (реакция на ЭССМ). Вызванные мышечные и рефлекторные изменения не были однородны, но наличие динамики подтверждает активную реакцию нейронных структур поясничного утолщения на комплексное тренирующее и стимулирующее воздействие.

Результаты исследования показали, что при интенсивных повторных курсах тренировок ходьбы в экзоскелете в апробированном режиме, сдвиги могут быть получены у значительной части пациентов. Успешность применявшейся нами технологии можно связать, в первую очередь, с сочетанием высокоэффективных методов восстановления локомоторной активности, оказывающих на спинальные локомоторные сети синергичный эффект. Экзоскелет не только обеспечивает кинематический рисунок движения, но и воздействует на рецепторы растяжения и опорных зон стопы, кроме того, при каждом шаге происходит смещение центра масс, дестабилизирующее вертикальную позу. ЭССМ активирует локомоторные структуры СМ, пневмостимуляция опорных зон стопы усиливает этот эффект и вместе они запускают активность-зависимую нейропластичность. Эффективность совмещения тренировок ходьбы в экзоскелете с функциональной электростимуляцией мышц [38–41], эпидуральной [42–44] и чрескожной [45–47] электростимуляцией спинного мозга показана и другими авторами, в том числе в систематическом обзоре [53].

Ограничения достоверности результатов обусловлены субъективным оцениванием неврологических характеристик (*ASIA*), несмотря на международно признанные стандарты такой оценки. Вторым ограничением является предварительный отбор пациентов по возрасту, физической готовности и мотивации, поэтому результаты не могут аппроксимироваться на всю популяцию пациентов с тяжелыми посттравматическими миелопатиями. Кроме того, тренировки ходьбы в экзоскелете дополнялись процедурами, направленными на активацию локомоторной (стимуляция опорных зон стопы) и поструральной (вертикализация с электростимуляцией мышц) активности, вследствие чего, достоверно определить вклад каждого метода при комплексной терапии от эффекта повторных курсов реабилитации не представляется возможным.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования с участием 37 пациентов с хроническим моторно-полным поражением спинного мозга посттравматической природы установлено, что комплексная реабилитация, проведенная в течение 3,5 мес. в виде 3 интенсивных курсов тренировок ходьбы в экзоскелете, пневмостимуляции опорных зон

стопы и ЭССМ в стационарном режиме и в ходьбе сопровождалась приростом тактильной чувствительности у 28 (76%) чел. в среднем на  $9.4 \pm 1.5$  баллов *AIS* (*mean*  $\pm$  *SE*), болевой – у 22 (60%) на  $8.0 \pm 1.3$  балла *AIS* и силы мышц – у 15 чел. (40.5%) на  $3.9 \pm 0.9$  балла, существенным улучшением локомоторных возможностей у 27/31 (90%) чел. в виде значимого сокращения времени выполнения тестов с тетрапедальной ходьбой и снижения потребности в помощи при их выполнении, увеличением амплитуды вызванных ответов в мышцах голени, и разнонаправленными изменениями возбудимости мотонейронов (*H*-рефлекса в *m. gastrocnemius lat.*). Изменения сенсорной и моторной составляющих имели разные тренды, прирост силы наблюдался при совместном применении тренировок в экзоскелете и ЭССМ.

Результаты рассматриваются как свидетельство сохранения потенциала пластических перестроек при хроническом посттравматическом поражении спинного мозга взрослых, который может быть реализован как функциональное восстановление при интенсивных тренирующих и стимулирующих воздействиях.

**Этические нормы.** Все исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях, и одобрены Научной проблемной комиссией и Этической комиссией Минздрава России.

**Информированное согласие.** В соответствии с положениями *GCP* каждый участник исследования представил добровольное письменное информированное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования.

**Финансирование работы.** Исследование проведено в рамках клинической апробации Протокола 2017-7-11 при финансировании Министерством Здравоохранения России и частично грантом СПбГУ (проекты № 51134206/73025317).

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

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность всем пациентам за доверие, сотрудничество и оптимизм, позволивших провести это исследование.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Hötting K., Röder B.* Beneficial effects of physical exercise on neuroplasticity and cognition // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2013. V. 37. № 9. Pt. B. P. 2243.
2. *Thompson A.K., Wolpaw J.R.* Targeted neuroplasticity for rehabilitation // *Prog. Brain Res.* 2015. V. 218. P. 157.
3. *Jutzeler C.R., Streijger F., Aguilar J. et al.* Sensorimotor plasticity after spinal cord injury: a longitudinal and translational study // *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2018. V. 6. № 1. P. 68.
4. *Lei Y., Perez M.A.* Cortical contributions to sensory gating in the ipsilateral somatosensory cortex during voluntary activity // *J. Physiol.* 2017. V. 595. № 18. P. 6203.
5. *Christiansen L., Perez M.A.* Targeted-Plasticity in the Corticospinal Tract After Human Spinal Cord Injury // *Neurotherapeutics.* 2018. V. 15. № 3. P. 618.
6. *Christiansen L., Chen B., Lei Y. et al.* Acute intermittent hypoxia boosts spinal plasticity in humans with tetraplegia // *Exp. Neurol.* 2021. V. 335. P. 113483.
7. *Schmidt R.A., Lee T.D.* Motor Control and Learning: A Behavioral Emphasis. Champaign, IL: Human Kinetics, 2005. 544 p.
8. *Wolpaw J.R.* The education and re-education of the spinal cord // *Prog. Brain Res.* 2006. V. 157. P. 261.
9. *Thompson A.K., Wolpaw J.R.* H-reflex conditioning during locomotion in people with spinal cord injury // *J. Physiol.* 2019. <https://doi.org/10.1113/JP278173>
10. *Chen Y., Chen L., Wang Y. et al.* Why New Spinal Cord Plasticity Does Not Disrupt Old Motor Behaviors // *J. Neurosci.* 2017. V. 37. № 34. P. 8198.
11. *Masugi Y., Kawashima N., Inoue D., Nakazawa K.* Effects of movement-related afferent inputs on spinal reflexes evoked by transcutaneous spinal cord stimulation during robot-assisted passive stepping // *Neurosci. Lett.* 2016. V. 627. P. 100.
12. *Quraishie S., Forbes L.H., Andrews M.R.* The Extracellular Environment of the CNS: Influence on Plasticity, Sprouting, and Axonal Regeneration after Spinal Cord Injury // *Neural. Plast.* 2018. V. 2018. Article ID 2952386.
13. *Hutson T.H., Di Giovanni S.* The translational landscape in spinal cord injury: focus on neuroplasticity and regeneration // *Nat. Rev. Neurol.* 2019. V. 15. № 12. P. 732.
14. *Militskova A., Mukhametova E., Fatykhova E. et al.* Supraspinal and Afferent Signaling Facilitate Spinal Sensorimotor Network Excitability After Discomplete Spinal Cord Injury: A Case Report // *Front. Neurosci.* 2020. V. 14. P. 552.
15. *Moshonkina T.R., Shapkova E.Y., Sukhotina I.A. et al.* Effect of Combination of Non-Invasive Spinal Cord Electrical Stimulation and Serotonin Receptor Activation in Patients with Chronic Spinal Cord Lesion // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016. V. 161. № 6. P. 749.
16. *Radhakrishna M., Steuer I., Prince F. et al.* Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Phase I/IIa Study (Safety and Efficacy) with Buspirone/Levodopa/Carbidopa (SpinalonTM) in Subjects with Complete AIS A or Motor-Complete AIS B Spinal Cord Injury // *Curr. Pharm. Des.* 2017. V. 23. № 12. P. 1789.
17. *Marchionne F., Krupka A.J., Smith G.M., Lemay M.A.* Intrathecal Delivery of BDNF Into the Lumbar Cistern Re-Engages Locomotor Stepping After Spinal Cord Injury // *IEEE Trans. Neural. Syst. Rehabil. Eng.* 2020. V. 28. № 11. P. 2459.
18. *Pizzolato C., Gunduz M.A., Palipana D. et al.* Non-invasive approaches to functional recovery after spinal cord

- injury: Therapeutic targets and multimodal device interventions // *Exp. Neurol.* 2021. V. 339. P. 113612.
19. *Formento E., Minassian K., Wagner F. et al.* Electrical spinal cord stimulation must preserve proprioception to enable locomotion in humans with spinal cord injury // *Nat. Neurosci.* 2018. V. 21. № 12. P. 1728.
  20. *Courtine G., Sofroniew M.V.* Spinal cord repair: advances in biology and technology // *Nat. Med.* 2019. V. 25. № 6. P. 898.
  21. *Hofer A.S., Schwab M.E.* Enhancing rehabilitation and functional recovery after brain and spinal cord trauma with electrical neuromodulation // *Curr. Opin. Neurol.* 2019. V. 32. № 6. P. 828.
  22. *Grillner S., Wallén P.* Central pattern generators for locomotion, with special reference to vertebrate // *Annu. Rev. Neurosci.* 1985. V. 8. P. 233.
  23. *Edgerton V.R., Leon R.D., Harkema S.J. et al.* Retraining the injured spinal cord // *J. Physiol.* 2001. V. 533(Pt 1). P. 15.
  24. *Tazoe T., Perez M.A.* Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on recovery of function after spinal cord injury // *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 2015. V. 96 (4 Suppl). P. S145.
  25. *Hofstoetter U.S., Freundl B., Binder H., Minassian K.* Common neural structures activated by epidural and transcutaneous lumbar spinal cord stimulation: elicitation of posterior root-muscle reflexes // *PLoS One.* 2018. V. 13. № 1. P. e0192013.
  26. *Darrow D., Balsler D., Netoff T.I. et al.* Epidural Spinal Cord Stimulation Facilitates Immediate Restoration of Dormant Motor and Autonomic Supraspinal Pathways after Chronic Neurologically Complete Spinal Cord Injury // *J. Neurotrauma.* 2019. V. 36. № 15. P. 2325.
  27. *Beck L., Veith D., Linde M. et al.* Impact of long-term epidural electrical stimulation enabled task-specific training on secondary conditions of chronic paraplegia in two humans // *J. Spinal. Cord. Med.* 2020. P. 1. <https://doi.org/10.1080/10790268.2020.1739894>
  28. *Megía García A., Serrano-Muñoz D., Taylor J. et al.* Transcutaneous Spinal Cord Stimulation and Motor Rehabilitation in Spinal Cord Injury: A Systematic Review // *Neurorehabil. Neural. Repair.* 2020. V. 34. № 1. P. 3.
  29. *Al'joboori Y., Massey S.J., Knight S.L. et al.* The Effects of Adding Transcutaneous Spinal Cord Stimulation (tSCS) to Sit-To-Stand Training in People with Spinal Cord Injury: A Pilot Study // *J. Clin. Med.* 2020. V. 9. № 9. P. 2765.
  30. *Григорьев А.И., Козловская И.Б., Шенкман Б.С.* Роль опорной афферентации в организации тонической мышечной системы // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2004. Т. 90. № 5. С. 508.  
*Grigoryev A.I., Kozlovskaya I.B., Shenkman B.S.* [The role of support afferentation in the organization of the tonic muscular system] // *Russ. J. Physiol.* 2004. V. 90. № 5. P. 508.
  31. *Bettio L., Thacker J.S., Hutton C., Christie B.R.* Modulation of synaptic plasticity by exercise // *Int. Rev. Neurobiol.* 2019. V. 147. P. 295.
  32. *Sandrow-Feinberg H.R., Houlé J.D.* Exercise after spinal cord injury as an agent for neuroprotection, regeneration and rehabilitation // *Brain Res.* 2015. V. 1619. P. 12.
  33. *Nam K.Y., Kim H.J., Kwon B.S. et al.* Robot-assisted gait training (Lokomat) improves walking function and activity in people with spinal cord injury: a systematic review // *J. Neuroeng. Rehabil.* 2017. V. 14. № 1. P. 24.
  34. *Del-Ama A.J., Koutsou A.D., Moreno J.C. et al.* Review of hybrid exoskeletons to restore gait following spinal cord injury // *J. Rehabil. Res. Dev.* 2012. V. 49. № 4. P. 497.
  35. *Onose G., Cârdei V., Crăciunoiu Ş.T. et al.* Mechatronic Wearable Exoskeletons for Bionic Bipedal Standing and Walking: A New Synthetic Approach // *Front. Neurosci.* 2016. V. 10. P. 343.
  36. *Mekki M., Delgado A.D., Fry A. et al.* Robotic Rehabilitation and Spinal Cord Injury: a Narrative Review // *Neurotherapeutics.* 2018. V. 15. № 3. P. 604.
  37. *Шпанкова Е.Ю., Емельяников Д.В., Ларионова Ю.Е. и др.* Динамика независимости и локомоторных возможностей при тренировках ходьбы в экзоскелете у пациентов с тяжелой хронической позвоночно-спинномозговой травмой // *Хирургия позвоночника.* 2020. Т. 17. № 4. С. 54.  
*Shapkova E.Yu., Emelyannikov D.V., Larionova Yu.E. et al.* Dynamics of independence and locomotor capabilities caused by powered exoskeleton-induced walk training in patients with severe chronic spinal cord injury // *Hirurgiâ Pozvonočnika.* 2020. V. 17. № 4. P. 54.
  38. *del-Ama A.J., Gil-Agudo A., Pons J.L., Moreno J.C.* Hybrid FES-robot cooperative control of ambulatory gait rehabilitation exoskeleton // *J. Neuroeng. Rehabil.* 2014. V. 11. P. 27.
  39. *Zhang D., Ren Y., Gui K. et al.* Cooperative Control for A Hybrid Rehabilitation System Combining Functional Electrical Stimulation and Robotic Exoskeleton // *Front. Neurosci.* 2017. V. 11. P. 725.
  40. *Ekelem A., Goldfarb M.* Supplemental Stimulation Improves Swing Phase Kinematics During Exoskeleton Assisted Gait of SCI Subjects With Severe Muscle Spasticity // *Front. Neurosci.* 2018. V. 12. P. 374.
  41. *Murray S.A., Farris R.J., Goldfarb M. et al.* FES Coupled With A Powered Exoskeleton For Cooperative Muscle Contribution In Persons With Paraplegia // *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2018. V. 2018. P. 2788.
  42. *Wagner F.B., Mignardot J.B., Le Goff-Mignardot C.G. et al.* Targeted neurotechnology restores walking in humans with spinal cord injury // *Nature.* 2018. V. 563. № 7729. P. 65.
  43. *Soloukey S., de Rooij J.D., Drenthen J. et al.* Unilateral L2-Level DRG-stimulation evokes bilateral CPG-Like motor response in a patient with chronic pain // *Brain Stimul.* 2020. V. 13. № 6. P. 1719.
  44. *Gorgey A.S., Gill S., Holman M.E. et al.* The feasibility of using exoskeletal-assisted walking with epidural stimulation: a case report study // *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2020. V. 7. № 2. P. 259.
  45. *Gad P., Gerasimenko Y., Zdunowski S. et al.* Weight Bearing Over-ground Stepping in an Exoskeleton with Non-invasive Spinal Cord Neuromodulation after Motor Complete Paraplegia // *Front. Neurosci.* 2017. V. 11. P. 333.
  46. *Alam M., Ling Y.T., Wong A.Y.L. et al.* Reversing 21 years of chronic paralysis via non-invasive spinal

- cord neuromodulation: a case study // *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2020. V. 7. № 5. P. 829.
47. *Shapkova E.Y., Pismennaya E.V., Emelyannikov D.V., Ivanenko Y.* Exoskeleton Walk Training in Paralyzed Individuals Benefits From Transcutaneous Lumbar Cord Tonic Electrical Stimulation // *Front. Neurosci.* 2020. V. 14. P. 416.
  48. *Gad P., Gerasimenko Y., Zdunowski S. et al.* Weight bearing over-ground stepping in an exoskeleton with non-invasive spinal cord neuromodulation after motor complete paraplegia // *Front. Neurosci.* 2017. V. 11. P. 333.
  49. *Angeli C.A., Boakye M., Morton R.A. et al.* Recovery of over-ground walking after chronic motor complete spinal cord injury // *N. Engl. J. Med.* 2018. V. 379. № 13. P. 1244.
  50. *Gill M.L., Grahn P.J., Calvert J.S. et al.* Neuromodulation of lumbosacral spinal networks enables independent stepping after complete paraplegia // *Nat. Med.* 2018. V. 24. № 11. P. 1677.
  51. *Pais-Vieira C., Allahdad M., Neves-Amado J. et al.* Method for positioning and rehabilitation training with the ExoAtlet® powered exoskeleton // *MethodsX.* 2020. V. 7. № 1. P. 100849.
  52. *Емельяников Д.В., Шапкова Е.Ю., Мошонкина Т.Р., Герасименко Ю.П.* Оценка возбудимости мотонейронов поясничного утолщения: сравнение Н-рефлекса и метода чрескожной стимуляции спинного мозга // *Физиология человека.* 2016. Т. 42. № 3. С. 32.  
*Emeliannikov D.V., Shapkova E.Y., Moshonkina T.R., Gerasimenko Y.P.* [Evaluation of motor neuron excitability in lumbosacral spinal cord: transcutaneous spinal cord stimulation as compared to H-reflex] // *Fiziol. Cheloveka.* 2016. V. 42. № 3. P. 32.
  53. *Yu P., Zhang W., Liu Y. et al.* The effects and potential mechanisms of locomotor training on improvements of functional recovery after spinal cord injury // *Int. Rev. Neurobiol.* 2019. V. 147. P. 199.

## Sensorimotor and Locomotor Adjustments in the Chronic Post-Traumatic Spinal Cord Damage in Human Adults as Evidence of Activity-Dependent Neuroplasticity

E. Yu. Shapkova<sup>a, b, \*</sup>, D. V. Emelyannikov<sup>a</sup>, Yu. E. Larionova<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*The Spinal Center of Saint Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russia*

<sup>b</sup>*Institute of Translational Biomedicine, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

\*E-mail: eyshapkova@gmail.com

Training of impaired motor functions forms activity-dependent plasticity aimed to compensate the functional deficiency. In individuals with chronic motor-complete spinal cord injury (SCI), the existence of potential for neuroplasticity and the possibility to mobilize it are debatable. The study aimed at assessing the existence, frequency, and magnitude of positive changes in locomotor ability and sensory and motor characteristics of patients with motor-complete SCI during repeated courses of complex neurorehabilitation. For analysis we selected 37 patients (18 men, 19 women, aged 18–55) with thoracic or lumbar cord injuries with a post-injury period of more than 1 year (1–32 years) and the severity of AIS A (30) and B (7) according to the American Spinal Injury Association (ASIA) impairment scale. All participants completed 3 inpatient courses of complex rehabilitation with exoskeleton-induced walk training (two 22-day courses and one 14-day course, with one-month intervals). Each course included exoskeleton-induced walk training (40 min/day), training of vertical posture with electrical stimulation of muscles, pneumatic stimulation of the supporting areas of the sole, classical manual and lymphatic drainage massage, and exercise therapy (3–4 h a day in total). The third course additionally included transcutaneous spinal cord electrical stimulation (SCES) performed in static mode and in phasic mode during exoskeleton-induced walking. The dynamics of tactile (AIS<sub>LT</sub>) and pain (AIS<sub>PP</sub>) sensitivity, as well as leg muscle strength (AIS<sub>MOTOR</sub>) were evaluated before and after each course. Locomotor capabilities of participants were tested by forward and backward tetrapedal tests with control of the time spent and need for external assistance. The excitability of motor neurons of the lumbar enlargement was also evaluated. Over the observation period, an increase of AIS<sub>LT</sub> was detected in 28 patients (76%) on average for 9.4 AIS points and of AIS<sub>PP</sub> in 22 patients (60%) for 8.0 AIS points, and of AIS<sub>MOTOR</sub>—in 15 patients (40.5%) for 3.9 AIS points. Neurological improvements (AIS) could begin during the first, second, or third courses, positive changes occurred during the course and between courses with comparable frequency and were cumulative. In some cases, a post-interval return to the initial level was observed but no cases of significant deterioration. Changes in sensitivity prevailed during the first and second courses, motor progress was observed in the third course that included SCES. Progress in locomotor capabilities, sensitivity, and muscle control, as well as changes in the excitability of lumbar enlargement motor neurons in patients with motor-complete SCI during intensive exoskeleton-induced walk training are estimated as a result of sensorimotor adjustments revealing of activity-dependent plasticity. The obtained data substantiate the possibility to mobilize the potential for neuroplasticity in adults with a chronic motor-complete SCI: powered exoskeleton-induced walk training with intense afferent stimulation shows high impact on locomotor and sensory functions, whereas the SCES improves motor ability.

**Keywords:** neuroplasticity, sensorimotor characteristics, locomotor capability, neurorehabilitation, exoskeleton for walk training, tetrapedal tests, spinal cord injury (SCI), ASIA/Frankel classification.

УДК 612.821+612.85+612.76

## ОСОБЕННОСТИ ПОДДЕРЖАНИЯ ВЕРТИКАЛЬНОЙ ПОЗЫ ПОЛЕЗАВИСИМЫХ И ПОЛЕНЕЗАВИСИМЫХ ИСПЫТУЕМЫХ В УСЛОВИЯХ ОТСУТСТВИЯ ЗРИТЕЛЬНОЙ И ЗВУКОВОЙ ИНФОРМАЦИИ

© 2021 г. О. П. Тимофеева<sup>1</sup>, И. Г. Андреева<sup>1</sup>, \*

<sup>1</sup>ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: ig-andreeva@mail.ru

Поступила в редакцию 29.01.2021 г.

После доработки 25.02.2021 г.

Принята к публикации 23.03.2021 г.

Зарегистрированы стабилметрические показатели при поддержании вертикальной позы (европейский вариант позы Ротберга: пятки вместе, носки врозь, руки опущены вниз вдоль тела) в течение одной минуты в отсутствие слуховой и зрительной стимуляции. В работе проверяли гипотезу о том, что стратегия поддержания позы при отсутствии дистантной информации будет различаться для людей с разной ведущей модальностью при ориентации в пространстве. Обнаружена разница в длине траектории и скорости центра давления тела (ЦД), в разбросе по сагиттальной оси между группами полнезависимых (ПН) и полезависимых (ПЗ) испытуемых, которая выражалась в более выраженных колебаниях по этой оси у ПН испытуемых по сравнению с ПЗ. По фронтальной оси аналогичные показатели достоверно не различались. Выявлены более высокие значения показателя “качество равновесия”, меньшие значения площади и сжатия эллипса у ПЗ по сравнению с ПН, которые свидетельствовали о различиях в устойчивости групп испытуемых в условиях отсутствия зрительной и слуховой стимуляции. При оценке динамики постуральных показателей у ПН испытуемых обнаружили смещение ЦД назад на протяжении всего времени стояния, тогда как у ПЗ достоверных изменений смещения ЦД не было выявлено.

**Ключевые слова:** регуляция позы, ориентация в пространстве, полезависимость, стабилметрия, преднастройка позы.

DOI: 10.31857/S0131164621040159

Контроль вертикальной позы осуществляется как контактными, так и дистантными органами чувств. Известно, что исключение опорной и вестибулярной информации, которое наблюдается в условиях микрогравитации, приводит к кардинальной перестройке системы контроля позы [1, 2]. Сравнительные исследования, выполненные при наличии и исключении зрительной информации, не дали однозначного ответа на вопрос о различиях в поддержании позы [3]. При изучении контроля позы влияние слуховой афферентации на этот процесс традиционно игнорируют [4, 5]. Однако при закрытых глазах значение слуха для ориентации испытуемого в пространстве существенно возрастает и, поэтому, слух может быть использован им для контроля позы. При решении вопроса о роли дистантной и контактной информации в поддержании вертикальной позы оптимальными были бы условия эксперимента, при которых как зрительный, так и слуховой аффе-

рентные потоки отсутствуют. Достаточно сложно выполнить это условие при норме слуха, которая необходима для гарантии нормальной работы лабиринта, т.к. потребуются звукозаглушенное помещение. Мы не обнаружили в научной литературе данных по этому вопросу. Вместе с тем, обсуждается роль ведущей модальности в стратегии поддержания позы, т.е. предпочтение разными людьми определенного вида пространственной информации для контроля позы [6, 7]. Вероятно, что различия в контроле позы при разной ведущей модальности – зрительной у полезависимых людей, обусловленной дистантной сенсорной информацией, или вестибулярной и проприоцептивной (контактной) у полнезависимых людей, должны быть более четко проявлены в постуральных показателях при отсутствии любой дистантной информации – как зрительной, так и слуховой.

Ведущая модальность при оценке окружающего пространства является индивидуальной характеристикой человека и обуславливает так называемый когнитивный стиль: в случае ведущей роли зрения при ориентации в пространстве человека характеризуют как полезависимого (ПЗ), а в случае приоритета проприоцептивной информации — вестибулярной и кинестетической, человека определяют как полнезависимого (ПН) [6, 7]. У ПН показатели позы в различных условиях (в темноте, на свету или при стробоскопическом освещении) мало изменяются, а сегменты тела (голова, плечи, таз) при поддержании равновесия двигаются независимо друг от друга. У ПЗ в отсутствии зрения или зрительного стимула при поддержании вертикальной позы возрастает роль тазобедренных суставов, а все остальные сегменты тела (плечи, голова) колеблются “в блоке” с тазом.

Проведенные нами ранее исследования свидетельствуют о том, что когнитивный стиль влияет на стратегию поддержания вертикальной позы при ожидании звуковой информации о движении и во время ее прослушивания, что проявляется в существенных различиях стабилметрических показателей у ПЗ и ПН испытуемых, стоящих с закрытыми глазами [8, 9]. При сравнении групп ПН и ПЗ были обнаружены существенные различия в показателях длины траектории, площади эллипса и разброса в период ожидания информации о появлении источника звука и при его предъявлении независимо от того, движется ли этот источник. Большинство этих показателей для сагиттальной оси были больше по величине в группе ПН испытуемых, чем у ПЗ. Ранее в работах *B. Isableu et al.* [6, 7] было обнаружено, что при спокойной стойке с закрытыми глазами, т.е. при отсутствии зрительной информации испытуемые ПЗ были менее стабильны во фронтальной плоскости, чем испытуемые ПН. Возможные причины различий могли быть обусловлены как разным положением ног испытуемых (в наших работах это был европейский вариант позы Ротберга: пятки вместе, носки врозь, тогда как и в работах *B. Isableu et al.* применяли положение ног носок к пятке), так и игнорированием роли звуковой информации, неконтролируемое влияние которой могло кардинальным образом повлиять на результаты экспериментов. Это обстоятельство побудило нас провести исследование для групп ПЗ и ПН испытуемых по измерению стабилметрических параметров поддержания вертикальной позы при спокойном стоянии с закрытыми глазами и в звукозаглушенной камере при отсутствии звуковой стимуляции.

Цель данного исследования состояла в проверке гипотезы о том, что индивидуальные различия в стратегии поддержания позы людей с разной ведущей модальностью при ориентации в пространстве проявляются в стабилметрических

показателях при отсутствии зрительной и звуковой стимуляции.

## МЕТОДИКА

В экспериментах принимали участие 22 чел. без диагностированных двигательных нарушений. Испытуемые были разделены на группы по результатам выполнения зрительного теста “Включенные фигуры Готтшальдта”: в случае, когда рассчитанный индекс ПЗ/ПН был меньше 2.5, испытуемого относили к группе ПЗ, а при большем — к ПН. В группу ПЗ вошли 11 чел. (4 мужчины и 7 женщин, средний возраст 35 лет), в группу ПН — 11 чел. (4 мужчины и 7 женщин, средний возраст 33 года).

Исследования проводили в анэхоидной звукозаглушенной камере объемом 62.5 м<sup>3</sup>. Испытуемые с закрытыми глазами стояли в стандартной позе (пятки вместе, носки врозь, руки опущены вниз вдоль тела) на стабилметрической платформе Стабилан-01 (ОБК “Ритм”, Россия), расположенной в центре помещения. Время нахождения на платформе было известно испытуемым и составляло 56 с регистрации с дополнительными 4–6 с, которые требовались для запуска программы регистрации, и 4 с для возвращения экспериментатора в камеру после окончания регистрации. Выполняли по 10 регистраций для каждого испытуемого, каждые две регистрации чередовали с периодами отдыха испытуемого. При последующем анализе постуральных показателей записи стабилограмм были разбиты на 7 временных периодов по 8 с каждый. При выборе длительности периодов учитывали данные, полученные нами в предыдущей работе [9]. Для каждого фрагмента были рассчитаны следующие стабилографические показатели колебаний центра давления (ЦД) тела:

1) коэффициент “качества функции равновесия”, далее просто качество равновесия, который рассчитывается в виде процентного отношения площади, ограниченной функцией распределения длин векторов скоростей, и некоторой константы, равной площади прямоугольника, ограниченно го осями координат, горизонтальной асимптотой функции кривой распределения длин скоростей и вертикальной границей;

2) площадь доверительного эллипса, далее — площадь эллипса, характеризует основную часть площади, занимаемой стабилограммой без, так называемых, петель и случайных выбросов. Характеризует рабочую площадь опоры;

3) коэффициент сжатия доверительного эллипса, далее — сжатие эллипса. Определяет “сплюснутость” статокинезиграмм (отношение длины большой оси доверительного эллипса к длине малой оси);

4) длина траектории вдоль сагиттальной и фронтальной оси (длина соответствующих составляющих стабиллографического сигнала);

5) средняя линейная скорость по сагиттальной и фронтальной оси, далее – скорость. Характеризует среднее значение проекции линейной скорости в сагиттальной и фронтальной плоскостях в процессе исследования;

6) смещение вдоль сагиттальной и фронтальной оси. Смещения определяют центр облака отсчетов кривой стабиллограммы и характеризуют дрейф координат ЦД в процессе проведения обследования после предварительной “центровки”;

7) разброс положения ЦД тела вдоль сагиттальной и фронтальной оси – среднеквадратическое отклонение ЦД по соответствующему направлению относительно смещения.

Статистические расчеты проводили в пакете программ *Statistica v.5.5A*. Достоверность различий величин показателей между группами ПЗ и ПН испытуемых осуществляли с применением непараметрического критерия Манна-Уитни для независимых выборок. Оценку групповых данных выполняли с применением парного непараметрического метода Вилкоксона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

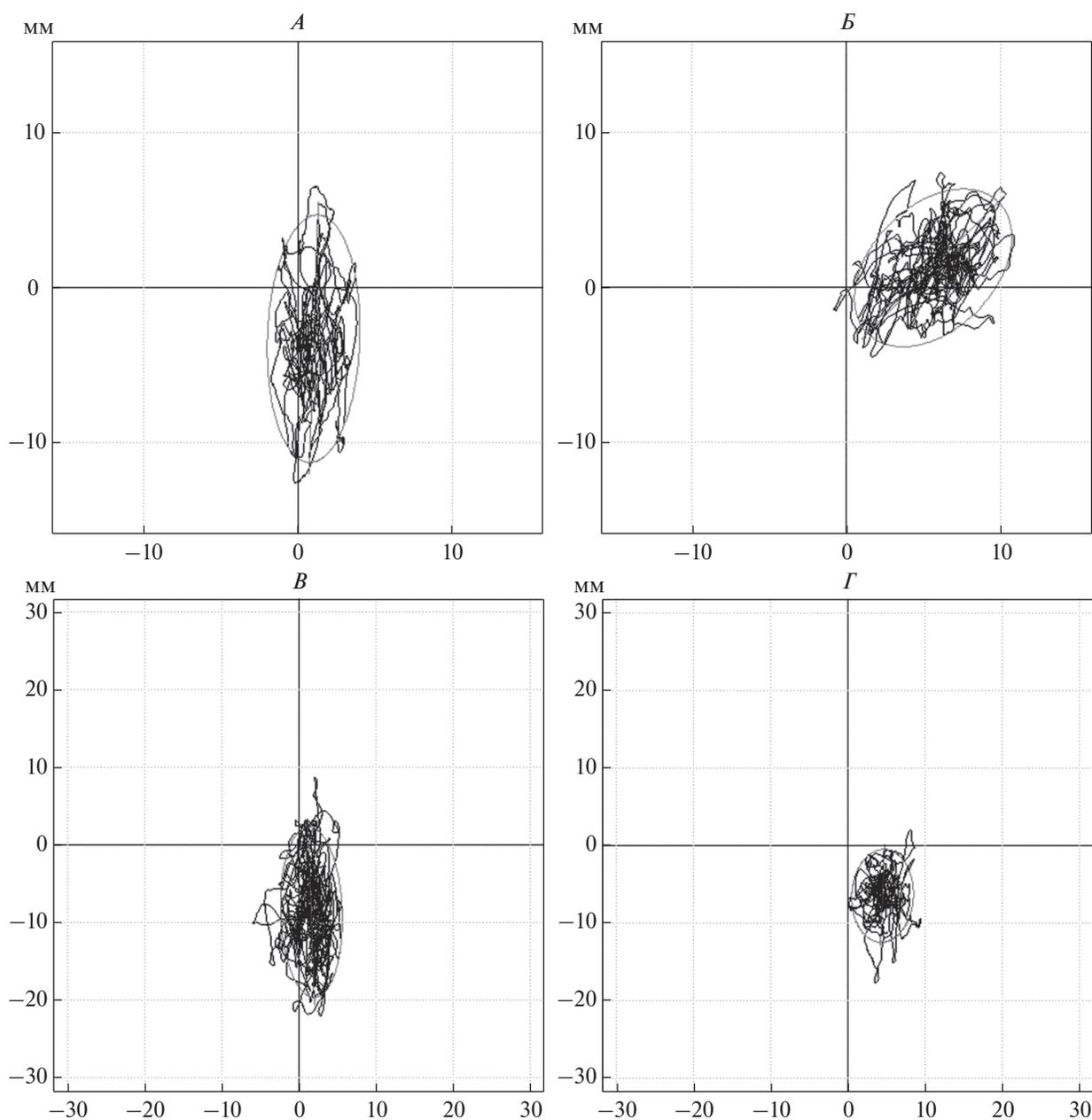
Получены стабиллометрические показатели при поддержании вертикальной позы в течение одной минуты в отсутствие слуховой и зрительной стимуляции, которые свидетельствовали о существенных различиях в стратегии поддержания позы испытуемыми с разными когнитивными стилями. Эти данные были проанализированы в динамике для семи последовательных периодов, на которые разделили интервал регистрации в 56 с. Оценка динамики показателей позволила обнаружить небольшие достоверные изменения позы в течение этого времени. Примеры индивидуальных стакинезиграмм в группах ПЗ и ПН испытуемых представлены на рис. 1, где видны повторяющиеся особенности формы и размера эллипса для одного и того же испытуемого.

Анализ данных стабиллометрии выполняли по группам испытуемых ПН и ПЗ. Стабиллометрические показатели, характеризующие колебания ЦД тела суммарно по обоим осям, были различными для испытуемых разных когнитивных стилей. Показатель “качество функции равновесия” составил 74–77% в группе ПН и 82–83% в группе ПЗ, он демонстрировал достоверную разницу между группами испытуемых во всех семи периодах. Разница между средними показателями в группах для периодов регистрации варьировала в пределах 6–9% (рис. 2, А). Показатель площадь эллипса составил 115–146 у. е. в группе ПН и 88–93 у. е. – в группе ПЗ (рис. 2, Б), а показатель сжатие эл-

липса – 2.2–2.4 и 1.9–2.0 соответственно (рис. 2, В). Относительная разница между группами достигала 24–38% в разных периодах для первого показателя и 10–20% – для второго. Различия в показателях, характеризующие эллипс, были достоверны во всех периодах наблюдения, кроме третьего и пятого – для площади эллипса, и первого – для сжатия (в виде тенденции  $p < 0.07$ ). Более высокие значения показателя качество равновесия, меньшие – площадь эллипса и сжатие у ПЗ, вероятно, свидетельствовали о большей устойчивости испытуемых данной группы, по сравнению с ПН в условиях отсутствия зрительной и слуховой стимуляции. В то же время величины сжатия эллипса указывали на существенное различие показателей, характеризующих положение ЦД тела в проекциях на фронтальную и сагиттальную оси для обеих групп. Длина траектории, скорость и разброс в сагиттальной плоскости были примерно в 1.5–2 раза выше, по сравнению с аналогичными фронтальными показателями во всех периодах наблюдения (рис. 3).

Длина траектории по фронтальной оси оказалась стабильным показателем, была почти одинаковой для обеих групп в течение 56 с наблюдения, для разных периодов она составляла 38–46 мм. По сагиттальной оси длина траектории достоверно различалась между группами: у ПН испытуемых этот показатель составлял 72–77 мм, а у ПЗ – 54–60 мм. Он был выше в первой группе во всех периодах в среднем на 20–26%. Показатели длины траектории по сагиттальной оси превышали соответствующие показатели по фронтальной оси для ПЗ в среднем на 38–50% в разных периодах, а для ПН – на 65–82%. Аналогичные соотношения наблюдались и по параметру скорость перемещения ЦД тела: разница в показателях по сагиттальной и фронтальной осям составляла в среднем 40–52% для ПЗ и 73–86% для ПН (рис. 3, Б). При этом скорость перемещения ЦД тела по сагиттальной оси в разные периоды у ПН испытуемых была 8.3–9.0 мм/с и достоверно превышала данный показатель по той же оси у ПЗ на 22–40%. По фронтальной оси скорость составляла 4.4–5.0 мм/с, значимых различий по данному показателю между группами также не было выявлено. Разница по средним данным была менее 10% на первых шести периодах и только в последнем периоде достигала 15%.

Показатели разброса по фронтальной и сагиттальной осям были стабильными в течение времени регистрации в обеих группах испытуемых, и менялись в пределах 0.8–1.0 и 1.1–1.4 мм соответственно (рис. 3, В). Разброс по сагиттальной оси достоверно превышал соответствующий показатель по фронтальной оси в среднем на 24–33% в разных периодах для ПЗ и 37–57% – для ПН. Между группами испытуемых показатели разброса по сагиттальной оси различались с высокой до-



**Рис. 1.** Индивидуальные стахокинезиграммы ПН (*A, B*) и ПЗ (*Б, Г*) испытуемых при спокойном стоянии в тишине с закрытыми глазами в течение 56 с.

По оси абсцисс: проекция положения ЦД тела испытуемого на сагиттальную ось, мм. По оси ординат: проекция положения ЦД тела испытуемого на фронтальную ось, мм.

стоверностью во всех периодах наблюдения ( $p < 0.01$ ). Превышение в группе ПН составляло 16–23% по сравнению с ПЗ. По фронтальной оси данный показатель различался у испытуемых разных когнитивных стилей в среднем на 2–14%, разница не была достоверной. Таким образом, показатели, характеризующие колебания ЦД по фронтальной оси, демонстрировали большую стабильность и сходство между двумя группами испытуемых, а по сагиттальной оси среди анало-

гичных показателей были выявлены существенные различия.

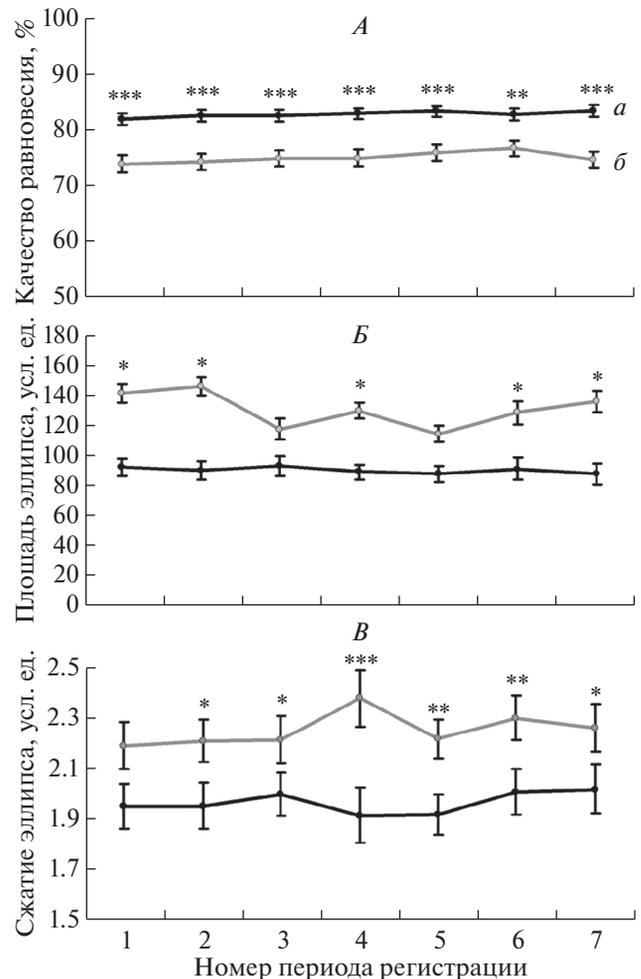
Среднее положение ЦД тела (или смещение) для групп ПН и ПЗ испытуемых показано на рис. 4. Для сравнения показателя смещение в последовательных периодах времени выполняли нормирование: значение для первого периода принимали за нулевое. Изменения смещения ЦД не превышали в течение времени регистрации по средним данным по фронтальной оси 0.9 мм для

обеих групп, по сагиттальной оси – 1.6 и 0.9 мм для групп ПН и ПЗ соответственно. Таким образом, различия между группами испытуемых оказались более выражены по сагиттальной оси, но они были достоверны только в седьмом периоде наблюдения ( $p < 0.02$ ). В этом же периоде было выявлено различие в виде тенденции и по фронтальной оси ( $p < 0.08$ ).

Наряду со сравнением поструральных показателей между группами ПН и ПЗ, был выполнен анализ их динамики. Он показал, что наибольшие изменения изучаемых показателей обнаруживаются в последующих периодах по отношению к первому и в последних двух по отношению к предыдущему. Показатель качества равновесия был достаточно стабильным по ходу наблюдения, его изменение не превышало 4%. Показатель слабо возрастал на протяжении всего времени исследования в группе ПЗ, а у ПН – от первого периода к шестому, и затем к седьмому он несколько снижался. Несмотря на то, что наблюдавшееся изменение было мало, оно оказалось статистически достоверно ( $p < 0.03$ ). В обеих группах испытуемых показатели площади эллипса и его сжатия достоверно не менялись.

Постуральные показатели, проанализированные в проекциях на фронтальную и сагиттальную оси, свидетельствовали об изменениях позы в начальном и двух последних периодах регистрации. Наблюдали небольшое – в пределах 12%, но достоверное увеличение длины траектории по сагиттальной оси во всех последующих периодах наблюдения по отношению к первому для группы ПЗ испытуемых ( $p < 0.01$ ), а также второго, пятого и седьмого периодов по отношению к первому для ПН ( $p < 0.05$ ). По фронтальной оси длина траектории в группе ПН испытуемых возрастала во втором и третьем периодах по отношению к первому на 5 и 8% соответственно ( $p < 0.05$ ), а также в седьмом – на 9% по отношению к первому периоду и на 12% – к шестому ( $p < 0.02$ ). В группе ПЗ испытуемых показатель различался только между первым и пятым периодами наблюдения: выявлено увеличение на 9% ( $p < 0.02$ ). В конце исследованного периода выявлено снижение между пятым и седьмым периодами на 5% в виде тенденции ( $p < 0.07$ ).

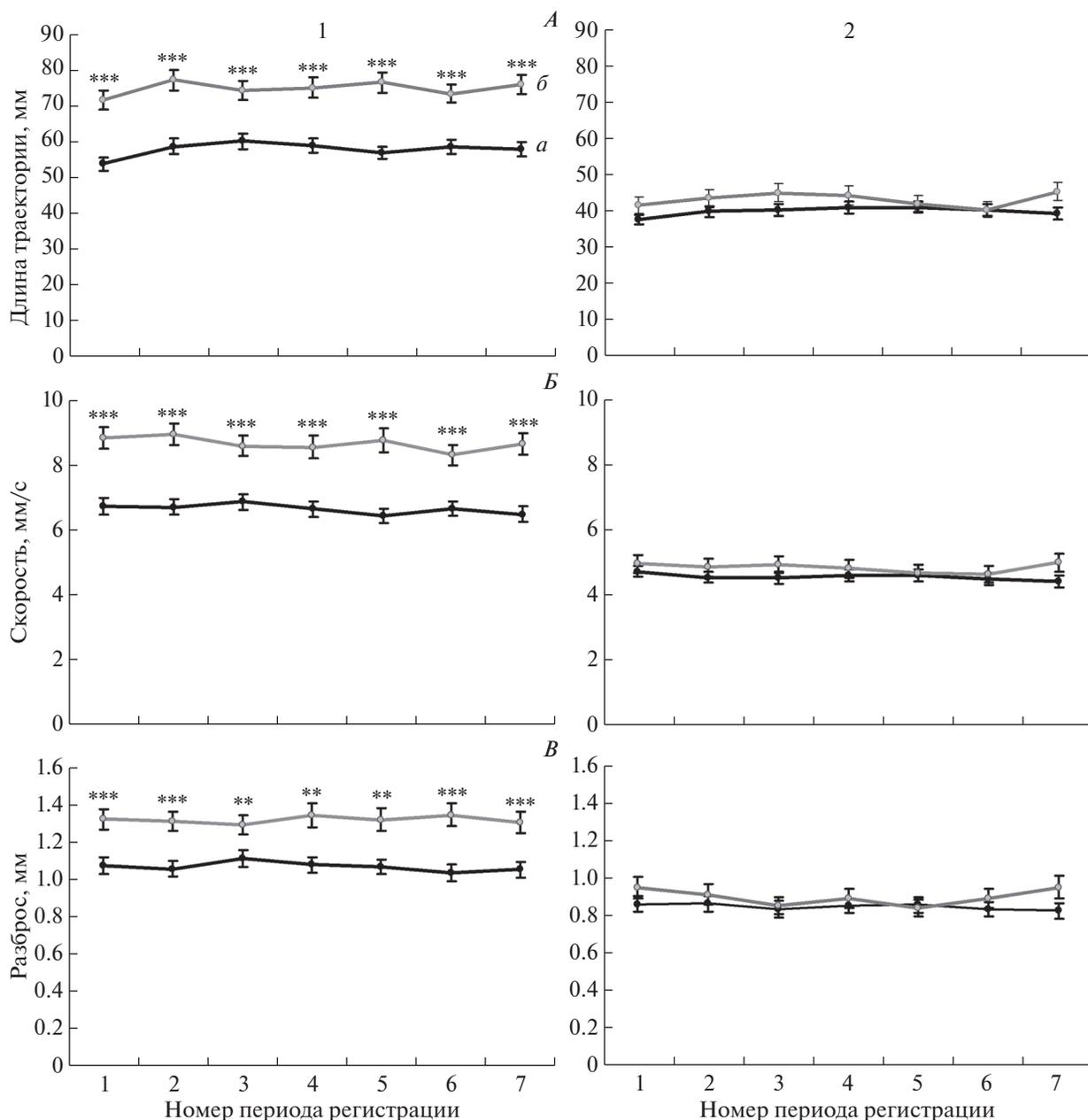
Скорость перемещения ЦД мало менялась на протяжении всего времени исследования, колебания в большинстве периодов не превышали 5%. По сагиттальной оси достоверное снижение скорости выявлено только между первым и шестым интервалами в группе ПН испытуемых ( $p < 0.03$ ), а также в виде тенденции между третьим с пятым и седьмым ( $p < 0.06$  и  $p < 0.08$  соответственно). По фронтальной оси у ПН скорость снижалась от первого интервала к пятому и шестому в среднем на 6% ( $p < 0.05$ ). В седьмом периоде скорость воз-



**Рис. 2.** Средние по группам ПЗ (а) и ПН (б) стабилометрические показатели: качество равновесия (А), площадь эллипса (Б) и сжатие эллипса (Б), характеризующие колебания ЦД у испытуемых при стоянии в тишине с закрытыми глазами. По оси абсцисс: номер периода регистрации. По оси ординат: среднее по группе значение показателя А – в %, Б и В – в условных единицах (усл. ед.). Вертикальной линией показана стандартная ошибка среднего. Указаны достоверные различия между показателями в группах ПН и ПЗ (непараметрический критерий Манна-Уитни для независимых выборок, \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ , \*\*\* –  $p < 0.001$ ).

растала на 13% по сравнению со скоростью в шестом периоде, однако рост оказался не достоверным. Изменения разброса по ходу наблюдения были минимальны и проявлялись в виде тенденции к увеличению в группе ПН испытуемых по фронтальной оси между пятым и седьмым интервалами на 13% ( $p < 0.07$ ), а у ПЗ – к снижению разброса по сагиттальной оси между третьим и шестым интервалами на 7% ( $p < 0.06$ ).

Динамика среднего положения ЦД, т.е. смещения, проявлялась в том, что ПН испытуемые во время исследования последовательно отк-



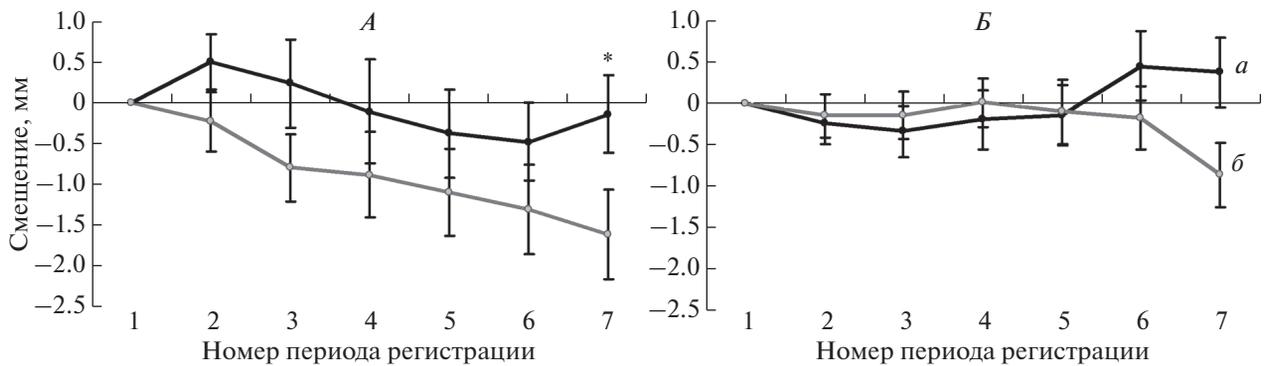
**Рис. 3.** Стабилометрические показатели по сагитальной (1) и фронтальной (2) осям, усредненные по группам ПЗ (а) и ПН (б) испытуемых при их стоянии в тишине с закрытыми глазами: длина траектории ЦД (А), скорость (Б) и разброс (В).

По оси абсцисс обозначен номер периода регистрации. По оси ординат: среднее значение показателя в мм (А, В) и в мм/с (Б). Остальные обозначения см. рис. 2.

нялись назад: достоверные отличия выявлены для первого и второго периодов со всеми последующими ( $p < 0.03$ ).

У ПЗ испытуемых изменения данного показателя по сагитальной оси были недостоверными. Смещение по фронтальной оси мало изменялось у испытуемых обеих групп, вплоть до последних двух периодов. Достоверное снижение показателя (соответствует смещению в левую сторону) для

ПН испытуемых выявлено в седьмом периоде со всеми предыдущими ( $p < 0.05$ ). По индивидуальным данным ПН испытуемых выявили, что 8 из 11 участников эксперимента в последнем периоде максимально опирались на левую ногу, 2 — на правую, в одном случае предпочтения ноги не было. В группе ПЗ наблюдали обратное изменение (смещение вправо) в шестом и седьмом периодах, по сравнению с четвертым и пятым ( $p < 0.05$ ),



**Рис. 4.** Динамика среднего положения ЦД по сагиттальной (А) и фронтальной осям (Б) в группах ПЗ (а) и ПН (б) испытуемых при стоянии в тишине с закрытыми глазами. По оси ординат: смещение, мм. Остальные обозначения см. рис. 3.

а также с третьим в виде тенденции ( $p < 0.08$ ). В этой группе 6 из 11 испытуемых в последних периодах отклонялись направо, 2 — налево, 3 — не проявляли предпочтения ноги.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выявлена динамика показателей при поддержании вертикальной позы в течение 56 с в тишине с закрытыми глазами. Первый и последний периоды регистрации поструральных показателей отличались от большинства остальных периодов по длине траектории, скорости ЦД (в проекциях на фронтальную и сагиттальную оси) и по качеству равновесия в обеих группах испытуемых. Процедура эксперимента предусматривала, что испытуемый вставал на платформу в фиксированной позе, после чего экспериментатор выходил из звукоизолированной камеры и запускал регистрацию положения ЦД тела. До начала регистрации проходило 4–6 с, поэтому первый зарегистрированный период фиксировал показатели спустя эти несколько секунд, уже в отсутствие не только световых, но и звуковых раздражителей. В первом периоде длина траектории оказалась меньше по сравнению с остальными, что может быть обусловлено адаптацией к нестабильной опоре, которой является стибилметрическая платформа.

Испытуемый знал о времени, в течение которого он будет стоять на платформе, и, поскольку процедура выполнялась неоднократно, он находился в состоянии ожидания возвращения экспериментатора в известный момент времени. Только после завершения периода регистрации поструральных показателей в течение 56 с экспериментатор проходил в звукоизолированную камеру для команды испытуемому сойти с платформы, т.е. команда поступала спустя 4 с после завершения периода регистрации. В двух последних периодах регистрации выявили изменения поструральных

показателей, которые могли быть вызваны непроизвольной подготовкой испытуемого к последующему сходу с платформы. Они проявлялись за 16–20 с, как и в случае со звуковой информацией в работе [9]. Длина траектории и скорость ЦД в обоих случаях уменьшались. При ожидании звуковой информации из определенной точки пространства в течение 40 с изменялись разброс и площадь эллипса. В данной и вышеупомянутой работах анализ показателей происходил в течение 56 с. При ожидании команды на сход с платформы поструральные показатели до 56 с демонстрировали непроизвольную подготовку. В двух последних периодах изменения смещения по фронтальной оси свидетельствовали о перенесении положения ЦД в направлении опорной левой ноги у большинства ПН испытуемых. Эти изменения сопровождалось увеличением длины траектории и скорости ЦД во фронтальной плоскости и небольшим изменением качества равновесия. Тогда как в предыдущей работе при ожидании звуковой информации процессы, связанные с ожиданием звуковой информации, завершались к 40 с. Постуральные показатели двух последних периодов в течение 16 с отражали реакцию на звуковую стимуляцию. Таким образом, при разных периодах ожидания двух разных событий наблюдали близкие по стибилметрическим показателям характерные изменения позы, которые можно интерпретировать как непроизвольную подготовку.

Особого внимания заслуживает смещение ЦД в направлении назад на протяжении всего периода ожидания у ПН испытуемых, как и в случае с ожиданием звуковой информации в упомянутой выше работе. Причем смещение ЦД по величине при стоянии в тишине соответствовало случаю ожидания неподвижного звукового образа. Это подтверждает справедливость представления о том, что при инструкции спокойно стоять в течение времени около 1 мин испытуемый находится

в состоянии ожидания и в конце периода непроизвольно готовится к сходу с платформы. Перестройка позы для последующего движения при шагании была впервые выявлена при подъеме руки стоящего человека в работе [10]. Она проявлялась в смещении тела назад и к опорной ноге и вела к дестабилизации позы перед последующим шагом. В данном исследовании мы также наблюдали у ПН испытуемых смещение ЦД тела назад и влево, а также увеличение длины траектории и скорости смещения ЦД в последнем периоде наблюдения, что могло приводить к некоторому уменьшению качества равновесия. Таким образом, мы получили изменения, характерные для преднастройки позы, но в течение более длительного периода времени. Изменения поструральных показателей в наших экспериментах проявлялись в интервалах 16–20 с перед началом действия, что существенно превышает временной интервал, типичный для поздней преднастройки перед движениями тела, который не превышает 1.5 с.

Сопоставление поструральных показателей по сагиттальной оси в группах ПН и ПЗ испытуемых показало, что на протяжении всего периода регистрации длина траектории ЦД, скорость и разброс значительно больше в первой группе, по сравнению со второй. Эти данные повторяли результаты, полученные нами ранее при ожидании звуковой информации [9]. В то время как по фронтальной оси аналогичные показатели были существенно меньше по величине и не различались между испытуемыми обеих групп на протяжении времени регистрации, за исключением последнего периода. В литературе имеются сведения о том, что люди с различным когнитивным стилем – ПЗ и ПН, характеризуются разными стратегиями поддержания равновесия, при этом у ПН в поддержании равновесия участвует большее количество сегментов тела, чем у ПЗ испытуемых, колебания тела которых осуществляется “единым блоком” [6, 7]. Можно полагать, что большее количество степеней свободы, которое наблюдается у испытуемых с независимым движением головы, плеч и таза при регуляции позы, приводит к большим колебаниям ЦД тела по сравнению с ПЗ испытуемыми.

Наблюдаемые нами различия в группах испытуемых с разной ведущей модальностью могли проявляться при стойке с закрытыми глазами после опорной разгрузки во время “сухой” иммерсии [3]. Авторы этого исследования высказали гипотезу о наличии разных стратегий для поддержания поздней устойчивости в группах испытуемых, демонстрирующих разнонаправленные реакции после опорной разгрузки. В нашем случае в качестве разгрузки может выступать помещение испытуемого в звукоизолированную камеру с отсутствием звуковой стимуляции. Возможно, что разные стратегии поддержания позы как в нашей,

так и в упомянутой работе могли быть обусловлены различной ведущей модальностью у испытуемых при ориентации в пространстве.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стратегия поддержания вертикальной позы (пятки вместе, носки врозь, руки опущены вниз вдоль тела) существенно различается в группах ПН и ПЗ при спокойном стоянии в отсутствии дистантной – зрительной и звуковой стимуляции. Эта разница регистрируется в показателях позы по сагиттальной оси и состоит в более выраженных колебаниях по этой оси у ПН испытуемых по сравнению с ПЗ, а также в наличии у ПН смещения ЦД назад на протяжении всего времени стояния. Проведенные наблюдения свидетельствуют о том, что, несмотря на близкие показатели качества равновесия в условиях отсутствия зрительной и звуковой информации, при его поддержании испытуемые разных когнитивных стилей придерживаются различной стратегии.

**Этические нормы.** Все исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях, и одобрены локальной Этической комиссией Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (Санкт-Петербург), протокол № 1-03 от 2.03.2020.

**Информированное согласие.** Каждый участник исследования представил добровольное письменное информированное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования.

**Финансирование работы.** Работа поддержана средствами государственного бюджета по госзаданию (тема № АААА-А18-118013090245-6).

**Благодарности.** Авторы статьи выражают благодарность Лаборатории физиологии движения Института физиологии им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург) за предоставленную возможность работать на стабилोगрафе “Стабилан 01”.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kozlovskaya I.B., Barmin V.A., Kreidich Yu.V., Repin A.A. The effects of real and simulated microgravity on vestibulo-oculomotor interaction // *Physiologist*. 1985. V. 28. № 6. P. 51.
2. Саенко Д.Г., Артамонов А.А., Козловская И.Б. Характеристика поздних коррекционных ответов до и после длительных космических полетов // *Физиология человека*. 2011. Т. 37. № 5. С. 91.  
Sayenko D.G., Artamonov A.A., Kozlovskaya I.B. Char-

- acteristics of postural corrective responses before and after long-term spaceflights // *Human Physiology*. 2011. V. 37. № 5. P. 594.
3. *Амирова Л.Е., Шишкин Н.В., Китов В.В. и др.* Роль зрительной обратной связи в контроле вертикальной устойчивости человека до и после 5-суточной "сухой" иммерсии // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2017. Т. 51. № 7. С. 31.
  4. *Fuchs D.* Dancing with Gravity—Why the Sense of Balance Is (the) Fundamental // *Behav. Sci*. 2018. V. 8. № 1. P. 7.
  5. *Magnusson M.* Posture, balance control, movement: Involvement in vestibular rehabilitation // *Neurophysiol. Clin*. 2016. V. 46. № 4–5. P. 238.
  6. *Isableu B., Ohlmann Th., Cremieux J., Amblard B.* Selection of spatial frame of reference and postural control variability // *Exp. Brain Res*. 1997. V. 114. № 3. P. 584.
  7. *Isableu B., Ohlmann Th., Cremieux J., Amblard B.* Differential approach to strategies of segmental stabilization in postural control // *Exp. Brain Res*. 2003. V. 150. № 2. P. 208.
  8. *Андреева И.Г., Гвоздева А.П., Боброва Е.В.* Постуральные ответы на движущиеся звуковые образы в зависимости от ведущей сенсорной модальности при ориентации в пространстве // *Рос. физиол. журн*. 2019. Т. 105. № 2. С. 178.
  9. *Тимофеева О.П., Гвоздева А.П., Боброва Е.В., Андреева И.Г.* Постуральные колебания у людей с разным когнитивным стилем при ожидании слуховой информации о движении // *Журн. высшей нерв. деят. им. И.П. Павлова*. 2020. Т. 70. № 6. С. 752.
  10. *Беленький И.Е., Гурфинкель В.С., Пальцев Е.И.* Об элементах управления произвольными движениями // *Биофизика*. 1967. Т. 12. № 1. С. 135.

## Postural Control Features of Field-Dependent and Field-Independent Subjects in the Absence of Visual and Audio Information

O. P. Timofeeva<sup>a</sup>, I. G. Andreeva<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS, St. Petersburg, Russia*

<sup>\*</sup>*E-mail: ig-andreeva@mail.ru*

Stabilometric indicators were registered during maintaining the vertical posture (European version of Rotberg's posture: heels together, toes apart, hands down at the sides) for one minute in absence of visual and audio stimulation. In the study a hypothesis that strategy of maintaining the posture in absence of distant information depends on a predominant modality in spatial orientation, was tested. The differences in the trajectory length and speed of center of pressure (COP) and variation of COPs at saggital axis between groups of FD and FI subjects were detected. This difference was expressed in the more significant fluctuations of values at siggital axis in FI subjects in comparison with FD subjects. The values of the same indicators along the frontal axis did not significantly differ. Higher values of balance quality and smaller values of an ellipse area and ellipse compression in FD subjects in comparison with FI subjects were observed. These observations show the difference in balance between groups of subjects in absence of audio and visual information. Tracing of postural sway dynamics in FI subjects the COP shift to the back was found at whole period of standing. For FD subjects no significant changes of COP shift were detected.

*Keywords:* pose adjustment, orientation in space, field dependence, stabilometry, pre-adjustment of the pose.

УДК 612.821

## ПРИМЕНЕНИЕ “КОСМИЧЕСКОЙ” ЭЛЕКТРОМИОСТИМУЛЯЦИИ В ЗЕМНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ КАРДИОЛОГИИ

© 2021 г. М. Г. Полтавская<sup>1</sup>, \*, В. П. Свириденко<sup>1</sup>, А. В. Бранд<sup>1</sup>, Д. А. Андреев<sup>1</sup>,  
Ю. А. Коряк<sup>2</sup>, Г. О. Велиев<sup>1</sup>, О. Н. Дикур<sup>1</sup>, В. М. Куликов<sup>1</sup>,  
Ю. Д. Вайсман<sup>1</sup>, Е. С. Томиловская<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Первый московский государственный медицинский университет  
имени И.М. Сеченова МЗ России, Москва, Россия

<sup>2</sup>ФГБУН ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

\*E-mail: m.poltavskaya@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.02.2021 г.

После доработки 19.03.2021 г.

Принята к публикации 23.03.2021 г.

В статье описывается серия исследований эффективности метода электромиостимуляции, разработанного под руководством Инесы Бенедиктовны Козловской для системы профилактики негативных влияний факторов космического полета на мышечную систему, в реабилитации пациентов, госпитализированных с декомпенсированной хронической сердечной недостаточностью. Показано, что низкочастотная нервно-мышечная электростимуляция нижних конечностей благоприятно отражается на физической работоспособности и активности пациентов, их оценке качества жизни и общего самочувствия. По эффективности электростимуляция существенно превышает плацебо и сравнима с интервальными тренировками на велоэргометре низкой-средней интенсивности, хорошо переносится, не сопровождается существенными изменениями центральной гемодинамики, углеводного и липидного обмена, почечной функции и маркеров мышечного повреждения. Разработанный метод может использоваться в реабилитации пациентов с сердечной недостаточностью, которые не могут или не желают тренироваться обычными способами.

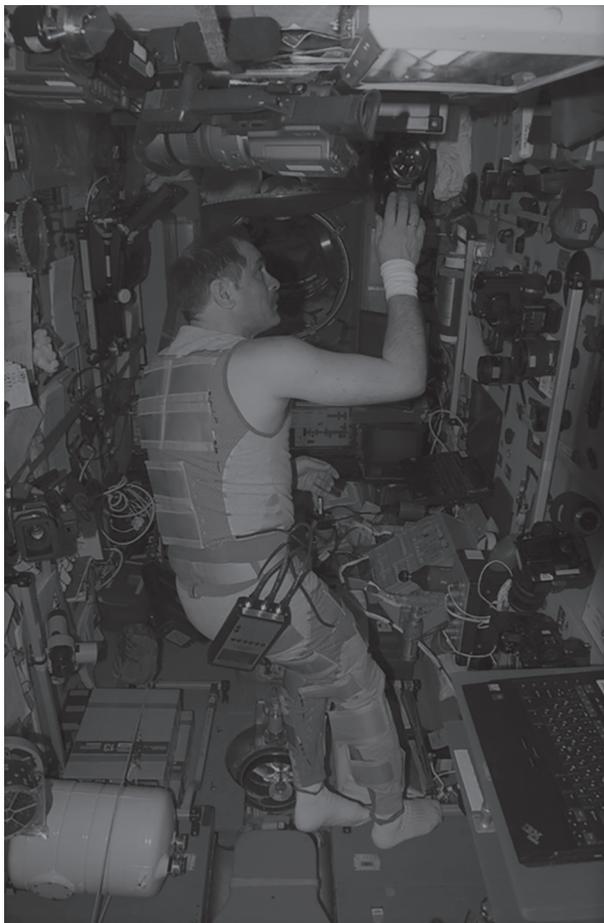
*Ключевые слова:* электростимуляция мышц, нейромышечная стимуляция, сердечная недостаточность, реабилитация, физические тренировки, физическая работоспособность, потребление кислорода, качество жизни.

DOI: 10.31857/S0131164621040135

Инеса Бенедиктовна Козловская была инициатором внедрения целого ряда реабилитационных методик, разработанных для длительных космических полетов (КП), в земную медицину. Одной из таких методик явилась нейромышечная стимуляция.

Электромиостимуляция (ЭМС) основана на восстановлении нормального уровня электрической активности мышц за счет применения электрического тока с параметрами импульсации, характерными для паттерна иннервации быстрых (50–60 Гц) или медленных (10 Гц) двигательных единиц. В спортивной медицине применяются в основном высокочастотные паттерны импульсации (до 100 Гц) [1]. ЭМС применяется как напрямую (электроды накладываются на кожу и ток воздействует непосредственно на мышцу), так и косвенно, путем стимуляции нерва, иннервирующего мышцу. Это приводит к активации мышечных волокон и к их сокращению, и таким образом позволяет поддерживать активность мышцы.

Нейромышечная стимуляция (НМЭС) применяется для коррекции или профилактики мышечной атрофии у различных групп пациентов [2], а также в спортивной медицине для достижения максимальных силовых и скоростных показателей [3]. Применение электростимуляции мышц в качестве меры профилактики изменений, вызываемых функциональной разгрузкой, является единственно возможной мерой профилактики для пациентов, которые по тем или иным причинам не могут выполнять физические упражнения, к примеру, находятся в бессознательном состоянии. Так, рандомизированное исследование показало эффективность высокочастотной ЭМС в предотвращении атрофии четырехглавой мышцы бедра у пациентов, находящихся в реанимации [4]. Недавние исследования показали, что стимуляция с частотой 50 Гц приводит к повышению трофики мышечных волокон “быстрого” типа в четырехглавой мышце бедра у больных раком, проходящих химиотерапию, не предотвращая



**Рис. 1.** Применение электромиостимулятора “Стимул-01 НЧ” на борту МКС.

снижения числа митохондрий [5]. В спортивной медицине ЭМС часто применяется при восстановлении спортсменов после травм, ортопедических операций, на фоне гипсовой иммобилизации конечности. Применение стимуляции частотой 50 Гц у атлетов после операции по восстановлению передней крестообразной связки приводило к частичному предотвращению снижения силы четырехглавой мышцы бедра, хотя и не предотвращало атрофии исследуемой мышцы [6]. Вместе с тем, сеансы ЭМС с частотой 30 Гц на протяжении 40 дней иммобилизации ноги из-за перелома голени приводили к предотвращению снижения уровня синтеза белка и атрофии четырехглавой мышцы бедра по сравнению с контралатеральной ногой [7].

В отличие от высокочастотной стимуляции, низкочастотная применяется в реабилитации пациентов с хроническим системным поражением скелетных мышц, например, в результате травмы спинного мозга. Низкочастотная ЭМС оказывает эффект, в первую очередь, на содержание митохондриальных ферментов, окислительные спо-

собности мышцы и устойчивость мышцы к утомлению. Исследования на грызунах, проведенные еще в 80-х гг. XX в., показали, что хроническая низкочастотная миостимуляция приводит к трансформации фенотипа волокон “быстрых” мышц в “медленную” сторону, к росту капилляризации, увеличению количества митохондриальных ферментов и повышению устойчивости мышц к утомлению [8]. Повышение устойчивости к утомлению при низкочастотной стимуляции наблюдалось и на передней большеберцовой мышце у человека [9, 10].

Эффекты электростимуляции мышц применительно к практике КП начали исследовать еще в 70-х гг. прошлого века на наземных моделях — в экспериментах с длительной постельной гипокинезией. В этих экспериментах было показано, что применение высокочастотной нейромышечной электростимуляции с помощью аппарата “Тонус-2” (Россия) предотвращает снижение площади поперечного сечения волокон камбаловидной мышцы [11]. Низкочастотная НМЭС с частотой 15 Гц у здоровых добровольцев позволяла повысить выносливость мышц, однако максимальная сила сокращения и размеры мышечных волокон мышц-разгибателей колена снижались. Этот негативный эффект можно было предотвратить, проводя стимуляцию на фоне растяжения мышц [12].

Первое экспериментальное использование электромиостимуляторов и испытание их эффективности на борту орбитальных станций было начато И.Б. Козловской совместно с австрийскими коллегами в конце 90-х гг. [13]. В дальнейшем эти исследования были продолжены, в том числе и в модельных наземных экспериментах [14–16].

В российской системе профилактики негативных эффектов КП используются различные устройства НМЭС, как высокочастотные — электромиостимулятор “Тонус-3” (Россия), применяющийся для 60 Гц стимуляции четырехглавой мышцы бедра, абдоминальных мышц, мышц шеи, спины и плеч, так и низкочастотные — стимулятор “Стимул-01-НЧ” (Россия), позволяющий стимулировать мышцы с частотой от 25 до 50 Гц [17]. Применение последнего возможно в течение многих часов, на фоне обычной работы космонавта (рис. 1). Оценить эффект именно НМЭС в КП непросто, поскольку по условиям полета полная отмена активных физических тренировок невозможна, поэтому исследователи всегда анализируют эффекты сочетанного применения миостимуляции и других средств профилактики. Хотя эти данные ограничены, они предполагают, что применение НМЭС во время КП возможно и потенциально способно (по крайней мере, частично) предотвратить атрофию мышц [17–19].

**Физическая работоспособность при ХСН.** Снижение физической работоспособности — одно из ведущих проявлений хронической сердечной недостаточности (ХСН). Несмотря на современные методы лечения, зачастую даже у клинически стабильных пациентов при отсутствии застоя жидкости сохраняются одышка и утомляемость. Механизмы снижения толерантности к физической нагрузке при ХСН многообразны: первичным является снижение сердечного выброса, которое инициирует целый ряд сосудосуживающих и антинарийуретических реакций. Хроническая вазоконстрикция со снижением периферического кровотока, нейрогуморальная активация, повышение уровня цитокинов и тканевых факторов роста могут приводить к снижению способности к вазодилатации в мышцах. Значительный вклад вносят патологическая активация мышечных рефлексов, участвующих в формировании дыхательного и циркуляторного ответа на нагрузку и “ответственных” за появление одышки и тахикардии, а также развитие миопатии [20, 21]. Скелетная миопатия при тяжелой ХСН проявляется апоптозом миоцитов, уменьшением числа и размеров митохондрий с сокращением поверхности крист, снижением активности окислительных ферментов, что приводит к подавлению аэробного и активации анаэробного метаболизма, повышению продукции лактата и “закислению” мышц. Истощение креатинфосфата и запасов гликогена, в сочетании со сниженной скоростью поступления и утилизации глюкозы, приводит к быстрому утомлению мышцы [22–25]. При ХСН наблюдаются трансформация волокон миозина от медленных (I типа, “аэробных”) к быстрым (IIb типа, “анаэробным”) изоформам [26]. При ХСН снижается не только выносливость, но по мере нарастания тяжести заболевания — сила и масса мышц. Определенную роль в развитии миопатии играет ограничение физической активности и атрофия “от бездействия”, обусловленного длительным застоем жидкости, одышкой и другими лимитирующими симптомами, а также чрезмерно щадящим режимом. Помимо детренированности, атрофию мышц связывают с гипоперфузией, алиментарными факторами, метаболическими и гормональными нарушениями с преобладанием катаболических, прямым повреждающим действием цитокинов и предрасполагающими генетическими факторами (уменьшение содержания тяжелых цепей миозина I) [27, 28].

**Нейромышечная стимуляция при ХСН.** Аэробные и силовые тренировки, оказывающие благоприятное воздействие на физическую работоспособность, состояние мышц, качество жизни и даже прогноз пациентов со стабильной ХСН, являются основными компонентами программ реабилитации. В ряде случаев, например, при декомпенсации ХСН, тренировки противопоказаны,

так как могут сопровождаться значительной гемодинамической перегрузкой. При тяжелой ХСН, даже в стабильном состоянии обычные тренировки не всегда возможны в связи с быстрой утомляемостью и выраженной одышкой, а примерно у 10% больных — еще и в связи с опорно-двигательными и неврологическими нарушениями [29, 30]. Для наиболее ослабленных пациентов, тех, кто не может или не желает тренироваться, ЭМС могла бы служить альтернативой, либо начальным методом реабилитации [31, 32].

Эффективность нервно-мышечной или функциональной электростимуляции как возможного альтернативного или начального метода реабилитации при ХСН исследована в ряде неконтролируемых, а также рандомизированных контролируемых исследований, в которых стимуляцию сравнивали с отсутствием тренировок или имитацией стимуляции (*sham-stimulation*) [33–38] и с обычными тренировками на велоэргометре [39–45]. В большинстве таких работ стимулировали мышцы бедра, в первую очередь разгибатели [32, 33], как правило, также икроножные [36–45], и в одной работе — еще и ягодичные мышцы [35]. Применяли низкочастотную миостимуляцию с частотой электрического тока от 4 до 50 Гц. Продолжительность сеансов варьировала от 30 до 240 мин, частота — от 3 до 7 раз в неделю. Различными были также использованные устройства и, соответственно, режимы стимуляции — как по интенсивности (от 30% от максимального произвольного сокращения до максимально переносимого), так и по временным характеристикам цикла сокращение/расслабление. Сеансы НМЭС, как правило, проводили на дому после обучения в клинических условиях.

Исследования показали, что по сравнению с обычным лечением (без тренировок) или с имитацией стимуляции, НМЭС сопровождается существенным увеличением мышечной силы и выносливости, возрастанием пиковой нагрузки и пикового потребления кислорода при нагрузочных тестах, увеличением дистанции шестиминутной ходьбы (ТШХ) и улучшением субъективной оценки здоровья и качества жизни [32, 46, 47]. При анализе биоптата мышц были выявлены положительные метаболические и ультраструктурные изменения: повышение активности окислительных и снижение гликолитических ферментов, идущие параллельно улучшению оксидативного статуса изоформ тяжелых цепей миозина и изменение композиции волокон *m. vastus lateralis* в “медленную” сторону [36]. Были получены данные о положительном влиянии НМЭС на нейрогормональный статус, о снижении уровня мозгового натрийуретического пептида — индикатора тяжести и прогноза ХСН, улучшении эндотелий-зависимой вазодилатации, снижении уровня провоспалительных цитокинов, повышении ско-

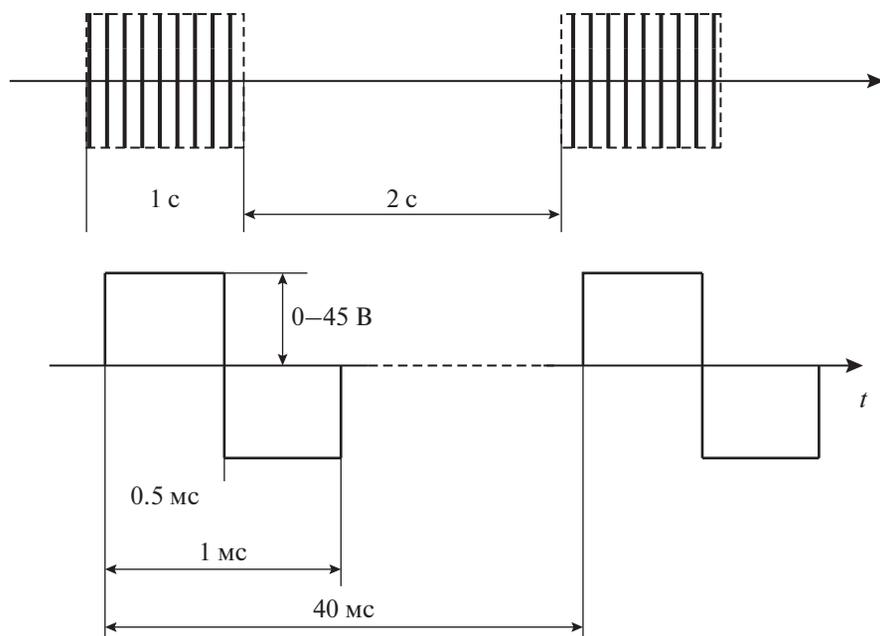


Рис. 2. Параметры работы электромиостимулятора “Стимул-01 НЧ”. В – вольт, мс – миллисекунда, с – секунда,  $t$  – время.

рости кровотока, а также улучшении психологического статуса и уменьшении депрессии [32, 37, 38, 43, 48]. По данным метаанализа *N.A. Smart* [46] у больных ХСН НМЭС по эффективности сравнима с обычными физическими тренировками, причем по влиянию на пиковое потребление кислорода ( $VO_{2peak}$ ) уступает, а по влиянию на дистанцию ТШХ и показатели качества жизни не уступает им. В работе *N.P. Kadoglou et al.* [49] пациенты, получавшие НМЭС в дополнение к оптимальной терапии, значительно реже нуждались в повторной госпитализации, что отражает положительное влияние таких тренировок на прогноз. Кохрейновский метаанализ 2016 г. показал, что у пациентов с тяжелыми хроническими заболеваниями, включая ХСН, НМЭС позволяет увеличить массу (по данным УЗИ и КТ) и силу стимулируемых мышц [50].

Влияние НМЭС на центральную гемодинамику минимально. При тяжелой ХСН с низкой фракцией выброса левого желудочка миостимуляция не приводит к ухудшению состояния, не вызывает увеличения частоты сердечных сокращений или нарушений ритма, сопровождаясь иногда лишь умеренным снижением артериального давления. Непосредственно в процессе процедур, в связи с увеличением венозного возврата, могут несколько возрастать ударный объем, фракция выброса, скорость кровотока в аорте и скорость раннего трансмитрального диастолического наполнения [48].

О серьезных неблагоприятных явлениях не сообщалось никем из исследователей, лишь внача-

ле могли быть жалобы на небольшие мышечные боли, которые затем самостоятельно проходили [51]. После первой недели ЭМС некоторые авторы отмечали небольшое транзиторное повышение креатинфосфокиназы (КФК) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в крови, однако существенного повреждения мышц не описано [42].

*Исследования нейромышечной стимуляции при ХСН, предпринятые по инициативе И.Б. Козловской.* Сотрудниками ГНЦ РФ – ИМБП РАН (г. Москва) под руководством И.Б. Козловской и предприятием “Биофизприбор” (Россия) был разработан электромиостимулятор “Стимул-01 НЧ” для низкочастотной НМЭС у космонавтов при длительных полетах. Прибор генерирует двухполярные симметричные прямоугольные электрические импульсы продолжительностью  $1 \pm 0.05$  мс с частотой  $25 \pm 1$  Гц в циклическом режиме ( $1 \pm 0.1$  с – стимуляция,  $2 \pm 0.1$  с – перерыв) (рис. 2), стимулируя одновременно мышцы передней и задней поверхности бедер и голеней. Изменения мышц при детренированности и ХСН во многом сходны с теми, которые наблюдаются в условиях микрогравитации, и это позволяло предполагать, что разработанный режим миостимуляции может быть эффективным и в коррекции миопатии у кардиологических больных.

По инициативе И.Б. Козловской, на кафедре профилактической и неотложной кардиологии (ныне – кардиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики) Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (г. Москва) был проведен целый ряд исследований НМЭС у кардиологиче-

ских больных. Благодаря совместной работе пертерпел изменения и сам стимулятор — он стал компактнее и удобнее в применении, была найдена оптимальная для применения в клинике модификация электродов и системы их фиксации (рис. 3).

Учитывая целесообразность как можно более раннего начала реабилитации, в отличие от предшествующих работ, в которых применяли НМЭС у пациентов в стабильном состоянии и в амбулаторных условиях, мы изучали возможности миостимуляционных тренировок в стационаре, начиная в максимально ранние сроки после поступления, когда компенсация сердечной недостаточности еще не была достигнута. Помимо раннего начала НМЭС и более тяжелого состояния больных наши исследования отличал более короткий срок проведения тренировок. Как правило, в работах, посвященных как НМЭС, так и физическим тренировкам, их продолжительность составляет не менее пяти, а чаще всего — восьми недель. Мы же оценивали скорее превентивное действие в отношении развития и прогрессирования миопатии, обусловленного декомпенсацией сердечной недостаточности и ограничением активности в стационаре. Известно, в частности, что у пациентов в критическом состоянии, находящихся в отделениях интенсивной терапии, каждый день постельного режима может приводить к снижению массы мышц на 5% [52]. При этом показано, что НМЭС может препятствовать развитию постреанимационной мышечной слабости [53]. Исходя из этих предпосылок, можно предполагать, что даже короткие курсы НМЭС, ограниченные по продолжительности пребыванием в стационаре, позволят, как минимум, затормозить прогрессирование функциональных нарушений и миопатии.

Целью одного из фрагментов программы исследования по сравнению эффективности нервно-мышечной электростимуляции и интервальных физических тренировок в ранней реабилитации пациентов, госпитализированных с декомпенсацией ХСН, была оценка влияния трехнедельных курсов НМЭС нижних конечностей на толерантность к нагрузкам и качество жизни больных, по сравнению с интервальными тренировками низкой-средней интенсивности на велоэргометре и с обычным лечением.

## МЕТОДИКА

В исследование был включен 51 пациент (84.3% мужчин, средний возраст  $62.5 \pm 3.3$  лет) с декомпенсацией ХСН. Пациенты были разделены на 3 группы: НМЭС ( $n = 10$ ), физических тренировок (ФТ) ( $n = 20$ ) и контрольную ( $n = 21$ ). Все пациенты получали оптимальную медикаментозную терапию, которая при необходимости кор-



**Рис. 3.** Наложение электродов электромиостимулятора “Стимул-01 НЧ” при НМЭС нижних конечностей. Стрелками указано положение электродов.

ректировалась. Помимо этого, пациенты группы НМЭС в течение 3 нед. получали сеансы миостимуляции, находясь в стационаре. Пациенты, вошедшие в группу ФТ, в течение 3 нед. выполняли физические тренировки на велоэргометре — в стационаре и затем в амбулаторных условиях. Пациентов контрольной группы наблюдали в течение 3-х нед. после включения — в стационаре и после выписки.

НМЭС нижних конечностей проводили с помощью электромиостимулятора “Стимул-01 НЧ”, начиная с 3-го дня от поступления в стационар, 5 дней в неделю, в течение 3-х нед. Целевая продолжительность сеанса НМЭС составляла  $\geq 60$  мин в день. Средняя продолжительность стимуляционной тренировки составляла  $46.4 \pm 22.3$  мин, количество тренировок на одного пациента —  $12.3 \pm 2.1$ . Амплитуду импульсов подбирали индивидуально для каждого больного так, чтобы они вызывали видимое сокращение мышц, с постепенным увеличением до максимально переносимого сокращения.

В группе ФТ проводили интервальные тренировки на велоэргометре, начиная с низкой интенсивности. Режим тренировки определяли с помощью “рамп”-теста на велоэргометре. Интенсивность фазы нагрузки тренировки вначале устанавливали на уровне 40% от максимальной нагрузки, достигнутой при “рамп”-тесте. Продолжительность тренировок составляла от 5 до 30 мин в день. По мере роста физической работоспособности продолжительность и интенсивность тренировок постепенно увеличивали. Тренировки начинали после 5–7-го дня госпитализации, 4–5 дней в неделю, в течение 3-х нед. С пациентами контрольной группы после выписки из стационара поддерживали контакт по телефону, контролируя выполнение рекомендаций

по образу жизни и медикаментозной терапии, при необходимости корригировали лечение.

В исходном состоянии и через 3 нед. всем пациентам проводили клинико-инструментальное обследование. Качество жизни оценивали с помощью вопросника *Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire (MLHFQ)*, согласно которому качество жизни тем выше, чем меньше баллов набирает пациент. Физическую работоспособность определяли с помощью теста 6-минутной ходьбы (ТШХ), при котором оценивается расстояние, пройденное пациентом с максимальным усилием за фиксированный промежуток времени (6 мин), а также симптом-лимитированного нагрузочного теста с газовым анализом (эргоспирометрии). Повседневную физическую активность оценивали по вопроснику *Duke Activity Status Index (DASI)*, валидированному для больных с ХСН (чем выше активность, тем больше баллов).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На фоне лечения улучшилось состояние всех пациентов. Достоверное улучшение качества жизни по вопроснику наблюдалось во всех исследуемых группах, максимальное – в группе ФТ и минимальное – в группе НМЭС. Значительное влияние на качество жизни могло оказывать продолжающееся пребывание в стационаре пациентов группы НМЭС, тогда как пациенты других групп к окончанию наблюдения уже были выписаны. Вместе с тем, на фоне НМЭС и ФТ достигнуто сравнимое достоверное увеличение дистанции ТШХ на 65.0 (50.0; 112.5) и 53.0 (51.0; 78.0) м, индекса *DASI* – на 8.6 (5.5; 11.8) и 8.0 (4.5; 9.0) баллов, и пикового потребления кислорода ( $VO_{2peak}$ ) – на 1.9 (0.3; 3.2) и 2.2 (0.7; 3.2) мл/мин/кг, соответственно. У пациентов контрольной группы возросла лишь дистанция ТШХ на 21 м.

В связи с тем, что первичное обследование пациентов в группе НМЭС проводили раньше, чем в других группах, исходные функциональные показатели этих пациентов были наихудшими. Для того, чтобы исключить возможное влияние различий исходного состояния, были сопоставлены подгруппы больных с одинаково низким  $VO_{2peak}$  – от 8.0 до 13 мл/мин/кг, в каждую из которых вошло по 8 чел. В выделенных подгруппах, как и в общей когорте, достоверное улучшение всех функциональных показателей наблюдалось на фоне НМЭС или ФТ, в то время как у пациентов контрольной группы достоверно улучшились только параметры качества жизни и ТШХ (табл. 1). Пациенты с НМЭС достоверно уступали пациентам с ФТ и недостоверно – пациентам без тренировок по динамике *MLHFQ*. По приросту *DASI* и дистанции ТШХ они, наоборот, существенно превосходили группу контроля и даже группу ФТ

(в случае  $\Delta DASI$  – достоверно). Приросты  $VO_{2peak}$  в подгруппах НМЭС и велотренировок различались незначительно. В контрольной группе, по сравнению с исходным уровнем, было даже небольшое снижение  $VO_{2peak}$ , однако разница динамики этого показателя между тренировавшимися и не тренировавшимися пациентами была статистически недостоверной. Более подробно результаты этого исследования описаны ранее [54].

*Рандомизированное плацебо-контролируемое исследование эффективности и безопасности коротких курсов НМЭС у пациентов, госпитализированных с декомпенсацией ХСН.* В следующем фрагменте исследования НМЭС применили у более тяжелых больных, начинали раньше и продолжали в течение более короткого периода, что отражало сокращение сроков госпитализации пациентов с сердечной недостаточностью в России, как и во всем мире.

В исследование было включено 45 пациентов, госпитализированных в связи с декомпенсацией ХСН. Пациенты были рандомизированы на 2 сопоставимые группы: группа эффективной ЭМС ( $n = 22$ ) и группа имитации миостимуляции (*Sham*,  $n = 23$ ). В группе эффективной ЭМС, начиная со 2-х сут госпитализации, проводили НМЭС по методике, описанной выше. Во второй группе также накладывали электроды и включали аппарат ЭМС, однако использовали минимальную субъективно ощущаемую амплитуду импульсов. Лечение продолжали до выписки из стационара, и его продолжительность составляла не более 10 дней. Максимальная продолжительность тренировки составляла 90 мин (в основном не более 60 мин), количество сеансов ЭМС –  $7.8 \pm 2.2$  и *Sham* –  $8.0 \pm 2.0$ , средняя продолжительность тренировки –  $52.9 \pm 11.3$  мин для ЭМС и  $54.5 \pm 10.44$  мин для *Sham*. Переносимость физических нагрузок, самочувствие больных и качество жизни оценивали в исходном состоянии и при выписке из стационара при помощи визуально-аналоговой шкалы (ВАШ), ТШХ, опросников *DASI* и *MLHFQ*. В связи с тяжелым состоянием пациентов выполнение эргоспирометрии не представлялось возможным. Для оценки выживаемости достигнутых результатов перечисленные исследования повторяли также через 1 и 3 мес. после выписки из стационара.

В группе эффективной ЭМС отмечалось улучшение самочувствия пациентов по данным ВАШ, качества жизни по данным *MLHFQ*, а также увеличение уровня физической активности по данным опросника *DASI* и ТШХ. В группе имитации миостимуляции по данным ВАШ и *MLHFQ*, также отмечались улучшение состояния пациентов, однако существенно меньшее, чем в группе НМЭС. Согласно опросникам *DASI* и ТШХ, улучшение физической работоспособности пациентов в группе *Sham* было недостоверным. Через

**Таблица 1.** Сравнение функциональных показателей до и после 3-недельных тренировок или наблюдения в подгруппах пациентов с одинаково низким исходным  $VO_{2peak}$ 

Параметр	Исходно	3 нед.	<i>p</i>
Группа НМЭС, <i>n</i> = 8			
<i>MLHFQ</i> , баллы	56.0 (59.0; 68.3)	50.0 (45.3; 52.5)	0.012
<i>DASI</i> , баллы	11.58 (7.89; 13.45)	18.95 (18.73; 22.88)	0.012
Дистанция ТШХ, м	205.0 (170.0; 302.5)	305.0 (285.0; 350.0)	0.012
$VO_{2peak}$ , мл/кг/мин	11.00 (8.55; 11.50)	12.30 (10.48; 13.55)	0.012
Группа ФТ, <i>n</i> = 8			
<i>MLHFQ</i> , баллы	60.5 (56.5; 73.0)	31.0 (23.5; 41.5)	0.012
<i>DASI</i> , баллы	18.95 (16.89; 26.08)	26.20 (23.45; 31.51)	0.018
Дистанция ТШХ, м	327.0 (283.3; 407.3)	381.0 (300.8; 455.8)	0.018
$VO_{2peak}$ , мл/кг/мин	10.65 (9.33; 11.93)	14.05 (10.65; 16.20)	0.018
Контрольная группа <i>n</i> = 8			
<i>MLHFQ</i> , баллы	73.0 (61.0; 76.0)	55.0 (45.0; 61.5)	0.017
<i>DASI</i> , баллы	15.32 (13.69; 18.95)	18.95 (12.03; 23.33)	нд
Дистанция ТШХ, м	302.0 (222.5; 348.8)	309.5 (275.0; 405.0)	0.049
$VO_{2peak}$ , мл/кг/мин	11.40 (9.55; 12.05)	10.35 (9.05; 13.33)	нд

*Примечание:* НМЭС – нейромышечная электростимуляция. ФТ – физические тренировки. *p* – достоверность различий между показателями до и после тренировок. *MLHFQ* – вопросник *Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire*. *DASI* – вопросник *Duke Activity Status Index*. ТШХ – тест с шестиминутной ходьбой.  $VO_{2peak}$  – пиковое потребление кислорода.

1 и 3 мес. после выписки сохранялись существенные различия между пациентами двух групп по всем исследуемым показателям (рис. 4).

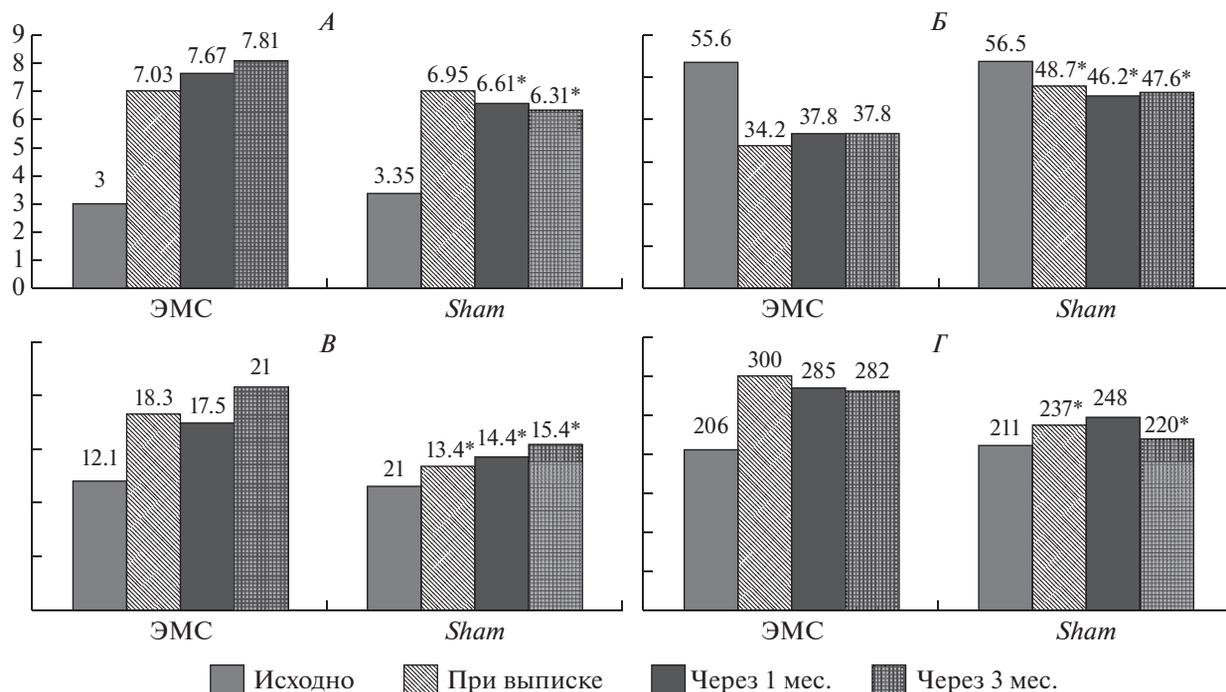
**Переносимость и безопасность НМЭС.** В ходе исследований не было зарегистрировано серьезных сердечно-сосудистых и других неблагоприятных событий в связи с проводимыми процедурами НМЭС. Некоторые пациенты отмечали после первых процедур неприятные ощущения в мышцах, которые затем самостоятельно проходили. Лишь двое пациентов отказались от продолжения тренировок после 1-го или 2-го сеанса НМЭС, в связи с неприятными ощущениями в ногах и общим дискомфортом.

Существенного влияния НМЭС на гемодинамические показатели по клиническим и эхокардиографическим данным не было отмечено. Трансторакальная эхокардиография на фоне процедуры НМЭС выполнена у 10 пациентов. Динамики фракции выброса, конечного диастолического и систолического размеров, ударного объема по сравнению с состоянием покоя выявлено не было. Также не было отмечено влияния миостимуляции на биохимические показатели (уровень глюкозы, липидов и креатинина) через 48 ч после первой процедуры и по окончании всего курса лечения. Для исключения повреждения мышц мониторовали уровень КФК. Существенного возрастания концентрации КФК как через 48 ч после первых процедур, так и к окончанию всего курса лечения не выявлено.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение ЭМС, с помощью разработанного под руководством И.Б. Козловской для космических станций миостимулятора “Стимул-01 НЧ”, позволяет улучшить качество жизни, повысить работоспособность и физическую активность пациентов с тяжелой/декомпенсированной хронической сердечной недостаточностью, причем по эффективности НМЭС сравнима с интервальными тренировками на велоэргометре низкой-средней интенсивности. По данным плацебо-контролируемого исследования у пациентов, госпитализированных с декомпенсацией ХСН и имеющих крайне низкую толерантность к нагрузкам, эти эффекты достигаются за срок менее 10 дней и сохраняются через 3 мес. после выписки из стационара. Низкочастотная НМЭС с помощью электромиостимулятора “Стимул-01 НЧ” хорошо переносится, не сопровождается существенными изменениями центральной гемодинамики, углеводного и липидного обмена, почечной функции и маркеров мышечного повреждения. НМЭС можно использовать на начальном этапе реабилитации у пациентов с ХСН, которые не в состоянии или не желают тренироваться обычными способами.

**Этические нормы.** Все исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлений, и одобрены локальным биоэтическим



**Рис. 4.** Изменения самочувствия и функциональных показателей на фоне НМЭС и плацебо. А – оценка общего самочувствия по визуально-аналоговой шкале (баллы). Б – оценка качества жизни по вопроснику *Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire* (баллы). В – оценка повседневной активности по вопроснику *Duke Activity Status Index* (баллы). Г – дистанция, пройденная при тесте шестиминутной ходьбы (метры). \* –  $p < -0.05$  (достоверность различий между группами).

комитетом Первого московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова МЗ России (Москва).

**Информированное согласие.** Каждый участник исследования представил добровольное письменное информированное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования.

**Финансирование работы.** Работа поддержана Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-1502020-919 от 16.11.2020 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня “Павловский центр “Интегративная физиология – медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости”.

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

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. *Vanderthommen M., Crielaard J.M.* Muscle electric stimulation in sports medicine // *Rev. Med. Liege.* 2001. V. 56. № 5. P. 391.

2. *Maffiuletti M.A., Minetto M.A., Farina D. et al.* Electric stimulation for neuromuscular testing and training: State-of-the-Art and unresolved issues // *Eur. J. Appl. Physiol.* 2011. V. 111. № 10. P. 2391.

3. *Filiponiv A., Kleinöder H., Dörmann U. et al.* Electromyostimulation – a systematic review of the influence of training regimens and stimulation parameters on effectiveness in electromyostimulation training of selected strength parameters // *J. Strength Cond. Res.* 2011. V. 25. № 11. P. 3218.

4. *Gerovasili V., Stefanidis K., Vitzilaios K. et al.* Electrical muscle stimulation preserves the muscle mass of critically ill patients: a randomized study // *Crit. Care.* 2009. V. 13. № 5. P. 161.

5. *Toth M.J., Voigt T.B., Tourville T.W. et al.* Effect of neuromuscular electrical stimulation on skeletal muscle size and function in patients with breast cancer receiving chemotherapy // *J. Appl. Physiol.* 2020. V. 128. № 6. P. 1654.

6. *Morrissey M.C., Brewster C.E., Shields C.L., Jr., Brown M.* The effects of electrical stimulation on the quadriceps during postoperative knee immobilization // *Am. J. Sports Med.* 1985. V. 13. № 1. P. 40.

7. *Gibson J.N., Halliday D., Morrison W.L. et al.* Decrease in human quadriceps muscle protein turnover consequent upon leg immobilization // *Clin. Sci.* 1987. V. 72. № 4. P. 503.

8. *Kwong W.H., Vrbova G.* Effects of low-frequency electrical stimulation on fast and slow muscles of the rat // *Pflugers Archiv: Eur. J. Physiol.* 1981. V. 391. № 3. P. 200.

9. *Scott O.M., Vrbova G., Hyde S.A., Dubowitz V.* Effects of chronic low frequency electrical stimulation on normal human tibialis anterior muscle // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 1985. V. 48. № 8. P. 774.
10. *Shenkman B.S., Lyubaeva E.V., Popov D.V. et al.* Chronic effects of low-frequency low-intensity electrical stimulation of stretched human muscle // *Acta Astronaut.* 2007. V. 60. № 4–7. P. 505.
11. *Черпахин М.А., Какурин Л.И., Ильина-Какуева Е.И., Федоренко Г.Т.* Оценка эффективности электростимуляции мышц в предотвращении расстройств, связанных длительным ограничением двигательной активности у человека // *Косм. биол. и авиакосм. мед.* 1977. Т. 11. С. 64.
12. *Шенкман Б.С., Любаева Е.В., Попов Д.В. и др.* Хронические эффекты низкочастотной электростимуляции разгибателей коленного сустава на фоне их статического пассивного растяжения у человека // *Физиология человека.* 2006. Т. 32. № 1. С. 84.  
*Shenkman B.S., Lyubaeva E.V., Popov D.V. et al.* Effects of chronic low-frequency electrical stimulation of human knee extensor muscles exposed to static passive stretching // *Human Physiology.* 2006. V. 32. № 1. P. 74.
13. *Freilinger G., Mayr W.* Electrical stimulation as a countermeasure to muscle alteration in space // *J. Gravit. Physiol.* 2002. V. 9. № 1. P. 319.
14. *Козловская И.Б.* Фундаментальные и прикладные задачи иммерсионных исследований // *Авиакосм. и эколог. мед.* 2008. Т. 42. № 5. С. 3.
15. *Коряк Ю.А.* Нервно-мышечная электрическая стимуляция в условиях опорной разгрузки и ее влияние на архитектуру и силу сокращения трехглавой мышцы голени у человека // *Научное обозрение. Биол. науки.* 2017. № 2. С. 93.
16. *Амирова Л.Е., Осецкий Н.Ю., Шишкин Н.В. и др.* Сравнительное исследование тонуса мышц нижних конечностей при применении различных режимов электромиостимуляции в условиях 5-суточной опорной разгрузки // *Физиология человека.* 2020. Т. 46. № 4. С. 52.  
*Amirova L.E., Osetskiy N.Yu., Shishkin N.V. et al.* Comparative study of the lower limb muscle tone under the conditions of five-day support unloading coupled with different regimens of electromyostimulation // *Human Physiology.* 2020. V. 46. № 4. P. 391.
17. *Yarmanova E.N., Kozlovskaya I.B., Khimoroda N.N., Fomina E.V.* Evolution of Russian Microgravity Countermeasures // *Aerosp. Med. Hum. Perform.* 2015. V. 86. № 12. P. 32.
18. *Kozlovskaya I.B., Yarmanova E.N., Yegorov A.D. et al.* Russian Countermeasure Systems for Adverse Effects of Microgravity on Long-Duration ISS Flights // *Aerosp. Med. Hum. Perform.* 2015. V. 86. № 12. Section II. P. 24.
19. *Shiba N., Matsuse H., Takano Y. et al.* Electrically stimulated antagonist muscle contraction increased muscle mass and bone mineral density of one astronaut – initial verification on the international space station // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 8. P. :e0134736.
20. *Cohen-Solal A., Logeart D., Guiti C. et al.* Cardiac and peripheral responses to exercise in patients with chronic heart failure // *Eur. Heart J.* 1999. V. 20. № 13. P. 931.
21. *Piepoli M.F., Crisafulli A.* Pathophysiology of human heart failure: importance of skeletal muscle myopathy and reflexes // *Exp. Physiol.* 2014. V. 99. № 4. P. 609.
22. *Lunde P.K., Sjaastad I., Schiøtz Thorud H.-M., Sejersted O.M.* Skeletal muscle disorders in heart failure // *Acta Physiol. Scand.* 2001. V. 171. № 3. P. 277.
23. *Opasich C., Ambrosino N., Felicetti G. et al.* Heart failure related myopathy // *Eur. Heart J.* 1999. V. 20. № 16. P. 1991.
24. *Okita K., Yonezawa K., Nishijima H. et al.* Skeletal muscle metabolism limits exercise capacity in patients with chronic heart failure // *Circulation.* 1998. V. 98. № 18. P. 1886.
25. *Dusha B.D., Shulze P.C., Robbins J.L., Forman D.E.* Implications of chronic heart failure on peripheral vasculature and skeletal muscle before and after exercise training // *Heart Fail. Rev.* 2008. V. 13. № 1. P. 21.
26. *Brassard P., Maltais F., Noel M. et al.* Skeletal muscle endurance and muscle metabolism in patients with chronic heart failure // *Can. J. Cardiol.* 2006. V. 22. № 5. P. 387.
27. *Piepoli M.F., Kaszmarek A., Francis D.P. et al.* Reduced peripheral skeletal muscle mass and abnormal reflex physiology in chronic heart failure // *Circulation.* 2006. V. 114. № 2. P. 126.
28. *Dilani Mendis M., Hides J.A., Wilson S.J. et al.* Effect of prolonged bed rest on the anterior hip muscles // *Gait Post.* 2009. V. 30. № 4. P. 533.
29. *Piepoli M.F., Davos C., Francis D.P., Coats A.J.S.* Exercise training meta-analysis of trials in patients with chronic heart failure (ExTraMATCH) // *BMJ.* 2004. V. 328. № 7433. P. 189.
30. *Arutiunov G.P., Kolesnikova E.A., Begrambekova Y.L. et al.* Guidelines on exercise prescription for patients with chronic heart failure // *J. Serd. Ned.* 2017. V. 18. № 1. P. 41.
31. *Arena R., Pinkstaff S., Wheeler E. et al.* Neuromuscular Electrical Stimulation and Inspiratory Muscle Training as Potential Adjunctive Rehabilitation Options for Patients With Heart Failure // *J. Cardiopulm. Rehab. Prevent.* 2010. V. 30. № 4. P. 209.
32. *Ploesteanu R.L., Nechita A.C., Turcu D. et al.* Effects of neuromuscular electrical stimulation in patients with heart failure – review // *J. Med. Life.* 2018. V. 11. № 2. P. 107.
33. *Vaquero A.F., Chicharro J.L., Gil L. et al.* Effects of muscle electrical stimulation on peak VO<sub>2</sub> in cardiac transplant patients // *Int. J. Sports Med.* 1998. V. 19. № 5. P. 317.
34. *Quittan M., Wiesinger G.F., Sturm B. et al.* Improvement of thigh muscles by neuromuscular electrical stimulation in patients with refractory heart failure: a single-blind, randomized, controlled trial // *Am. J. Phys. Med. Rehab.* 2001. V. 80. № 3. P. 206.
35. *Banerjee P., Caulfield B., Crowe L., Clark A.L.* Prolonged electrical muscle stimulation exercise improves strength, peak VO<sub>2</sub>, and exercise capacity in patients with stable chronic heart failure // *J. Card. Fail.* 2009. V. 15. № 4. P. 319.
36. *Nuhr M.J., Pette D., Berger R. et al.* Beneficial effects of chronic low-frequency stimulation of thigh muscles in patients with advanced chronic heart failure // *Eur. Heart J.* 2004. V. 25. № 2. P. 136.
37. *Karavidas A.I., Raisakis K.G., Parisis J.T. et al.* Functional electrical stimulation improves endothelial function and reduces peripheral immune responses in patients with chronic heart failure // *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehab.* 2006. V. 13. № 4. P. 592.

38. Karavidas A.I., Parissis J.T., Arapi S.M. et al. Effects of functional electrical stimulation on quality of life and emotional stress in patients with chronic heart failure // Eur. J. Heart Fail. 2008. V. 10. № 7. P. 709.
39. Deley G., Kervio G., Verges B. et al. Comparison of low-frequency electrical myostimulation and conventional aerobic exercise training in patients with chronic heart failure // Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehab. 2005. V. 12. № 3. P. 226.
40. Deley G., Eicher J.C., Verges B. Do low-frequency electrical myostimulation and aerobic training similarly improve performance in chronic heart failure patients with different exercise capacities? // J. Rehabil. Med. 2008. V. 40. № 3. P. 219.
41. LeMaitre J.P., Harris S., Hannan J. et al. Maximal oxygen uptake corrected for skeletal mass accurately predicts functional improvements following exercise training in chronic heart failure // Eur. J. Heart Fail. 2006. V. 8. № 3. P. 243.
42. Dobsak P., Novakova M., Fiser B. et al. Electrical stimulation of skeletal muscles. An alternative to aerobic exercise training in patients with chronic heart failure? // Int. Heart J. 2006. V. 47. № 3. P. 441.
43. Dobsak P., Novakova M., Siegelova J. et al. Low-frequency electrical stimulation increases muscle strength and improves blood supply in patients with chronic heart failure // Circ. J. 2006. V. 70. № 1. P. 75.
44. Eicher J.C., Dobsak P., Berteau O. et al. Rehabilitation in chronic congestive heart failure: comparison of bicycle training and muscle electrical stimulation // Scripta Med. 2004. V. 77. № 2. P. 261.
45. Harris S., LeMaitre J.P., Mackenzie G. et al. A randomised study of home-based electrical stimulation of the legs and conventional bicycle exercise training for patients with chronic heart failure // Eur. Heart J. 2003. V. 24. № 9. P. 871.
46. Smart N.A., Dieberg G., Giallauria F. Functional electrical stimulation for chronic heart failure: A meta-analysis // Int. J. Cardiol. 2013. V. 167. № 1. P. 80.
47. Bruzzi G., Ribeiro R.A., Schaan B.D. et al. Functional electrical stimulation in the treatment of patients with chronic heart failure: a meta-analysis of randomized controlled trials // Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehab. 2010. V. 17. № 3. P. 254.
48. Sumin A.N. Local physical training with the use of skeletal muscle electric stimulation in patients with chronic heart failure // J. Serdech. Ned. 2009. V. 10. № 1. P. 37.
49. Kadoglou N.P., Mandila C., Karavidas A. et al. Effect of functional electrical stimulation on cardiovascular outcomes in patients with chronic heart failure // Eur. J. Prev. Cardiol. 2017. V. 24. № 8. P. 833.
50. Jones S., Man W.D.C., Gao W. et al. Neuromuscular electrical stimulation for muscle weakness in adults with advanced disease // Cochrane Database Syst. Rev. 2016. V. 10. № 10. P. CD009419.
51. Sillen M.J.H., Speknsnijder C.M., Eterman R.A. et al. Effects of Neuromuscular Electrical Stimulation of Muscles of Ambulation in Patients With Chronic Heart Failure or COPD // Chest. 2009. V. 136. № 1. P. 44.
52. Reid C.L., Campbell I.T., Little R.A. Muscle wasting and energy balance in critical illness // Clin Nutr. 2004. V. 23. № 2. P. 273.
53. Mafiuletti N.A., Roig M., Karatzanos E., Nanas S. Neuromuscular electrical stimulation for preventing skeletal-muscle weakness and wasting in critically ill patients: a systematic review // BMC Med. 2013. V. 11. P. 137.
54. Полтавская М.Г., Свириденко В.П., Козловская И.Б. и др. Сравнение эффективности нейромышечной электростимуляции и интервальных физических тренировок в ранней реабилитации пациентов, госпитализированных с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности // Физиология человека. 2018. Т. 44. № 6. С. 67.  
Poltavskaya M.G., Sviridenko V.P., Kozlovskaya I.B. et al. Comparison of the efficacy of neuromuscular electrostimulation and interval exercise training in early rehabilitation of patients hospitalized with decompensation of chronic heart failure // Human Physiology. 2018. V. 44. № 6. P. 663.

## The Use of “Space” Electrical Myostimulation in the Clinical Cardiology on Earth

M. G. Poltavskaya<sup>a,\*</sup>, V. P. Sviridenko<sup>a</sup>, A. V. Brand<sup>a</sup>, D. A. Andreev<sup>a</sup>, Yu. A. Koryak<sup>b</sup>, G. O. Veliev<sup>a</sup>,  
O. N. Dikur<sup>a</sup>, V. M. Kulikov<sup>a</sup>, Yu. D. Vaisman<sup>a</sup>, E. S. Tomilovskaya<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

<sup>b</sup>Institute of Biomedical Problems of the RAS, Moscow, Russia

\*E-mail: m.poltavskaya@yandex.ru

The article describes a series of studies on the efficacy of the method of electromyostimulation developed under the leadership of Inesa Benediktovna Kozlovskaya for the system of countermeasures against negative space flight effects on the muscular system, in the rehabilitation of patients hospitalized with decompensated chronic heart failure. It has been shown that low-frequency neuromuscular electrical stimulation of the leg muscles has a favorable effect on physical performance and activity, assessment of the quality of life and general well-being. The efficacy of electrical stimulation significantly exceeds placebo and is comparable to low-medium intensity interval training on a bicycle ergometer. It is well tolerated, and does not induce significant changes in central hemodynamics, carbohydrate and lipid metabolism, renal function, and markers of muscle damage. The method can be used in the rehabilitation of patients with heart failure who are unable or unwilling to perform conventional exercise training.

**Keywords:** electrical muscle stimulation, neuromuscular stimulation, heart failure, rehabilitation, physical training, exercise capacity, oxygen uptake, quality of life.

УДК 577.353.2

## АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ СПЛАЙСИНГ мРНК ТИТИНА В *M. SOLEUS* КРЫСЫ ПОСЛЕ СЕМИСУТОЧНОЙ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКИ

© 2021 г. А. М. Ермаков<sup>1</sup>, Ю. В. Грицына<sup>1</sup>, С. П. Белова<sup>2</sup>,  
Т. Л. Немировская<sup>2</sup>, Б. С. Шенкман<sup>2</sup>, И. М. Вихлянцев<sup>1,3, \*</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
Московская обл., Пущино, Россия

<sup>2</sup>ФГБУН ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН,  
Москва, Россия

<sup>3</sup>ФГБЩУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт,  
Московская обл., Пущино, Россия

\*E-mail: ivanvikhlyantsev@gmail.com

Поступила в редакцию 08.02.2021 г.

После доработки 09.03.2021 г.

Принята к публикации 23.03.2021 г.

Методами ПЦР длинных фрагментов и нанопорового секвенирования исследованы изменения альтернативного сплайсинга мРНК титина в *m. soleus* крысы после семисуточной гравитационной разгрузки (модель вывешивания задних конечностей). Обнаружено увеличение доли более коротких транскриптов титина в *m. soleus* вывешенных крыс, что может приводить к трансляции более коротких вариантов N2A-изоформы этого белка. В ядерной фракции *m. soleus* контрольных и вывешенных крыс не выявлено достоверных различий в содержании Rbm20 – РНК-связывающего белка, участвующего, как показано ранее, в регуляции альтернативного сплайсинга мРНК титина в сердечной мышце млекопитающих. Можно предположить, что Rbm20 не участвует в регуляции альтернативного сплайсинга мРНК титина в скелетной мышце *m. soleus* у крысы.

**Ключевые слова:** гравитационная разгрузка, *m. soleus*, титин, альтернативный сплайсинг, секвенирование.

**DOI:** 10.31857/S0131164621040020

Титин (тайтин/коннектин) – самый большой из известных на сегодняшний день белков. Он относится к эластичным белкам саркомерного цитоскелета поперечнополосатых мышц позвоночных животных и человека. В саркомерах сердечной и скелетных мышц млекопитающих титин является третьим по количеству (после актина и миозина) белком. Его молекулы диаметром 3–4 нм и длиной более 1 мкм [1] перекрывают половину саркомера от *M*-линии до *Z*-диска, формируя третий тип нитей [2, 3], получивших название эластичных. В *A*-зоне саркомера титин взаимодействует с миозиновыми нитями [4]. В *I*-диске саркомера некоторые части молекулы титина взаимодействуют с актиновыми нитями [5], однако большая часть его молекулы в этой зоне проходит свободно, соединяя концы миозиновых нитей с *Z*-диском. Главные функции титина заключаются в стабилизации саркомерной структуры, регуляции актин-миозинового взаимодействия, а также придании мышце упруго-эластичных свойств, необходимых ей для нормального функционирования: сокращения и растяжения [3, 6].

У млекопитающих титин кодируется одним геном, который содержит 364 экзона, из которых 363 являются кодирующими [7–9]. Ген титина (*TTN*) способен потенциально кодировать белок с молекулярной массой 4.2 МДа в состав которого могут входить: 152 иммуноглобулин-подобных домена (Ig), 132 фибронектин III-подобных домена (FnIII), протеинкиназный домен, 31 домен PEVK и 7 *Z*-повторов (UniProtKB – Q8WZ42, TITIN\_HUMAN). Альтернативный сплайсинг мРНК титина является основой разнообразия изоформ этого белка. В частности, растяжимая часть молекулы титина в *I*-зоне саркомера у разных изоформ имеет массу от ~0.8 до ~1.5 МДа в зависимости от количества присутствующих в ней доменов [10]. Ген *TTN* генерирует различные транскрипты, кодирующие разные по длине и, соответственно, молекулярной массе изоформы титина: так называемые полноразмерные изоформы с м.м. ~3.0–3.9 МДа (N2B и N2BA в сердце, N2A в скелетных мышцах), молекулы которых протягиваются от *M*-линии до *Z*-диска в саркомерах, а также укороченную изоформу с м.м. ~0.7 МДа (Novex-3) [7, 11].

*N*-конец этой короткой изоформы титина расположен в *Z*-диске, а *C*-конец, предположительно, связывается в *I*-зоне саркомера с обскурином — другим гигантским эластичным белком поперечнополосатых мышц млекопитающих [7, 12]. Недавно обнаружена еще одна укороченная изоформа титина, получившая название *Stopos* (м.м. ~2.2 МДа) [13, 14]. Эта изоформа возникает в результате альтернативного сайта старта транскрипции >150 т. п. н., расположенного дальше от канонического промотора в интроне 239 *TTN*. Предполагается, что *Stopos* состоит из доменов дистальной *I*-зоны, *A*-зоны и *M*-линии молекулы титина [15].

Проведенные за последние 20 лет исследования показали, что титин является интересным объектом для изучения при различных адаптационных и патологических состояниях, в том числе, при гравитационной разгрузке. Исследования в этом направлении выявили, что развитие мышечной атрофии в условиях гравитационной разгрузки сопровождается повышенным протеолизом титина и снижением его содержания как в мышцах человека [16], так и животных [17–21]. При этом обнаружены изменения изоформного состава тяжелых цепей миозина (ТЦМ): увеличение доли “быстрых” изоформ II ТЦМ и уменьшение доли “медленной” I изоформы ТЦМ [22, 23]. Изменения изоформного состава титина, индуцируемые гравитационной разгрузкой, не выявлены. Тем не менее, они вполне вероятны. Это предположение основывается на следующих данных. Показано, что в скелетной мышце *m. soleus*, состоящей преимущественно из волокон, содержащих “медленную” изоформу I ТЦМ, экспрессируется вариант N2A-изоформы с молекулярной массой 3.7 МДа [7, 11, 24, 25]. В других скелетных мышцах, состоящих преимущественно из волокон, содержащих “быстрые” изоформы II ТЦМ, экспрессируются варианты N2A-изоформы с м.м. ~3.3–3.6 МДа, которые имеют более короткую последовательность из Ig-доменов в *I*-зоне саркомера [7, 11, 24, 25]. Учитывая эти данные, а также вышеупомянутые “*slow-to-fast*” изменения изоформного состава ТЦМ [22, 23], можно предположить, что в *m. soleus* крысы в условиях гравитационной разгрузки должно наблюдаться увеличение доли или появление транскриптов, кодирующих более короткие варианты основной (с м.м. 3.7 МДа) N2A-изоформы титина. Проверка этого предположения являлась главной задачей настоящей работы. Второй задачей являлось исследование возможного влияния Rbm20 (РНК-связывающего белка) на альтернативный сплайсинг мРНК титина в *m. soleus* крысы. Эта задача была поставлена в связи с ранее опубликованными данными, указывающими на участие Rbm20 в регуляции альтернативного сплайсинга мРНК титина в сердечной мышце млекопитающих [26].

## МЕТОДИКА

Для определения возможных вариантов сплайсинга транскриптов титина были использованы образцы камбаловидной мышцы (*m. soleus*), взятые из эксперимента, проведенного в 2019 г., по моделированию семисуточной гравитационной разгрузки у крыс. Использовали самцов крыс Вистар ( $210 \pm 10$  г, виварий ИТЭБ РАН, г. Пушкино). Моделирование функциональной разгрузки проводили по стандартной методике Ильина–Новикова в модификации *Morey–Holton* [27, 28] — вывешивание задних конечностей крысы. После эвтаназии крыс трибромэтанолом (240 мг/кг интраперитонеально, *Sigma–Aldrich*) *m. soleus* взвешивали, замораживали в жидком азоте и хранили при  $-75^\circ\text{C}$ . Более подробное описание этой методической части представлено в работе [29].

Для определения вариантов сплайсинга транскриптов титина использовали метод ПЦР длинных фрагментов. Суммарную РНК экстрагировали из 4–6 мкг замороженной *m. soleus* при помощи набора *RNeasyMicroKit* (*QIAGEN*, Германия) по протоколу изготовителя. Определение концентрации РНК проводили на спектрофотометре *UV 2450* (*SHIMADZU*, Япония). Показания снимали в диапазоне от 200 до 320 нм. Пробу перед измерением разводили в 21 раз в ТЕ-буфере (10 мМ трис, 1 мМ ЭДТА, рН 8.0). Измерение каждой пробы проводили не менее трех раз в кювете для микрообъемов. Чистоту образцов оценивали исходя из соотношений показателей поглощения при различных длинах волн. Соотношение  $A_{260}/A_{280}$  и  $A_{260}/A_{230}$  экспериментальных образцов было >2.0, это указывало на то, что они являлись достаточно чистыми от белков, углеводов, пептидов, фенолов или ароматических соединений [30].

Обратную транскрипцию проводили с использованием высоко процессивной обратной транскриптазы *Maxima H minus* (*Thermo*, США), при этом в качестве праймеров использовали случайные гексануклеотиды (в концентрации 25 пмоль на реакцию) и oligo(dT) праймер (в концентрации 25 пмоль на реакцию) с последовательностью 5'-ACTTGCCTGTGCTC-TATCTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTVN-3'.

Образцы для секвенирования транскриптов титина подготавливали с использованием метода ПЦР длинных фрагментов (длина ампликона достигает более 10000 п. н.). Для этого весь транскрипт титина был разбит на фрагменты, последовательно включающие следующие экзоны: 1–40, 40–50, 49–78, 78–116, 115–175, 175–221, 220–258, 257–287, 281–290, 289–297, 296–317, 316–328. К фрагментам с помощью программы *Primer3* подбирали праймеры для последующей амплификации данных фрагментов с перекрытиями для каждого последующего фрагмента около 100 нп.

Праймеры были следующие:

с 1 по 40 экзон (9563 п. н.) 1–40 F TCGGAGATGGTTGGA AAAAC; 1–40 R GGACATCCCTG-CCTTCTACA; 40 по 50 экзон (9559–14645) 40–50 F AATATGTCCACCGCCTTCTG; 40–50 R CATTAGCCACCACACATTCG (5025 п. н.); с 49 по 78 экзон (14085–22526) 49–78 F CCTCCATTG-CAAGCTGAAAG; 49–78 R CGTTAGTGGCTTTG-CAGTGA (8336 п. н.); с 78 по 116 экзон (22248–30668) 78–116 F AGTGTGAGATTTCCGGGAACG; 78–116 R CGGTGTGAGAGGCAAAGAAC (8334 п. н.); со 115 по 175 экзон (30504–36311) 115–175 F AAAAAACCTTCCCGGACTC; 115–175 R GCACTTTTAGCGGTGTAGGC (5702 п. н.); со 175 по 221 экзон (36231–45395) 175–221 F GC-CCACAGCTGAAAAGAAAG; 175–221 R CTTTG-GTGATGTCGGAAGGT (8909 п. н.); с 220 по 258 экзон (45093–55094) 220–258 F GACCTC-CAACTCGCCTAGAA; 220–258 R GTCTGGC-SATCTCTGAGACC (9904 п. н.); с 257 по 282 экзон (54483–64778) 257–282 F CCAAAGGCATATC-CATCCA; 257–282 R TCAGACTGAACGG-GTTCTCC (10117 п. н.); с 281 по 290 экзон (63894–73234) 281–290 F GGTGGCCATAAATG-GACAGG; 281–290 R TAAATCGCGTTTCT-CAACGA (9219 п. н.); с 289 по 297 экзон (73067–83699) 289–297 F TGGACCAAACCTGTGTACGA; 289–297 R GCTCGGACTCGGAAGATGTA (10511 п. н.); с 296 по 317 экзон (83112–93488) 296–317 F CGAGCCTACGATTTGAGTGGT; 296–317 R TCTGCTGAGACACGGAAATG (10215 п. н.); с 316 по 328 экзон (92601–103961) 316–328 F GGGAAAACCCACAAAATCCAA; 316–328 R CAGCTTCATTGGTGGTGATG (11201 п. н.). Для повышения качества покрытия дополнительно амплифицировали 5' конец кДНК с прямым праймером 316–328 F и обратным праймером с последовательностью АСТТGCCTGTC-GCTCTATCTTC.

ПЦР на основе полученной кДНК проводили, используя набор для ПЦР *LongAmp MasterMix* (NEB, Великобритания), который позволяет получить длинные ампликоны. Реакцию проводили по схеме 95°C – 5 мин, 95°C – 15 с, 60°C – 20 с, 65°C – 9 мин (35 циклов) и 65°C – 9 мин (финальная элонгация). Ампликоны анализировали с помощью агарозного гель-электрофореза.

**Нанопоровое секвенирование.** Библиотеку для секвенирования на основе полученных ампликонов готовили с помощью набора *Ligation Sequencing Kit (SQK-LSK109, Oxford Nanopore Technologies, Великобритания)*, согласно прилагаемым протоколам. Для мультиплексирования библиотек ампликонов использовали набор *Native Barcoding Expansion 1–12 (PCR-free) (EXPND104, Oxford Nanopore Technologies, Великобритания)*, который позволяет произвести баркодирование до 12 образцов. Процедуру баркодирования осуществляли согласно прилагаемым протоколам. Секвенирование проводили на приборе *MinION (Oxford*

*Nanopore Technologies, Великобритания)*, используя проточную ячейку *R9.4.1. (FLO-MIN106D, Oxford Nanopore Technologies, Великобритания)* и программное обеспечение *MinKNOW (v. 19.12.5, Oxford Nanopore Technologies, Великобритания)*. Секвенирование проводили до достижения объема данных 2 Гбаз.

**Анализ полученных данных секвенирования.** Полученные первичные данные обрабатывали и демультиплексировали с помощью бейзколлера *Guppy 4.0.0 (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания)*. Анализ результатов секвенирования производили программой *minimap2*, с помощью которой выполняли выравнивание отсеквенированных последовательностей на референсную последовательность – полноразмерную сборку предсказанного транскрипта титина крысы (XM\_039106393.1). Генерацию консенсусных последовательностей и визуализацию данных выполняли программой *Unipro UGENE*.

**Вестерн-блоттинг Rbm20.** С целью выяснения возможной роли Rbm20 в регуляции альтернативного сплайсинга мРНК титина, методом Вестерн-блоттинга определяли содержание этого белка в ядерной фракции *m. soleus* крысы. Для экстракции ядерной фракции использовали набор “*NE-PER Nuclear and Cytoplasmic Extraction Reagents*” (*Thermo Scientific*). Перед проведением ДСН-гель-электрофореза определяли концентрацию суммарного белка методом Бредфорда по протоколу изготовителя (“Силекс”, Россия). В качестве стандарта использовали бычий сывороточный альбумин. На дорожки наносили одинаковые объемы образцов, выравненных по концентрации суммарного белка. Образцы экспериментальных групп загружались на один гель с маркерами молекулярных весов. ДСН-гель-электрофорез Rbm20 и Lamin B (ядерного референсного белка) проводили в 10-процентном разделяющем ПААГ по методу [31], используя минисистему “*Bio-Rad Laboratories*” или “*Helicon*” (Россия) (размер геля 10.0 × 10.0 × 0.1 см). Электрофорез проводили при силе тока 15 мА при температуре +20–22°C. После электрофореза гели переносили в установку для электропереноса белков на мембрану. Электроперенос проводили в буфере (25 мМ Tris (pH 8.3), 192 мМ глицин, 20-процентный этанол, 0.04-процентный Ds-Na) на PVDF мембрану при силе тока 100 мА в течение 2–3 ч при температуре 4°C в системе *mini Trans-Blot (“Bio-Rad Laboratories”)*. После электропереноса PVDF мембраны блокировали в растворе 5-процентного сухого молока (“*Bio-Rad Laboratories*”) в PBS буфере 1 ч при комнатной температуре, затем помещали в раствор первичных антител на 2 ч. Для выявления белковых полос были использованы следующие первичные антитела: к Rbm20 (Rbm20 Polyclonal Antibody PA5-19403, ThermoFisher Scientific, 1 : 500), к



**Рис. 1.** Результаты выравнивания последовательностей секвенированных ампликонов (серые линии) транскриптов титина на референсную последовательность титина крысы (XM\_039106393.1); *m. soleus* крыс контрольной группы. Слева и справа показаны начало и конец, соответственно, последовательности референса, которая представлена в последовательностях ампликонов. Цифрами обозначены номера экзонов.

Lamin B (ab16048, Abcam, 1 : 500). Мембраны отмывали от первичных антител в PBS буфере 3 раза по 5 мин на шейкере и инкубировали 1 ч со вторичными антителами, конъюгированными со щелочной фосфатазой (ab97048, Abcam, 1 : 3000). Для визуализации белковых полос использовали раствор *NBT/BCIP* (“Roche”, Германия). PVDF мембраны фотографировали, а затем проводили денситометрическую обработку с помощью компьютерной программы *Total Lab v. 1.11* (Newcastle Upon Tyne, Великобритания). Содержание Rbm20 нормировали на содержание Lamin B (ядерного референсного белка).

Статистическую обработку результатов по изменению содержанию Rbm20 проводили с использованием непараметрического *U*-критерия Манна–Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 и 2 показаны результаты выравнивания, полученные в результате секвенирования ампликонов транскрипта титина из образцов контрольной группы ( $n = 3$ ) и группы с 7-суточным вывешиванием ( $n = 3$ ). Полных сборок тран-

скрипта получить не удалось, и поэтому пока невозможно провести количественную оценку о степени вероятности присутствия или отсутствия того или иного экзона в полученных транскриптах. Однако анализ данных картирования показал, что во всех исследуемых образцах наблюдается чрезвычайно разнообразная картина вариантов транскриптов, которые включают различное количество экзонов в сравнении с референсным транскриптом титина крысы (XM\_039106393.1). В целом, можно отметить следующие закономерности распределения количества транскриптов титина в *m. soleus* крысы. У большинства мРНК-транскриптов титина *m. soleus* крысы отсутствовали экзоны с 50 по 78, с 220 по 257, 283, 284, а также отсутствовала последовательность экзонов с 297 и до конца референсного транскрипта титина. Последнее, по всей видимости, является следствием того, что не прошло полноценное амплифицирование 3'-концевой последовательности мРНК.

Однако наблюдались и отличительные особенности транскрипционных вариантов мРНК титина *m. soleus* контрольных и вывешенных крыс. В частности, примерно 20% мРНК-транскриптов титина *m. soleus* контрольной группы имели более длинные последовательности, со-



**Рис. 2.** Результаты выравнивания последовательностей секвенированных ампликонов (серые линии) транскриптов титина на референсную последовательность титина крысы (XM\_039106393.1); *m. soleus* вывешенных крыс. Пояснения см. рис. 1.

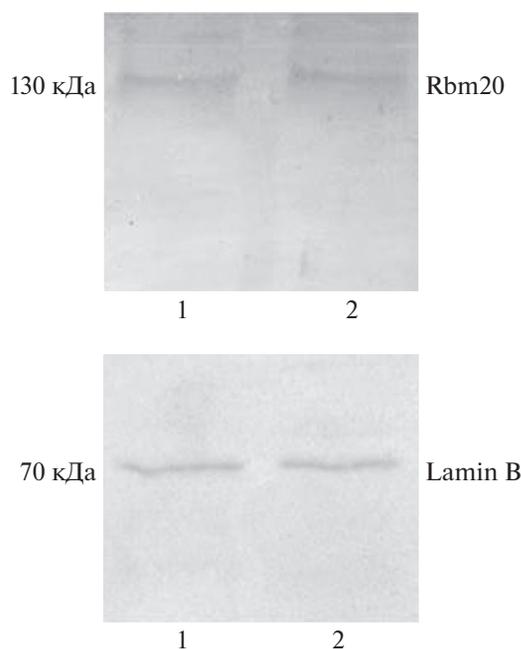
держат экзоны с 50 по 78, с 220 по 257, 283 и 284 (рис. 1). Такие более длинные мРНК-транскрипты не наблюдались или были представлены в значительно меньшем количестве в *m. soleus* вывешенных крыс (рис. 2). Кроме этого, примерно 50% мРНК-транскриптов титина *m. soleus* вывешенных крыс не содержали экзоны с 290 по 297, которые всегда присутствовали в контрольных мРНК-транскриптах (рис. 1, 2).

Таким образом, обнаружили, что семисуточная гравитационная разгрузка сопровождается изменениями альтернативного сплайсинга мРНК титина в сторону увеличения доли более коротких транскриптов в *m. soleus* крысы. Можно полагать, что эти изменения будут приводить к трансляции (синтезу) и более коротких вариантов N2A-изоформы титина в *m. soleus* вывешенных крыс, по сравнению с животными контрольной группы.

Обсуждая полученные результаты, необходимо отметить следующее. В опубликованной работе [32], был исследован альтернативный сплайсинг мРНК титина в 12 скелетных мышцах, в том числе и в *m. soleus*, у человека. Проведение РНК-секвенирования (одноконцевые прочтения) на приборе *NextSeq500* с последующим анализом данных с помощью различных биоинформатических программ показало, что ряд экзонов титина имели невысокую вероятность включения, иными словами — повышенную вероятность пропуска в процессе альтернативного сплайсинга мРНК титина. В частности, вероятность включения в

транскрипты мРНК таких экзонов как: 150, 159, 167–171, 213–217 составляла от 2 до 26% [32]. При этом экзоны 160–166 отсутствовали в транскриптах мРНК титина скелетных мышц человека. Сравнивая эти результаты с полученными нами, можно заметить несовпадение “выпадающих” экзонов в мРНК-транскриптах человека и крысы. Это, по-видимому, является следствием видовых различий альтернативного сплайсинга мРНК титина.

На рис. 3 представлены результаты Вестерн-блот анализа содержания Rbm20 в ядерной фракции *m. soleus* крыс двух исследуемых групп. Принимая во внимание полученные нами данные об изменениях альтернативного сплайсинга мРНК титина в *m. soleus* крыс в условиях гравитационной разгрузки (рис. 1, 2), можно предположить, что должно происходить увеличение содержания Rbm20 в ядерной фракции камбаловидной мышцы вывешенных крыс. Это предположение было сделано на основании данных, полученных в работе [26], в которой авторы выявили корреляцию между содержанием Rbm20 в ядерной фракции кардиомиоцитов крысы и содержанием более коротких или более длинных изоформ титина. В работе [26] было использовано 3 группы крыс: контрольная группа; крысы с гетерозиготной мутацией в гене белка Rbm20 (содержание данного белка было достоверно снижено в отличие от контроля); крысы с гомозиготной мутацией в гене данного белка (Rbm20 не экспрессировался). Было обнаружено, что у гетерозиготных крыс при



**Рис. 3.** Содержание мРНК-связывающегося белка Rbm20 в ядерной фракции *m. soleus* крысы. 1 – контроль ( $n = 7$ ); 2 – 7-суточное вывешивание ( $n = 7$ ). Статистически значимых различий в содержании Rbm20 в ядерной фракции камбаловидной мышцы исследуемых групп крыс не выявлено. Lamin B – референсный белок.

уменьшении содержания Rbm20 наблюдалось увеличение содержания более длинной N2BA изоформы титина (м.м.  $\sim 3.3$  МДа) и уменьшение содержания более короткой N2B изоформы этого белка (м.м.  $\sim 3.0$  МДа). У гомозиготных крыс (у которых Rbm20 не синтезировался) экспрессировалась только одна – наиболее длинная N2BA-G изоформа титина с молекулярной массой  $\sim 3.9$  МДа [26]. Учитывая эти данные можно было ожидать, что обнаруженное нами увеличение доли более коротких мРНК-транскриптов титина будет сопровождаться увеличением содержания Rbm20 в ядерной фракции *m. soleus* вывешенных крыс. Полученные результаты не подтвердили это предположение. Не выявлено статистически значимых различий в содержании Rbm20 в ядерной фракции *m. soleus* крыс контрольной группы ( $n = 7$ ) и группы 7-суточного вывешивания ( $n = 7$ ) (рис. 3). Можно сделать предположение, что Rbm20 не участвует в регуляции альтернативного сплайсинга мРНК титина в скелетной мышце *m. soleus* у крысы.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, впервые были выявлены изменения альтернативного сплайсинга мРНК титина в *m. soleus* крысы в условиях моделируемой гравитационной

разгрузки. Было обнаружено, что семисуточная гравитационная разгрузка сопровождается изменениями альтернативного сплайсинга мРНК титина в сторону увеличения доли более коротких транскриптов в *m. soleus* крысы. По всей вероятности, эти изменения будут приводить к трансляции и более коротких вариантов N2A-изоформы титина в *m. soleus* вывешенных крыс, по сравнению с животными контрольной группы.

Предположение о том, что вышеуказанные изменения будут сопровождаться увеличением содержания Rbm20 в ядре, не подтвердилось. По всей вероятности, этот РНК-связывающийся белок не участвует в регуляции альтернативного сплайсинга мРНК титина в *m. soleus* крысы. Однако это предположение нуждается в дальнейшей проверке.

**Этические нормы.** Исследования проведены в соответствии с принципами биоэтики, сформулированными в Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях, и одобрены Комиссией по биологической безопасности и биоэтике Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН (Пушино), протокол № 24/2019 от 05 апреля 2019 г.

**Финансирование работы.** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-15-00062 с использованием оборудования регионального пушинского центра коллективного пользования “Структурно-функциональные исследования биосистем” Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН (Пушино).

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

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tskhovrebova L., Trinick J. Direct visualization of extensibility in isolated titin molecules // J. Mol. Biol. 1997. V. 265. № 2. P. 100.
2. Fürst D.O., Osborn M., Nave R., Weber K. The organization of titin filaments in the half-sarcomere revealed by monoclonal antibodies in immunoelectron microscopy: a map of ten nonrepetitive epitopes starting at the Z line extends close to the M line // J. Cell Biol. 1988. V. 106. № 5. P. 563.
3. Li Y., Hessel A.L., Ungeret A. et al. Graded titin cleavage progressively reduces tension and uncovers the source of A-band stability in contracting muscle // Elife. 2020. V. 9. P. e64107.
4. Houmeida A., Holt J., Tskhovrebova L., Trinick J. Studies of the interaction between titin and myosin // J. Cell Biol. 1995. V. 131. № 6. Pt. 1. P. 1471.
5. Freundt J.K., Linke W.A. Titin as a force-generating muscle protein under regulatory control // J. Appl. Physiol. (1985). 2019. V. 126. № 5. P. 1474.

6. *Vikhlyantsev I.M., Podlubnaya Z.A.* New titin (connec-tin) isoforms and their functional role in striated mus-cles of mammals: facts and suppositions // *Biochemis-try (Mosc.)*. 2012. V. 77. № 13. P. 1515.
7. *Bang M.L., Centner T., Fornoff F. et al.* The complete gene sequence of titin, expression of an unusual ap-proximately 700-kDa titin isoform, and its interaction with obscurin identity a novel Z-line to I-band linking system // *Circ. Res.* 2001. V. 89. № 11. P. 1065.
8. *Guo W., Sun M.* RBM20, a potential target for treat-ment of cardiomyopathy via titin isoform switching // *Biophys. Rev.* 2018. V. 10. № 1. P. 15.
9. *Chen Z., Maimaiti R., Zhu C. et al.* Z-band and M-band titin splicing and regulation by RNA binding motif 20 in striated muscles // *Cell. Biochem.* 2018. V. 119. № 12. P. 9986.
10. *Ottenheijm C.A., Granzier H.* Role of titin in skeletal muscle function and disease // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2010. V. 682. P. 105.
11. *Freiburg A., Trombitas K., Hell W. et al.* Series of exon-skipping events in the elastic spring region of titin as the structural basis for myofibrillar elastic diversity // *Circ. Res.* 2000. V. 86. № 11. P. 1114.
12. *Randazzo D., Pierantozzi E., Rossi D., Sorrentino V.* The potential of obscurin as a therapeutic target in muscle disorders // *Expert. Opin. Ther. Targets.* 2017. V. 21. № 9. P. 897.
13. *Zou J., Tran D., Baalbaki M. et al.* An internal promoter underlies the difference in disease severity between N- and C-terminal truncation mutations of titin in ze-brafish // *Elife.* 2015. V. 4. P. e09406.
14. *Swist S., Unger A., Li Y. et al.* Maintenance of sarcomeric integrity in adult muscle cells crucially depends on Z-disc anchored titin // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. № 1. P. 4479.
15. *Zaunbrecher R.J., Abel A.N., Beussman K. et al.* Cronos titin is expressed in human cardiomyocytes and neces-sary for normal sarcomere function // *Circulation.* 2019. V. 140. № 20. P. 1647.
16. *Shenkman B.S., Podlubnaya Z.A., Vikhlyantsev I.M. et al.* Human soleus fibers contractile characteristics and sar-comeric cytoskeletal proteins after gravitational un-loading. Contribution of support stimulus // *Biophys-ics.* 2004. V. 49. № 5. P. 807.
17. *Toursel T., Stevens L., Granzier H., Mounier Y.* Passive tension of rat skeletal soleus muscle fibers: effects of un-loading conditions // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2002. V. 92. № 4. P. 1465.
18. *Shenkman B.S., Nemirovskaya T.L., Belozeroва I.N. et al.* Effects of Ca<sup>2+</sup>(-)binding agent on unloaded rat soleus: muscle morphology and sarcomeric titin content // *J. Gravit. Physiol.* 2002. V. 9. № 1. P. 139.
19. *Udaka J., Ohmori S., Terui T. et al.* Disuse-induced pref-erential loss of the giant protein titin depresses muscle per-formance via abnormal sarcomeric organization // *J. Gen. Physiol.* 2008. V. 131. № 1. P. 33.
20. *Ulanova A., Gritsyna Y., Vikhlyantsev I. et al.* Isoform composition and gene expression of thick and thin fila-ment proteins in striated muscles of mice after 30-day space flight // *Biomed. Res. Int.* 2015. V. 2015. P. 104735.
21. *Ulanova A., Gritsyna Y., Salmov N. et al.* Effect of L-ar-ginine on titin expression in rat soleus muscle after hindlimb unloading // *Front. Physiol.* 2019. V. 10. P. 1221.
22. *Gallagher P., Trappe S., Harber M. et al.* Effects of 84-days of bedrest and resistance training on single muscle fibre myosin heavy chain distribution in hu-man vastus lateralis and soleus muscles // *Acta Physi-ol. Scand.* 2005. V. 185. № 1. P. 61.
23. *Lomonosova Y.N., Turtikova O.V., Shenkman B.S.* Re-duced expression of MyHC slow isoform in rat soleus during unloading is accompanied by alterations of en-dogenous inhibitors of calcineurin/NFAT signaling pathway // *J. Muscle Res. Cell. Motil.* 2016. V. 37. № 1–2. P. 7.
24. *Guo W., Bharmal S.J., Esbona K., Greaser M.L.* Titin di-versity – alternative splicing gone wild // *J. Biomed. Biotechnol.* 2010. V. 2010. P. 753675.
25. *Neagoe C., Opitz C.A., Makarenko I., Linke W.A.* Gi-gantic variety: expression patterns of titin isoforms in striated muscles and consequences for myofibrillar pas-sive stiffness // *J. Muscle Res. Cell Motil.* 2003. V. 24. № 2–3. P. 175.
26. *Guo W., Schafer S., Greaser M.L. et al.* RBM20, a gene for hereditary cardiomyopathy, regulates titin splicing // *Nat. Med.* 2012. V. 18. № 5. P. 766.
27. *Novikov V.E., Ilyin E.A.* Age-related reactions of rat bones to their unloading // *Aviat. Space Environ. Med.* 1981. V. 52. № 9. P. 551.
28. *Globus R.K., Morey-Holton E.* Hindlimb unloading: ro-dent analog for microgravity // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2016. V. 120. № 10. P. 1196.
29. *Gritsyna Yu.V., Ulanova A.D., Popova S.S. et al.* Inhibi-tion of histone deacetylases 4 and 5 reduces titin prote-olysis and prevents reduction of TTN gene expression in atrophied rat soleus muscle after seven-day hindlimb unloading // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2020. V. 495. № 1. P. 338.
30. *Viljoen G.J., Nel L.H., Crowther J.R.* Molecular diag-nostic PCR handbook. Springer, The Netherlands. 2005. <https://doi.org/10.1007/1-4020-3404-0>
31. *Laemmli U.K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.* 1970. V. 227. № 5259. P. 680.
32. *Savarese M., Jonson P.H., Huovinen S. et al.* The com-plexity of titin splicing pattern in human adult skeletal muscles // *Skeletal Muscle.* 2018. V. 8. № 1. P. 11.

## Alternative Splicing of Titin mRNA in Rat Soleus after Seven-Day Gravitational Unloading

A. M. Ermakov<sup>a</sup>, Yu. V. Gritsyna<sup>a</sup>, S. P. Belova<sup>b</sup>, T. L. Nemirovskaya<sup>b</sup>,  
B. S. Shenkman<sup>b</sup>, I. M. Vikhlyantsev<sup>a, c, \*</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, RAS, Moscow region, Pushchino, Russia*

<sup>b</sup>*Institute of Biomedical Problems of RAS, Moscow, Russia*

<sup>c</sup>*Pushchino State Institute of Natural Sciences, Moscow region, Pushchino, Russia*

\*E-mail: [ivanvikhlyantsev@gmail.com](mailto:ivanvikhlyantsev@gmail.com)

Changes in titin alternative splicing in rat soleus after seven-day gravitational unloading (hindlimb unloading model) were studied by long-fragment PCR and nanopore sequencing. An increase in the proportion of shorter titin mRNA transcripts was found in m. soleus of hindlimb suspended rats, which may lead to the translation of shorter variants of the N2A isoform of this protein. In the nuclear fraction of m. soleus of control and hindlimb suspended rats, no significant differences were found in the content of Rbm20, an RNA-binding protein involved, as shown earlier, in the regulation of titin alternative splicing in mammalian cardiac muscle. It can be assumed that Rbm20 is not involved in the regulation of titin alternative splicing in rat soleus muscle.

*Keywords:* gravitational unloading, m. soleus, titin, alternative splicing, sequencing.

УДК 612.13,612.14

## УВЕЛИЧЕНИЕ СИНХРОНИЗАЦИИ БАРОРЕФЛЕКТОРНЫХ ВОЛН АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ И ЧАСТОТЫ СЕРДЕЧНЫХ СОКРАЩЕНИЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ОТРИЦАТЕЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ НА НИЖНЮЮ ЧАСТЬ ТЕЛА

© 2021 г. В. О. Негуляев<sup>1,2</sup>, Е. А. Орлова<sup>1</sup>, А. П. Шарова<sup>1</sup>, О. С. Тарасова<sup>1,2</sup>,  
О. Л. Виноградова<sup>1,2</sup>, А. С. Боровик<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\*E-mail: asbor@mail.ru

Поступила в редакцию 02.02.2021 г.

После доработки 09.03.2021 г.

Принята к публикации 23.03.2021 г.

Исследовали влияние отрицательного давления вокруг нижней части тела (ОДНТ) на фазовую сопряженность спонтанных колебаний артериального давления (АД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС). ОДНТ (–30 мм рт. ст.) создавалось с помощью комплекса “Чибиc-М”, который используется в целях тренировки сердечно-сосудистой системы космонавтов на борту Международной космической станции для предотвращения послеполетной ортостатической неустойчивости. Во время измерений испытуемые (7 молодых мужчин) находились в горизонтальном положении лежа на спине. Показано, что, как и ортостатический стресс, ОДНТ ведет к усилению фазовой синхронизации спонтанных колебаний АД и ЧСС в частотном диапазоне барорефлекторных волн (около 0.1 Гц).

**Ключевые слова:** АД, ЧСС, барорефлекс, индекс фазовой синхронизации, ОДНТ, “Чибиc-М”.

**DOI:** 10.31857/S0131164621040123

Барорефлекс является одним из ключевых механизмов нервной регуляции гемодинамики, работающим по принципу отрицательной обратной связи (*feedback*). Барорефлекс-опосредованные изменения частоты сердечных сокращений (ЧСС) и сосудистого сопротивления в ответ на изменение артериального давления (АД) имеют решающее значение для поддержания сердечно-сосудистого гомеостаза, у человека ключевую роль в такой регуляции играют барорецепторы синокаротидных зон [1]. Работа барорефлекса модулируется множеством факторов, оказывающих “прямые” (*feedforward*) активирующие или ингибирующие влияния на сердечно-сосудистый центр продолговатого мозга, где замыкается барорефлекторная дуга. Такими факторами могут быть: центральная команда, которая осуществляет запуск гемодинамических изменений при физической нагрузке, сигналы от рецепторов работающих скелетных мышц [2], хеморецепторов [3], рецепторов вестибулярного аппарата [4] и др.

Кардиохронотропное действие барорефлекса, по которому наиболее часто оценивают его активность, играет важную роль при переходе чело-

века из горизонтального положения в вертикальное: увеличение ЧСС частично компенсирует эффект снижения ударного объема (УО) левого желудочка, обусловленного перераспределением крови в нижнюю часть тела, и тем самым способствует поддержанию минутного объема (МО) сердца. Исследование изменений гемодинамики при вертикализации тела (ортостатическая проба) часто используют в экспериментальной и клинической практике для оценки функционального состояния механизмов барорефлекторной регуляции [5–7]. Следует однако отметить, что гемодинамические сдвиги при переходе в положение ортостаза обусловлены изменением активности не только артериальных барорецепторов, но и кардиопульмонарных рецепторов “низкого давления” [5], а также могут быть связаны с влиянием мышечного механорефлекса (в том числе при пассивной ортопробе, если ортостол снабжен опорой для ног) или вестибулокардиальными реакциями [8].

В космической медицине для тестирования состояния сердечно-сосудистой системы, а также в целях профилактики нарушений, связанных с

влиянием микрогравитации, активно используется создание отрицательного давления в нижней части тела (ОДНТ) с помощью комплекса “Чи-бис-М” [9–11]. Подобно ортостазу, создание отрицательного давления вокруг нижней части тела также ведет к перераспределению крови и уменьшению венозного возврата [12–14]. Однако, в отличие от ортостаза, при неизменном положении тела и умеренном уровне ОДНТ (снижении давления на 20–30 мм рт. ст.) происходит активация преимущественно кардиопульмонарных рецепторов [12, 15]. Таким образом, ОДНТ частично имитирует эффекты ортостатического стресса, но механизмы этих двух реакций отличаются. Следует отметить, что вопрос о взаимодействии механизмов рефлекторной регуляции гемодинамики у человека при ортостазе исследован мало.

В связи с наличием временной задержки, которая в основном обусловлена медленной реакцией сосудов на нервное влияние, в барорефлекторной петле обратной связи возникают периодические изменения активности, которые проявляются в виде низкочастотных колебаний показателей системной гемодинамики (у человека – с частотой около 0.1 Гц) [16]. Нарушение работы барорефлекса в результате хирургической денервации барорецепторных зон у животных [17] или опухолевого поражения ядер ствола мозга у человека [18], ведет к исчезновению низкочастотных колебаний системного АД и ЧСС. Поэтому взаимосвязь низкочастотных колебаний АД и ЧСС может служить показателем барорефлекторной активности. В опубликованных исследованиях влияния ОДНТ на активность барорефлекса были получены неоднозначные результаты. При использовании кросс-спектрального анализа в тесте ОДНТ было показано снижение амплитуды передаточной функции между АД и ЧСС на частоте барорефлекторных волн, аналогично ее снижению при ортопробе [19, 20], хотя когерентность барорефлекторных колебаний АД и ЧСС при ОДНТ существенно не изменялась [19]. Вместе с тем, путем анализа причинно-следственных связей (*causality analysis*) было показано, что влияние колебаний АД на колебания длительности R–R интервала в частотном диапазоне барорефлекторных волн усиливается при снижении уровня ОДНТ [21].

Информативным методом оценки барорефлекторной активности является исследование фазовой синхронизации спонтанных колебаний АД и ЧСС на частоте барорефлекторных волн, применявшееся нами ранее для изучения изменений барорефлекторной регуляции сердечного ритма вследствие пребывания в условиях моделируемой микрогравитации [22], у больных, страдающих обмороками вазовагальной природы [7], у здоровых людей в зависимости от возраста [23]. Целью данной работы являлась оценка измене-

ния фазовой синхронизации колебаний АД и ЧСС на частоте барорефлекторных волн при создании отрицательного давления вокруг нижней части тела.

## МЕТОДИКА

В эксперименте принимали участие 7 здоровых молодых мужчин (возраст –  $24 \pm 2$  года; рост –  $185 \pm 8$  см; масса тела –  $81 \pm 4$  кг). Испытуемые не имели заболеваний сердечно-сосудистой системы, не курили и не принимали никаких фармакологических препаратов. Перед исследованием испытуемые воздерживались от тяжелых физических нагрузок в течение 24 ч, от употребления алкогольных и содержащих кофеин напитков – в течение 12 ч. Ни один из испытуемых не испытывал признаков предобморочного или обморочного состояния в течение выполнения теста.

*Измерение показателей гемодинамики.* В ходе эксперимента у каждого испытуемого непрерывно регистрировали:

1) АД – фотокомпенсационным методом с использованием прибора *Finometer (Finapres Medical System, Нидерланды)*, манжету с датчиком располагали на среднем пальце левой руки. На левое плечо испытуемых накладывали манжету для измерения системного АД, величина которого используется для калибровки данных, зарегистрированных в пальцевой манжете;

2) УО – также с помощью прибора *Finometer*, этот показатель рассчитывается в приборе для каждого сердечного цикла по алгоритму *Model Flow* [24];

3) ЭКГ – с использованием комплекса *PneumoCard* (МКС, Россия). На передней поверхности торса испытуемого закрепляли три одноразовых электрода, расположение электродов соответствовало II стандартному отведению;

4) частоту дыхания – с помощью назального термисторного датчика комплекса *PneumoCard*. Для каждого испытуемого перед началом измерений определяли комфортную частоту дыхания, значение которой было выше частоты барорефлекторных волн. Во время эксперимента ритм дыхания (12–15 циклов в минуту, что соответствует частоте 0.2–0.25 Гц) задавали с помощью голосовой команды с компьютера.

Все регистрируемые сигналы оцифровывали с частотой 1000 Гц с помощью аналого-цифрового преобразователя E14-140 (*L-CARD, Россия*). Запись экспериментальных данных проводили с помощью программного обеспечения *PowerGraph 3.3* (ДИСофт, Россия).

*Тест с созданием отрицательного давления вокруг нижней части тела (ОДНТ).* Отрицательное давление вокруг нижней части тела создавали с помощью комплекса “Чи-бис-М” [9]. Комплекс

**Таблица 1.** Показатели системной гемодинамики, зарегистрированные в тесте ОДНТ

Показатели	Давление воздуха в костюме “Чибиc-М”	
	0 мм рт. ст.	–30 мм рт. ст.
Среднее артериальное давление, мм рт. ст.	94.3 ± 3.3	88.9 ± 6.1*
Частота сердечных сокращений, уд./мин	69.1 ± 5.5	79.4 ± 5.7*
Ударный объем левого желудочка, мл	96.1 ± 13.7	71.6 ± 9.2*
Минутный объем левого желудочка, л/мин	6.6 ± 0.7	5.7 ± 0.8*
Общее периферическое сопротивление, (мм рт. ст. мин)/мл	14.4 ± 1.1	15.9 ± 2.0*

*Примечание:* данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения;  $n = 7$ ; \* –  $p < 0.05$  по сравнению со значением при давлении 0 мм рт. ст., парный  $t$ -тест Стьюдента.

состоит из штанов, изготовленных из жесткой гофрированной воздухопроницаемой ткани, мини-насоса и системы управления, в состав которой входят встроенный в корпус комплекса измерительный блок и планшетный компьютер с управляющей программой. Предельное давление, которое возможно создать с помощью данного комплекса, составляет –65 мм рт. ст.

На время измерений испытуемого помещали в “Чибиc-М” и укладывали на кушетку в положении лежа на спине. Далее проверяли герметичность, наклеивали ЭКГ-электроды, надевали манжеты для измерения давления и устанавливали датчик дыхания. После проведения калибровки приборов и адаптации испытуемого (не менее 10 мин) в течение 12 мин проводили фоновое измерение показателей гемодинамики. Затем запускали насос комплекса “Чибиc-М” и создавали отрицательное давление равное –30 мм рт. ст. Измерения проводили также в течение 12 мин, после чего давление возвращали к атмосферному и заканчивали тест.

*Обработка экспериментальных данных.* Обработку экспериментальных данных проводили с помощью специальных программ, работающих в среде программирования *MATLAB (Math Works Inc., США)*. Для каждого сердечного цикла вычисляли среднее АД ( $AD_{cp}$ ) и длительность  $R-R$  интервала (для вычисления ЧСС). По значениям УО и ЧСС вычисляли минутный объем левого желудочка (МО), а по значениям  $AD_{cp}$  и МО – величину общего периферического сопротивления сосудов (ОПСС).

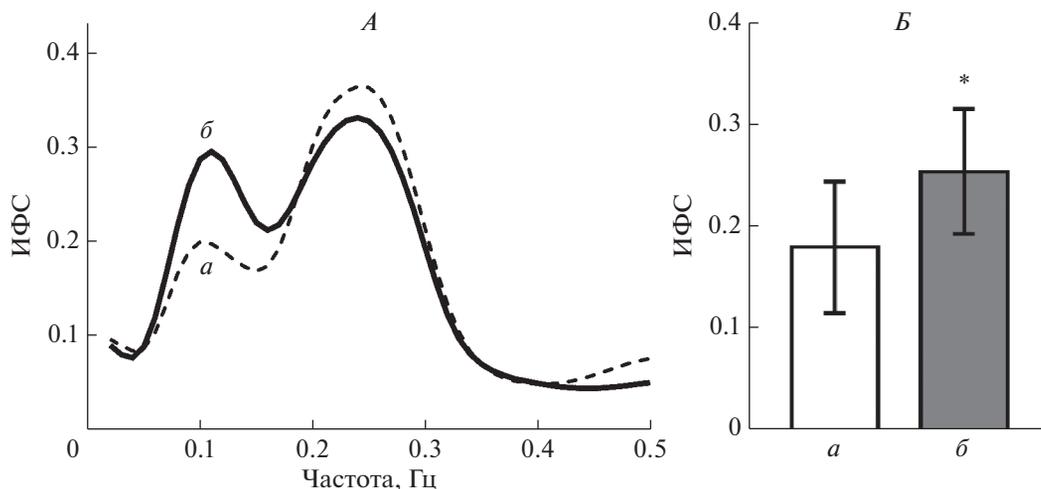
В качестве количественной меры уровня фазовой синхронизации спонтанных колебаний АД и ЧСС в различных частотных диапазонах использовали индекс фазовой синхронизации (ИФС) [25].

Для вычисления ИФС временные ряды  $AD_{cp}$  и ЧСС с помощью линейной интерполяции преобразовывали в ряды равноотстоящих по шкале времени значений (частота ресэмплирования 4 Гц). Путем цифровой фильтрации из этих рядов выделяли узкополосные составляющие, частота которых находилась в частотном диапазоне от 0.02 до 0.5 Гц. Используя преобразование Гильберта, каждую из частотных составляющих  $AD_{cp}$  и ЧСС представляли в форме аналитического сигнала, по которому определяли их фазы. Затем для каждой частоты строили гистограмму распределения нормированной разности фаз. По полученным гистограммам вычисляли ИФС с использованием энтропии Шеннона, затем строили спектр ИФС – зависимость ИФС от частоты. Подробное описание методики обработки показателей гемодинамики и вычисления ИФС приведено в работе [26]. Барорефлекторную активность оценивали по среднему значению ИФС в частотном диапазоне от 0.07 до 0.13 Гц.

*Статистический анализ данных.* Статистическую обработку результатов проводили в программе *GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, США)*. Данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения. Нормальное распределение данных в выборках было подтверждено с использованием теста Шапиро-Уилка. В качестве критерия при сравнении данных использовали парный  $t$ -тест Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В табл. 1 представлены средние значения гемодинамических показателей при атмосферном давлении и при ОДНТ, равном –30 мм рт. ст.



**Рис. 1.** Влияние отрицательного давления вокруг нижней части тела (ОДНТ) на фазовую синхронизацию спонтанных колебаний АД и ЧСС.

*А* – спектры индекса фазовой синхронизации (ИФС) в тесте ОДНТ при двух уровнях давления воздуха в костюме: *а* – 0 мм рт. ст., *б* – минус 30 мм рт. ст. (приведены спектры, усредненные по группе испытуемых). *Б* – средние значения ИФС в частотном диапазоне 0.07–0.13 Гц в тесте ОДНТ при двух уровнях давления воздуха в костюме: *а* – 0 мм рт. ст., *б* – минус 30 мм рт. ст. Данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения;  $n = 7$ ; \* –  $p < 0.05$  по сравнению со значением при давлении 0 мм рт. ст., парный *t*-тест Стьюдента.

Можно видеть, что воздействие отрицательного давления приводит к повышению ЧСС (на  $15 \pm 7\%$ ) и незначительному снижению АД<sub>ср</sub> (на  $6 \pm 5\%$ ). Наиболее значительное изменение было выявлено для УО (снижение на  $25 \pm 5\%$ ). В силу повышения ЧСС снижение МО было менее выраженным (всего  $14 \pm 6\%$ ). ОППС во время теста ОДНТ повышалось на  $10 \pm 7\%$ .

На рис. 1, *А* представлены усредненные по группе испытуемых спектры ИФС, вычисленные по данным, которые были зарегистрированы при атмосферном давлении и при ОДНТ (–30 мм рт. ст.) в положении лежа на спине. На спектрах ИФС видны два отчетливых пика. Высокочастотный пик на частоте около 0.25 Гц, показывает степень фазовой синхронизации дыхательных волн АД и ЧСС. Амплитуда этого пика не изменялась при создании ОДНТ, поскольку паттерн дыхания оставался постоянным. Низкочастотный пик на спектрах имеет максимум на частоте 0.1 Гц, т.е. лежит в области барорефлекторных волн АД и ЧСС. При создании ОДНТ амплитуда этого пика заметно увеличивается (рис. 1, *А*), а среднее значение ИФС в частотном диапазоне 0.07–0.13 Гц статистически значимо возрастает (рис. 1, *Б*), что свидетельствует об усилении кардиохронотропного влияния барорефлекса.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование изменений барорефлекторной активности при различных физиологических воздействиях позволяет раскрывать новые аспекты

функционирования барорефлекса и его взаимодействия с другими регуляторными механизмами. Тест с созданием ОДНТ применяется для изучения реакции сердечно-сосудистой системы на стресс, сходный с ортостатическим [12, 15], однако использование ОДНТ при горизонтальном положении тела испытуемого не подразумевает изменения гравитационного фактора и, как следствие, изменения градиента гидростатического давления между барорецепторами каротидных синусов и сердцем. Поэтому этот тест может быть использован для изучения вклада регуляторных механизмов, которые помимо артериального барорефлекса участвуют в поддержании сердечно-сосудистого гомеостаза, в первую очередь, роли рефлексов от кардиопульмонарных рецепторов.

Уровень ОДНТ, использованный в наших экспериментах, обеспечивал примерно такое же уменьшение УО левого желудочка, как при переходе в положение  $60^\circ$  ортостаза, как было показано ранее [22]. Причиной снижения УО при ОДНТ, как и при ортостазе, служит перераспределение крови в нижнюю часть тела и, как следствие, уменьшение венозного возврата крови к сердцу [12]. В целом, паттерн изменений показателей системной гемодинамики при создании ОДНТ был сходным с таковым при ортостатическом стрессе, что согласуется с данными литературы [27]. Вместе с тем, в тесте ОДНТ (–30 мм рт. ст.) у практически здоровых молодых мужчин наблюдалось некоторое снижение уровня АД<sub>ср</sub>, тогда как при ортостатическом стрессе такое изменение для них не характерно [15, 22]. Возможно, это

объясняется тем, что при изменении положения тела происходит более комплексная активация механизмов, “отслеживающих” состояние сердечно-сосудистой системы: при ортостазе активируются как кардиопульмонарные рецепторы, так и артериальные барорецепторы, тогда как при ОДНТ – преимущественно кардиопульмонарные рецепторы. В связи с этим активация симпатической нервной системы и ее влияние на сосуды и сердце при ОДНТ могут быть менее выраженными, чем при ортостазе, что должно затруднять компенсацию падения давления вследствие уменьшения УО.

Мы использовали ОДНТ для изучения влияния рефлексов от кардиопульмонарных рецепторов на синхронизацию спонтанных колебаний АД и ЧСС, для количественной оценки степени сопряженности колебаний показателей гемодинамики был впервые применен анализ их фазовой синхронизации. Эксперименты показали, что изменение спектра ИФС при создании ОДНТ наблюдается лишь в низкочастотной области (в районе 0.1 Гц). Таким образом, разгрузка кардиопульмонарных рецепторов при создании ОДНТ в горизонтальном положении тела ведет к усилению фазовой синхронизации колебаний АД и ЧСС на частоте барорефлекторных волн, как и во время проведения ортопробы [7, 22]. Такое изменение синхронизации колебаний АД и ЧСС во время ОДНТ происходит, несмотря на ожидаемое отсутствие воздействия на артериальные барорецепторы при неизменном горизонтальном положении тела.

Изменение фазовой синхронизации барорефлекторных волн АД и ЧСС при ОДНТ может иметь сходный механизм с ее изменением при умеренной кровопотере, так как эти воздействия близки по регуляторным процессам [13, 28]. Ранее мы показали, что у крыс при уменьшении объема крови, которое еще не сопровождается заметным снижением АД, также происходит постепенное увеличение обеспечиваемой активностью барорефлекса синхронизации АД и ЧСС [26]. Следует отметить, что центральные пути рефлекса от кардиопульмонарных рецепторов весьма сходны с путями рефлекса от артериальных барорецепторов, и эти рефлексы похожи по влиянию на активность автономной нервной системы: в обоих случаях разгрузка рецепторов ведет к повышению симпатической активности и, напротив, к снижению парасимпатической активности [29]. В связи с этим можно предположить, что влияние кардиопульмонарного рефлекса облегчает осуществляемую барорефлексом регуляцию системной гемодинамики, в том числе синхронизацию низкочастотных колебаний АД и ЧСС.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Создание отрицательного давления вокруг нижней части тела приводит к повышению фазовой синхронизации АД и ЧСС на частоте барорефлекторных волн (~0.1 Гц). Изменение активности кардиопульмонарного рефлекса вследствие уменьшения центрального объема крови может модулировать работу барорефлекса, вероятнее всего на уровне сердечно-сосудистого центра продолговатого мозга, где “сходятся” пути этих двух важных рефлексов, обеспечивающих поддержание гомеостаза в сердечно-сосудистой системе. Предложенный способ исследования кардиоинтеропной барорефлекторной регуляции может оказаться полезным для оценки эффективности использования метода ОДНТ как средства профилактики ортостатической неустойчивости в послеоперационном периоде.

**Этические нормы.** Все исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях, и одобрены Комиссией по биомедицинской этике Института медико-биологических проблем РАН (Москва).

**Информированное согласие.** Каждый участник исследования представил добровольное письменное информированное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков, а также характера предстоящего исследования.

**Финансирование работы.** Исследование выполнено по Программе фундаментальных научных исследований (тема 64.1) и поддержано грантом РФФИ (№ 20-015-00536).

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Smit A.A.J., Timmers H.J.L.M., Wieling W. et al. Long-term effects of carotid sinus denervation on arterial blood pressure in humans // *Circulation*. 2002. V. 105. № 11. P. 1329.
2. Michelini L.C., O’Leary D.S., Raven P.B., Nóbrega A.C.L. Neural control of circulation and exercise: a translational approach disclosing interactions between central command, arterial baroreflex, and muscle metaboreflex // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2015. V. 309. № 3. P. H381.
3. Mateika J.H., Demeersman R.E., Kim J. Effects of lung volume and chemoreceptor activity on blood pressure and R-R interval during the Valsalva maneuver // *Clin. Auton. Res.* 2002. V. 12. № 1. P. 24.
4. Hammam E., Macefield V.G. Vestibular modulation of sympathetic nerve activity to muscle and skin in humans // *Front. Neurol.* 2017. V. 8. P. 334.

5. *Stewart J.M.* Mechanisms of sympathetic regulation in orthostatic intolerance // *J. Appl. Physiol.* 2012. V. 113. № 10. P. 1659.
6. *Cooke W.H., Hoag J.B., Crossman A.A. et al.* Human responses to upright tilt: a window on central autonomic integration // *J. Physiol.* 1999. V. 517. Pt. 2. P. 617.
7. *Боровик А.С., Негуляев В.О., Тарасова О.С. и др.* Нарушение барорефлекторной синхронизации артериального давления и сердечного ритма при ортостазе предшествует развитию вазовагального обморока // *Физиология человека.* 2019. Т. 45. № 4. С. 71.  
*Borovik A.S., Negulyaev V.O., Tarasova O.S. et al.* Disorders of synchronization of blood pressure and heart rate precede the development of vasovagal syncope during orthostasis // *Human Physiology.* 2019. V. 45. № 4. P. 405.
8. *Parati G., DiRienzo M., Mancina G.* How to measure baroreflex sensitivity: From the cardiovascular laboratory to daily life // *J. Hypertens.* 2000. V. 18. № 1. P. 7.
9. *Yarmanova E.N., Kozlovskaya I.B., Khimoroda N.N. et al.* Evolution of Russian microgravity countermeasures // *Aerosp. Med. Hum. Perform.* 2015. V. 86. № 12 Suppl. P. A32.
10. *Kozlovskaya I.B., Grigoriev A.I., Stepanzov V.I.* Countermeasure of the negative effects of weightlessness on physical systems in long-term space flights // *Acta Astronaut.* 1995. V. 36. № 8–12. P. 661.
11. *Котовская А.Р., Фомина Г.А.* Особенности адаптации и дезадаптации сердечно-сосудистой системы человека в условиях космического полета // *Физиология человека.* 2010. Т. 36. № 2. С. 78.  
*Kotovskaya A.R., Fomina G.A.* Characteristics of adaptation and maladaptation of human cardiovascular system under space flight conditions // *Human Physiology.* 2010. V. 36. № 2. P. 190.
12. *Goswami N., Loepky J.A., Hinghofer-Szalkay H.* LBNP: Past protocols and technical considerations for experimental design // *Aviat. Space Envir. Med.* 2008. V. 79. № 5. P. 459.
13. *Cooke W.H., Ryan K.L., Convertino V.A.* Lower body negative pressure as a model to study progression to acute hemorrhagic shock in humans // *J. Appl. Physiol.* 2004. V. 96. № 4. P. 1249.
14. *Goswami N., Blaber A.P., Hinghofer-Szalkay H., Convertino V.F.* Lower body negative pressure: Physiological effects, applications, and implementation // *Physiol. Rev.* 2019. V. 99. № 1. P. 807.
15. *Furlan R., Jacob G., Palazzolo L. et al.* Sequential modulation of cardiac autonomic control induced by cardiopulmonary and arterial baroreflex mechanisms // *Circulation.* 2001. V. 104. № 24. P. 2932.
16. *Julien C.* The enigma of Mayer waves: Facts and models // *Cardiovasc. Res.* 2006. V. 70. № 1. P. 12.
17. *Cerutti C., Barres C., Paultre C.* Baroreflex modulation of blood pressure and heart rate variabilities in rats: assessment by spectral analysis // *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 1994. V. 266. № 5. P. H1993.
18. *Guasti L., Mainardi L.T., Baselli G. et al.* Components of arterial systolic pressure and RR-interval oscillation spectra in a case of baroreflex failure, a human open-loop model of vascular control // *J. Hum. Hypertens.* 2010. V. 24. № 6. P. 417.
19. *Laurin A., Lloyd M.G., Hachiya T. et al.* New indices from microneurography to investigate the arterial baroreflex // *Physiol. Rep.* 2017. V. 5. № 12. P. e13220.
20. *Wyller V.B., Barbieri R., Saul J.P.* Blood pressure variability and closed-loop baroreflex assessment in adolescent chronic fatigue syndrome during supine rest and orthostatic stress // *Eur. J. Appl. Physiol.* 2011. V. 111. № 3. P. 497.
21. *Verma A.K., Xu D., Garg A. et al.* Non-linear heart rate and blood pressure interaction in response to lower-body negative pressure // *Front. Physiol.* 2017. V. 8. P. 767.
22. *Borovik A.S., Orlova E.A., Tomilovskaya E.S. et al.* Phase coupling between baroreflex oscillations of blood pressure and heart rate changes in 21-day dry immersion // *Front. Physiol.* 2020. V. 11. P. 455.
23. *Орлова Е.А., Тарасова О.С., Сонькин В.Д., Боровик А.С.* Влияние возраста на барорефлекторную синхронизацию артериального давления и частоты сердечных сокращений при пассивной ортопробе // *Авиакосмическая и экологическая медицина.* 2021. Т. 55. № 1. С. 46.  
*Orlova E.A., Tarasova O.S., Son'kin V.D., Borovik A.S.* [Influence of the age on baroreflex synchronization of arterial pressure and heart rate during the passive standing test] // *Aviakosm. Ekolog. Med.* 2021. V. 55. № 1. P. 46.
24. *Wesseling K.H., Jansen J.R., Settels J.J., Schreuder J.J.* Computation of aortic flow from pressure in humans using a nonlinear, three-element model // *J. Appl. Physiol.* 1993. V. 74. № 5. P. 2566.
25. *Tass P., Rosenblum M.G., Weule J. et al.* Detection of n:m phase locking from noisy data: application to magnetoencephalography // *Phys. Rev. Lett.* 1998. V. 81. P. 3291.
26. *Negulyaev V.O., Tarasova O.S., Tarasova N.V. et al.* Phase synchronization of baroreflex oscillations of blood pressure and pulse interval in rats: the effects of cardiac autonomic blockade and gradual blood loss // *Physiol. Meas.* 2019. V. 40. № 5. P. 054003.
27. *Convertino V.A.* Neurohumoral mechanisms associated with orthostasis: reaffirmation of the significant contribution of the heart rate response // *Front. Physiol.* 2014. V. 5. P. 236.
28. *Johnson B.D., Van Helmond N., Curry T.B. et al.* Reductions in central venous pressure by lower body negative pressure or blood loss elicit similar hemodynamic responses // *J. Appl. Physiol.* 2014. V. 117. № 2. P. 131.
29. *Dampney R.A.L.* Central neural control of the cardiovascular system: current perspectives // *Adv. Physiol. Educ.* 2016. V. 40. № 3. P. 283.

## **Synchrony of Baroreflex Waves of Arterial Pressure and Heart Rate Increases in Lower Body Negative Pressure Conditions**

**V. O. Negulyaev<sup>a, b</sup>, E. A. Orlova<sup>a</sup>, A. P. Sharova<sup>a</sup>, O. S. Tarasova<sup>a, b</sup>,  
O. L. Vinogradova<sup>a, b</sup>, A. S. Borovik<sup>a, \*</sup>**

<sup>a</sup>*Institute of Biomedical Problems of RAS, Moscow, Russia*

<sup>b</sup>*Moscow State University, Moscow, Russia*

*\*E-mail: asbor@mail.ru*

The influence of lower body negative pressure (LBNP) on the phase synchronization of spontaneous fluctuations in blood pressure and heart rate was studied. LBNP (−30 mm Hg) was created using the “Chibis-M” complex, which is used for training of the cardiovascular system of astronauts on board of the International Space Station, as a countermeasure of preventing post-flight orthostatic intolerance. During the measurements, the subjects (7 young men) were in a supine position. It is shown that, similar to orthostatic stress, LBNP leads to an increase in the phase synchronization of spontaneous fluctuations in blood pressure and heart rate in the frequency range of baroreflex waves (about 0.1 Hz).

*Keywords:* arterial pressure, heart rate, baroreflex, phase synchronization index, LBNP, “Chibis-M”.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТА КУРСА КРАТКОСРОЧНЫХ СЕАНСОВ “СУХОЙ” ИММЕРСИИ НА АВТОНОМНУЮ РЕГУЛЯЦИЮ У БОЛЬНЫХ С ПАРКИНСОНИЗМОМ

© 2021 г. Л. И. Герасимова-Мейгал<sup>1</sup>\*, Н. В. Сиренева<sup>1</sup>, А. Ю. Мейгал<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

\*E-mail: gerasimova@petersu.ru

Поступила в редакцию 17.12.2020 г.

После доработки 29.12.2020 г.

Принята к публикации 23.03.2021 г.

Целью исследования было изучение влияния курса семи краткосрочных сеансов “сухой” иммерсии (СИ) на автономную регуляцию у пациентов с паркинсонизмом. В исследовании принимали участие 7 пациентов с паркинсонизмом (5 мужчин и 2 женщины в возрасте 51–66 лет, с тяжестью заболевания 1–3 по шкале *H&Y*). Анализ временных и спектральных параметров variability ритма сердца (ВРС), контроль артериального давления (АД) проводили в условиях фоновой пробы, во время глубокого управляемого дыхания и при ортостатической пробе перед проведением курса СИ, сразу после курса и через две недели. Анализ ВРС у больных с паркинсонизмом показал значительное снижение реактивности автономной нервной системы, определяемое по низким значениям временных параметров ВРС (*SDNN*, *RMSSD*, *pNN50*, *CV*), а также общей мощности, *LF*- и *HF*-компонентов спектра. Курс из семи сеансов СИ вызвал снижение АД, однако не оказал существенного влияния на показатели ВРС в покое и при функциональных пробах, что отражает стойкие нарушения автономной регуляции у пациентов с паркинсонизмом. Особенности реактивности пациентов с паркинсонизмом обуславливают необходимость тщательного отбора кандидатов и проведения мониторинга функции сердечно-сосудистой системы во время процедуры при использовании СИ для реабилитации.

**Ключевые слова:** паркинсонизм, “сухая” иммерсия, variability ритма сердца, артериальное давление, глубокое управляемое дыхание, ортостатическая проба.

**DOI:** 10.31857/S0131164621040044

Моделирование микрогравитации применяется в космической медицине и физиологии для изучения эффектов невесомости на организм, разработки методов предупреждения отрицательных реакций организма в условиях космического полета [1, 2]. “Сухая” иммерсия (СИ) является одним из широко используемых методов создания аналоговой микрогравитации, наряду с антиортостатической гипокинезией (*bed-rest*) и параболическими полетами [2]. СИ имитирует ряд факторов невесомости (перераспределение внеклеточной жидкости организма, гипокинезия, безопорность), считается адекватным и наиболее щадящим методом симуляции микрогравитации, поскольку перераспределение крови к голове при ней не такое выраженное, как при других способах имитации невесомости, в частности, антиортостатической гипокинезии (*bed-rest*) [1, 3, 4].

Во время СИ происходят довольно сложные изменения гемодинамики: увеличение венозного возврата к сердцу за счет сдавливания периферических тканей, повышение сердечного выброса,

увеличение притока крови к голове и верхней части тела, изменение активности барорецепторного рефлекса и механизмов натрийуреза [1, 5]. Механизмы развития кардиогемодинамических эффектов в условиях СИ до сих пор не совсем понятны, многие авторы отмечают неоднозначность и противоречивость представлений о механизмах регуляции перфузии, которые происходят на разных уровнях системы кровообращения во время СИ [2, 5, 6]. Кардиогемодинамика неоднозначно изменяется в течение времени при проведении сеансов СИ, отражая компенсаторные процессы в организме. Наиболее существенные изменения наблюдаются при длительных, многодневных исследованиях [1, 5, 6]. Одним из нежелательных последствий СИ является ортостатическая гипотензия, которая часто проявляется у испытуемых после продолжительных сеансов [1].

Несмотря на известные возможные побочные эффекты СИ, в последнее время метод находит свое применение в реабилитационных программах пациентов с патологией нервной системы,

кровообращения, опорно-двигательного аппарата. Есть данные об индукции расслабления мышц, уменьшении спастичности и мышечного тонуса, а также гипотензивном эффекте при применении СИ [1]. В спортивной медицине сеансы СИ используются для восстановления физического состояния атлетов после интенсивных тренировок [1]. В отличие от задач космической физиологии, в которых производится моделирование микрогравитации в течение продолжительного периода от нескольких суток до нескольких недель, для реабилитации используются короткие сеансы СИ, продолжительностью до двух часов, которые в большинстве случаев не вызывают опасных нарушений функции организма [1].

В нашем предыдущем исследовании было показано уменьшение некоторых моторных и немоторных симптомов у пациентов с паркинсонизмом после курса 7 коротких сеансов СИ [7, 8]. Несмотря на недостаточность реактивности автономной нервной системы, как следствие нейродегенеративных процессов в структурах ЦНС при паркинсонизме [9, 10], а также возрастных изменений реактивности организма [11], пациенты с паркинсонизмом показали хорошую переносимость коротких сеансов СИ. В течение сеанса наблюдалось изменение временных и спектральных характеристик variability ритма сердца (ВРС), отражающее компенсаторные реакции автономной нервной системы, незначительное гемодинамически незначимое снижение диастолического артериального давления (АД) [12]. После прохождения курса СИ у пациентов с паркинсонизмом отмечено уменьшение числа симптомов, связанных с автономной дисфункцией [8].

Вместе с тем, остаются неизвестными долгосрочные эффекты курса СИ на функции различных систем организма пациентов с паркинсонизмом. Целью данного исследования было изучение влияния курса краткосрочных сеансов СИ на автономную регуляцию у пациентов с паркинсонизмом.

## МЕТОДИКА

Исследование выполняли с участием 7 пациентов с паркинсонизмом (5 мужчин и 2 женщины в возрасте 51–66 лет, с тяжестью заболевания 1–3 по шкале *H&Y*). Два пациента принимали участие несколько раз с интервалом в один календарный год: один пациент участвовал два раза, другой пациент – четыре раза. Всего было собрано 11 наблюдений. Общие принципы отбора пациентов с паркинсонизмом для участия в исследовании, критерии включения и исключения, и клинико-неврологическое обследование представлены в работах [7, 8]. Для анализа ВРС в исследуемую группу были включены пациенты с устойчивым синусовым ритмом, отсутствием аритмий в ана-

мнезе и при проведении пробных тестов, не принимающих фармакотерапии, влияющей на автоматическую регуляцию сердца и автономную регуляцию [13, 14]. Сеансы СИ и функциональные исследования проводили в фиксированное время после приема антипаркинсонических препаратов (обычно в 9 утра). Антропометрические характеристики испытуемых определяли перед проведением курса СИ: рост 171–183 см, массу тела 77–84 кг, индекс массы тела (ИМТ) 23.8–26.3, в среднем  $25.0 \pm 2.8$ . Степень автономной дисфункции по шкале А.М. Вейна I составляла 18–27 баллов, по шкале А.М. Вейна II – 14–25 баллов [15].

Сеанс СИ проводили с помощью комплекса “МЕДСИМ” (ООО “ЦАМТ”, Россия). Подробное описание сеанса СИ и контроля состояния испытуемого представлено в работах [7, 8]. При проведении сеанса СИ испытуемого, обернутого в водонепроницаемую пленку, в горизонтальном положении с помощью ложементов погружали в ванну с теплой ( $T_v = 32\text{--}33^\circ\text{C}$ ) пресной водой до уровня верхней части груди. Большая часть головы, шея и верхняя часть груди оставались над уровнем воды. Испытуемый принимал удобное положение своего тела, располагая руки на груди или вытягивая их вдоль туловища.

Курс СИ состоял из 7 сеансов по 45 мин с интервалом в 3–4 дня в течение 27–30 дней. Суммарная продолжительность СИ составила 5 ч и 15 мин. Оценку автономной регуляции по данным ВРС и кардиоваскулярных тестов выполняли: перед проведением курса СИ ( $T_0$ ), после курса СИ (на следующие сутки после седьмого сеанса СИ,  $T_1$ ), через две недели после курса СИ ( $T_2$ ). В точке исследования  $T_2$  проводили анализ ВРС пяти испытуемых, т.к. некоторые участники отказались от проведения исследований по личным мотивам.

Функциональные исследования выполняли в условиях лаборатории (температура в помещении  $22\text{--}24^\circ\text{C}$ , в среднем  $22.9 \pm 1.1^\circ\text{C}$ , влажность 50–60%, скорость движения воздуха менее 0.1 м/с) после 30-минутного нахождения испытуемого в помещении для стабилизации температуры кожи.

Оценку автономной нервной системы проводили на основе анализа временных и спектральных характеристик ВРС с помощью прибора “Поли-Спектр” (“Нейрософт”, Россия). Для анализа использовали отрезки ЭКГ, зарегистрированные во втором стандартном отведении. Фоновую запись ЭКГ проводили в течение 5 мин в положении испытуемого лежа на спине при спонтанной частоте дыхания 12–15 в мин (в среднем  $13 \pm 3 \text{ мин}^{-1}$ ). В качестве функциональных проб использовали пробу с глубоким управляемым дыханием с частотой 6  $\text{мин}^{-1}$ , при которой ЭКГ регистрировали в течение 15 дыхательных маневров, а также ортостатическую пробу, в ко-

торой ЭКГ регистрировали в течение 5 мин после перехода испытуемого в вертикальное положение.

Полученные записи ЭКГ были визуально оценены на стационарность процесса, артефакты скорректированы вручную. Анализ ВРС выполняли на стационарных участках кардиоритмограммы в соответствии с международными рекомендациями кардиологов [13, 14]. Анализ временных характеристик ВРС включал оценку  $RR_{min}$ ,  $RR_{max}$ ,  $RR_{NN}$ ,  $SDNN$ ,  $RMSSD$ ,  $pNN50$ ,  $CV$ , анализ спектральных характеристик — оценку общей мощности спектра ( $TP$ ) и его компонентов ( $VLF$ ,  $LF$ ,  $HF$ ), определение структуры спектра (%  $VLF$ , %  $LF$ , %  $HF$ ,  $LF/HF$ ). В ортостатической пробе оценивали коэффициент  $K30:15$ .

Систолическое и диастолическое артериальное давление (САД и ДАД, соответственно) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) измеряли с помощью электронного полуавтоматического тонометра *UA-705 (A&D Company Ltd., Япония)* в покое и при проведении активной ортостатической пробы.

Анализ результатов проводили с использованием методов вариационной статистики. Оценку значимости различий между группами проводили с помощью непараметрических критериев (Манна-Уитни, Вилкоксона, Фридмана, Спирмена). Достоверными считали результаты при уровне значимости  $p < 0.05$ . Обработку и анализ результатов проводили с помощью статистического пакета *IBMSPSS Statistics 21.0*.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Перед проведением курса СИ САД и ДАД было в пределах нормальных значений и составляло  $122 \pm 13$  и  $73 \pm 9$  мм рт. ст., соответственно. Поскольку параметры ВРС не имеют зависимости от пола, а больше чувствительны к возрасту испытуемых [13, 14], данные всех пациентов были обобщены. Результаты анализа временных и спектральных параметров ВРС в исследуемые периоды представлены в табл. 1. В фоновой пробе выявлена низкая вариабельность сердечного ритма по результатам оценки временных параметров ВРС ( $SDNN$ ,  $RMSSD$ ,  $pNN50$ ,  $CV$ ), что свидетельствует о снижении участия парасимпатической нервной системы в регуляции сердечной деятельности, что характерно для пациентов с паркинсонизмом. В исследуемой группе наблюдались низкие значения общей мощности спектра ( $TP$ ), как результат дефицита нейрогенных влияний на сердечный ритм. Структура спектра характеризовалась значительной долей  $VLF$ -компонента, который, предположительно, связан с действием гуморально-метаболических факторов, и низкими значениями  $HF$ -компонента, отражающего влияния парасимпатической нервной системы. Соот-

ношение основных компонентов спектра ВРС исходно имело вид:  $56-31-13\%$  ( $VLF > LF > HF$ ).

При проведении пробы с глубоким управляемым дыханием наблюдалось некоторое увеличение вариабельности сердечного ритма на основании временных параметров ВРС ( $SDNN$ ,  $RMSSD$ ,  $pNN50$ ,  $CV$ ) и рост общей мощности спектра ( $TP$ ), главным образом, за счет  $LF$ -компонента. Соотношение основных компонентов спектра имело вид:  $61-30-10\%$  ( $LF > VLF > HF$ ).

В активной ортостатической пробе наблюдалось незначительное изменение САД и ДАД ( $127 \pm 12$  и  $82 \pm 7$  мм рт. ст., соответственно), низкое значение  $K30:15$  ( $1.18 \pm 0.08$ ), отражающей активность барорецепторного рефлекса. В структуре спектра преобладал  $VLF$ -компонент, соответствующий участию гуморально-метаболических факторов в регуляции сердечного ритма.

После курса СИ (Т1) у пациентов с паркинсонизмом отмечены меньшие, по сравнению с Т0, САД и ДАД, измеренные в условиях фоновой и ортостатической пробы ( $p < 0.05$ ). В фоновых условиях САД и ДАД были  $115 \pm 11$  и  $70 \pm 7$  мм рт. ст.; в ортостатической пробе —  $115 \pm 7$  и  $80 \pm 6$  мм рт. ст., соответственно). Временные и спектральные характеристики ВРС в фоновой пробе практически не изменились. Реактивность автономной нервной системы по данным временного и спектрального анализа ВРС в пробе с глубоким управляемым дыханием и в активной ортостатической пробе также существенно не отличалась от исходных показателей.

Через две недели после курса СИ (Т2), по результатам анализа данных ВРС, у пяти испытуемых отмечено сохранение значений САД и ДАД в условиях фоновой пробы ( $114 \pm 9$  и  $72 \pm 4$  мм рт. ст., соответственно) и основных характеристик ВРС.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наше исследование выявило гипотензивный эффект у пациентов исследуемой группы после курса СИ. Этот результат соответствует данным [1] о применении СИ для реабилитации пациентов с патологией системы кровообращения, в частности, с начальной стадией артериальной гипертензии. В исследовании [16] было показано, что в течение первых суток СИ у испытуемых происходит некоторое снижение САД и ДАД, в среднем на  $8-10$  мм рт. ст., затем происходит нормализация и, может быть, незначительное повышение. В связи с этим выбор продолжительности сеанса СИ, составляющей 45 мин, в пределах так называемого “гипотензивного окна”, обоснован для использования этого метода в реабилитационных целях.

Анализ ВРС, сделанный перед курсом СИ, показал, что у пациентов с паркинсонизмом есть су-

**Таблица 1.** Временные и спектральные характеристики variability ритма сердца (ВРС) у пациентов с паркинсонизмом до и после курса “сухой” иммерсии (СИ)

Проба	Параметр	T0	T1
Фоновая	ЧСС, мин <sup>-1</sup>	71 (66; 77)	69 (62; 78)
	<i>RR</i> min, мс	760 (715; 810)	790 (720; 795)
	<i>RR</i> max, мс	973 (830; 1024)	940 (840; 1050)
	<i>SDNN</i> , мс	30.0 (21.3; 41.5)	27.0 (23.0; 42.0)
	<i>RMSSD</i> , мс	14.0 (8.8; 24.8)	14.0 (11.0; 17.0)
	<i>pNN50</i> , %	0.00 (0.00; 5.10)	0.28 (0.00; 0.89)
	<i>CV</i> , %	3.38 (2.62; 4.94)	3.05 (2.77; 4.28)
	<i>TP</i> , мс <sup>2</sup>	963 (557; 2017)	794 (665; 1756)
	<i>VLf</i> , мс <sup>2</sup>	534 (232; 1115)	543 (403; 909)
	<i>LF</i> , мс <sup>2</sup>	246 (107; 992)	185 (120; 555)
	<i>HF</i> , мс <sup>2</sup>	67 (49; 358)	75 (51; 136)
Глубокое управляемое дыхание	ЧСС, мин <sup>-1</sup>	72 (69; 77)	69 (63; 77)
	<i>RR</i> min, мс	738 (705; 758)	780 (720; 815)
	<i>RR</i> max, мс	1050 (861; 1174)	1085 (865; 1185)
	<i>SDNN</i> , мс	47.0 (35.3; 90.3)	51.0 (31.0; 75.0)
	<i>RMSSD</i> , мс	26.0 (16.3; 61.3)	40.0 (17.0; 46.0)
	<i>pNN50</i> , %	4.84 (0.56; 24.03)	12.70 (0.52; 17.00)
	<i>CV</i> , %	5.69 (4.51; 10.67)	6.01 (4.18; 7.80)
	<i>TP</i> , мс <sup>2</sup>	2641 (1582; 9400)	2917 (1285; 5772)
	<i>VLf</i> , мс <sup>2</sup>	626 (319; 2547)	708 (370; 1166)
	<i>LF</i> , мс <sup>2</sup>	1920 (672; 4753)	1944 (934; 2864)
	<i>HF</i> , мс <sup>2</sup>	178 (73; 1450)	467 (90; 767)
Ортостатическая проба	ЧСС, мин <sup>-1</sup>	75 (73; 88)	76 (73; 87)
	<i>RR</i> min, мс	703 (638; 740)	665 (635; 725)
	<i>RR</i> max, мс	878 (765; 954)	880 (765; 915)
	<i>SDNN</i> , мс	26.5 (21.5; 39.8)	37.0 (26.0; 41.0)
	<i>RMSSD</i> , мс	11.5 (9.0; 15.8)	13.0 (8.0; 15.0)
	<i>pNN50</i> , %	0.00 (0.00; 0.67)	0.00 (0.00; 0.80)
	<i>CV</i> , %	3.36 (3.03; 4.85)	4.55 (3.68; 5.36)
	<i>TP</i> , мс <sup>2</sup>	881 (626; 1911)	1677 (940; 2161)
	<i>VLf</i> , мс <sup>2</sup>	561 (330; 1374)	1298 (582; 1556)
	<i>LF</i> , мс <sup>2</sup>	256 (114; 451)	470 (187; 779)
	<i>HF</i> , мс <sup>2</sup>	49 (20; 133)	57 (19; 99)

*Примечание:* данные представлены в формате *Me* (0.25; 0.75). T0 – значения перед проведением курса СИ; T1 – значения после курса СИ.

ществленный дефицит автономной нейрогенной регуляции сердечного ритма. Подобные особенности ВРС могут быть связаны как с возрастными изменениями [11, 13, 14], так и в большей степени с результатами нейродегенерации в ЦНС при паркинсонизме [9, 10, 17, 18]. Кардиоваскулярные нарушения типичны для паркинсонизма, они возникают уже на ранних стадиях заболевания и проявляются в форме нарушений регуляции АД, особенно связанных с изменением положения тела (ортостатическая гипотензия) [9, 18, 19]. В настоящем исследовании мы не наблюдали ортостатической гипотензии у пациентов как до, так и после проведения курса СИ.

В основе нейродегенеративного процесса при паркинсонизме лежит накопление  $\alpha$ -синуклеина с образованием телец Леви в сомах и пресинаптических окончаниях нейронов различных отделов мозга, формирующих центральные и периферические отделы автономной нервной системы, также происходит потеря постганглионарных нервных волокон симпатических и парасимпатических, иннервирующих сердце [9, 10], что создает значительный дефицит нейрогенной автономной регуляции сердечной деятельности и объясняет результаты анализа ВРС.

Для пациентов с паркинсонизмом характерно уменьшение общей вариабельности сердечного ритма, снижение основных временных характеристик, снижение общей мощности спектра ( $TP$ ) и его компонентов, отражающих участие парасимпатической и симпатической нервной системы ( $HF$  и  $LF$ ) [9, 17–20]. Есть данные о том, что снижение временных параметров ВРС больше характерно для начальной стадии болезни, а снижение спектральных характеристик происходит на более поздних стадиях [21, 22]. Выявлено снижение общей мощности спектра ( $TP$ ) у больных с паркинсонизмом, преобладание в структуре спектра  $VLF$ -компонента, который, предположительно, связан с участием гуморально-метаболических факторов в регуляции сердечного ритма [11, 13, 14].

Проведенное исследование показало сниженную реактивность автономной нервной системы у пациентов с паркинсонизмом при проведении кардиоваскулярных тестов, что совпадает с результатами других исследований [9]. Отмечено, что у пациентов с паркинсонизмом снижены признаки дыхательной аритмии в покое и во время глубокого дыхания, как результат дефицита вагусных влияний, и часто выявляется сниженная активность барорецепторного рефлекса [9].

Ранее нами было показано уменьшение проявлений автономной дисфункции у пациентов с паркинсонизмом после курса СИ [8]. В данном исследовании мы ожидали увидеть эффект курса СИ по результатам временного и спектрального

анализа ВРС. Однако нейродегенеративный процесс при паркинсонизме, затрагивающий центральные и периферические структуры автономной нервной системы, создает достаточно стойкие нарушения автономной регуляции.

При исследовании параметров ВРС у пациентов с паркинсонизмом в ходе короткого сеанса СИ нами были выявлены признаки вовлечения автономной нервной системы в компенсаторные реакции [12]. Так, было отмечено увеличение вариабельности по результатам оценки временных параметров ВРС ( $SDNN$ ,  $RMSSD$ ,  $pNN50$ ,  $CV$ ), что отражает повышение активности парасимпатической системы, а также увеличение общей мощности спектра ( $TP$ ), отражающей совокупность нейрогуморальных влияний, и его компонентов [12]. Была отмечена существенная доля  $VLF$ -компонента в структуре спектра так же, как в работе [22]. Вместе с тем, у пациентов с паркинсонизмом во время сеанса СИ наблюдались значительно меньшие пределы изменений временных и спектральных параметров ВРС по сравнению со здоровыми лицами, исследованными в аналогичных [12] или других условиях [23].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование показало, что по результатам оценки временных и спектральных характеристик ВРС у пациентов с паркинсонизмом имеются выраженные нарушения автономной регуляции как следствие нейродегенерации, которые практически не изменяются после курса СИ. Учитывая недостаточность нейрогенного автономного контроля, применение СИ для реабилитации пациентов с паркинсонизмом требует тщательного отбора кандидатов и проведения мониторинга функции сердечно-сосудистой системы во время процедуры. Вместе с тем, результаты нашего исследования показали потенциальную возможность использования метода СИ в реабилитационных программах для коррекции артериальной гипертензии.

**Этические нормы.** Все исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях, и одобрены локальным биоэтическим комитетом (объединенный этический комитет Петрозаводского государственного университета и Министерства здравоохранения Республики Карелия, Петрозаводск, протокол № 31, 18.02.2015).

**Информированное согласие.** Каждый участник исследования представил добровольное письменное информированное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования.

**Финансирование работы.** Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (тема № 0752-2020-0007).

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность добровольцам-испытуемым, которые согласились участвовать в исследовании.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tomilovskaya E., Shigueva T., Sayenko D. et al. Dry immersion as a ground-based model of microgravity physiological effects // *Front. Physiol.* 2019. V. 10. P. 284.
2. Pandiarajan M., Hargens A.R. Ground-Based Analogs for Human Spaceflight // *Front. Physiol.* 2020. V. 11. P. 716.
3. Watenpaugh D.E. Analogs of microgravity: head-down tilt and water immersion // *J. Appl. Physiol.* 2016. V. 120. № 8. P. 904.
4. Amirova L., Navasiolava N., Rukavishnikov I. et al. Cardiovascular System Under Simulated Weightlessness: Head-Down Bed Rest vs. Dry Immersion // *Front. Physiol.* 2020. V. 11. P. 395.
5. Navasiolava N., Yuan M., Murphy R. et al. Vascular and Microvascular Dysfunction Induced by Microgravity and Its Analogs in Humans: Mechanisms and Countermeasures // *Front. Physiol.* 2020. V. 11. P. 952.
6. Kermorgant M., Leca F., Nasr N. et al. Impacts of Simulated Weightlessness by Dry Immersion on Optic Nerve Sheath Diameter and Cerebral Autoregulation // *Front. Physiol.* 2017. V. 8. P. 780.
7. Meigal A., Gerasimova-Meigal L., Saenko I., Subbotina N. Dry immersion as a novel physical therapeutic intervention for rehabilitation of Parkinson's disease patients: a feasibility study // *Physikalische Medizin, Rehabilitations Medizin, Kurort Medizin.* 2018. V. 28. № 5. P. 275.
8. Мейгал А.Ю., Герасимова-Мейгал Л.И., Саенко И.В. и др. Влияние "сухой" иммерсии как аналога микрогравитации на неврологические симптомы при паркинсонизме // *Авиакосмическая и экологическая медицина.* 2017. Т. 51. № 7. С. 53.  
*Meigal A.Ju., Gerasimova-Meigal L.I., Saenko I.V. et al. [The effect of "dry" immersion as microgravity analogue on neurological symptoms in parkinsonism] // Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina.* 2017. V. 51. № 7 (special issue). P. 53.
9. Jain S. Multi-organ autonomic dysfunction in Parkinson disease // *Parkinsonism Relat Disord.* 2011. V. 17. № 2. P. 77.
10. Palma J.A., Kaufmann H. Treatment of autonomic dysfunction in Parkinson disease and other synucleinopathies // *Mov. Disord.* 2018. V. 33. № 3. P. 372.
11. Ziemssen T., Siepmann T. The Investigation of the Cardiovascular and Sudomotor Autonomic Nervous System-A Review // *Front. Neurol.* 2019. V. 10. P. 53.
12. Meigal A., Gerasimova-Meigal L. Heart rate variability and blood pressure in Parkinson's disease patients under analogue microgravity // *Pathophysiology.* 2018. V. 25. № 3. P. 196.
13. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology // *Circulation.* 1996. V. 93. № 5. P. 1043.
14. Shaffer F., Ginsberg J.P. An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms // *Front. Public Health.* 2017. V. 5. P. 258.
15. Вегетативные расстройства: клиника, диагностика, лечение / Под ред. Вейна А.М. М.: ООО "Медицинское информационное агентство", 2003. 752 с. [Vegetativnye rasstrojstva: klinika, diagnostika, lechenie. Autonomic dysfunction: clinical diagnosis, treatment] / Ed. Veyn A.M. M.: ООО "Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo", 2003. 752 p.
16. Ogoh S., Hirasawa A., de Abreu S. et al. Internal carotid, external carotid and vertebral artery blood flow responses to 3 days of head-out dry immersion // *Exp. Physiol.* 2017. V. 102. № 10. P. 1278.
17. Akbilgic O., Kamaleswaran R., Mohammed A. et al. Electrocardiographic changes predate Parkinson's disease onset // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. P. 11319.
18. Jain S., Goldstein D.S. Cardiovascular dysautonomia in Parkinson disease: from pathophysiology to pathogenesis // *Neurobiol. Dis.* 2012. V. 46. № 3. P. 572.
19. Gibbons C.H., Simon D.K., Huang M. et al. NINDS Exploratory Trials in Parkinson Disease (NET-PD) Investigators. Autonomic and electrocardiographic findings in Parkinson's disease // *Auton. Neurosci.* 2017. V. 205. P. 93.
20. Maetzler W., Karam M., Berger M.F. et al. Time- and frequency-domain parameters of heart rate variability and sympathetic skin response in Parkinson's disease // *J. Neural Transm. (Vienna).* 2015. V. 122. № 3. P. 419.
21. Alonso A., Huang X., Mosley T.H. et al. Heart rate variability and the risk of Parkinson disease: The Atherosclerosis Risk in Communities study // *Ann. Neurol.* 2015. V. 77. № 5. P. 877.
22. Ke J.Q., Shao S.M., Zheng Y.Y. et al. Sympathetic skin response and heart rate variability in predicting autonomic disorders in patients with Parkinson disease // *Medicine (Baltimore).* 2017. V. 96. № 18. P. e6523.
23. Герасимова Л.И., Федосова А.А. Особенности вегетативной регуляции у лиц с различной восприимчивостью к холоду // *Физиология человека.* 2016. Т. 42. № 2. С. 127.  
*Gerasimova L., Fedosova A. Characteristics of the autonomic regulation in humans with different susceptibility to cold // Human Physiology.* 2016. V. 42. № 2. P. 228.

## Estimation of the Effect of the Course of Short-Term Sessions of Dry Immersion on Autonomic Regulation in Patients with Parkinsonism

L. I. Gerasimova-Meigal<sup>a,\*</sup>, N. V. Sireneva<sup>a</sup>, A. Yu. Meigal<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia*

<sup>\*</sup>*E-mail: gerasimova@petsu.ru*

This study was aimed at estimation of the effect of a course of seven short-term sessions of dry immersion on autonomic regulation in patients with parkinsonism. Seven patients with parkinsonism (5 men and 2 women at the age of 51–66 years, with the severity of the disease 1–3 on the H&Y scale) participated in the study. Analysis of time- and frequency-domains of heart rate variability (HRV), blood pressure control was performed under conditions of a baseline test, during deep controlled breathing and orthostatic test before the course of dry immersion, immediately after the course, and two weeks later. HRV analysis showed a significant decrease in the reactivity of the autonomic nervous system, determined by low values of HRV time-domain parameters (SDNN, RMSSD, pNN50, CV), as well as the total power spectrum, LF- and HF- its domains. A course of seven sessions of dry immersion caused a decrease in blood pressure, but did not exert a significant effect on HRV parameters at baseline test and during functional tests, which evidences the autonomic dysregulation in patients with parkinsonism. The reduced autonomic reactivity of patients with parkinsonism requires the careful enroll of subjects when using dry immersion for rehabilitation and also monitoring of the cardiovascular function during this procedure.

*Keywords:* parkinsonism, dry immersion, heart rate variability, blood pressure, deep controlled breathing, orthostatic test.

УДК 612.067

## БАЛАНС ТЕЛА ЧЕЛОВЕКА В “ГИБРИДНЫХ ПОЗАХ” МЕЖДУ СТОЯНИЕМ И СИДЕНИЕМ В ПАССИВНОМ ЭКСОСКЕЛЕТЕ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

© 2021 г. Н. Д. Бабанов<sup>1</sup>, \*, И. В. Меркурьев<sup>2</sup>, О. В. Кубряк<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина, Москва, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Национальный исследовательский университет “МЭИ”, Москва, Россия

\*E-mail: n.babanov@nphys.ru

Поступила в редакцию 26.05.2020 г.

После доработки 10.06.2020 г.

Принята к публикации 24.12.2020 г.

В исследовании 16 здоровых добровольцев были показаны отличия баланса тела в “гибридных позах” между стоянием и сидением в экзоскелете от обычного вертикального стояния и от внешне похожих поз без экзоскелета. Отличия от обычной вертикальной позы в условиях данного наблюдения проявлялись несколько сниженной стабильностью (на силовой платформе) и перераспределением активности мышц ног по данным поверхностной электромиографии. В отличие от внешне похожих поз, но без экзоскелета, в “гибридных позах” напряжение мышц ног меньше. Более зависимые от зрения в контексте регуляции вертикальной позы испытуемые хуже контролируют баланс тела в “гибридной позе” в экзоскелете.

*Ключевые слова:* вертикальная поза, сенсорное обеспечение позы, функциональное состояние, постоурография, стабилметрия, опорные реакции, электромиография, экзоскелет, “гибридные позы”.

DOI: 10.31857/S0131164621030024

Важная новая область, связанная с регуляцией вертикальной позы и движений человека – применение устройств, “дополняющих” или “поддерживающих” все тело человека или его части. Устройства “экзоскелетного” типа сегодня получают большое распространение в медицинской реабилитации [1], промышленности [2] и других сферах. Среди них – *пассивные экзоскелеты нижних конечностей* [3], в которых отсутствует дополнительный по отношению к мышцам человека движитель. Влияния, которые такие устройства могут оказывать на регуляцию позы, требуют особого внимания. В связи с актуальностью для вопросов безопасности – например, для предупреждения падений человека в экзоскелете, для медицинской реабилитации – целенаправленного (управляемого) восстановления позы и движения. Следует выделить, по меньшей мере, три типа источников влияний. Во-первых, преимущественно механические – искусственное ограничение подвижности (степени свободы) суставов ног [4]. Во-вторых, преимущественно сенсорные – например, тактильные ощущения от частей устройства [5]. В-третьих, влияния, связанные с вопросами привыкания и обучения пользованию устройством. Исследования в этом направлении

требуют адаптации старых и разработки новых методик.

Существуют радикальные ситуации, например, когда наблюдается резкое снижение или потеря [6] проприоцептивной чувствительности ног. Для адекватного (надежно прогнозируемого) реабилитационного применения экзоскелета особенно актуально ясное понимание специалистом особенностей физиологического обеспечения позы пациента. При этом сегодня большее внимание исследователей пока сфокусировано на “чисто” биомеханических аспектах в оценках влияний экзоскелета на баланс тела [7], чем на вопросах сенсорного обеспечения позы и специфических адаптаций. Можно считать, что акцент на исследованиях тонких особенностей регуляции баланса может обеспечить дополнительный прогресс. Это соответствует взгляду на развитие *от преимущественно механических концепций к системным*, к применению более совершенного научного инструментария в изучении регуляции вертикальной позы человека [8, 9]. Актуальность работ в данном направлении особенно высока для развития надежного управления процессом медицинской реабилитации с использованием экзоскелетов, для развития конкретных решений в области “пластичности”, восстановления или

тренировки моторных функций, где, по выражению П.К. Анохина “общие принципы компенсации представляют собой... своеобразную таблицу умножения, которая может быть с пользой применена в любом случае независимо от того, что именно в данном случае перемножается” [10], а также для выработки методик адекватной оценки эффекта от применения подобных устройств – степени разгрузки мышц, изменений общего баланса тела с устройством поддержки.

В рамках более широких тематических исследований нами проводилось наблюдение на здоровых добровольцах, с целью исследования электромиографических (ЭМГ) и постурографических параметров, связываемых с балансом тела в “гибридных позах” (по типу “стоячего сидения”, например: [11]) в экзоскелете, по сравнению с внешне похожими позициями без экзоскелета. Прогнозируемый полезный результат связывался с адаптацией известных физиологических способов (стабилометрия, ЭМГ) для исследования баланса тела человека в экзоскелетах, а также с установлением возможной связи отдельных особенностей сенсорного обеспечения вертикальной позы со стабильностью человека в “гибридных позах”.

## МЕТОДИКА

Наблюдение проводили на 16 здоровых добровольцах (средний возраст  $23 \pm 2$  года), студентах кафедры робототехники, мехатроники, динамики и прочности машин Национального Исследовательского Университета “МЭИ” (г. Москва).

Размер выборки определяли исходя из актуальных представлений об обеспечении достаточной достоверности результатов в наблюдениях на людях, с повторяющимися измерениями [12]. Условия включения: условно здоровые праворукие добровольцы-мужчины от 20 до 25 лет, не имеющие в анамнезе выявленных заболеваний суставов, мышц ног и спины, переломов конечностей, черепно-мозговых травм, каких-либо вестибулопатий, косоглазия. Условия наблюдения исключали: курение перед наблюдением, чувство голода или жажда, другие некомфортные биологические состояния. Все испытуемые не являлись профессиональными спортсменами.

Использовали комплекс беспроводного мониторинга электрофизиологических сигналов “Коллибри” (“Нейротех”, Россия, Регистрационное свидетельство Министерства здравоохранения РФ РЗН 2016/5020) – четыре нательных датчика с одноразовыми сменными электродами, передающие регистрируемые значения по радиоканалу в персональный компьютер с штатной программой “Нейротех миография *SPORT*”. Силовая платформа *ST-150* с штатным программным обеспечением

*STPL* (“Мера-ТСП”, Россия, Свидетельство о регистрации средства измерений в РФ RU.C.39.004.A № 41201, Регистрационное свидетельство Министерства здравоохранения РФ ФСП 2010/07900, коды GMDN: 43114 Balance/mobility management system platform, 43115 Balance/mobility management system applications software). Проводили одновременную регистрацию поверхностной ЭМГ и измерение координат общего центра давления на силовой платформе. Для изменения условий поддержания вертикальной позы применяли пассивный экзоскелет с ранее описанными характеристиками [13]. По условиям наблюдения поза испытуемого близка к статической, а динамического смещения тела не требуется. Таким образом, влияние масс-инерционных характеристик [14] условно было принято незначительным и в описании не учитывали.

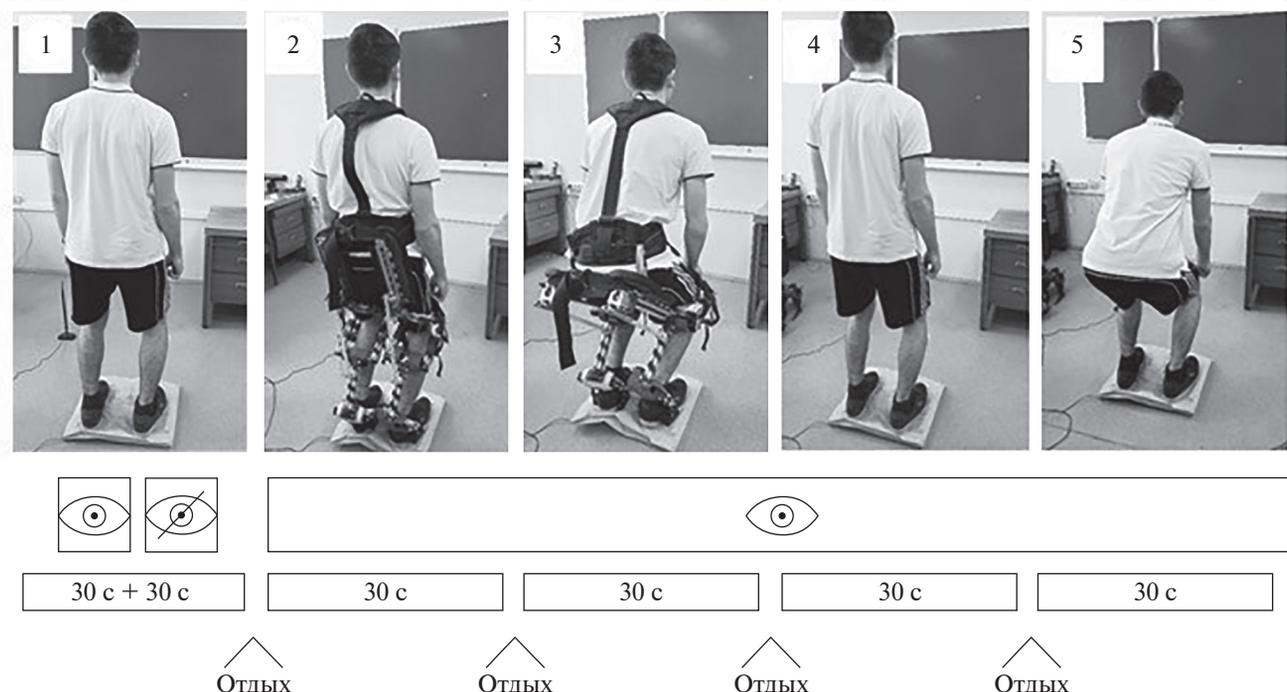
По данным от силовой платформы оценивали интегральный параметр статокинезиограммы по общей формуле:

$$A = m \sum_1^n \frac{|Vx_{i+1}^2 - Vx_i^2| + |Vy_{i+1}^2 - Vy_i^2|}{2}, \quad (1)$$

где суммарный показатель равен значениям, вычисленным на каждом элементарном отрезке статокинезиограммы за время исследования. Данный параметр является исключительно характеристикой статокинезиограммы, который рассчитывается с использованием измеренных дискретных значений координат общего центра давления на плоскость опоры [15]. Применявшийся “энергетический” подход имеет прототипы в исследованиях моторики [16] и продемонстрировал большую точность и чувствительность, чем, например, показатель “длина статокинезиограммы” на силовой платформе [15]. В анализе использовали удельный показатель, рассчитываемый в штатной программе *STPL* – *Av*, миллиджоулей в секунду (мДж/с). Был включен программный фильтр высоких частот (>7 Гц) для предотвращения влияния потенциальных внешних вибраций и сетевых шумов на измерения на силовой платформе.

По данным от поверхностной ЭМГ производили оценку мощности произвольного движения (мкВ с) – критерий, отображающий силовые качества мышцы, определяемый как площадь интегральной огибающей ЭМГ, в штатной программе.

Для сравнений стабильности вертикальной позы у добровольцев с открытыми и закрытыми глазами (фазы 1 и 2 на этапе 1, рис. 1) вычисляли разницы значений показателя *Av* – как постурографический критерий. Аналогичным образом оценивали изменения в параметре ЭМГ – как электромиографический критерий.



**Рис. 1.** Общая схема процедуры наблюдения.  
Пояснения в тексте.

Оценку асимметрии (между правой и левой ногой) ЭМГ-параметров исследуемых мышц проводили по следующей формуле:

$$k = \frac{MQF(\text{прав}) + MTA(\text{прав})}{MQF(\text{лев}) + MTA(\text{лев})}, \quad (2)$$

где  $k$  – коэффициент асимметрии,  $MQF$  – четырехглавая мышца бедра (*Musculus quadriceps femoris*) и  $MTA$  – передняя большеберцовая мышца (*Musculus tibialis anterior*), правой и левой ноги, соответственно. Определяли вовлеченность каждой мышцы в процесс поддержания позы по сумме мощностей произвольного движения для левой и правой ног.

Наблюдение проводили в одну серию, после инструктажа и предварительного обучения управлению экзоскелетом, заполнения форм информированного согласия и необходимой подготовки. На рис. 1 представлена условная схема наблюдения. Первый этап включал 2 фазы исследования – обычное стояние добровольца в вертикальной позе, голова прямо, руки свободно опущены вдоль туловища, с открытыми и закрытыми глазами, по 30 с; в которых изучали влияние зрительной афферентации на контроль позы. Второй и третий этапы – по 1 фазе в 30 с, где доброволец последовательно принимал 2 варианта вертикальной позы в виде “стоячего сидения” (по типу “гибридных поз” [11]), при этом за счет конструктивных свойств пассивного экзоскелета изменя-

лась “конфигурация” нижних конечностей: полное ограничение естественных степеней свободы в коленном суставе и ограничение движений голеностопного сустава во фронтальной плоскости (вправо–влево). Отличия этих этапов – “высокий” и “низкий” присед (“стоячее сидение”), соответственно, с углом между бедром и голенью испытуемого в 140 и в 90 град – этапы 2 и 3 на рис. 1.

Угол задавали делениями регулятора на экзоскелете или заранее подготовленным картонным шаблоном для этапов 4 и 5, которые отличались от этапов 2 и 3 отсутствием экзоскелета (усложненное стояние). Для обозначения области взгляда на доске перед глазами испытуемого наносили метку. После каждого этапа проводили минутный отдых. Команды подавали встроенными в управляющую программу стандартными голосовыми фразами. Для предотвращения влияния возможной ориентировочной реакции на суммарные (за 30 с) расчетные показатели до начала 30-секундной фазы при выполнении задания добровольцем проходило 8 с в заданной позы – по настройке управляющей программы. Использовали шумоизолированное помещение. Область прикрепления датчика ЭМГ определяли по миографическому атласу [17]. Регистрировали активность четырехглавой (*Musculus quadriceps femoris* –  $MQF$ ) и передней большеберцовой (*Musculus tibialis anterior* –  $MTA$ ) мышц правой и левой ног. Выбор

данных мышц обусловлен необходимостью изучения описанных гибридных поз [12].

Использовали методы описательных статистик. Проверка типа распределения – одновыборочный критерий типа Колмогорова–Смирнова. Различия между парными выборками – критерий Вилкоксона. Непараметрический аналог *ANOVA* – критерий Фридмана. Принятый уровень значимости  $\alpha = 0.05$ . Вычисления и подготовка таблиц – в стандартных программах *MS Excel 2010* и *IBM SPSS Statistics 17*.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

*Оценка зрительного контроля в обеспечении вертикальной позы добровольцев.* Соотношение значений между постурографическими показателями 1-ой и 2-ой фазами 1-го этапа наблюдения, продемонстрировали наличие в группе таких испытуемых, у которых при закрытых глазах преимущественно снижались значения *Av*. То есть, у некоторых была более стабильная поза, и, наоборот. Поэтому были выделены 2 условные подгруппы, где границей была медиана значений, рассчитанных как разности показателя *Av* в фазах 2 и 1 (табл. 1).

Между значениями ЭМГ-показателя мощности произвольного движения для 1-ой и 2-ой фаз 1-го этапа в группе получены значимые различия для *MQF* (левая) ( $p = 0.011$ ) и для *MTA* (правая) ( $p = 0.002$ ). Также проводилась оценка соотношений ЭМГ-показателя мощности произвольного движения для соответствующих (каждой в отдельности) мышц правой и левой ног в фазах 1 и 2 этапа 1. Установлены статистически значимые различия для четырехглавой мышцы бедра правой ноги  $p = 0.017$ . Для остальных рассматриваемых мышц статистически значимых различий не установлено. В результате, группа была также разделена по медиане значений на тех, у кого этот показатель (как отражение активности мышц) снижался при закрытых глазах, и тех, у кого повышался (табл. 1).

Также проводилась оценка зрительного контроля в обеспечении вертикальной позы добровольцев по комплексному показателю асимметрии (по данным ЭМГ) согласно описанию выше. Получены индивидуальные показатели “коэффициента асимметрии” напряжения мышц для каждой из фаз. Статистически значимых различий в выборке между фазой 1 и 2 этапа 1 не установлено ( $p = 0.426$ ). Аналогично между подгруппами различий не установлено.

Сравнивались суммарные показатели напряжения исследуемых мышц между фазами 1 и 2 этапа 1 для каждой ноги. В подгруппе 1 установлено повышение показателя мощности произвольного движения для правой ноги ( $p = 0.017$ ).

Для мышц левой ноги подгруппы 2 значимые различия не установлены.

Оценены изменения ЭМГ-показателя вовлеченности исследуемых мышц в поддержание позы. Показано, что для подгруппы 2 существуют значимые различия между фазами 1 и 2 этапа 1 ( $p = 0.017$  и  $0.012$  для бедра и голени соответственно). Для подгруппы 1 значимых различий не установлено.

Таким образом, установлено, что закрытие глаз приводит к снижению постуральной устойчивости в целом по выборке, выражаемой, в том числе, в повышении ЭМГ-показателя для рассматриваемых мышц со значимым различием в подгруппе 2.

*Динамика ЭМГ-показателя мощности произвольного движения (мкВ с) добровольцев при обычном, усложненном стоянии и “сидячем стоянии”.* Выявлены статистически значимые различия в группе между вертикальной позой (этап 1) и “сидячем стоянии” в экзоскелете в этапах 2 и 3. Напряжение передней большеберцовой мышцы выросло в 2.5 ( $p = 0.005$ ) раза для левой и в 1.5 раза ( $p = 0.021$ ) для правой ноги в фазе 2. В фазе 3 – в 4.6 ( $p = 0.007$ ) раза для правой ноги; в 2.8 ( $p = 0.002$ ) раза для левой ноги. Для мышц квадрицепса бедра значимых различий не установлено. При сравнении “стоячего сидения” в экзоскелете в двух различных вариациях поз (этап 2 и 3) с вертикальной стойкой (этап 1) не обнаружено значимых различий: для *MQF* (правая)  $p = 0.269$ ; *MQF* (левая)  $p = 0.099$ . Также, значимых различий не обнаружено в сравнении гибридных поз (этапы 2 и 3) *MTA* (правая)  $p = 0.079$  и *MTA* (левая)  $p = 0.179$ . Групповая динамика показателя мощности произвольного движения представлена на рис. 2, где использованы робастные характеристики принимаемых значений показателя в выборке.

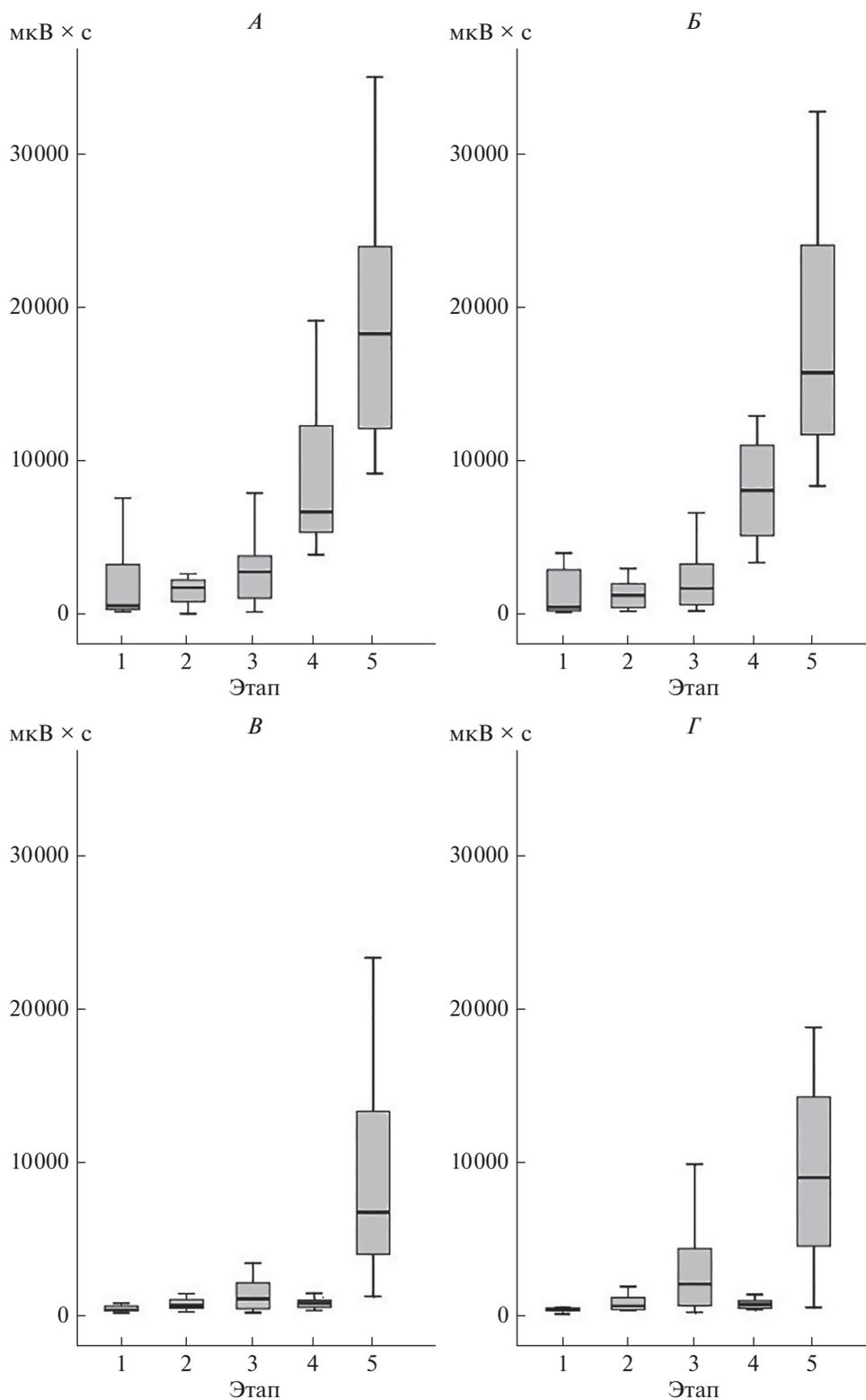
При наличии индивидуальных особенностей (выраженных различными исследуемыми электрофизиологическими показателями) у всех добровольцев наблюдается снижение значений показателя мощности произвольного движения при “гибридных позах” по сравнению с аналогичными им по геометрии позициям без экзоскелета. В целом, такая характеристика следует общегрупповой динамике. На рис. 3, в качестве примера, представлены индивидуальные характеристики для двух испытуемых.

“Стоячее сидение” в экзоскелете характеризовалось значительным снижением напряжения в четырехглавых мышцах для правой ноги в 6 раз, для левой ноги в 4 раза на этапе 2 ( $p < 0.001$ ) по сравнению с моделированием аналогичной по геометрии позиции без экзоскелета (этап 4); для передней большеберцовой мышцы значимых различий не установлено. На 3 этапе снижение

**Таблица 1.** Распределение добровольцев по степени влияния зрениа на регуляцию вертикальной позы, в постурографической (мДж/с) и электромиографической (ЭМГ) (мкВ с) оценках

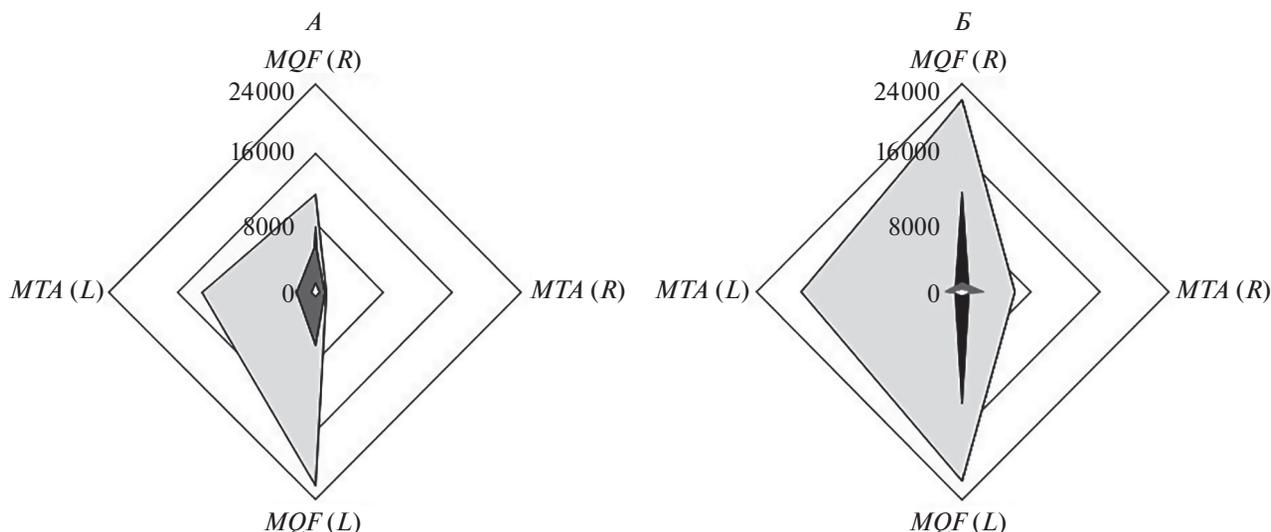
№	Постурографический критерий		ЭМГ критерий*							
	код	разность значений <i>Av</i>	левая нога (разность значений мощности произвольного движения)			правая нога (разность значений мощности произвольного движения)				
			код	<i>MOF</i>	код	<i>MTA</i>	код	<i>MOF</i>	код	<i>MTA</i>
1	<i>BaRu</i>	-3	<i>EvDm</i>	-120	<i>VaDa</i>	-190	<i>MiAr</i>	-310	<i>AgYa</i>	-18
2	<i>AgYa</i>	0	<i>AhDa</i>	-64	<i>ZiVa</i>	-75	<i>PaDa</i>	-111	<i>AhDa</i>	-5
3	<i>AiTi</i>	7	<i>ShiAl</i>	3	<i>AgYa</i>	-34	<i>KrEv</i>	-80	<i>BaRu</i>	-1
4	<i>AhDa</i>	9	<i>AgYa</i>	6	<i>ShiAl</i>	-13	<i>ShiAl</i>	-6	<i>PaDa</i>	1
5	<i>VaIl</i>	9	<i>BaRu</i>	6	<i>KrEv</i>	-10	<i>ZiVa</i>	-5	<i>ChChe</i>	19
6	<i>EvDm</i>	11	<b><i>DeNi</i></b>	<b>13</b>	<i>AhDa</i>	-4	<i>AhDa</i>	-2	<i>ShiAl</i>	22
7	<i>KuFi</i>	11	<i>VaIl</i>	15	<i>AiTi</i>	0	<i>DeNi</i>	9	<i>VaIl</i>	24
8	<i>AfVs</i>	14	<i>ZiVa</i>	19	<i>VaIl</i>	19	<i>EvDm</i>	10	<i>KuFi</i>	38
9	<b><i>ShiAl</i></b>	<b>19</b>	<i>AiTi</i>	30	<b><i>KuFi</i></b>	<b>21</b>	<i>BaRu</i>	11	<b><i>DeNi</i></b>	<b>56</b>
10	<i>PaDa</i>	32	<i>VaDa</i>	90	<i>AfVs</i>	22	<i>VaIl</i>	19	<i>KrEv</i>	76
11	<i>DeNi</i>	39	<i>KuFi</i>	90	<i>PaDa</i>	28	<b><i>VaDa</i></b>	<b>50</b>	<i>AfVs</i>	79
12	<i>MiAr</i>	65	<i>KrEv</i>	200	<i>BaRu</i>	37	<i>AgYa</i>	92	<i>AiTi</i>	98
13	<i>KrEv</i>	75	<i>PaDa</i>	239	<i>DeNi</i>	79	<i>KuFi</i>	110	<i>EvDm</i>	135
14	<i>ChChe</i>	94	<i>AfVs</i>	344	<i>EvDm</i>	105	<i>ChChe</i>	140	<i>MiAr</i>	285
15	<i>ZiVa</i>	120	<i>MiAr</i>	580	<i>ChChe</i>	205	<i>AiTi</i>	224	<i>VaDa</i>	490
16	<i>VaDa</i>	138	<i>ChChe</i>	880	<i>MiAr</i>	507	<i>AfVs</i>	349	<i>ZiVa</i>	988

*Примечание:* \* – по отдельным мышцам. Жирным шрифтом выделена медиана значений для соответствующих разностей показателей по постурографическому критерию *Av*. Серый фон – значения до медианы, белый – после.



**Рис. 2.** Групповая динамика ЭМГ-показателя мощности произвольного движения (мкВ с) в различных условиях наблюдения.

Представлены медианы и квартили значений. Цифрами обозначены этапы исследования согласно схеме на рис. 1 (фаза с закрытыми глазами исключена). Группы мышц: А – *Musculus quadriceps femoris* (левая), Б – *Musculus quadriceps femoris* (правая), В – *Musculus tibialis anterior* (левая), Г – *Musculus tibialis anterior* (правая).



**Рис. 3.** Пример индивидуальных различий показателя мощности произвольного движения у испытуемых *VaLi* (А) и *BaRu* (Б).

Светло-серый фон – низкий присед без экзоскелета; черный – высокий присед без экзоскелета; белый – низкий присед в экзоскелете; темно-серый – высокий присед в экзоскелете.

напряжения четырехглавых мышц левой и правой ноги в 7 и 9 раз соответственно ( $p < 0.001$ ); для передней большеберцовой в 4 и 6 раз ( $p < 0.001$ ) соответственно по сравнению с моделированием позы в экзоскелете (этап 5).

Таким образом, в “гибридных позах” (“стоячее сидение” в экзоскелете) наблюдается значительное снижение показателя ЭМГ у всех испытуемых по сравнению с позой без экзоскелета.

*Динамика постурографического показателя ( $A_v$ , мДж/с) добровольцев при обычном, усложненном состоянии и “стоящем сидении”.* Аналогично описанному выше, проводился анализ групповых и индивидуальных изменений между фазами наблюдения с открытыми глазами (фаза 1 этапа 1 и последующие этапы) для показателя  $A_v$ , мДж/с. В табл. 2 приведены значения показателя для всех добровольцев группы.

Установлены статистически значимые различия для всей выборки между этапами 1 (фаза с открытыми глазами) и 2: увеличение на 27%,  $p = 0.005$ . Для этапов 1 и 3 получено увеличение показателя  $A_v$  на 69%,  $p = 0.006$ . Наибольшие значения показателя  $A_v$  наблюдались для этапа 5 (679 мДж/с), а наименьшие – для этапа 1 (31 мДж/с), достигая разницы в 22 раза (усреднено). На этапе 1 фазы 1 медиана и квартили показателя – 25; 31; 67 мДж/с, для фазы 2 – 39; 52; 178 мДж/с соответственно. Сравнение общегрупповых показателей между этапом 2 и 3 не дали значимых результатов ( $p = 0.248$ ). В среднем показателя  $A_v$  в “гибридных позах” были равны 41 и 54 мДж/с, соответственно, для этапов 2 и 3. Показатели для внешне похожих поз, но без поддержки экзоске-

лета (этапы 4 и 5) значительно отличались от предыдущих.

В подгруппе более зависимых в плане влияния зрения на стабильность вертикальной позы (коды, выделенные полужирным, табл. 2) с помощью критерия Фридмана установлены значимые отличия значений показателя  $A_v$  на этапах 2 и 3 от этап 1 (открытые глаза),  $p = 0.02$ . В отличие от тех добровольцев, у которых вклад зрения меньше, и где не наблюдалось значимых отличий (коды, выделенные полужирным, табл. 2). При этом у добровольцев с меньшим “вкладом” зрения в “гибридных позах” наблюдались меньшие значения показателя  $A_v$ , чем у других. В частности, для 1-й подгруппы на 3-м этапе  $Me = 38$  (30; 94), а для 2-й  $Me = 41$  (38; 194) мДж/с. Аналогично и для 4-го этапа:  $Me = 39$  (29; 63) и  $Me = 94$  (58; 193) мДж/с.

Таким образом, можно полагать, что повышение параметра  $A_v$  здесь отражало меньшую скоординированность или большую расслабленность (“мягкость”) позы при использовании экзоскелета (“стоячее сидение”) по сравнению с обычной вертикальной позой (этап 1). В тоже время, использование экзоскелета значительно улучшало постуральную устойчивость по сравнению с похожими позами без экзоскелета (в этапах 4 и 5). При этом добровольцы с большим “вкладом” зрения в сенсорное обеспечение обычной вертикальной позы были менее стабильны в “гибридных позах” по сравнению с теми, у кого “вклад” зрения был меньше.

**Таблица 2.** Индивидуальные значения показателя  $A_v$  (мДж/с) у добровольцев выборки

№	Код добровольца	Этапы наблюдения (согласно схеме на рис. 1)				
		1*	2	3	4	5
1	<i>BaRu</i>	24	30	45	156	962
2	<i>AgYa</i>	39	92	46	171	356
3	<i>AiTi</i>	32	33	32	123	547
4	<i>AhDa</i>	21	43	130	317	812
5	<i>VaIl</i>	44	16	22	85	321
6	<i>EvDm</i>	27	98	113	248	1566
7	<i>KuFi</i>	26	29	11	186	961
8	<i>AfVs</i>	44	395	31	284	1661
9	<b><i>ShiAl</i></b>	<b>31</b>	<b>42</b>	<b>61</b>	<b>170</b>	<b>404</b>
10	<b><i>PaDa</i></b>	<b>20</b>	<b>39</b>	<b>15</b>	<b>78</b>	<b>364</b>
11	<b><i>DeNi</i></b>	<b>30</b>	<b>37</b>	<b>47</b>	<b>154</b>	<b>1067</b>
12	<b><i>MiAr</i></b>	<b>21</b>	<b>26</b>	<b>65</b>	<b>191</b>	<b>849</b>
13	<b><i>KrEv</i></b>	<b>67</b>	<b>38</b>	<b>122</b>	<b>139</b>	<b>421</b>
14	<b><i>ChChe</i></b>	<b>65</b>	<b>191</b>	<b>164</b>	<b>173</b>	<b>337</b>
15	<b><i>ZiVa</i></b>	<b>43</b>	<b>225</b>	<b>280</b>	<b>118</b>	<b>283</b>
16	<b><i>VaDa</i></b>	<b>40</b>	<b>204</b>	<b>458</b>	<b>217</b>	<b>1376</b>

*Примечание:* \* – для фазы с открытыми глазами. Порядок добровольцев – по степени влияния зрения на регуляцию вертикальной позы в постурографической оценке (по табл. 1). Жирным шрифтом выделены испытуемые с большим вкладом зрения в поддержание стабильности вертикальной позы.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Разделение испытуемых на условно “визуалов” и “проприоцептиков” по простому тесту на силовой платформе с открыванием и закрыванием глаз может представлять практический интерес для прогноза успешности освоения экзоскелетов. В том числе, в реабилитационных целях. Например, для возможной дифференциации нагрузок и длительности курса при обучении или восстановительном тренинге в экзоскелете, для прогнозирования эффективности занятий и так далее. Возможно, что “проприоцептики” будут иметь некоторые преимущества, но, данные предположения нуждаются в более тщательной проверке. Также можно полагать, что различные свойства материала – прилегающих к телу частей устройства, а также плотность прилегания устройства к телу, могут оказывать влияние на эффективность применения экзоскелета за счет обеспечения большей или меньшей роли тактильной чувствительности, с чем может быть связано изменение стабильности позы – по типу ранее описанного [18].

Снижение стабильности позы при закрытых глазах в данном наблюдении было обусловлено большей компенсаторной активностью мышц ног, по типу описанных ранее “голеностопной” и “тазобедренной” стратегий [19]. В “гибридных позах” изменение активности мышц, перерас-

пределение нагрузки, тесно связано со свойствами экзоскелета. Таким образом, форма экзоскелета, заданные углы поддержки конечностей и другие характеристики устройства будут влиять на способы компенсации человеком возникающих возмущений для баланса тела. Важной особенностью “гибридных поз” является сниженная активность мышц ног по сравнению с похожими позами без экзоскелета. Можно полагать, что отсюда может следовать меньшая готовность к внезапным нарушениям баланса, т.е., риску падений в случае, если конструкция экзоскелета не предусматривает какую-либо страховку или устройство компенсации. Понимая, что в случае ходьбы в пассивных или применения активных экзоскелетов будут важны также факторы инерции и другие, полагаем, что данное наблюдение в статичных позах также может играть роль “базового” для дальнейших исследований перемещения человека.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В отличие от обычного вертикального стояния в “гибридных позах” (между стоянием и сидением в случае применения экзоскелетов данного типа), снижается электрическая активность исследуемых мышц ног (*Musculus quadriceps femoris*, *Musculus tibialis anterior*). В отличие от внешне похожих поз, но без экзоскелета, в “гибридных по-

зах” напряжение мышц ног намного меньше. При этом баланс тела добровольцев в пассивном экзоскелете в данном наблюдении в “гибридных позах” отличается от обычной вертикальной позы несколько меньшей стабильностью (по реакции опоры) и перераспределением активности мышц ног, обусловленных влиянием устройства. По сравнению с внешне похожими позами, но без экзоскелета, стабильность по реакции опоры в “гибридных позах” лучше. Большой вклад проприоцепции в контроль обычной вертикальной позы в данном наблюдении соответствовал лучшему контролю “гибридных поз” в экзоскелете.

**Этические нормы.** Соблюдались современные этические нормы в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации и ГОСТ Р 56509-2015 “Услуги населению. Надлежащая практика гуманитарных исследований”. А также, согласно требованиям локальной этической комиссии НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина (Москва).

**Информированное согласие.** Каждый участник исследования представил добровольное письменное информированное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования.

**Финансирование работы.** В рамках работы ФГБНУ НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина и ФГБОУ ВО Национальный исследовательский университет “МЭИ”.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Письменная Е.В., Петрушанская К.А., Котов С.В. и др.* Клинико-биомеханическое обоснование применения экзоскелета “Экзоатлет” при ходьбе больных с последствиями ишемического инсульта // Российский журнал биомеханики. 2019. Т. 23. № 2. С. 204.  
*Pismennaya E.V., Petrushanskaya K.A., Kotov S.V. et al.* Clinical and biomechanical foundation of application of the exoskeleton exoatlet at walking of patients with poststroke disturbances // Russian Journal of Biomechanics. 2019. V. 23. № 2. P. 168.
2. *Schmalz T., Schändlinger J., Schuler M. et al.* Biomechanical and Metabolic Effectiveness of an Industrial Exoskeleton for Overhead Work // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2019. V. 16. № 23. P. 4792.
3. *Hensel R., Keil M.* Subjective evaluation of a passive industrial exoskeleton for lower-back support: A field study in the automotive sector // IISE Transactions on Occupational Ergonomics and Human Factors. 2019. V. 7. № 3–4. P. 213.
4. *Noé F., García-Massó X., Delaygue P. et al.* The influence of wearing ski-boots with different rigidity characteristics on postural control // Sports Biomech. 2020. V. 19. № 2. P. 157.
5. *Totaro M., Di Natali C., Bernardeschi I. et al.* Mechanical Sensing for Lower Limb Soft Exoskeletons: Recent Progress and Challenges / Robotics in Healthcare, 2019. P. 69.
6. *Bloem B.R., Allum J.H., Carpenter M.G. et al.* Triggering of balance corrections and compensatory strategies in a patient with total leg proprioceptive loss // Exp. Brain Res. 2002. V. 142. № 1. P. 91.
7. *Fasola J., Vouga T., Baud R. et al.* Balance Control Strategies during Standing in a Locked-Ankle Passive Exoskeleton // IEEE Int. Conf. Rehabil. Robot. 2019. V. 2019. P. 593.
8. *Гурфинкель В.С., Дебрева Е.Е., Левик Ю.С.* Роль внутренней модели в восприятии положения и планировании движения // Физиология человека. 1986. Т. 12. № 5. С. 769.  
*Gurfinkel V.S., Debreva E.E., Levik Y.S.* [Role of internal model in the position perception and planning of arm movement] // Fiziologiya Cheloveka. 1986. V. 12. № 5. P. 769.
9. *Кубряк О.В., Багдасарьян Н.Г., Глазачев О.С. и др.* Инструменты исследователя и врача: границы достижимых результатов и влияние на выводы исследований / По материалам круглого стола на XIV Вейновских чтениях. К 120-летию П.К. Анохина // Мониторинг общественного мнения: Экономические и социальные перемены. 2018. № 6. С. 386.  
*Kubryak O.V., Bagdasar'yan N.G., Glazachev O.S. et al.* Researcher's and doctor's tools: the boundaries of achievable results and the impact on the study findings / Proceedings of the XIV Vein Conference round table held on February 10th. 2018 (to the 120th anniversary of P.K. Anokhin) // Public Opinion Monitoring. 2018. № 6. P. 386.
10. *Анохин П.К.* Общие принципы компенсации нарушенных функций и их физиологическое обоснование. М.: АПН РСФСР, 1955. С. 20.
11. *Noguchi M., Glinka M., Mayberry G.R. et al.* Are hybrid sit-stand postures a good compromise between sitting and standing? // Ergonomics. 2019. V. 62. № 6. P. 811.
12. *Baker D.H., Vilidaitė G., Lygo F.A. et al.* Power contours: Optimising sample size and precision in experimental psychology and human neuroscience // Psychol. Methods. 2020.  
<https://doi.org/10.1037/met0000337>
13. *Мощенко М.Г., Егоров Г.П., Бабанов Н.Д., Кубряк О.В.* Пассивный экзоскелет нижних конечностей человека и облегченный протокол оценки физиологической эффективности // Динамика сложных систем – XXI век. 2019. Т. 13. № 4. С. 23.
14. *Лавровский Э.К., Письменная Е.В.* О походках оператора в пассивном экзоскелете нижних конечностей при использовании режима закрепленного колена // Мехатроника, автоматизация, управление. 2020. Т. 21. № 1. С. 34.
15. *Гроховский С.С., Кубряк О.В.* Метод интегральной оценки эффективности регуляции позы человека // Медицинская техника. 2018. Т. 52. № 2(308). С. 49.  
*Grokhovskii S.S., Kubryak O.V.* A method for integral assessment of the effectiveness of posture regulation in

- humans // Biomedical Engineering. 2018. V. 52. № 2. P. 138.
16. *Cavagna G.A.* Force platforms as ergometers // J. Appl. Physiol. 1975. V. 39. № 1. P. 174.
17. *Николаев С.Г.* Атлас по электромиографии. 2-е изд., испр. и доп. Иваново: ПресСто, 2015. С. 487.
18. *Кожина Г.В., Левик Ю.С., Попов А.К., Сметанин Б.Н.* Влияние пассивного тактильного контакта руки на поддержание вертикальной позы человека // Физиология человека. 2017. Т. 43. № 4. С. 70.
19. *Horak F.B.* Postural strategies associated with somatosensory and vestibular loss // Exp. Brain Res. 1990. V. 82. № 1. P. 167.
- Kozhina G.V., Levik Y.S., Popov A.K. et al.* Influence of passive tactile contact of arms on the maintenance of upright posture in humans // Human Physiology. 2017. V. 43. № 4. P. 416.

## Balance of the Human Body in “Hybrid Poses” Between Standing and Sitting in a Passive Exoskeleton of the Lower Limbs

**N. D. Babanov<sup>1,\*</sup>, I. V. Merkurjev<sup>2</sup>, O. V. Kubryak<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Anokhin Research Institute of Normal Physiology, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*National Research University “Moscow Power Engineering Institute”, Moscow, Russia*

\*E-mail: n.babanov@nphys.ru

An observation on 16 healthy volunteers showed differences in body balance in “hybrid poses” between standing and sitting in an exoskeleton from normal vertical standing and from similar poses without an exoskeleton. Differences from the usual vertical posture in the conditions of this observation were manifested by a slightly reduced stability (on the power platform) and a redistribution of activity of the leg muscles according to surface electromyography. In contrast to the seemingly similar poses, but without an exoskeleton, in “hybrid poses” the leg muscle tension is less. Initially, a more pronounced role of proprioception in body balance is associated with a clearer control of balance in the “hybrid pose” in the exoskeleton.

*Keywords:* vertical pose, sensory support of the pose, functional state, posturography, stabilometry, support reactions, electromyography, exoskeleton, “hybrid poses”.

УДК 612.766.1

## БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ХОДЬБЫ И БЕГА ПРИ РАЗГРУЗКЕ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ВЕРТИКАЛЬНОГО ВЫВЕШИВАНИЯ

© 2021 г. А. В. Шпаков<sup>1</sup>, \*, А. В. Воронов<sup>2</sup>, А. А. Артамонов<sup>1</sup>,  
Д. О. Орлов<sup>1</sup>, А. А. Пучкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Государственный научный центр РФ – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

<sup>2</sup>ФГБУ Федеральный научный центр физической культуры и спорта, Москва, Россия

\*E-mail: avshpakov@gmail.com

Поступила в редакцию 02.06.2020 г.

После доработки 11.06.2020 г.

Принята к публикации 24.12.2020 г.

В статье представлены результаты биомеханического анализа локомоций (ходьба и бег) на беговой дорожке в нормальных условиях и в условиях снижения весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат человека до величины 70% веса тела. Исследование выполнено с участием 24 практически здоровых испытуемых-добровольцев  $25.1 \pm 5.2$  лет, массой тела от 66 до 90 кг ( $77.7 \pm 6.7$  кг), длиной тела от 172 до 192 см ( $179.7 \pm 6.3$  см). Испытуемым в ходе исследования предлагали выполнить два локомоторных теста на беговой дорожке: ходьбу со скоростью 4.5 км/ч и бег со скоростью 10 км/ч при различных величинах весовой разгрузки на опорно-двигательный аппарат: 100 и 70% веса тела. Изменение весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат производили методом вертикального вывешивания. Регистрировали и анализировали кинематические, пространственно-временные параметры, опорные реакции локомоций и электромиографическую (ЭМГ) активность мышц нижней конечности. Результаты исследования выявили существенные различия в величинах опорных реакций локомоций, а также кинематических параметрах, что выражалось в уменьшении величин угловых перемещений в коленном и голеностопном суставах в фазах заднего толчка и переноса ноги. Анализ ЭМГ мышц голени и бедра позволил определить вклад мышц в реализации ходьбы и бега на беговой дорожке при различной весовой нагрузке. Во время ходьбы при разгрузке опорно-двигательного аппарата до 30% веса тела выявлено значительное снижение ЭМГ-стоимости (в пределах 9–23% по сравнению с нормальной ходьбой). Во время бега снижение ЭМГ-стоимости при изменении весовой нагрузки варьировало от 8 до 37%. Разгрузка веса тела человека до 30% приводит к снижению усилий на выполнение отталкивания. Кроме того, результаты исследования указывают на изменение вклада мышц голени и бедра при выполнении локомоций в условиях снижения весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат.

**Ключевые слова:** локомоции, видеоанализ движений, вертикальное вывешивание, электромиография, углы в суставах, опорные реакции, гравитационная нагрузка.

**DOI:** 10.31857/S0131164621030164

Первыми исследования, направленными на изучение локомоторных движений человека справедливо считать работы советских ученых [1] и их американских коллег [2]. Исследователи, анализируя локомоторные движения с различной скоростью передвижения при вывешивании на Земле, т.е. при снижении веса до 1/6 земного, отметили у испытуемых развитие четкой флексорной установки.

Для противодействия факторам космического полета [3, 4] и поддержания высокого уровня физической работоспособности космонавтов во время длительных космических полетов (КП),

необходимо выполнение высокоинтенсивных ежедневных физических тренировок на борту Международной космической станции (МКС) [5–8]. Опыт медико-биологического обеспечения длительных КП позволил определить, что основным средством профилактики в условиях космических экспедиций являются интервальные тренировки на беговой дорожке [9, 10]. При выполнении физических тренировок космонавтам рекомендовано использовать величину притяга, составляющую около 70% [11]. В настоящее время довольно подробно изучены отдельные характеристики выполнения тренировок космонавтов

на беговой дорожке во время длительных КП: показатели кардио-респираторной системы [12, 13], величины опорных реакций [14, 15]. Следует отметить, что при тренировках не все космонавты придерживаются рекомендаций специалистов по поддержанию 70% осевой нагрузки. Величину нагрузки космонавт выбирает в соответствии с самочувствием и, как показывают наблюдения, она варьирует примерно от 35 до 75% от веса тела [11]. Методом вертикального вывешивания на беговой дорожке можно оценить влияние весовой нагрузки на кинематику и динамику локомоций в наземных условиях.

Цель исследования состояла в сравнительном анализе биомеханических характеристик циклических локомоций человека, выполняемых на беговой дорожке в нормальных условиях и в условиях снижения весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат до величины 70% веса тела.

### МЕТОДИКА

В исследовании принимали участие 24 практически здоровых испытуемого-добровольца (мужчины в возрасте от 20 до 36 лет ( $25.1 \pm 5.2$  лет), массой тела от 66 до 90 кг ( $77.7 \pm 6.7$  кг), длиной тела от 172 до 192 см ( $179.7 \pm 6.3$  см)). Испытуемым в ходе исследования предлагали выполнить два локомоторных теста на беговой дорожке *H/P/Cosmos Mercury 4.0 (H/P/Cosmos sports & medical gmbh, Германия)*, которые включали ходьбу со скоростью 4.5 км/ч и бег со скоростью 10 км/ч при различных величинах весовой разгрузки на опорно-двигательный аппарат: 100 и 70% веса тела. Локомоторный тест испытуемые выполняли в течение 2 мин для каждого вида локомоций. В конце 2-й мин регистрировали биомеханические параметры движений, длительностью 20 с. Таким образом, в течение 20-секундной записи – регистрировали 10 двойных шагов при ходьбе и 20 двойных шагов при беге.

Определение веса тела испытуемых перед исследованием производили с использованием тензометрических платформ *Kistler (Kistler Group, Швейцария)*, установленных под полотном беговой дорожки. Изменение и регулирование гравитационной нагрузки на опорно-двигательный аппарат производили методом вертикального вывешивания с использованием системы *H/P/Cosmos-Airwalk (H/P/Cosmos sports & medical gmbh, Германия)*, состоящей из воздушного компрессора, рамной конструкции и специального жилета.

Опорные реакции локомоций регистрировали тензометрическими платформами *Kistler* с использованием программного обеспечения “*Kistler Gateway*” (*Kistler Group, Швейцария*). Беговая дорожка была оснащена двумя силовыми платформами под полотном, расположенными так, что

первая платформа расположена в передней части, а вторая – задней области передвижения. Каждая платформа содержала четыре пьезоэлектрических одноосных тензодатчика, которые измеряют вертикальную составляющую реакции опоры [16]. В нашем исследовании данные с тензодатчиков регистрировали с частотой 100 Гц с использованием программного обеспечения, предоставленного производителем беговой дорожки. При анализе опорных реакций рассчитывали следующие показатели:

1) *время двойного шага* – время от постановки стопы на опору до следующей постановки стопы на опору той же ноги;

2) *длина двойного шага* – расстояние, от постановки стопы на опору до следующей постановки на опору одноименной ноги;

3) *время одиночной опоры* – время от постановки стопы на опору до отрыва носка при отталкивании;

4) *время двойной опоры* – временной отрезок, в течение которого обе стопы касаются опоры;

5) *первый пик реакции опоры* – максимальная вертикальная сила (нормировали на массу тела испытуемых); реакции для каждой стопы при первом толчке;

6) *второй пик реакции опоры* – максимальная сила реакции при заднем толчке;

7) *индекс нарастания силы в фазе переднего толчка* – угол наклона силы вертикальной реакции в точках от 10 до 90% от максимальной силы переднего толчка;

8) *индекс снижения силы в фазе заднего толчка* – угол наклона силы вертикальной реакции в точках от 90 до 10% от максимальной силы заднего толчка;

9) *база шага* – среднее расстояние между передне-задней линией центра давления правой стопы и передне-задней линией центра давления левой ноги;

10) *опора: мах* – соотношение опорного и безопорного периода двойного шага.

Для оценки ЭМГ-стоимости (ЭМГ-активности мышц нижней конечности) локомоций использовали 8-канальный электромиограф Спорт Лаб, входящий в состав системы видеонализа движений Видеоанализ-3D-Биософт (НМФ “Биософт”, Россия). Запись видеоизображения и ЭМГ синхронизирована, что позволяет выполнять анализ кинематических (углы в суставах) и ЭМГ-параметров с точностью до 1 мс. Частота регистрации видеосигнала – 90 Гц, ЭМГ – 1000 Гц с фильтрацией в диапазоне 15–500 Гц. Регистрировали ЭМГ следующих мышц левой нижней конечности: *m. tibialis anterior, m. soleus, m. gastrocnemius medialis, m. vastus lateralis, m. rectus femoris, m. biceps femoris caput longum*.

**Таблица 1.** Биомеханические характеристики ходьбы и бега при различной весовой нагрузке на опорно-двигательный аппарат ( $M \pm$  Ст. отк.)

Показатели <sup>1</sup>	Ходьба-100%	Ходьба-70%	Бег-100%	Бег-70%
Масса тела, кг	77.7 ± 6.7	54.0 ± 5.0	77.7 ± 6.7	54.0 ± 5.0
Время двойного шага, с	1.11 ± 0.03	1.10 ± 0.09	0.75 ± 0.04	<b>0.77 ± 0.05</b>
Длина двойного шага, см	137.5 ± 4.7	137.8 ± 13.7	204.4 ± 11.4	<b>216.1 ± 20.1</b>
Время одиночной опоры, с	0.72 ± 0.03	<b>0.68 ± 0.05</b>	0.34 ± 0.02	<b>0.32 ± 0.03</b>
Время двойной опоры, с	0.16 ± 0.02	<b>0.12 ± 0.02</b>		
Амплитуда первого пика реакции опоры, в % веса тела	112 ± 7	117 ± 14	185 ± 27	202 ± 19
Амплитуда второго пика реакции опоры, в % веса тела	80 ± 7	<b>75 ± 10</b>	185 ± 20	<b>166 ± 25</b>
Индекс нарастания силы в фазе переднего толчка, у. е.	6189 ± 1408	6602 ± 1215	14679 ± 4612	<b>18222 ± 3616</b>
Индекс снижения силы в фазе заднего толчка, у. е.	4399 ± 994	<b>1570 ± 755</b>	10616 ± 2002	<b>7508 ± 2248</b>
База шага, см	13.2 ± 1.6	14.6 ± 1.6	8.4 ± 2.3	<b>10.5 ± 2.9</b>
Отношение ОПОРА : МАХ, %	65 : 35	62 : 38	45 : 55	40 : 60

Примечание: <sup>1</sup> – определения показателей см. в разделе Методика. Достоверность различий относительно параметров, зарегистрированных при локомоциях с нагрузкой 100% веса тела:  $p < 0.05$  (жирный шрифт).

Время двойного шага рассчитывали от постановки стопы левой ноги на опору до следующей постановки одноименной стопы на опору. Время каждого двойного шага приводили к 100% и усредняли профили углов в тазобедренном, коленном, голеностопном суставах левой нижней по 10 двойным шагам. Углы в суставах нижней конечности рассчитывали:

1) в тазобедренном суставе с фронтальной стороны от вертикали до продольной линии соединяющей центры тазобедренного и коленного суставов;

2) в коленном суставе с дорсальной стороны между линиями, соединяющими центры тазобедренного, коленного и голеностопного суставов;

3) в голеностопном суставе с фронтальной стороны между линиями, соединяющими центры коленного, голеностопного и плюснефалангового сустава первого пальца стопы.

Кинематические показатели анализировали в трех точках двойного шага: при постановке стопы на опору, во время отталкивания и при переносе ноги в периоде маха (в точке минимального угла в коленном суставе).

Обработку ЭМГ выполняли в следующей последовательности: фильтрация механограммы, инвертирование, сглаживание скользящим средним с окном 100 мс. Рассчитывали профили ЭМГ-активности мышц нижней конечности, а также ЭМГ-стоимость локомоторных движений, определяемую по амплитуде сглаженной ЭМГ (миоэлектрическая работа).

Статистическую обработку результатов исследования проводили при помощи программы *Statistica 8* с использованием *T*-критерия Вилкоксона. Статистическую значимость отличий биоме-

ханических характеристик локомоций при 100 и 70% веса тела принимали при достоверности отличий  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Биомеханические характеристики ходьбы и бега при различной весовой нагрузке представлены в табл. 1. Масса тела при выполнении локомоций с нагрузкой 70% веса тела составляла  $54.0 \pm 5.0$  кг, что в полной мере согласуется с рекомендациями российских специалистов по профилактике для тренировок космонавтов на беговой дорожке в ходе длительных экспедиций на МКС [11].

*Динамические характеристики ходьбы и бега.* Величины опорных реакций в фазе переднего толчка незначительно увеличились по сравнению с ходьбой-100%. Индекс нарастания силы также увеличился до  $6602 \pm 1215$  у. е. (против  $6189 \pm 1408$  у. е. при ходьбе-100%, табл. 1). В противоположность этим изменениям, величины опорных реакций во время фазы заднего толчка (отталкивания) достоверно ( $p < 0.05$ ) снижались, что указывает на снижение эффективности отталкивания при выполнении ходьбы в условиях разгрузки.

При снижении весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат при беге наблюдали: 1) увеличение индекса нарастания силы в фазе переднего толчка с 14679 до 18222, что означает более быструю постановку стопы на опору; 2) уменьшение индекса снижения силы в фазе заднего толчка с 10616 до 7508, что свидетельствует о снижении скорости выполнения отталкивания.

*Кинематические характеристики бега.* Бег-70% характеризуется незначительным, но достоверным увеличением по сравнению с бегом при 100% как длины (на 12 см), так и времени двойного ша-

**Таблица 2.** Величины углов (в градусах) в суставах нижней конечности при выполнении бега и ходьбы на беговой дорожке с различной весовой нагрузкой на опорно-двигательный аппарат ( $M \pm \text{Ст. отк.}$ )

Сустав	Величина весовой нагрузки, в % веса тела	Постановка стопы на опору – фаза переднего толчка	Отталкивание – фаза заднего толчка	Перенос ноги – период маха
Результаты биомеханического анализа ходьбы				
ТБС	100	155 ± 3	192 ± 3	155 ± 4
	70	<b>160 ± 4</b>	191 ± 3	<b>160 ± 5</b>
КС	100	170 ± 5	164 ± 4	112 ± 5
	70	172 ± 4	<b>159 ± 6</b>	<b>118 ± 6</b>
ГС	100	109 ± 4	125 ± 5	108 ± 4
	70	108 ± 4	<b>127 ± 7</b>	108 ± 4
Результаты биомеханического анализа бега				
ТБС	100	155 ± 3	195 ± 3	151 ± 4
	70	158 ± 3	195 ± 3	<b>158 ± 4</b>
КС	100	155 ± 4	144 ± 5	90 ± 11
	70	159 ± 4	142 ± 5	<b>101 ± 9</b>
ГС	100	100 ± 5	126 ± 6	102 ± 6
	70	99 ± 5	130 ± 6	103 ± 6

*Примечание:* ТБС – тазобедренный сустав; КС – коленный сустав; ГС – голеностопный сустав. Достоверность различий относительно параметров, зарегистрированных при локомоциях с нагрузкой 100% веса тела:  $p < 0.05$  (жирный шрифт).

га (на 20 мс, табл. 1). Соотношение опорного и безопорного периодов двойного шага также претерпевает изменения при снижении весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат.

В табл. 2 и на рис. 1 представлены углы в суставах левой нижней конечности. Весовая разгрузка минимально влияет на профили углов в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах. Сравнение величины углов в трех точках бегового цикла показало, что достоверные различия есть в периоде маха, когда одновременное уменьшение сгибания в тазобедренном суставе на 7 и в коленном суставе на 10 град компенсируется подъемом общего центра массы тела (ОЦМ) на 5 см. Весовая “разгрузка” голеностопного сустава (Бег-70%) увеличивает амплитуду разгибания голеностопного сустава в фазе заднего толчка на 4 град.

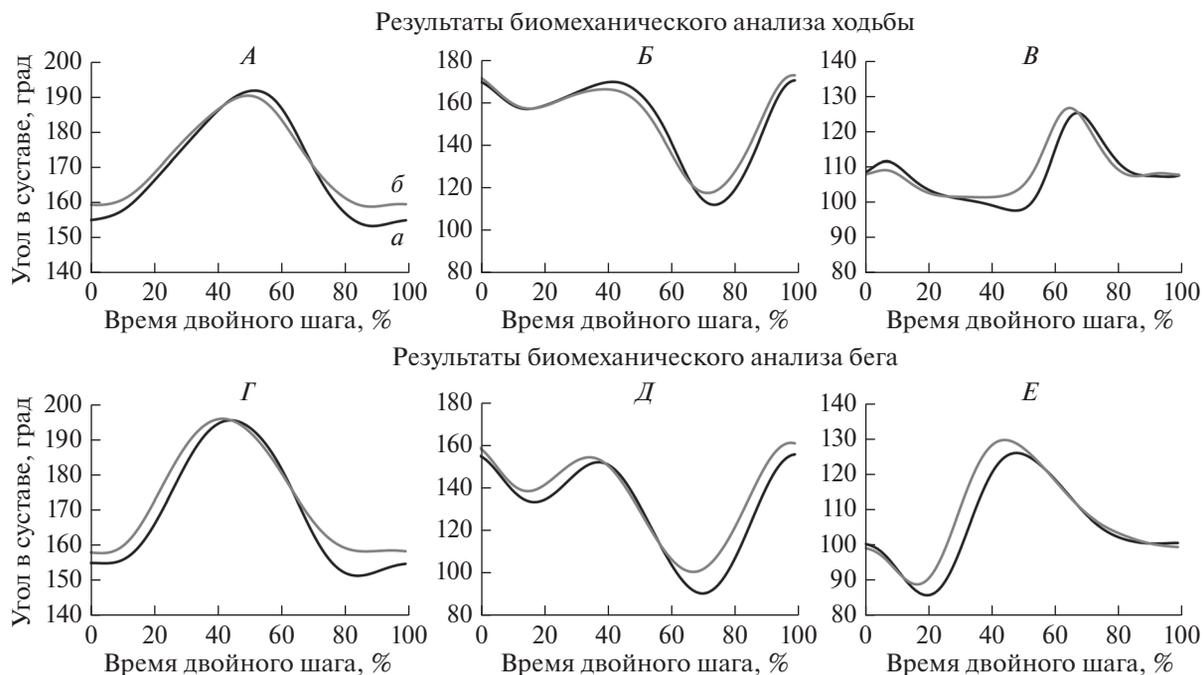
*Кинематические характеристики ходьбы.* Достоверных изменений времени и длины двойного шага при опорной разгрузке по сравнению с ходьбой при 100% веса тела обнаружено не было (табл. 1). Как при ходьбы с собственным весом, так и при его снижении до 70% время двойного шага составляет 1.1 с и длина 137 см. Разгрузка влияет на фазовый состав ходьбы, снижая опорный период с 0.88 до 0.80 с. Увеличение базы шага при ходьбе – 70% было незначительным в пределах 1 см.

В тазобедренном суставе при локомоциях с нагрузкой 70% веса тела наблюдали увеличение ( $p < 0.05$ ) углов при постановке стопы на опору,

а также при переносе ноги в периоде маха. Во время отталкивания каких-либо изменений в величинах суставных углов тазобедренного сустава, как во время ходьбы с нагрузкой 70% веса тела выявлено не было. В коленном и голеностопном суставах достоверных различий при ходьбе с разной весовой нагрузкой выявлено не было.

Дополнительным параметром, характеризующим изменения кинематики локомоций в условиях снижения весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат, является высота подъема стопы над опорной поверхностью [17, 18]. Рис. 2 иллюстрирует изменения высоты подъема стопы при различных условиях ходьбы. При ходьбе-100% максимальная высота подъема стопы составляла  $39.5 \pm 3.1$  мм, при беге-100% высота подъема стопы достигала  $74.8 \pm 9.4$  мм. Снижение весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат до 70% веса тела обуславливало снижение максимальной высоты подъема стопы над опорной поверхностью до  $32.8 \pm 3.5$  мм при ходьбе и до  $56.8 \pm 7.4$  мм при беге.

В исследовании [19] было показано, что изменение нагрузки на опорно-двигательный аппарат до 38 и 16% веса тела методом вертикального вывешивания существенно изменяет моторный паттерн ходьбы человека. В настоящем исследовании мы проанализировали ЭМГ-стоимость локомоций, как наиболее интегральный показатель состояния мышечного аппарата человека.



**Рис. 1.** Профили углов в суставах нижней конечности при выполнении бега и ходьбы на беговой дорожке с различной весовой нагрузкой на опорно-двигательный аппарат.

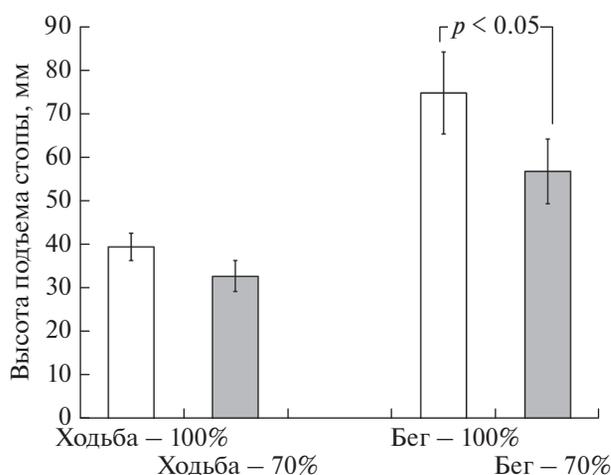
*A, B, B* – результаты анализа ходьбы, *Г, Д, E* – результаты анализа бега. *A и Г* – тазобедренный сустав, *Б и Д* – коленный сустав, *В и E* – голеностопный сустав; *a* – профили углов при 100% веса тела, *б* – при 70% веса тела.

Результаты анализа ЭМГ-активности мышц нижней конечности представлены на рис. 3 и в табл. 3.

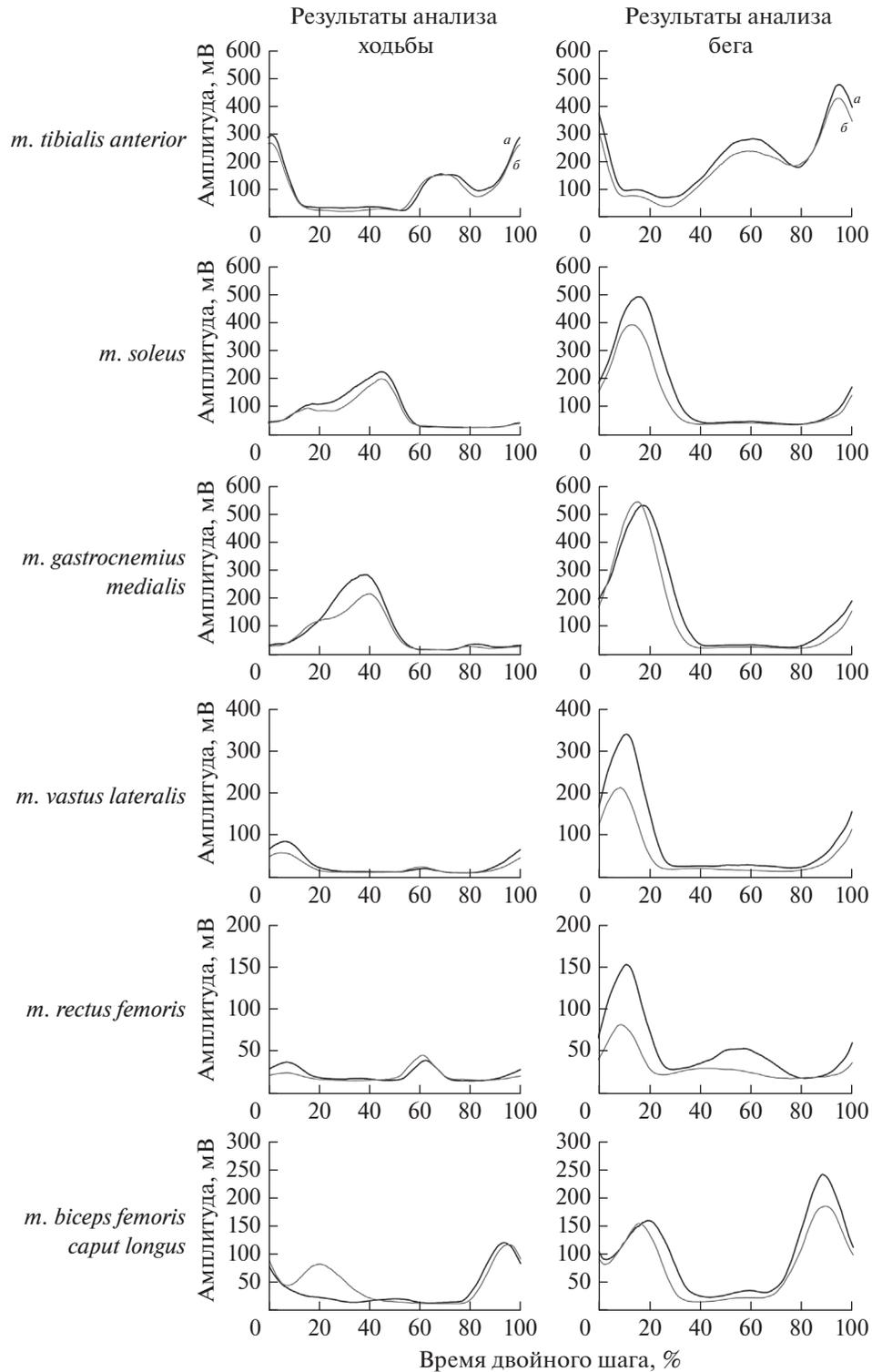
**ЭМГ-активность при ходьбе.** Анализ профилей ЭМГ-активности мышц нижней конечности при локомоциях с нагрузкой на опорно-двигательный аппарат 100 и 70% веса тела выявил следующие отличия. Так при ходьбе-70%, наблюдали снижение ЭМГ-активности экстензоров голеностопного сустава *m. soleus* и *m. gastrocnemius medialis* в опорном периоде двойного шага, когда эти мышцы проявляют свою максимальную активность, участвуя в разгибании голеностопного сустава в фазе заднего толчка. Со стороны разгибателей коленного сустава *m. vastus lateralis* и *m. rectus femoris* можно отметить незначительное снижение ЭМГ-активности в самом начале шага, что связано с вывешиванием и, соответственно, с уменьшением “работы” мышц для поддержания веса тела. При ходьбе-70% происходило увеличение ЭМГ-активности *m. biceps femoris caput longus* в фазе переднего толчка. Объяснение этому можно дать следующее: при ходьбе со сниженной весовой нагрузкой сила отталкивания мышц не меняется (вес уменьшился на 30%, а пик вертикальной составляющей реакции опоры снизился только на 6%). Следовательно, чтобы двигаться со скоростью 4.5 км/ч в фазе переднего толчка необходимо сильнее затормозить массу тела, что вызывает увеличение ЭМГ-активности мышц *m. biceps femoris caput longus* (рис. 3).

Время достижения максимальных экстремумов ЭМГ при ходьбе-70% не изменяется по сравнению с ходьбой-100% и приходится на отрезок 40–50% времени двойного шага.

**ЭМГ-активность при беге.** Изменения ЭМГ-активности мышц нижней конечности при выполнении бега-70% в целом соответствовали таким же изменениям при ходьбе-70%:



**Рис. 2.** Высота подъема стопы при выполнении локомоций на беговой дорожке с различной весовой нагрузкой на опорно-двигательный аппарат.



**Рис. 3.** Профили ЭМГ-активности мышц нижней конечности при выполнении бега и ходьбы на беговой дорожке с различной весовой нагрузкой на опорно-двигательный аппарат. Представлены индивидуальные профили одного испытуемого. Аналогичные профили и их формы были зарегистрированы при ходьбе и беге у остальных испытуемых. *a* – показатели ЭМГ-активности мышц при 100% веса тела, *б* – при 70% веса тела.

**Таблица 3.** Показатели ЭМГ-стоимости локомоций по данным ЭМГ-активности мышц нижней конечности при выполнении бега и ходьбы на беговой дорожке с различной весовой нагрузкой на опорно-двигательный аппарат (у. е.)

Мышца	Результаты биомеханического анализа ходьбы			Результаты биомеханического анализа бега		
	100% веса тела	70% веса тела	% изменений	100% веса тела	70% веса тела	% изменений
<i>m. tibialis anterior</i>	110.6 ± 23.5 <sup>1</sup>	96.8 ± 16.5	-12.5	158.3 ± 32.9	143.5 ± 30.8	-9.4
<i>m. soleus</i>	96.6 ± 20.0	<b>81.0 ± 21.8</b>	-17.9	106.8 ± 19.8	<b>87.7 ± 17.3</b>	-17.9
<i>m. gastrocnemius medialis</i>	102.4 ± 19.5	<b>79.7 ± 15.5</b>	-22.1	116.5 ± 19.8	107.0 ± 18.1	-8.1
<i>m. vastus lateralis</i>	31.1 ± 7.3	<b>23.9 ± 3.5</b>	-23.1	63.9 ± 18.9	<b>40.6 ± 12.0</b>	-36.5
<i>m. rectus femoris</i>	23.5 ± 3.8	21.4 ± 5.5	-9.0	39.3 ± 10.8	<b>24.8 ± 7.0</b>	-36.8
<i>m. biceps femoris caput longus</i>	39.6 ± 12.2	48.3 ± 22.0	+22.1	74.4 ± 27.9	61.7 ± 16.6	-17.1

Примечание: <sup>1</sup> – среднее арифметическое ± стандартное отклонение. <sup>2</sup> – достоверность различий относительно параметров, зарегистрированных при локомоциях с нагрузкой 100% веса тела:  $p < 0.05$  (жирный шрифт).

– снижение амплитуды ЭМГ при постановке стопы на опору ( $t < 40\%$ );

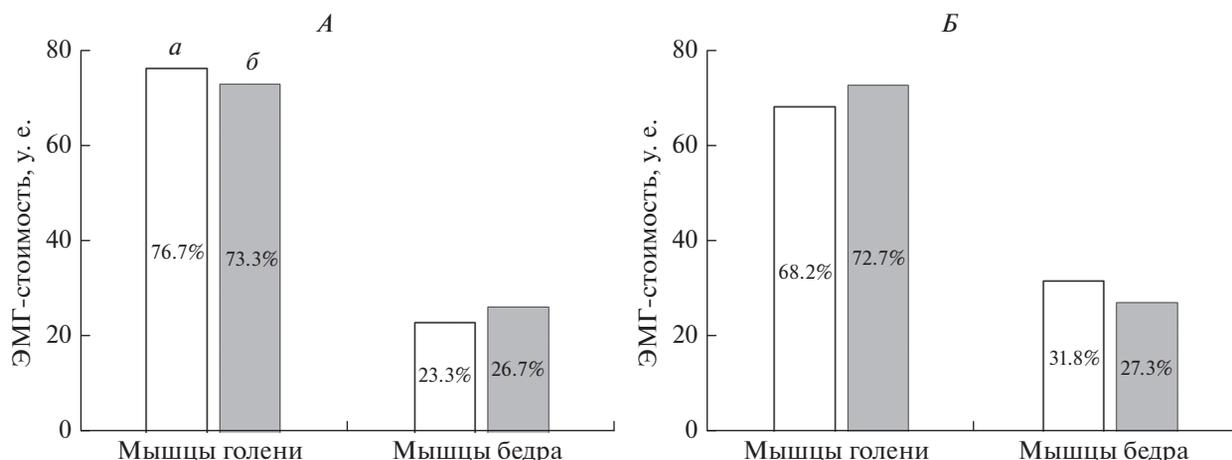
– достижение пика ЭМГ разгибателей коленного сустава  $\approx$  на 5% раньше, чем при беге-100%.

**ЭМГ-стоимость локомоций.** Снижение весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат обуславливало снижение ЭМГ-стоимости практически всех исследуемых мышц (табл. 3). При выполнении, как ходьбы-70%, так и бега-70% происходило значительное снижение ЭМГ-стоимости локомоций. При ходьбе наиболее выражено снижение ЭМГ-стоимости для *mm. soleus, gastrocnemius medialis, vastus lateralis*. ЭМГ-стоимость *m. biceps femoris* увеличивалась, что связано со значительным увеличением ЭМГ-активности этой мышцы в начале опорного периода (рис. 3). Во время бега достоверно ( $p < 0.05$ ) снизилась

ЭМГ-стоимость *mm. soleus, vastus lateralis, rectus femoris*.

На рис. 4 приведены расчеты суммарной ЭМГ-стоимости для мышц голени (*mm. tibialis anterior, soleus, gastrocnemius medialis*) и мышц бедра (*mm. vastus lateralis, rectus femoris, biceps femoris caput longus*). Данные расчеты были выполнены с целью оценки вклада в реализацию локомоций основных мышечных групп, участвующих в осуществлении ходьбы и бега.

Ведущими мышцами, как при ходьбе, так и при беге являются мышцы голени. Это утверждение справедливо для любых значений весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат человека. Суммарная ЭМГ-стоимость для мышц голени при ходьбе составляет 77%, для мышц бедра – 23%. Для бега это соотношение несколько изменится: доля участия мышц голени составляет



**Рис. 4.** Суммарная ЭМГ-стоимость мышц нижней конечности при выполнении бега и ходьбы на беговой дорожке с различной весовой нагрузкой на опорно-двигательный аппарат. А – анализ ходьбы, Б – анализ бега. а – локомоции при 100% веса тела, б – при 70% веса тела.

68%, мышц бедра – 32%. При снижении весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат до 70% веса тела суммарная ЭМГ-стоимость для мышц голени снижается на 3% при ходьбе с 76.7 до 73.3% и увеличивается при беге с 68.2 до 72.7% (рис. 4).

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Опорная разгрузка до 70% веса тела обуславливала изменения динамических характеристик и опорных реакций локомоций. В основном эти изменения затрагивали почти все показатели взаимодействия с опорой и лишь некоторые из временных параметров (табл. 1). Прежде всего, следует обратить внимание на снижение величины опорной реакции второго пика, т.е. во время отталкивания. Это вполне подчиняется линейному характеру изменений опорных реакций при снижении весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат – “уменьшение” веса тела за счет вывешивания снижает величину давления на опору. Величина опорной реакции первого пика (при постановке стопы) имеет нелинейные изменения. При локомоциях с 70% веса тела наблюдали тенденцию к увеличению опорной реакции в фазе переднего толчка. Следуя этой зависимости изменялись индексы нарастания и снижения силы во время контакта стопы с полотном беговой дорожки – увеличение при постановке и значительное снижение при отталкивании. Это согласуется с результатами исследования *J.K. De Witt* и *L.L. Ploutz-Snyder* опорных реакций в условиях реального КП [15]. Результаты работы *J.K. De Witt* и *L.L. Ploutz-Snyder*, полученные на борту МКС, свидетельствовали о снижении пиковой ударной нагрузки при скорости бега 9.7 км/ч и величине притяга на беговой дорожке в пределах 25% по сравнению с 1G. Аналогичные результаты получили и в других работах по исследованию влияния различных уровней разгрузки тела при локомоциях на беговой дорожке [20, 21]. В тоже время, результаты исследования опорных реакций ходьбы космонавтов на беговой дорожке, установленной на Российском сегменте МКС [15] несколько отличались от наших данных. В отличие от нашей работы, авторы получили результаты, указывающие на увеличение опорной реакции второго пика при ходьбе со скоростью  $3.11 \pm 0.24$  км/ч. Эти различия можно объяснить следующими положениями: 1) разница направления действия внешней поддержки веса тела – на борту МКС система притяга беговой дорожки действует по направлению вниз (относительно вертикальной оси тела человека) и космонавту приходится прилагать больше усилий во время отталкивания (второго пика реакции опоры); в нашем исследовании система внешней поддержки тела действует по направлению вверх и, соответственно, “облегчает”

испытуемому выполнение отталкивания при весовой разгрузке; 2) на борту МКС беговая дорожка установлена на систему виброизоляции [22], опора является неустойчивой, и, возможно, космонавт выполняет отталкивание при незначительном наклоне полотна беговой дорожки, что в свою очередь, может привести к увеличению опорной реакции второго пика.

При ходьбе база шага не зависит от опорной нагрузки и, в связи с увеличением высоты подъема ОЦМ при беге, достоверно увеличивается, что способствует сохранению вертикальной устойчивости тела во время локомоций в измененных условиях опорной разгрузки.

Кинематические характеристики локомоций в нашем исследовании при опорной разгрузке за счет вертикального вывешивания существенно не отличались от таковых при нормальной ходьбе (100% веса тела). Наиболее выражены были во время отталкивания и переносе ноги в периоде маха в коленном и голеностопном суставах (табл. 2, рис. 1). В целом изменения кинематики углов в суставах нижней конечности указывали на “сгибательный” или флексорный характер позы при локомоциях, на что указывало большее сгибание нижней конечности в коленном суставе в опорном периоде двойного шага. В работах А.И. Григорьева и др. [23] и И.Б. Козловской [24] было показано, что основным механизмом развития флексорной позы является устранение или снижение опорных нагрузок и, соответственно, опорной афферентации, которая в норме обуславливает активацию мотонейронов мышц-эксцентров и одновременно понижает активность мотонейронов флексоров. В условиях опорной разгрузки при вывешивании до 70% веса тела уменьшение углов во всех суставах нижней конечности являлось отражением флексорной установки позы. При анализе кинематических характеристик локомоций наряду с угловой кинематикой рассчитывали высоту подъема стопы над опорой. Согласно *D.A. Winter* этот показатель является важным контролируемым параметром и находится под постоянным автоматическим контролем ЦНС, чтобы избежать спотыканий и падений, а минимальное расстояние от носка ноги до опорной поверхности при переносе ноги зависит от скорости локомоций и составляет примерно 5–10 мм [25]. Согласно нашим результатам, показатели высоты подъема стопы у испытуемых были несколько выше –  $39.5 \pm 3.1$  и  $74.8 \pm 9.4$  мм при ходьбе и беге соответственно. При этом высота подъема стопы при ходьбе и беге изменялась на одинаковую относительную величину – около 15%, по сравнению с локомоциями при 100% веса тела. Траектория стопы при переносе ноги и ее точная и правильная постановка на опорную поверхность важны как для обеспечения равновесия, так и для стабильности ходьбы. Можно пред-

положить, что именно высота подъема стопы над опорой, как показатель подконтрольный ЦНС, является триггером для регулирования, наряду с ЭМГ-активностью, величины угловых перемещений в суставах нижней конечности во время локомоций в условиях разгрузки опорно-двигательного аппарата.

ЭМГ-активность мышц нижней конечности, как отражение “внутренней” структуры локомоций [26, 27], в нашем исследовании сопоставимы с изменениями кинематических характеристик. При опорной разгрузке ЭМГ-активность мышц нижней конечности снижается, что отражают профили ЭМГ-активности в цикле двойного шага (рис. 3). Во время ходьбы это не столь явно выражено, за исключением *m. gastrocnemius medialis*, снижением ЭМГ-активности которой при отталкивании отражает изменения и опорной реакции (за счет уменьшения силы отталкивания), и изменения углов коленного и голеностопного суставов наряду с уменьшением высоты подъема стопы. При ходьбе с 70% веса тела происходит существенная активация *m. biceps femoris* в периоде опоры, что обусловлено участием этой мышцы в стабилизации тазобедренного сустава [28]. При ходьбе ЭМГ-активность снижалась для всех мышц в периоде опоры, а для *m. biceps femoris* – и в периоде маха, что связано с вкладом этой мышцы в замедление движения ноги в конце фазы переноса, подготовки к контакту с опорой и стабилизацией тазобедренного сустава. В целом изменения ЭМГ-активности мышц при локомоциях в нашем исследовании соответствовали данным моделирования ходьбы *R.R. Neptune* [29].

На нижней конечности одновременно более 30 мышц с разным уровнем активности вовлечены в ходьбу и бег, но несколько, так называемых основных мышц, например, сгибателей и разгибателей голеностопного и тазобедренного суставов, составляют ядро локомоторной функции. Анализ ЭМГ-стоимости как отдельно для каждой из исследованных мышц, так суммарной ЭМГ-стоимости для мышц голени и бедра позволил подтвердить наше предположение о ведущей роли мышц голени в осуществлении циклических локомоций (ходьбы и бега). Несмотря на значительные различия в анатомических размерах мышечных групп голени и бедра [30], именно мышцы голени выполняют наибольшую “работу” при реализации циклических локомоций, как в нормальных условиях, так и в условиях снижения весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат человека методом вертикального вывешивания. Вклад мышц голени в осуществление ходьбы и бега 3-кратно превосходит вклад мышц бедра (рис. 4). Следует отметить, что при снижении весовой нагрузки до 70% веса тела происходит незначительное перераспределение ЭМГ-стоимости, а соответственно, и изменение вклада в осу-

ществление локомоций между мышцами голени и бедра. При ходьбе суммарная ЭМГ-стоимость мышц голени снижается, возрастает при беге. Суммарная ЭМГ-стоимость мышц бедра при ходьбе в условиях опорной разгрузки увеличивается, при беге – снижается.

Двигательная система наземных животных и человека в фило- и онтогенезе организована применительно к действию гравитационных сил. Эта организация исключительно сложна и включает большое число структурно-функциональных механизмов, обеспечивающих надежность, устойчивость и точность работы двигательного аппарата в гравитационном поле Земли. Устранение гравитации преобразуется в невесомости в ряд факторов, важных для функционирования двигательной системы в целом. Такими факторами, в первую очередь, являются: изменение функции афферентных проприоцептивных систем и изменение биомеханики движений [4]. Результаты исследования показали, что выполнение циклических локомоций на беговой дорожке (как ходьбы, так и бега) в условиях снижения весовой нагрузки тренировки с величиной осевой нагрузки на опорно-двигательный аппарат до 70% веса тела обуславливает существенные изменения биомеханических характеристик движений.

Подтверждением данной гипотезы в полной мере являются результаты нашей работы, а также результаты исследований, выполненных в многочисленных как наземных экспериментах [27], так и во время длительных КП, в условиях которых имеется возможность создавать величину осевой нагрузки с использованием системы притяга бортовой беговой дорожки БД-2 [14, 15].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования выявили существенные различия в величинах опорных реакций локомоций, а также кинематических параметрах, что выражалось в уменьшении величин угловых перемещений в коленном и голеностопном суставах в фазах заднего толчка и переноса ноги. Анализ ЭМГ мышц голени и бедра позволил определить вклад мышц в реализации ходьбы и бега на беговой дорожке при различной весовой нагрузке. Во время ходьбы при разгрузке опорно-двигательного аппарата до 30% веса тела выявлено значительное снижение ЭМГ-стоимости (в пределах 9–23% по сравнению с нормальной ходьбой). Во время бега снижение ЭМГ-стоимости при изменении весовой нагрузки варьировало от 8 до 37%. Разгрузка веса тела человека до 30% приводит к снижению усилий на выполнение отталкивания. Кроме того, результаты исследования указывают на изменение вклада мышц голени и бедра при выполнении локомоций в

условиях снижения весовой нагрузки на опорно-двигательный аппарат.

Снижение опорной разгрузки тела человека до величины 70% веса тела позволило получить результаты, которые возможно будут интересны специалистам по профилактике неблагоприятных эффектов невесомости в условиях длительных КП. В частности, важно отметить величину снижения ЭМГ-стоимости локомоций, особенно бега, при разгрузке тела человека. Вполне вероятно, что эффективность локомоторных тренировок космонавтов во время длительных экспедиций на МКС можно повысить, регистрируя и анализируя показатели ЭМГ-стоимости во время выполняемых космонавтами регулярных тренировок и тестовых упражнений на беговой дорожке. При этом следует вносить корректировки не только в режим осевой нагрузки, но в физиологические показатели эффективности тренировок.

Полученные результаты позволяют с уверенностью сказать, что видеоанализ движений в сочетании с регистрацией ЭМГ-активности мышц и пространственно-временных параметров локомоций является высокоинформативным методом, позволяющим количественно и качественно оценить состояние опорно-двигательного аппарата человека в различных областях профессиональной деятельности.

**Этические нормы.** Все исследования проведены в соответствие с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях, и одобрены локальным этическим комитетом Государственного научного центра РФ – Федерального медицинского биофизического центра им. А.И. Бурназяна ФМБА России (Москва).

**Информированное согласие.** Каждый участник исследования представил добровольное письменное информированное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования.

**Финансирование работы.** Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-315-20010.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богданов В.А., Гурфинкель В.С., Панфилов В.Е. Движения человека в условиях лунной гравитации // Косм. биол. и мед. 1971. Т. 5. № 2. С. 3.
2. Cavagna G.A., Margaria R. Human locomotion on the lunar surface // Rivista Di Medicina Aeronautica E Spaziale. 1967. V. 30. № 4. P. 629.
3. Газенко О.Г., Григорьев А.И., Егоров А.Д. Физиологические проблемы невесомости. Под ред. Газенко О.Г., Касьяна И.И. М.: Медицина, 1990. С. 19.
4. Kozlovskaya I., Dmitrieva I., Grigorieva L. et al. Gravitational mechanisms in the motor system. Studies in real and simulated weightlessness / Stance and Motion. Facts and Concepts // Eds. Gurfinkel V., Ioffe M.E., Massion J., Roll J.P. N.Y.: Springer Science + Business Media, 1988. P. 37.
5. Степанцов В.И., Тихонов М.А., Еремин А.В. Физиологическая тренировка как метод предупреждения гиподинамического синдрома // Косм. биол. и авиакосм. мед. 1972. Т. 6. № 4. С. 64.
6. Trappe S., Costill D., Gallagher P. et al. Exercise in space: human skeletal muscle after 6 months aboard the International Space Station // J. Appl. Physiol. 2009. V. 106. № 4. P. 1159.
7. Fitts R.H., Trappe S.W., Costill D.L. et al. Prolonged space flight-induced alterations in the structure and function of human skeletal muscle fibres Prolonged space flight-induced alterations in the structure and function of human skeletal muscle fibres // J. Physiol. 2010. V. 588. Pt. 18. P. 3567.
8. Fitts R.H., Colloton P.A., Trappe S.W. et al. Effects of prolonged space flight on human skeletal muscle enzyme and substrate profiles // J. Appl. Physiol. 2013. V. 115. № 5. P. 667.
9. Шпаков А.В., Фомина Е.В., Лысова Н.Ю. и др. Сравнительный анализ эффективности различных режимов локомоторных тренировок в длительных космических полетах по данным биомеханических и электромиографических характеристик ходьбы // Физиология человека. 2013. Т. 39. № 2. С. 60. Shpakov A.V., Fomina E.V., Lysova N.Y. et al. Comparative efficiency of different regimens of locomotor training in prolonged space flights as estimated from the data on biomechanical and electromyographic parameters of walking // Human Physiology. 2013. V. 39. № 2. P. 162.
10. Фомина Е.В., Лысова Н.Ю., Чернова М.В. и др. Сравнительный анализ профилактической эффективности различных режимов локомоторных тренировок в условиях космического полета // Физиология человека. 2016. Т. 42. № 5. С. 90. Fomina E.V., Lysova N.Y., Chernova M.V. et al. Comparative analysis of preventive efficacy of different modes of locomotor training in space flight // Human Physiology. 2016. V. 42. № 5. P. 539.
11. Фомина Е.В., Лысова Н.Ю., Савинкина А.О. Осевая нагрузка при выполнении локомоторных тренировок в условиях невесомости как фактор эффективности профилактики гипогравитационных нарушений // Физиология человека. 2018. Т. 44. № 1. С. 56. Fomina E.V., Lysova N.Y., Savinkina A.O. Axial load during the performance of locomotor training in microgravity as a factor of hypogravity countermeasure efficiency // Human Physiology. 2018. V. 44. № 1. P. 47.
12. Moore A.D., Downs M.E., Lee S.M. et al. Peak exercise oxygen uptake during and following long-duration spaceflight // J. Appl. Physiol. 2014. V. 117. № 3. P. 231.
13. Popov D.V., Khusnutdinova D.R., Shenkman B.S. et al. Dynamics of physical performance during long-dura-

- tion space flight (first results of "Countermeasure" experiment) // *J. Grav. Physiol.* 2004. V. 11. № 2. P. 231.
14. Фомина Е.В., Савинкина А.О., Ярманова Е.Н. Величины опорных реакций у космонавтов при выполнении локомоторных упражнений на МКС // *Физиология человека.* 2017. Т. 43. № 5. С. 63.  
*Fomina E.V., Savinkina A.O., Yarmanova E.N.* Ground reaction force values in cosmonauts during locomotor exercises on board the international space station // *Human Physiology.* 2017. V. 43. № 5. P. 542.
  15. Saveko A., Rukavishnikov I., Brykov V. et al. Foot-ground reaction force during long-term space flight and after it: walking in active treadmill mode // *Gait Posture.* 2020. V. 76. P. 382.
  16. DeWitt J.K., Ploutz-Snyder L.L. Ground reaction forces during treadmill running in microgravity // *J. Biomech.* 2014. V. 47. № 10. P. 2339.
  17. Ivanenko Y.P., Grasso R., Macellari V., Lacquaniti F. Control of foot trajectory in human locomotion: role of ground contact forces in simulated reduced gravity // *J. Neurophysiol.* 2002. V. 87. № 6. P. 3070.
  18. Miller C.A., Peters B.T., Brady R.R. et al. Change in toe clearance during treadmill walking after long-duration spaceflight // *Aviat. Space Environ. Med.* 2010. V. 81. № 10. P. 919.
  19. Шпаков А.В., Воронов А.В. Особенности организации ходьбы человека в условиях различной по величине гравитационной нагрузки на опорно-двигательный аппарат // *Авиакосм. и экол. мед.* 2017. Т. 51. № 7. С. 38.
  20. Lewek M.D. The influence of body weight support on ankle mechanics during treadmill walking // *J. Biomech.* 2011. V. 44. № 9. P. 128.
  21. Fischer A.G., Wolf A. The effects of body weight unloading on kinetics and muscle activity of overweight males during Overground walking // *Clini. Biomech.* 2018. V. 52. P. 80.
  22. Yarmanova E.N., Kozlovskaya I.B., Khimoroda N.N., Fomina E.V. Evolution of Russian microgravity countermeasures // *Aerosp. Med. Hum. Perform.* 2015. V. 86. 12 Suppl. P. 32.
  23. Григорьев А.И., Козловская И.Б., Шенкман Б.С. Роль опорной афферентации в организации тонической мышечной системы // *Рос. физиол. журнал им. И.М. Сеченова.* 2004. Т. 90. № 5. С. 508.
  24. Козловская И.Б. Гравитация и позно-тоническая двигательная система // *Авиакосм. и экол. мед.* 2017. Т. 51. № 3. С. 66.  
*Kozlovskaya I.B.* Gravity and the tonic postural motor system // *Human Physiology.* 2018. V. 44. № 7. P. 725.
  25. Winter D.A. Foot trajectory in human gait: a precise and multifactorial motor control task // *Phys. Ther.* 1992. V. 72. № 1. P. 45.
  26. Cappellini G., Ivanenko Y.P., Poppele R.E., Lacquaniti F. Motor patterns in human walking and running // *J. Neurophysiol.* 2006. V. 95. № 6. P. 3426.
  27. Lacquaniti F., Ivanenko Y., Sylos-Labini F. Human locomotion in hypogravity: from basic research to clinical applications // *Front. Physiol.* 2017. V. 8. P. 893.
  28. Hansena C., Einarsonb E., Thomsonb A. et al. Hamstring and calf muscle activation as a function of body-weight support during treadmill running in ACL reconstructed athletes // *Gait Posture.* 2017. V. 58. № 9. P. 154.
  29. Neptune R.R., Clark D.J., Kautz S.A. Modular control of human walking: a simulation study // *J. Biomech.* 2009. V. 42. P. 1282.
  30. Воронов А.В. Анатомическое строение и биомеханические характеристики мышц и суставов нижней конечности. М.: Физкультура, образование и наука, 2003. 203 с.

## Biomechanical Characteristics of Walking and Running During Unloading of Musculoskeletal System by Vertical Hanging

A. V. Shpakov<sup>a,\*</sup>, A. V. Voronov<sup>b</sup>, A. A. Artamonov<sup>a</sup>, D. O. Orlov<sup>a</sup>, A. A. Puchkova<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Russian State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

<sup>b</sup>Federal Research Center of Physical Education and Sports, Moscow, Russia

\*E-mail: avshpakov@gmail.com

The article presents the results of a biomechanical analysis of locomotion (walking and running) on a treadmill under normal conditions and in conditions of reducing the weight load on the musculoskeletal system of human to a value of 70% of body weight. The study was carried out with the participation of 24 practically healthy volunteers 25.1 ± 5.2 years old, body weight from 66 to 90 kg (77.7 ± 6.7 kg), body length from 172 to 192 cm (179.7 ± 6.3 cm). During the study, volunteers were asked to perform two locomotor tests on the treadmill: walking at a speed of 4.5 km/h and running at a speed of 10 km/h with different values of weight unloading on the musculoskeletal system: 100% of body weight and 70% of body weight. The change in weight load on the musculoskeletal system was performed by the method of vertical hanging. The kinematic, spatio-temporal parameters, ground reaction force and EMG-activity of leg muscles were recorded and analyzed. The results of the study revealed significant differences in the values of the support reactions of locomotion, as well as kinematic parameters, which was expressed in a decrease in the angular displacements in the knee and ankle joints in the phases of the push-off phase and swing phase. Analysis of the EMG of leg muscles made it possible to determine the contribution of muscles to the realization of walking and running on a treadmill at different weight loads. During walking, while unloading the musculoskeletal system up to 30% of

the body weight, a significant decrease in the EMG-cost was revealed (within 9-23% compared to normal walking). During running, the decrease in EMG-cost with a change in weight load varied from 8 to 37%. Unloading the body weight of a person up to 30% leads to a decrease in efforts to perform repulsion. In addition, the results of the study indicate a change in the contribution of the shin and thigh muscles when performing locomotions in conditions of a decrease in the weight load on the musculoskeletal system.

*Keywords:* locomotion, video analysis of movements, vertical hanging, electromyography, angles in joints, ground reaction force, gravitational load.

УДК 612.172.2;612.16;612.29;57.042

## КАРДИО-РЕСПИРАТОРНАЯ КООРДИНАЦИЯ ПРИ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ У ЛЕГКОАТЛЕТОВ-БЕГУНОВ

© 2021 г. С. Г. Кривошеков<sup>1</sup>, Д. Ю. Урюмцев<sup>1</sup>, В. В. Гульяева<sup>1</sup>, \*, М. И. Зинченко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины,  
Новосибирск, Россия

\*E-mail: gulyaevavv@physiol.ru

Поступила в редакцию 10.12.2020 г.

После доработки 24.12.2020 г.

Принята к публикации 24.12.2020 г.

Целью данного исследования было определить кардио-респираторную координацию под влиянием острой гипоксии у легкоатлетов с разным уровнем спортивной квалификации. 18 мужчин легкоатлетов-бегунов (в возрасте от 17 до 25 лет) подвергались воздействию острой (10% O<sub>2</sub>) гипоксии в течение 10 мин. Во время нормоксии и гипоксии измеряли показатели дыхания, газообмена и сердечного ритма. Для оценки кардио-респираторной координации использовали метод главных компонент (ГК), стабильность которых при воздействии гипоксии оценивали по коэффициенту конгруэнтности Такера. Анализ был проведен по временным рядам длительностью 10 мин нормоксии и гипоксии с включением частоты сердечных сокращений (ЧСС), минутного объема дыхания (МОД), фракционной концентрации O<sub>2</sub> и CO<sub>2</sub> на выдохе. По уровню квалификации спортсменов разделили на 2 группы – высокотренированные (ВТ, не ниже I разряда,  $n = 9$ ) и среднетренированные (СТ, II разряд,  $n = 9$ ). В условиях нормоксии кардио-респираторная координация у легкоатлетов обеих групп была выше, чем при нормобарической гипоксии ( $p = 0.001$ ): у 44% спортсменов при нормоксии по критерию Кайзера модель включала один ГК из скоординированных переменных, а при гипоксии у 100% легкоатлетов модель состояла из двух ГК. Во время гипоксии достоверно ( $p < 0.001$ ) увеличился процент общей дисперсии, объясняемый ГК2, независимо от уровня тренированности. При гипоксии произошло перераспределение вкладов показателей в ГК1 и ГК2, более выраженное в группе СТ: вклад ЧСС в ГК1 увеличился, а концентрации CO<sub>2</sub> на выдохе снизился ( $p < 0.001$ ). Коэффициент конгруэнтности первого ГК между исходным состоянием и гипоксией в группе ВТ показал высокий уровень подобия (медиана = 0.88; 25/75% = 0.84/0.93), и был достоверно ( $p < 0.05$ ) выше, чем в СТ (0.82; 0.46/0.94). Таким образом, у легкоатлетов высокой квалификации кардио-респираторная стабильность при гипоксическом воздействии выше. Это может служить дополнительным прогностическим признаком хороших спортивных результатов.

**Ключевые слова:** легкоатлеты, гипоксия, кардио-респираторная координация, метод главных компонент.

**DOI:** 10.31857/S0131164621030085

Двигательная активность в условиях осевой статической нагрузки является необходимым условием для поддержания физического здоровья, а также универсальным средством, противодействующим неблагоприятным факторам внешней среды. И.Б. Козловской с коллегами были разработаны принципы профилактики снижения работоспособности, силовой и общей выносливости, синтеза мышечных белков, развития мышечной атрофии и деминерализации костной ткани, ортостатической и физической толерантности, развивающихся под влиянием невесомости [1]. Эти же принципы, основанные на «объективизации оценки уровня тренированности и работоспособности, соответствии этого уровня текущей и планируемой деятельности; индивиду-

ализации проведения профилактических мероприятий с учетом исходного и текущего общего и физического состояния» [1], могут лечь в основу системы поддержания здоровья современного человека. В этом направлении И.Б. Козловская с коллегами проводили уникальные экспериментальные работы, направленные на изучение сердечно-сосудистых реакций в условиях невесомости. В частности, было показано [2], что потеря мышечного и сосудистого тонуса вследствие модельной адаптации к состоянию невесомости приводит к секвестрации крови в нижней части тела, а длительное отсутствие ортостатических стимулов – к вегетативной дисфункции. Авторы пришли к выводу, что снижение постурального мышечного тонуса в ответ на снижение опорной

афферентации может быть ответственно за ортостатическое нарушение через снижение эффективности мышечного насоса, способствующего венозному возврату. Немаловажное значение также имеет координация сердечно-сосудистой и дыхательной системы, обеспечивающая более широкий спектр адаптации организма к изменяющимся условиям. Циклические изменения артериального и внутригрудного давления, связанные с дыханием, имеют прямые и не прямые влияния на работу сердца. Можно полагать, что исследование межсистемной интеграции может сыграть ключевую роль при оценке уровня тренированности, общего и физического состояния человека. Сопряженность сердечно-сосудистой и дыхательной систем может обеспечивать более широкий спектр адаптации организма к изменяющимся условиям и зависит от функционального состояния человека [3–6]. На моделях адаптации организма к физической нагрузке у спортсменов разных видов спорта можно изучать, как изменяется кардио-респираторное взаимодействие в процессе тренировки. Поскольку объединяющим фактором для сердечно-сосудистой и дыхательной анатомических систем является обеспечение организма кислородом, создание экспериментального острого гипоксического стресса как адекватного стимула позволяет исследовать построение взаимосвязей в сердечно-сосудистой и дыхательной системах в процессе физических тренировок. Ранее нами было показано, что взаимосвязи между реакциями сердечно-сосудистой и дыхательной систем характеризуют вид спорта и уровень спортивного мастерства [7, 8]. Так, пловцы высокого мастерства, в отличие от тех, кто имеет более низкий разряд, показывают высокую групповую корреляцию в кардио-респираторных показателях в ответ на гипоксические и гиперкапнические острые нагрузки [8], подобная ситуация наблюдается у лыжников [7]. Эти результаты были получены на уровне корреляций усредненных показателей. Также было показано с помощью кросс-спектрального анализа временных рядов сердечного и дыхательного ритмов, что кардио-респираторная когерентность увеличивается при гипоксии на частоте (0.07–0.08 Гц) только у бегунов, которые в будущем достигли высокого мастерства, в отличие от тех, кто не достиг [6].

Наиболее изученный феномен, являющийся результатом кардио-респираторного взаимодействия – это респираторная синусовая аритмия (РСА, учащение сердцебиений на вдохе и урежение на выдохе), которая проявляется в условиях покоя и сна, а при увеличении метаболического запроса ингибируется [9]. Известно, что при умеренном гипоксическом стрессе у человека РСА не изменяется [10, 11], а при нарастающей нормакапнической гипоксии у собак прогрессивно снижается [12]. Однако, помимо РСА, встает во-

прос о координации других, не менее информативных для описания процесса газообмена, показателей сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

Одним из опробованных в пилотных исследованиях методов изучения влияния тренировок на кардио-респираторную координацию является анализ главных компонент (ГК), определяющий переменные, которые совместно изменяются во времени [13]. Анализ ГК – это статистический метод, который уменьшает размерность данных взаимосвязанных систем, извлекая наименьшее число компонент, которые составляют большую часть вариации исходных многомерных данных с минимальной потерей информации. Авторы показали применимость метода ГК при физической нагрузке [13, 14]. Как изменяется координация в кардио-респираторной системе при гипоксическом стрессе у спортсменов с разным уровнем мастерства, остается неизвестным. Можно предположить, что для видов спорта, в которых результат значительно зависит от состояния кислород-транспортной системы и ее регуляции, адаптация этой системы к регулярному увеличению метаболического запроса до максимально возможного уровня приведет к перекрестной адаптации к гипоксемии. Поэтому настоящее исследование было нацелено на изучение характеристик ГК, описывающих кардио-респираторную координацию, в условиях как нормоксии, так и при остром гипоксическом стрессе, в зависимости от тренированности спортсменов-бегунов.

## МЕТОДИКА

В исследовании участвовали 18 мужчин легкоатлетов-бегунов на средние дистанции в возрасте от 18 до 25 лет. По уровню квалификации спортсменов разделили на 2 группы – высокотренированные (ВТ, не ниже I разряда,  $n = 9$ ) и среднетренированные (СТ, II разряд,  $n = 9$ ).

После заполнения антропометрических данных и 30-минутного отдыха, включая адаптацию к дыханию в маске, начинали запись показателей газообмена, вентиляции, сердечного ритма и насыщения крови кислородом. Испытуемые находились в положении сидя в кресле. Исследование состояло из двух этапов, следующих один за другим: 10 мин записи при нормоксии (21%  $O_2$ ) и 10 мин в условиях ингаляционной нормобарической гипоксии (10%  $O_2$ ). Переход от нормоксического дыхания к гипоксическому осуществлялся через маску. Снижение концентрации кислорода обеспечивалось устройством Тибет-4 (Россия, свидетельство на полезную модель № 24098 от 27 июля 2002 года).

**Регистрация данных.** Регистрацию кардио-респираторных показателей проводили на эргоспирометрической системе *Oxycon Pro* (Erich Jaeger, Германия). Непрерывно регистрировали: частоту дыхания (ЧД), дыхательный объем (ДО), минутный объем дыхания (МОД), фракционную концентрацию  $O_2$  и  $CO_2$  во вдыхаемой ( $FiO_2$  и  $FiCO_2$ ) и выдыхаемой газовой смеси ( $FeO_2$  и  $FeCO_2$ ), скорость потребления кислорода ( $PO_2$ ) и выделения углекислого газа ( $BCO_2$ ). Данные частоты сердечных сокращений (ЧСС) и насыщения крови кислородом ( $So_2$ ) измеряли с помощью пульсоксиметра *BCI 3304 Autocorr* (Smiths Medical, США) и автоматически передавали на *Oxycon Pro*. Программное обеспечение *Oxycon Pro* усредняло данные от респираторной системы и ЧСС и выводило их с частотой 0.2 Гц (период 5 с).

**Анализ данных.** Учитывая низкочастотные колебания показателей газотранспортной системы с периодом в состоянии покоя сидя около 2 мин [15], а также их нестационарное состояние в первые несколько минут гипоксии, для оценки влияния гипоксии на абсолютные значения кардио-респираторных показателей, производили их усреднение за последние 2 мин в состояниях нормоксии и гипоксии.

Для изучения кардио-респираторной координации использовали анализ ГК, отражающий степень совпадения временных паттернов физиологических реакций, т.е. насколько их увеличение и уменьшение статистически синхронизированы. Кардио-респираторные переменные, которые изменяются во времени, могут демонстрировать различную степень ковариации. Общая дисперсия позволяет представлять временные паттерны отдельных кардио-респираторных переменных, используя меньшее количество координатных переменных, или ГК. ГК извлекаются в порядке убывания важности так, что первый ГК (ГК1) составляет максимальную часть дисперсии, а каждый последующий компонент – меньшую. Число ГК отражает размерность системы, так что уменьшение числа ГК свидетельствует о большей координации, и наоборот. Число ГК изменяется, когда система претерпевает реконфигурацию. Переход от многих исходных переменных к меньшему числу ГК позволяет облегчить моделирование исследуемой системы и получить представление о степени взаимосвязанности или ее отсутствии между исследуемыми переменными. Анализ проводили для каждого испытуемого по временным рядам длительностью 10 мин нормоксии и 10 мин гипоксии с включением следующих переменных: ЧСС, МОД, фракционная концентрация  $O_2$  ( $FeO_2$ ) и  $CO_2$  ( $FeCO_2$ ) на выдохе. Другие регистрируемые переменные были исключены из анализа в связи с их детерминированной математической связью с вышеупомяну-

тыми переменными. Значения переменных при анализе ГК были стандартизованы, новые значения переменных в нормализованных единицах (н. е.) рассчитывали как  $X_{н. е.} = (x - M)/SD$ . Стандартизацию проводили на всем промежутке времени в 20 мин, включающем как нормоксию, так и гипоксию. На рис. 1 и 2 показан пример того, как анализ ГК уменьшает размерность четырех исходных кардио-респираторных переменных (рис. 1) в одну ГК в условиях нормоксии и две ГК – при гипоксии (рис. 2).

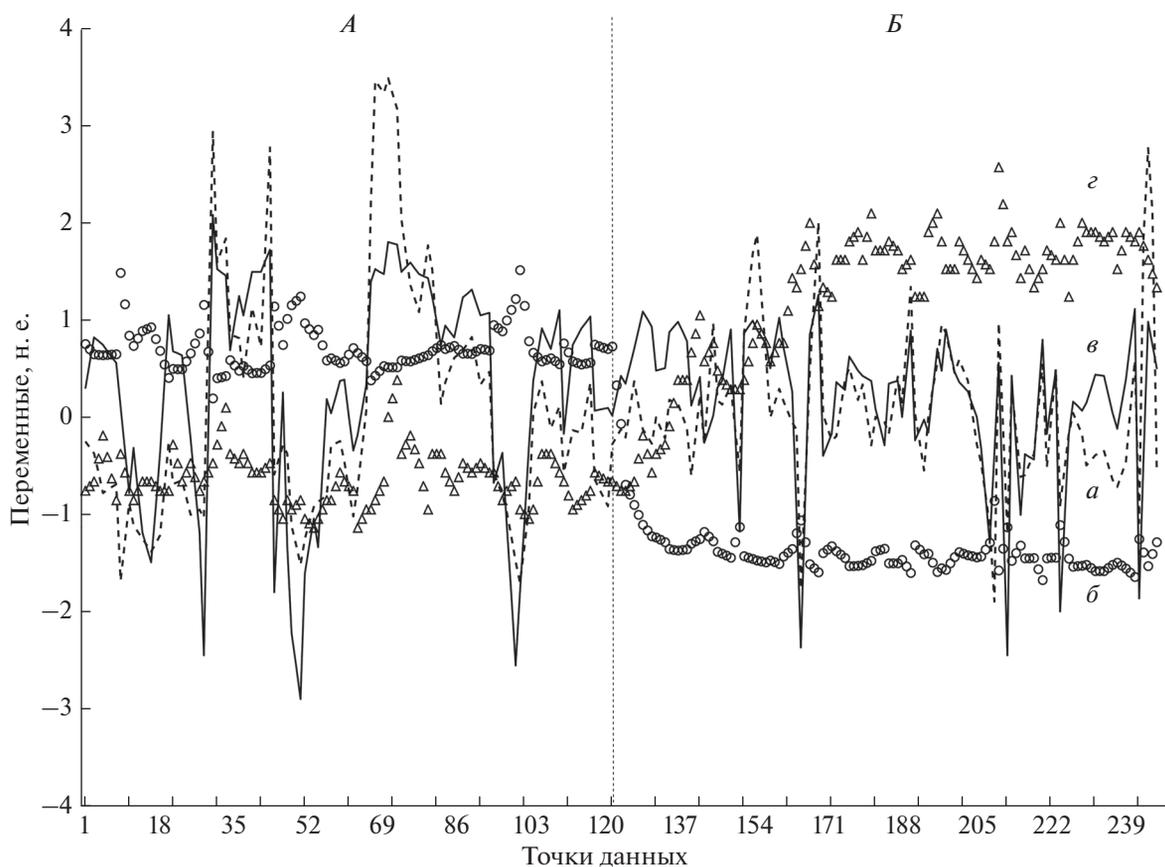
Число обобщаемых ГК определяли критерием Кайзера, который рассматривает как значимые ГК с собственными значениями  $\geq 1.00$ . Для сравнения структуры извлеченных ГК во время нормоксии и гипоксии использовали коэффициент конгруэнтности (КК), который является мерой подобия, применяемой к ГК. Как и в случае коэффициента корреляции, чем ближе КК к единице, тем лучше подобие. Значение КК в диапазоне 0.85–0.94 указывает на высокое сходство ГК, а значения от 0.95 до 1 указывают на то, что их можно считать равными [16]. Для определения структуры ГК проанализировали вклады переменных в формирование ГК. Для удобства восприятия вклады умножали на 100.

Для оценки влияния уровня тренированности (ВТ и СТ) и содержания  $O_2$  во вдыхаемом воздухе (2 состояния: нормоксия и гипоксия), а также взаимодействия факторов “Тренированность  $\times O_2$ ” на исходные кардио-респираторные показатели и их вклады в ГК, использовали дисперсионный анализ для повторных наблюдений (*repeated measures ANOVA*) с уровнем тренированности (ВТ и СТ) в качестве категориального предиктора. В случае опровержения нулевой гипотезы использовали *post hoc* анализ по критерию Фишера. Сравнение антропометрических показателей в группах ВТ и СТ проводили по *t*-тесту Стьюдента. Частоты встречаемости сравнивали по критерию хи-квадрат ( $\chi^2$ ). Для оценки статистически значимых различий КК в группах ВТ и СТ был проведен *U* тест Манна-Уитни.

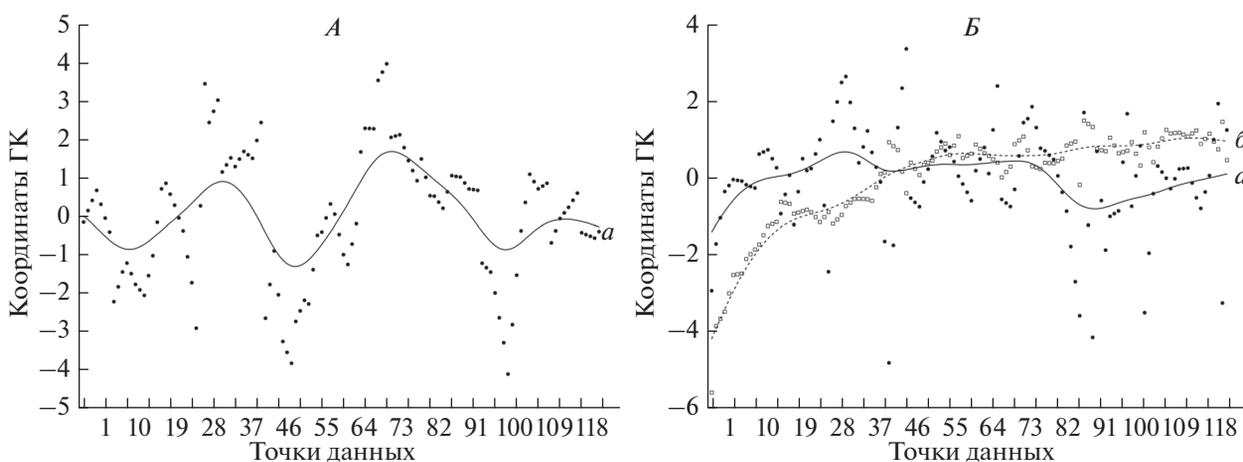
Анализ дынных выполняли с использованием пакета прикладных программ “*Statistica 10*”. Уровень значимости, принятый в исследовании – 5% ( $p < 0.05$ ). При этом значения  $0.05 \leq p < 0.10$  также приведены в таблицах.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Антропометрическая характеристика обследованных.** По возрасту, росту и массе тела ВТ и СТ не различались (табл. 1). Однако по индексу массы тела (ИМТ) ВТ отличались в большую сторону от СТ ( $p < 0.05$ ), что, по-видимому, объясняется большим вкладом мышечной массы в состав тела,



**Рис. 1.** Пример исходных временных рядов четырех переменных в нормализованных единицах (н. е.). А – нормоксия 21% O<sub>2</sub>, Б – гипоксия 10% O<sub>2</sub>; а – минутный объем дыхания (МОД), б – фракционная концентрация O<sub>2</sub> в выдыхаемом воздухе, в – фракционная концентрация CO<sub>2</sub> в выдыхаемом воздухе, з – частота сердечных сокращений (ЧСС). Одна точка данных – 5 с.



**Рис. 2.** Пример временных рядов главных компонент (ГК), полученных из переменных, изображенных на рис. 1. А – нормоксия 21% O<sub>2</sub>, Б – гипоксия 10% O<sub>2</sub>; а – ГК1, б – ГК2.

так как содержание мышц возрастает при увеличении повседневной физической активности [17].

*Сравнение средних показателей газообмена, дыхания и сердцебиения. Дисперсионный анализ показал, что влияние тренированности на усред-*

**Таблица 1.** Антропометрическая характеристика обследованной группы:  $M$  ( $SD$ )

Группы	Возраст	Рост, см	Масса тела, кг	ИМТ, кг/м <sup>2</sup>
ВТ, $n = 9$	21.1 (2.3)	181.4 (5.7)	71.6 (7.9)	21.9 (1.7)
СТ, $n = 9$	20.1 (2.4)	181.0 (4.6)	66.9 (7.5)	20.3 (1.4)*

Примечание: ВТ – высокоотренированные, СТ – среднетренированные, ИМТ – индекс массы тела,  $M$  – среднее,  $SD$  – стандартное отклонение, \* –  $p = 0.042$  ( $t$ -тест).

**Таблица 2.** Кардио-респираторные показатели, усредненные за 2 последние минуты нормоксии и гипоксии, в зависимости от тренированности

Показатели	Трен.	21% O <sub>2</sub>		10% O <sub>2</sub>		ANOVA, $p$		
		$M$	( $SD$ )	$M$	( $SD$ )	Трен.	O <sub>2</sub>	Трен. × O <sub>2</sub>
SaO <sub>2</sub> , %	ВТ	97.4	(0.9)	72.6**	(8.9)	НД	<0.001	НД
	СТ	98.2	(1.0)	71.4**	(7.9)			
ЧСС, мин <sup>-1</sup>	ВТ	62.1	(11.0)	84.8**	(17.7)	НД	<0.001	НД
	СТ	67.4	(4.5)	87.9**	(5.2)			
МОД, л/мин	ВТ	9.9	(2.9)	12.1**	(3.6)	НД	0.042	0.035
	СТ	10.5	(1.8)	10.4	(1.9)			
ЧД, мин <sup>-1</sup>	ВТ	14.6	(4.2)	13.8	(5.4)	НД	НД	НД
	СТ	14.2	(3.7)	13.3	(3.7)			
ДО, мл	ВТ	722	(211)	983**	(314)	НД	<0.001	0.052
	СТ	810	(278)	892	(302)			
FeO <sub>2</sub> , %	ВТ	18.3	(0.8)	8.3**	(0.6)	НД	<0.001	НД
	СТ	18.0	(0.6)	8.1**	(0.7)			
FeCO <sub>2</sub> , %	ВТ	2.5	(0.7)	2.6	(0.6)	НД	НД	НД
	СТ	2.8	(0.6)	2.6	(0.6)			

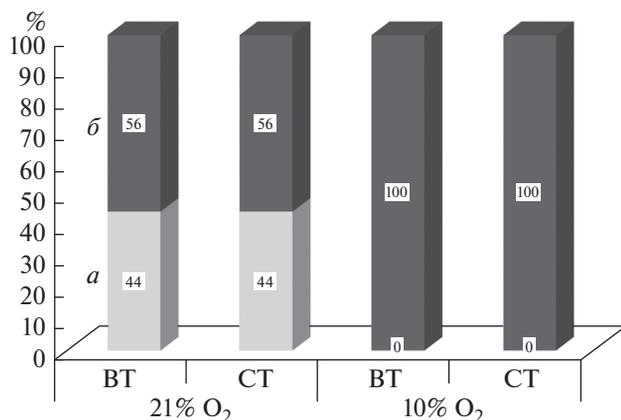
Примечание: Трен. – тренированность, НД – недостоверно, SaO<sub>2</sub> – насыщение крови кислородом, ЧСС – частота сердечных сокращений, МОД – минутный объем дыхания, ЧД – частота дыхания, ДО – дыхательный объем, FeO<sub>2</sub> и FeCO<sub>2</sub> – фракционная концентрация O<sub>2</sub> и CO<sub>2</sub> в выдыхаемой газовой смеси, \*\* – достоверное изменение от нормоксии к гипоксии ( $p < 0.01$ ). Остальные обозначения см. табл. 1.

ненные за 2 мин показатели газообмена, дыхания и сердцебиения не было достоверно: ВТ- и СТ-легкоатлеты не различались по величинам изучаемых показателей как при нормоксии, так и при гипоксии (табл. 2). Содержание кислорода во вдыхаемом воздухе повлияло на насыщение крови кислородом, содержание кислорода в выдыхаемом воздухе и ЧСС независимо от тренированности. На минутную вентиляцию и ДО гипоксия повлияла по-разному, в зависимости от уровня тренированности (достоверное взаимодействие факторов). Только в группе ВТ к концу гипоксического исследования эти показатели превышали исходный уровень.

*Анализ главных компонент.* В нормоксических условиях у 8 чел. из 18, модель ГК, объясняющая большую часть дисперсии всех четырех кардио-респираторных показателей, состояла всего из одной ГК1 (рис. 3). Поскольку для определения количества ГК в модели пользовались критерием

Кайзера, следующие ГК (ГК2 и т.д.) имели собственные значения меньше единицы, т.е. объясняли меньше дисперсии, чем исходные переменные. В группах ВТ и СТ количество спортсменов с одним ГК было одинаковым (по 4 чел.). При гипоксии у всех бегунов модель стала состоять из двух ГК (ГК1 и ГК2). Различие между частотой встречаемости бегунов с одним ГК в условиях нормоксии и гипоксии достоверно ( $p = 0.001$ ). Поскольку в один ГК входят скоординированные переменные, можно заключить, что координация кардио-респираторных переменных при острой гипоксии снижается по сравнению с нормоксией как у ВТ-, так и СТ-бегунов.

При нормоксии ГК1 объясняет около половины всей дисперсии, а ГК2 – около четверти (табл. 3). Достоверное влияние уровня тренированности и взаимодействия факторов “Тренированность × O<sub>2</sub>” обнаружено не было. Дисперсионный анализ выявил влияние содержания кислорода во вдыхаемом



**Рис. 3.** Процент бегунов с одним главным компонентом (ГК) и двумя ГК в нормоксических и гипоксических условиях.

VT – высокотренированные, СТ – среднетренированные; а – 1 ГК, б – 2 ГК.

мом воздухе на ГК2. Во время гипоксии достоверно увеличивается процент общей дисперсии, объясняемый ГК2, в основном за счет снижения первого ГК, не зависимо от уровня тренированности. Это также указывает на снижение координации при гипоксии. Процент дисперсии, объясняемый двумя ГК в сумме, не изменяется достоверно.

**Вклады переменных в формирование ГК. В условиях нормоксии (21% O<sub>2</sub>)** между группами VT и СТ нет достоверной разницы по вкладам всех четырех показателей в дисперсию ГК1 и ГК2 (табл. 4). Газовый состав выдыхаемого воздуха (FeCO<sub>2</sub> и FeO<sub>2</sub>) является определяющим в формировании ГК1 в обеих группах. Причем максимальный из всех четырех показателей вклад вносит концентрация углекислого газа на выдохе – 38–39%. Вклад легочной вентиляции в дисперсию ГК1 составляет около пятой части, а вклад ЧСС – в среднем 5%. В формирование ГК2 основной вклад вносит ЧСС (67–77%). При этом ГК2 при нор-

моксии почти у половины обследованных легкоатлетов можно было пренебречь по критерию Кайзера, оставив в модели только ГК1.

Выявлено **влияние гипоксии (10% O<sub>2</sub>)** на вклад FeCO<sub>2</sub> в ГК1 и ГК2 в обеих группах тренированности. Вклад FeCO<sub>2</sub> в ГК1 при гипоксии снижается, а в ГК2 – увеличивается. Противоположная ситуация происходит с ЧСС. Однако на вклад ЧСС в ГК1 достоверно влияет не только концентрация O<sub>2</sub>, но и уровень тренированности, а также обнаружено взаимодействие факторов “Тренированность × O<sub>2</sub>”, указывающее на различающуюся реакцию на гипоксию в исследуемых группах. Вклад ЧСС в ГК1 достоверно увеличивается в ответ на гипоксию только в группе СТ. Концентрация O<sub>2</sub> и взаимодействие факторов “Тренированность × O<sub>2</sub>” также влияют на вклад ЧСС в ГК2, что указывает на различающуюся реакцию на гипоксию в группах VT и СТ. *Post-hoc* анализ показал, что снижение вклада ЧСС в ГК2 происходит в обеих группах, но в группе СТ достоверно сильнее. Кроме того, в условиях гипоксии только в группе СТ достоверно ( $p = 0.031$ ) возрастает вклад МОД в формирование ГК2.

Таким образом, в условиях нормоксии в обеих группах тренированности скоординированы показатели газового состава выдыхаемого воздуха и легочной вентиляции, составляющие ГК1. ЧСС составляет основу ГК2, объясняющего в 2 раза меньше суммарной дисперсии, чем ГК1. При гипоксии происходит перераспределение вкладов показателей в ГК1 и ГК2, более выраженное в группе СТ: вклад ЧСС в ГК1 увеличивается, а концентрации CO<sub>2</sub> снижается.

**Коэффициент конгруэнтности Такера.** Коэффициент конгруэнтности, рассчитанный для ГК1 в двух состояниях (нормоксии и гипоксии), достоверно больше в группе VT, чем СТ (табл. 5). Это подтверждает предыдущие результаты, основанные на сравнении вкладов отдельных показателей, указывая на то, что в группе VT структура ГК1 при нормоксии более подобна таковой при

**Таблица 3.** Процент общей дисперсии, объясняемой ГК1 и ГК2 в условиях нормоксии и гипоксии

Компоненты	Трен.	21% O <sub>2</sub>		10% O <sub>2</sub>		ANOVA, <i>p</i>		
		<i>M</i>	( <i>SD</i> )	<i>M</i>	( <i>SD</i> )	Трен.	O <sub>2</sub>	Трен. × O <sub>2</sub>
ГК1	VT	51.6	(9.11)	48.1	(5.09)	НД	0.084	НД
	СТ	50.2	(7.83)	45.0	(5.00)			
ГК2	VT	25.8	(4.27)	31.4	(5.30)	НД	0.001	НД
	СТ	26.0	(2.66)	33.5	(3.25)			
Σ	VT	77.3	(6.46)	79.4	(8.04)	НД	НД	НД
	СТ	76.2	(2.66)	78.5	(5.65)			

*Примечание:* ГК – главный компонент. Остальные обозначения см. табл. 1 и 2.

**Таблица 4.** Вклады переменных в ГК1 и ГК2 в условиях нормоксии и гипоксии

Показатели	Трен.	21% O <sub>2</sub>		10% O <sub>2</sub>		ANOVA, <i>p</i>		
		<i>M</i>	( <i>SD</i> )	<i>M</i>	( <i>SD</i> )	Трен.	O <sub>2</sub>	Трен. × O <sub>2</sub>
Вклад в ГК1 × 100								
ЧСС	ВТ	6	(6)	13	(10)	0.022	<0.001	0.006
	СТ	4	(3)	32** <sup>##</sup>	(15)			
МОД	ВТ	23	(14)	27	(10)	НД	НД	НД
	СТ	20	(13)	14	(14)			
FeO <sub>2</sub>	ВТ	33	(12)	33	(9)	НД	НД	НД
	СТ	37	(7)	35	(13)			
FeCO <sub>2</sub>	ВТ	38	(9)	27*	(12)	НД	<0.001	НД
	СТ	39	(8)	19**	(13)			
Вклад в ГК2 × 100								
ЧСС	ВТ	67	(22)	48*	(17)	НД	<0.001	0.005
	СТ	77	(20)	20** <sup>##</sup>	(22)			
МОД	ВТ	18	(21)	20	(20)	НД	0.086	НД
	СТ	17	(21)	38*	(21)			
FeO <sub>2</sub>	ВТ	13	(19)	13	(11)	НД	НД	НД
	СТ	5	(7)	14	(15)			
FeCO <sub>2</sub>	ВТ	2	(2)	20**	(15)	НД	<0.001	НД
	СТ	2	(2)	29**	(15)			

Примечание: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$  – отличие от нормоксии; <sup>##</sup> – отличие между ВТ и СТ,  $p < 0.001$  (*post-hoc* LSD Фишера). Остальные обозначения см. табл. 1, 2 и 3.

**Таблица 5.** Сравнение коэффициентов конгруэнтности (КК) нормоксия-гипоксия в группах ВТ и СТ

Группы	КК ГК1		КК ГК2		Манн-Уитни <i>U</i> тест, <i>p</i>	
	Me	Q1/Q3	Me	Q1/Q3	ГК1	ГК2
ВТ, <i>n</i> = 9	0.88	0.84/0.93	0.47	0.33/0.71	0.045	НД
СТ, <i>n</i> = 9	0.82	0.46/0.94	0.32	0.20/0.62		

Примечание: КК ГК – коэффициент конгруэнтности главных компонент, Me – медиана, Q1, Q3 – нижний и верхний квартили. Остальные обозначения см. табл. 1 и 2.

гипоксии, т.е. претерпевает меньше изменений. Различия КК ГК2 между группами ВТ и СТ не значимы.

Результаты исследования, направленного на изучение характеристик ГК, характеризующих кардио-респираторную координацию, в условиях как нормоксии, так и при остром гипоксическом стрессе, в зависимости от тренированности спортсменов-бегунов, показали 3 новых факта. Во-первых, в покое в условиях нормоксии кардио-респираторная координация у легкоатлетов выше, чем при острой нормобарической гипоксии. Второй факт касается уточнения вкладов исходных кардио-респираторных переменных в новые ГК. В условиях нормоксии скоординиро-

ваны показатели газового состава выдыхаемого воздуха и легочной вентиляции, составляющие ГК1. ЧСС составляет основу ГК2, объясняющего в 2 раза меньше суммарной дисперсии, чем ГК1. При гипоксии происходит перераспределение вкладов показателей в ГК1 и ГК2: вклад ЧСС в ГК1 увеличивается, а концентрации CO<sub>2</sub> снижается. Третий факт зависит от спортивного мастерства: у ВТ-легкоатлетов структура ГК1 при нормоксии более подобна таковой при гипоксии, т.е. претерпевает меньше изменений, чем у СТ-легкоатлетов.

Необходимо отметить, что примененный в данной работе анализ ГК позволяет рассматривать временные ряды данных за все 20 мин обсле-

дования. Поэтому полученные результаты учитывают координацию за весь временной интервал. Ранее исследователи рассматривали влияние гипоксии на отдельные кардио-респираторные показатели в определенные временные точки или усредняли показатели за некоторый промежуток времени [7], что при гипоксии приводило к потере информации из-за нестационарности процессов при этом воздействии.

Анализ ГК применялся в исследованиях с физической нагрузкой [13]. Это оправдано с точки зрения того, как сердечно-сосудистая и дыхательная системы скоординированы относительно плавно нарастающего метаболического запроса. Результат увеличения тренированности также закономерен — при адаптации к физической нагрузке, т.е. физической тренировке, координация этих систем увеличивается. Причем, увеличивается как при аэробной тренировке, так и резистивной. В настоящем исследовании применили этот метод в отсутствии двигательной активности, используя гипоксическое воздействие. Можно предположить, что для бега как вида спорта, в котором результат значительно зависит от состояния кислородтранспортной системы и ее регуляции, адаптация этой системы к регулярному увеличению метаболического запроса до максимально возможного уровня приведет к перекрестной адаптации к гипоксемии. Подтверждением этой гипотезы служит обнаруженный в настоящей работе факт, что структура ГК1 более подобна таковой в группе ВТ-бегунов. Возможно, что сравнение более отстоящих друг от друга по тренированности групп, например, лица вообще без двигательной активности и мастера спорта, выявило бы более сильные различия. Однако то, что даже бегуны 1 и 2 разряда показали различия с помощью примененного методического подхода, является свидетельством использования анализа ГК для оценки кардио-респираторной координации при стрессорном воздействии в фундаментальных исследованиях и как дополнительного метода прогнозирования в спорте.

Известно, что физическая тренировка приводит к изменению в кардио-респираторной координации в условиях нормоксии. С использованием теста причинности Грэнджера удалось разделить спортсменов и не спортсменов в состоянии покоя с точностью 83% [5]. В другой работе исследователи продемонстрировали модифицированный нейронный контроль сердечного ритма у спортсменов по сравнению с нетренированными испытуемыми [18]. Показано также увеличение кардио-респираторной координации с помощью уменьшения количества ГК с двух до одного в велоэргометрическом тесте после 6 нед. аэробных и даже резистивных тренировок [13]. Причем этот эффект наблюдался приблизительно у половины испытуемых. В нашем исследовании более

и менее тренированные легкоатлеты не различались по количеству ГК в условиях нормоксического или гипоксического покоя. Различие касалось вкладов ГК и меры подобия ГК между нормоксией и гипоксией — т.е. изменением между этими состояниями. Выявляемая анализом ГК реакция кардио-респираторной системы у ВТ не такая выраженная, как у СТ.

Необходимо подчеркнуть, что в настоящей работе не рассматривается респираторная синусовая аритмия, наблюдаемая в норме в условиях покоя у здоровых людей. Частота снятия данных (0.2 Гц) не позволяет рассматривать этот аспект кардио-респираторного сопряжения. В то же время, с помощью примененного в данной работе метода, удалось найти различия между ВТ- и СТ-легкоатлетами в реакции на гипоксию, при отсутствии различий в кардио-респираторных показателях между группами ВТ и СТ как в покое, так и при гипоксии.

В настоящем исследовании спортсмены-бегуны различаются в нормоксии только по уровню спортивного мастерства, однако удалось показать отличие между ними по результатам анализа ГК в ответ на гипоксический стресс. Можно считать, что рост спортивного мастерства происходит не только за счет изменений абсолютных значений кардио-респираторных показателей, но и за счет изменения механизмов, обеспечивающих оптимальность межсистемной координации хеморецепторных реакций на развивающуюся гипоксемию. На основании полученных данных можно предполагать, что бегуны с оптимальным ответом на тестирующее гипоксическое воздействие, имеют большие перспективы профессионального спортивного роста. Тот факт, что у более подготовленных бегунов структура кардио-респираторной координации претерпевает меньшие изменения в ответ на гипоксию, вероятно, играет аналогичную роль: “Настройка и синхронизация ритмов экономит энергию” [19]. Известно, что физиологическая сеть претерпевает топологические переходы, связанные с быстрой реорганизацией взаимодействий на временных масштабах в несколько минут [20]. Вероятно, что меньшие изменения при гипоксическом стрессе в более тренированной группе связаны с более высокой скоростью перестройки сети. 10-минутной гипоксии спортсменам из этой группы было достаточно для формирования новых межсистемных взаимодействий, в отличие от менее подготовленных бегунов. В противном случае можно предположить, что бегуны более высокого уровня выработали более точно скоординированные реакции на воздействие.

Ранее в лаборатории было показано [7], что в зависимости от индивидуальной хемореактивности, при проведении гипоксических и гиперкап-

нических тестов, происходит разделение спортсменов на группы в зависимости от вида спорта. Разработка этого вопроса привела к обнаружению тесной связи индивидуального вегетативного статуса с величинами реакций сердца и легких на ингаляционное воздействие измененными газовыми смесями и позволила утверждать, что длительные однотипные двигательные нагрузки изменяют межсистемные взаимодействия в механизмах хемореактивности [21]. Показано, что характер тренировочного процесса и особенности паттерна дыхания, возникающие как следствие специфики тренировочного процесса, модулируют чувствительность мозговых структур к гипоксии, что находит отражение в динамике ритмов  $\alpha$ -диапазона ЭЭГ в условиях гипоксии [22]. Результаты настоящего исследования позволяют предполагать, что по мере роста спортивной квалификации происходит совершенствование механизмов межсистемной координации, которое проявляется в оптимизации ответа физиологических систем на изменение уровня кислорода в крови. Возможно, что для разных видов спорта существуют свои функциональные оптимумы, которые могут служить ориентиром для выявления перспективных спортсменов.

К ограничениям данного исследования можно отнести отсутствие в модели временных рядов АД, которые могли бы восстановить более полно модель кардио-респираторной координации. Кроме того, недавно показано, что генетическая предрасположенность (полиморфизм генов *NOTCH4* и *CAT*) может частично объяснить гетерогенность гипоксического ответа [23]. Поэтому для дифференцирования эффектов тренировки от генетических аспектов, необходимы лонгитюдные исследования.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у высококлассных легкоатлетов-бегунов на средние дистанции наблюдается совершенствование механизмов межсистемной кардио-респираторной координации при гипоксии, которое проявляется в высокой степени стабильности главных компонент при гипоксическом стрессе. Это обеспечивает оптимальность хемореактивных ответов на гипоксические воздействия и отражает адаптивные настройки кардио-респираторной системы у спортсменов высокого класса при интенсивных аэробных нагрузках и может служить дополнительным прогностическим признаком хороших спортивных результатов.

**Этические нормы.** Все исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлений, и одобрены Этическим комитетом

Научно-исследовательского института нейронаук и медицины (г. Новосибирск), протокол № 1 от 21.01.2016.

**Информированное согласие.** Каждый участник исследования предоставил добровольное письменное информированное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования.

**Финансирование работы.** Работа выполнена за счет средств федерального бюджета на проведение фундаментальных научных исследований (тема № АААА-А21-121011990040-8).

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

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Козловская И.Б., Егоров А.Д., Сонькин В.Д. Некоторые подходы к системе профилактики для марсианской экспедиции // Физиология человека. 2010. Т. 36. № 3. С. 12.  
*Kozlovskaya I.B., Egorov A.D., Sonkin V.D.* Some approaches to prophylactic measures in a martian expedition // Human Physiology. 2010. V. 36. № 3. P. 259.
2. Amirova L., Navasiolava N., Rukavishnikov I. et al. Cardiovascular system under simulated weightlessness: head-down bed rest vs. dry immersion // Front. Physiol. 2020. V. 11. P. 395.
3. Krohova J., Czippelova B., Turianikova Z. et al. Information domain analysis of respiratory sinus arrhythmia mechanisms // Physiological Research. 2018. V. 67 (Suppl. 4). P. S611.
4. Kiselev A.R., Borovkova E.I., Simonyan M.A. et al. Autonomic control of cardiorespiratory coupling in healthy subjects under moderate physical exercises // Russ. Open Med. J. 2019. V. 8. № 4. P. e0403.
5. Mlynczak M., Krysztofciak H. Cardiorespiratory temporal causal links and the differences by sport or lack thereof // Front. Physiol. 2019. V. 10. P. 45.
6. Uryumtsev D.Y., Gulyaeva V.V., Zinchenko M.I. et al. Effect of acute hypoxia on cardiorespiratory coherence in male runners // Front. Physiol. 2020. V. 11. P. 630.
7. Диверт В.Э., Кривощекоев С.Г., Водяницкий С.Н. Индивидуально-типологическая оценка реакций кардиореспираторной системы на гипоксию и гиперкапнию у здоровых молодых мужчин // Физиология человека. 2015. Т. 41. № 2. С. 64.  
*Divert V.E., Krivoshekov S.G., Vodyanitsky S.N.* Individual-typological assessment of cardiorespiratory responses to hypoxia and hypercapnia in young healthy men // Human Physiology. 2015. V. 41. № 2. P. 166.
8. Диверт В.Э., Комлягина Т.Г., Красникова Н.В. и др. Кардиореспираторные реакции на гипоксию и гиперкапнию у пловцов // Вестник Новосибирского государственного педагогического университета. 2017. Т. 7. № 5. С. 207.  
*Divert V.E., Komlyagina T.G., Krasnikova N.V. et al.* [Cardiorespiratory responses of swimmers to hypoxia

- and hypercapnia] // Novosibirsk State Pedagogical University Bulletin. 2017. V. 7. № 5. P. 207.
9. Hayano J., Yuda E. Pitfalls of assessment of autonomic function by heart rate variability // J. Physiol. Anthropol. 2019. V. 38. № 1. P. 3.
  10. Tzeng Y.C., Larsen P.D., Galletly D.C. Effects of hypercapnia and hypoxia on respiratory sinus arrhythmia in conscious humans during spontaneous respiration // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2007. V. 292. № 5. P. H2397.
  11. Brown S.J., Barnes M.J., Mündel T. Effects of hypoxia and hypercapnia on human HRV and respiratory sinus arrhythmia // Acta Physiol. Hung. 2014. V. 101. № 3. P. 263.
  12. Yasuma F., Hayano J. Impact of acute hypoxia on heart rate and blood pressure variability in conscious dogs // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2000. V. 279. № 5. P. H2344.
  13. Balagué N., González J., Javierre C. et al. Cardiorespiratory coordination after training and detraining. A principal component analysis approach // Front. Physiol. 2016. V. 7. P. 35.
  14. Garcia-Retortillo S., Javierre C., Hristovski R. et al. Cardiorespiratory coordination in repeated maximal exercise // Front. Physiol. 2017. V. 8. P. 387.
  15. Гришин В.Г., Гришин О.В., Гультяева В.В. и др. Низкочастотные колебания показателей системы транспорта кислорода у человека в покое // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2019. Т. 105. № 9. С. 1154.  
Grishin V.G., Grishin O.V., Gulyaeva V.V. et al. Very-low frequency oscillations of oxygen transport in resting humans // Russian Journal of Physiology. 2019. V. 105. № 9. P. 1154.
  16. Lorenzo-Seva U., Berge J. Tucker's congruence coefficient as a meaningful index of factor similarity // Methodology. 2006. V. 2. № 2. P. 57.
  17. Гультяева В.В., Зинченко М.И., Урюмцев Д.Ю. и др. Физическая активность и реакция артериального давления на кистевую нагрузку // Физиология человека. 2019. Т. 45. № 1. С. 73.  
Gulyaeva V.V., Zinchenko M.I., Uryumtsev D.Y. et al. Physical activity and arterial blood pressure response to handgrip exercisy // Human Physiology. 2019. V. 45. № 1. P. 62.
  18. Platiša M.M., Bojić T., Mazić S., Kalauzi A. Generalized Poincaréplots analysis of heart period dynamics in different physiological conditions: Trained vs. untrained men // Plos One. 2019. V. 14. № 7. P. e0219281.
  19. Moser M., Frühwirth M., Penter R., Winker R. Why life oscillates – from a topographical towards a functional chronobiology // Canc. Causes Contr. 2006. V. 17. № 4. P. 591.
  20. Bashan A., Bartsch R.P., Kantelhardt J.W. et al. Network physiology reveals relations between network topology and physiological function // Nature Communications. 2012. V. 3. P. 702.
  21. Melnikov V.N., Krivoschekov S.G., Divert V.E. et al. Baseline values of cardiovascular and respiratory parameters predict response to acute hypoxia in young healthy men // Physiol. Res. 2017. V. 66. № 3. P. 467.
  22. Балиоз Н.В., Баранов В.И., Боброва Ю.В. и др. Особенности межсистемной интеграции и хемореактивности кардио-респираторной системы спортсменов в зависимости от уровня спортивной квалификации // Ульяновский медико-биологический журнал. 2018. № 3. С. 133.  
Balioz N.V., Baranov V.I., Bobrova Yu.V. et al. Intersystem integration and chemoresponsiveness of cardiorespiratory system in athletes according to their sports qualification // Ulyanovsk Medico-Biological Journal. 2018. № 3. P. 133.
  23. Lancaster G., Debevec T., Millet G.P. et al. Relationship between cardiorespiratory phase coherence during hypoxia and genetic polymorphism in humans // J. Physiol. 2020. V. 598. № 10. P. 2001.

## Cardiorespiratory Coordination in Acute Hypoxia in Runners

S. G. Krivoschekov<sup>a</sup>, D. Yu. Uryumtsev<sup>a</sup>, V. V. Gulyaeva<sup>a,\*</sup>, M. I. Zinchenko<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Federal State Budgetary Scientific Institution “Scientific Research Institute of Neuroscience and Medicine”, Novosibirsk, Russia

\*E-mail: gulyaevavv@physiol.ru

The aim of the study was to determine cardiorespiratory coordination under the influence of acute hypoxia in athletes with different levels of sports qualifications. Eighteen runners aged 17 to 25 were exposed to acute (10% O<sub>2</sub>) hypoxia for 10 minutes. Respiration, gas exchange, and heart rate were measured during normoxia and hypoxia. To assess cardiorespiratory coordination, the principal component (PC) analysis was used; the stability of the PCs under the influence of hypoxia was evaluated by the Tucker's Congruence Coefficient. The analysis was performed on a time series of 10 minutes of normoxia and hypoxia with the inclusion of heart rate, minute ventilation, expired fraction of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub>. According to the level of qualification, athletes were divided into 2 groups – highly trained (HT, not lower than I category, n = 9) and medium-trained (MT, II category, n = 9). Under normoxia, cardiorespiratory coordination in athletes of both groups was higher than in normobaric hypoxia (p = 0.001): during normoxia the model included one PC from coordinated variables according to the Kaiser criterion in 44% of the athletes; during hypoxia the model consisted of two PCs in 100% of the athletes. During hypoxia, the percentage of total variance explained by PC2 increased signifi-

cantly ( $p < 0.001$ ), regardless the level of qualification. In hypoxia, there was a change in the variable contributions to PC1 and PC2, more pronounced in the MT group: the contribution of heart rate to PC1 increased, and the expired fraction of  $\text{CO}_2$  decreased ( $p < 0.001$ ). The congruence coefficient of the first PC between the normoxia and hypoxia in the HT group showed a high level of similarity (median = 0.88; 25/75% = 0.84/0.93), and was significantly ( $p < 0.05$ ) higher than in MT (0.82; 0.46/0.94). Thus, highly qualified athletes have higher cardio-respiratory stability under hypoxic exposure. This can serve as an additional predictive sign of good athletic performance.

*Keywords:* athletes, hypoxia, cardio-respiratory coordination, principal component analysis.

УДК 57.045+577.29

## ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЕ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ КОСМОНАВТОВ ПОСЛЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОГО ПОЛЕТА. ЧАСТЬ II

© 2021 г. И. М. Ларина<sup>1, \*</sup>, А. Г. Бржозовский<sup>1</sup>, А. М. Носовский<sup>1</sup>,  
М. И. Индейкина<sup>2</sup>, А. С. Кононихин<sup>1, 3</sup>, Е. Н. Николаев<sup>3</sup>, О. И. Орлов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

\*E-mail: irina.larina@gmail.com

Поступила в редакцию 14.12.2020 г.

После доработки 18.01.2021 г.

Принята к публикации 23.03.2021 г.

Во время космического полета (КП) в организме человека вследствие нарушения равновесия продукции и элиминации свободных радикалов и активных форм кислорода происходит более активное, чем в нормальных условиях, оксидативное повреждение основных клеточных компонентов — ДНК, липидов, белков. В работе анализируется, методами протеомики, частота выявления оксидативных посттрансляционных модификаций в белках плазмы крови, полученной от российских участников полугодовых полетов на МКС. Рассматривается влияние оксидативной модификации, регистрируемой после КП, на функциональные особенности групп белков, согласно биоинформатическому анализу, участвующих в метаболизме внеклеточного матрикса (ВКМ), липидов, осуществлении иммунных функций, а также контроле воспаления. Избыточному окислению в послеполетных образцах, по сравнению с их состоянием перед полетом, были подвержены белковые компоненты аполипротеинов (APOA1, APOA2, APOA4, APOA1, APOE), что нарушает их васкулопротекторные свойства. Выявлена повышенная, в 2 и более раз, интенсивность окислительных модификаций цепей как мембранных, так и секреторных форм иммуноглобулинов. Состав окисленных фрагментов иммуноглобулинов — цепей ( $\kappa$ ,  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2$ ,  $\gamma 4$  и  $\mu$ ) константных доменов иммуноглобулинов (*Ig*) свидетельствует о возможности изменения эффекторных и/или сигнальных функций *Ig*. Структурные компоненты ВКМ и ассоциированных с ним во внеклеточной жидкости соединений являются сложным молекулярным хаотом, связывающим функции иммунитета, сосудистые компетенции, контроля воспаления, протеазно-контр-протеазный баланс, гемостаз. Компоненты этой системы рассматриваются в тесной взаимосвязи.

**Ключевые слова:** космический полет, протеомика, плазма крови, оксидативные посттрансляционные модификации.

**DOI:** 10.31857/S0131164621040093

Известно более 200 типов посттрансляционных модификаций белков (PTMs), создающих большое разнообразие форм соединения, закодированного в геноме. Изучение PTMs представляет интерес, поскольку модификации влияют на функции белков. Окислительным (оксидативным) модификациям чаще всего приписывают влияние, повреждающее белок. Наши исследования образцов биологических жидкостей космонавтов после продолжительных космических полетов (КП), выполненные панорамными, полуквантитативными и количественными методами протеомики на основе хромато-масс-спектрометрии, свидетельствуют о развитии оксидативного стресса, и можно полагать, увеличивает воз-

можность окислительных модификаций как белков, так и других клеточных структур [1].

Изучению функциональных изменений, в ответ на клеточный стресс или другие стимулы, способствующие окислительным модификациям белков у человека, посвящено большое число работ, касающихся, в основном, их влияния на развитие заболеваний [2–4]. Однако в открытых источниках отсутствуют работы, посвященные оценке уровня оксидативных модификаций белков и анализа их значения для физиологических функций в связи с пилотируемым КП.

Ранее в I части статьи, нами была начата работа по оценке влияния факторов КП на частоту

выявления PTMs в белках плазмы крови, тех образцах, которые были получены при обследовании российских участников КП на международной космической станции (МКС) [5]. Были рассмотрены модификации белков, окисление в которых происходило в позициях: метионин (M), цистеин (C), гистидин-триптофан (HW) и последовательности аспарагиновая кислота/лизин/аспарагин/пролин/аргинин/триптофан (DKNPRY). Также, учитывалось двойное окисление по метионину. Было установлено, что рост уровня окислительной модификации белков, после полета, был характерен для большинства из 131 белка анализируемой выборки. В том числе, для 30 белков из них — это увеличение было в 2 и более раз, по отношению к *существовавшему уровню до полета*, и еще у 16 белков окисгенация выявлялась *исключительно* после полета, но не присутствовала у тех же протеинов в фоне. Уровень окисления лишь 26 белков крови после совершенного космонавтами полета оставался на том же уровне, что и перед стартом. Значение возросшего уровня оксидативных модификаций группы белков, регистрируемых после КП, по данным биоинформатических ресурсов, предположительно, могло сказываться на особенностях функций: каскада гемостаза, активации комплемента, метаболизма внеклеточного матрикса, липидов, и осуществлении иммунных функций, а также контроля воспаления и поддержания равновесия протеазной и контр-протеазной активности во внеклеточной жидкости.

С целью прояснения возможных функциональных изменений, опосредованных определенным белком/белковым комплексом/сигнальным каскадом, был продолжен анализ посттрансляционных окислительных модификаций белков (PTMs), выявленных в группах протеинов образцов крови, собранной у космонавтов после завершения продолжительных полетов.

## МЕТОДИКА

*Объектами исследования* являлись образцы плазмы крови, собранные у 13 российских космонавтов до и после КП на российском сегменте МКС. Длительность полетов составляла 5.5–6.5 мес. Биологические образцы собирали в рамках утвержденного космического эксперимента российской национальной научной программы, перед полетом, а также на 1-ые и 7-ые сут после приземления, оформленного и одобренного в установленном порядке. После получения плазмы, пробы сохраняли до масс-спектрометрического исследования. Вслед за пробоподготовкой выполняли хромато-масс-спектрометрический анализ (ВЭЖХ – МС/МС) на комплексе, состоящем из хроматографа *Dionex Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, США)* в сочетании с

*Tims TOF Pro (Bruker Daltonics, Германия)* с использованием источника ионов наноспрея (режим положительных ионов, 1600 В) (*Bruker Daltonics, Германия*).

Количественную оценку изменений уровня белков крови космонавтов проводили безметочным методом (*label-free*), как это описано в работе [6]. Анализ МС/МС спектров проводили с помощью программного комплекса *Peaks Studios* [7] с использованием прямой и обратной базы *SwissProt* [8] с максимальной ошибкой для дочерних ионов менее 10 ppm. Для определения локуса образования белков использовали базу данных *Tissue-specific Gene Expression and Regulation (TIGER)* (<http://bioinfo.wilmer.jhu.edu/tiger>). Молекулярные функции и биологические процессы базы данных *GO* для анализируемых белков определяли по разделу базы данных *UniProt-GOA* [9]. Сверхпредставленность биологических процессов для полученных списков белков оценивали программой *BiNGO (Biological Network Gene Ontology tool)*.

Статистический анализ и определение молекулярных функций и биологических процессов, в которых участвуют белки, выполняли с использованием программного пакета *Perseus (version: 1.5.5.3)*. Для статистического анализа использовали программный пакет *Statistica 10*. Функциональный анализ белков проводили с помощью веб-ресурсов *DAVID*, *String* и программы *Cytoscape*. Статистически значимыми считали скорректированные данные с *p-value < 0.05* (точный критерий Фишера с поправкой на множественность сравнения Бенджамини-Хокберга). Для выявления в спектрах изменений в массе пептидов, соответствующих определенным PTMs, было просканировано 299215 *MS*-спектров и 4 *MS/MS*-спектров, статистика отфильтрованных результатов представлена в соответствующем разделе I части настоящей статьи [5]. Там же представлено подробное изложение аналитических приемов и методов анализа результатов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как было отмечено в I части [5] настоящей статьи, в структуре 131 белка из послеполетных образцов крови выявляются различные посттрансляционные модификации. Среди них были отобраны и в дальнейшем проанализированы только белки с оксидативными PTMs (ox-PTMs). Отбор был выполнен программными средствами, из 9060 отчетов по сканированию спектров. Уровень окислительных модификаций каждого белка, индуцированных КП, устанавливался при сравнении соотношения оксидативных PTMs того же протеина в образцах “после” vs “до полета”. Для составления статистической таблицы относи-

**Таблица 1.** Число белков с оксидативными модификациями в до- и послеполетных образцах крови

Группы белков	В белках дополетных образцов	Число ох-РТMs в белках послеполетных проб крови	
		рост числа ох-РТMs	сохранение числа ох-РТMs на дополетном уровне
ох-РТMs присутствуют	57 60%**	23* 40% <sup>a</sup>	34
ох-РТMs не присутствуют	38 40%**	16 42% <sup>a</sup>	22 (ох-РТMs не выявлены)
Всего белков с ох-РТMs	95 72% <sup>#</sup>	39	55
Всего белков с РТMs всех типов	131		

*Примечание:* \* – уровень значимости изменений относительно дополетных образцов –  $p < 0.05$ ; \*\* – % относительно общего числа белков с ох-РТMs; # – % относительно общего числа выявленных РТMs; <sup>a</sup> – % относительно числа белков данной группы с ох-РТMs.

тельно динамики числа ох-РТMs в белках устанавливали фильтр, отсекающий результаты выявления данного типа модификаций лишь в 1 или 2-х пептидах данного белка (табл. 1).

Статистика числа РТMs в белках крови космонавтов до совершения ими КП показывает, что ох-РТMs являются наиболее распространенным их типом (оксидативные модификации составляют 72% от общего числа). В то же время после выполненного полета дополнительно у значительной части белков крови выявляются окислительные модификации. К ним относятся как протеины с достоверно возросшим уровнем ох-РТMs после полета, по сравнению с таковым в предполетных образцах крови ( $p < 0.05$ ), так и белки, в которых перед полетом окислительные модификации не обнаруживались (табл. 2, 3).

В другой группе белков оксидативные модификации выявлялись исключительно в протеинах послеполетных образцов (табл. 3).

Были обнаружены и устойчивые к данному виду модификаций белки, уровень окисления которых в послеполетных образцах оставался на том же уровне, что и перед полетом. Анализ возможных причин их устойчивости к окислению и ее значения для физиологических систем организма выходит за рамки данной статьи и не приводится.

Учитывая, что, согласно биоинформатическому анализу, 106 протеинов из общего списка являются белками, функционирующим во внеклеточной жидкости (с FDR 7.33e-81), можно предположить, что в процессе осуществления своих функций они тесно взаимодействуют с внеклеточным матриксом (ВКМ).

В настоящее время является общепризнанным, что структурные компоненты ВКМ и ассоциированных с ним во внеклеточной жидкости соединений оказываются своеобразным сложным молекулярным хабом, связывающим в один

“распределительный узел” функции иммунитета, сосудистые компетенции, контроль воспаления, протеазно-контр-протеазный баланс, гемостаз. И с этой точки зрения оказывается невозможным рассматривать компоненты этих систем в качестве действующих изолированно, в рамках “своей” функциональной системы.

Предваряя анализ окисленных в послеполетных образцах плазмы белков, следует уделить внимание некоторым аспектам, касающимся функций ВКМ, в том числе – его взаимодействия с клеточным окружением.

С одной стороны, недавние исследования показали, что ВКМ чрезвычайно восприимчив к окислительному повреждению из-за его значительной представленности во внеклеточной жидкости, низкой скорости метаболизма (что приводит к накоплению повреждений) и относительно низких уровней внеклеточных антиоксидантов и компонентов репаративных систем [2, 10, 11]. В литературе представлен значительный объем данных, демонстрирующих, что оксиданты, генерируемые активированными лейкоцитами (нейтрофилами, моноцитами, тканевыми макрофагами), могут вызывать структурные и функциональные изменения компонентов ВКМ, в т.ч. протеогликанов [12–14]. Показано, что оксидативное повреждение ВКМ по сайтам метионина происходит вследствие ферментативного действия миелопероксидазы (МРО), высвобождаемой активированными лейкоцитами [15]. Активированные лейкоциты генерируют супероксидные радикалы ( $O_2^{\bullet-}$ ) и перекись водорода ( $H_2O_2$ ) с помощью ферментов НАДФН-оксидазы (NOX), а нейтрофилы, моноциты и тканевые макрофаги высвобождают миелопероксидазу (МРО) из внутриклеточных гранул [3]. В присутствии хлорид-ионов ( $Cl^-$ ) МРО использует  $H_2O_2$  для образования мощного окислителя, хлорноватистой

Таблица 2. Белки крови с достоверно увеличившимся уровнем окислительной модификации после полугодовых космических полетов (КП)

Белок	Сумма окислительных PTMs (до полета)	Сумма окислительных PTMs (после полета)	Соотношение окислительных PTMs после/до полета
$\alpha$ -Цепь фибриногена	80	136	1.7
$\beta$ -Цепь фибриногена	142	251	1.8
$\gamma$ -Цепь фибриногена	144	250	1.7
S3 компонент компонента	6	25	4.2
Альбумин	5	93	18.6
Фактор компонента Н	15	32	2.1
Аполипопротеин А-I	18	54	3
Аполипопротеин А-IV	3	13	4.3
C1s субкомпонент компонента	7	33	4.7
Фактор коагуляции 5	1	3	3.0
Легкая цепь С-домена иммуноглобулина	4	15	3.8
Константа иммуноглобулина к	4	15	3.8
Аполипопротеин А-II	3	16	5.3
Аполипопротеин L-I	1	4	4.0
Кластерин	17	34	2.0
Интер- $\alpha$ -трипсиновый ингибитор	2	6	3.0
Плазминоген	8	17	2.1
$\gamma$ 1-Цепь С-домена иммуноглобулина	12	24	2.0
$\mu$ -Цепь С-домена иммуноглобулина	7	13	1.9
Аполипопротеин Е	5	13	2.6
$\gamma$ 4-Цепь С-домена иммуноглобулина	5	13	2.6
$\gamma$ 2-Цепь С-домена иммуноглобулина	8	20	2.5
Субъединица В компонента компонента C1q	9	21	2.3

**Таблица 3.** Белки послеполетных образцов крови космонавтов с вновь выявленными оксидативными модификациями

Кодировка белка по базе данных <i>IPI</i>	Код белка в базе данных <i>Uniprot</i>	Наименование белка
P01023	A2MG_HUMAN	$\alpha$ -2-Макроглобулин
P02787	TRFE_HUMAN	Серотрансферрин
P01009	A1AT_HUMAN	$\alpha$ -1-Антитрипсин
P04264	K2C1_HUMAN	Кератин 2 типа, цитоскелетный
P00738	HPT_HUMAN	Гаптоглобин
P01008	ANT3_HUMAN	Антитромбин-3
P48740	MASP1_HUMAN	Маннан-связывающая лектин-сериновая протеаза 1
P00739	HPTR_HUMAN	Гаптоглобин-связывающий протеин
P35527	K1C9_HUMAN	Кератин 1 типа, цитоскелетный 9
P02788	TRFL_HUMAN	Лактоотрансферрин
P02654	APOC1_HUMAN	Аполипопротеин С-1
Q15166	PON3_HUMAN	Сывороточная параоксоназа/лактоназа 3
Q96PD5	PGRP2_HUMAN	Пептидогликан распознающий белок 2
Q12805	FBLN3_HUMAN	EGF-содержащий фибулин-подобный белок 1 внеклеточного матрикса
Q9UK55	ZPI_HUMAN	Ингибитор протеин Z-зависимой протеазы
P11226	MBL2_HUMAN	Манноза-связывающий белок С; коллектин-1

кислоты (НСЮ), реагирующего со многими биологическими мишенями, но в основном — из-за их большого количества и высокой реактивности — с белками [3, 15].

Показано, что ВКМ первично (т.е. непосредственно) чувствителен к механическим воздействиям [16]. Поэтому на экспрессию компонентов ВКМ может влиять механическое напряжение [17], создаваемое гравитацией, одним из наиболее важных физических факторов, влияющих на все виды жизни на Земле. И поскольку является общепризнанным фактом развитие оксидативного стресса в организме человека во время КП [1, 18], интерес к изучению оксидативных модификаций компонентов ВКМ в условиях микрогравитации становится обоснованным и неизбежным.

Кроме того, большинством исследователей признается, что ВКМ и его реорганизация (ремоделирование) имеют первостепенное значение в формировании и контроле иммунного микроокружения, а также для взаимодействия иммунная клетка — ВКМ [19, 20]. Сопряжение функций иммунитета и внеклеточного матрикса в последнее время достаточно документировано. Показано, что в механизмы ответа на окислительный стресс, факторы роста и провоспалительную активность вовлечены как иммунные клетки, так и ВКМ, а также лизилоксигеназы (LOX) [21]. За счет внеклеточного сигнального пути, ERK (одного из каскадов MAPK) продукты метаболиз-

ма ВКМ способны контролировать стресс эндоплазматического ретикула [22, 23]. Белки-компоненты ВКМ принадлежат к молекулярным паттернам, связанным с опасностью (DAMP), индуцирующим провоспалительное состояние и активирующим врожденную иммунную систему [24, 25]. Также, недавние следования показали роль гиалуронана (HA) и его рецепторов в адаптивном иммунитете, особенно в отношении эффекторной и регуляторной функции T-клеток [26]. Поэтому в нашем исследовании было важно обратить внимание на оксидативные модификации белков иммунной системы. Так, было показано значимое повышение уровня окисления фрагментов иммуноглобулинов (табл. 4).

Как показывает анализ данных, полученных в гравитационной физиологии при моделировании условий микрогравитации и после пилотируемых КП, в тканях человека создается гипоксическая среда [18]. Следует рассмотреть возможные изменения функций белков, собранные в табл. 4. Показано, что при гипоксии в эндотелиальных клетках терминального сосудистого русла человека транскрипция белка ITGB3 активируется с помощью индуцированного гипоксией фактора 1A (HIF1A) [27, 28]. Кроме того, данные продемонстрировали, что в гипоксической среде и при доступности витронектина рецептор эпидермального фактора роста vIII (EGFRvIII) и ITGB3 имеют тенденцию к формированию комплексов [29].

**Таблица 4.** Группа фрагментов иммуноглобулинов, с выявленными оксидативными PTMs

Белок	Кратность увеличения числа оксидативных PTMs после полета	Характеристика белка
$\beta$ -Цепь интегрина 3 (ITGB3)	3.8	*Белок ITGB3, также известный как CD61 или GP3A, является одним из наиболее хорошо изученных компонентов семейства интегринов. Рецептор адгезии на поверхности клетки, ITGB3 участвует в перепрограммировании метаболизма, формировании стромального и иммунного микроокружения. Является основным рецептором клеточной адгезии для ВКМ. Играет биологическую роль в межклеточном взаимодействии и связывании клеток с лигандами в ВКМ (витронектином и фибронектином). Активация интегрина может регулировать сборку ВКМ
$\kappa$ -Цепь С-домена иммуноглобулина	3.8	**Цепи ( $\kappa$ , $\gamma 1$ , $\gamma 2$ , $\gamma 4$ и $\mu$ ) константных доменов иммуноглобулинов ( <i>Ig</i> ). <i>Ig</i> – В-клеточные рецепторы, состоят из двух идентичных тяжелых цепей и двух одинаковых легких цепей; с дисульфидными связями между ними. Цепи кодируются в отдельных локусах генома. Комбинаторика генов, случайная и палиндромная вставка нуклеотидов в сайты сплайсинга в процессе образования <i>Ig</i> обеспечивает разнообразие этих белков, составляющих у человека, по оценкам, $10^{12}$
$\gamma 1$ -Цепь С-домена иммуноглобулина	2.0	
$\mu$ -Цепь С-домена иммуноглобулина	1.9	
$\gamma 4$ -Цепь С-домена иммуноглобулина	2.6	
$\gamma 2$ -Цепь С-домена иммуноглобулина	2.5	

Примечание: \* – по [26]; \*\* – по IMGT® <http://www.imgt.org>.

Показано, что интегрин могут также стимулировать внеклеточным кислым рН. Более того, кислое микроокружение также способствует активности матриксных металлопротеаз, которые связываются с интегринными  $\beta 3$  [30]. Анализ нескольких наборов данных показывает, что транспортер глюкозы 3 типа (GLUT3) устойчиво положительно коррелирует с ITGB3. Таким образом, ITGB3 активирует экспрессию GLUT3, поглощение глюкозы, продукцию лактата и уровень гликолиза. ITGB3 связывается с ВКМ через свой лиганд витронектин и матриксные металлопротеиназы (MMPs), позволяя MMP2 ремоделировать внеклеточный матрикс, что способствует активации эндотелиальных клеток [31]. Подавление функции ITGB3, в результате его оксигенации, приводит к потере молекулы адгезии эндотелиальных клеток (ECAM), вызывая интернализацию VEGFR-2 [32]. В свою очередь, ингибирование фосфорилирования и инактивация VEGFR-2 угнетает миграцию эндотелиальных клеток [33].

Космический полет изменяет фенотип иммунных клеток в костном мозге, лимфоидном органе, в котором происходит гемопоэз [34], а во время модельного эксперимента с вывешиванием гры-

зунов количество предшественников В-клеток в костном мозге снижается [35]. Реакция популяции В-клеток на КП не исследована столь тщательно, как это делается для Т-клеток. Только в отдельных работах исследовали влияние КП на репертуар *Ig*. Стимуляция человеческих В-клеток *in vitro* во время КП приводила к более низким концентрациям секретируемых *Ig* [36]. Достоверной разницы в уровнях *Ig* до и после полета в периферической крови космонавтов, летавших на борту МКС, не наблюдалось [37]. Измерение общего репертуара *Ig* селезенки мышей, экспонированных на МКС в течение 3 нед., показало, что не было влияния КП на использование сегмента В-гена [38]. Исследования эффектов КП на модели иммунизированных амфибий показали измененное семейство *VH*-генов и использование класса *Ig* [39, 40].

Известно, что при созревании В-клеток в костном мозге экспрессия иммуноглобулинов претерпевает ряд изменений. Предшественники зрелых В-клеток, пре-В-клетки, синтезируют только мембранные формы тяжелых цепей класса  $\mu$ . Также незрелые и зрелые В-клетки синтезируют легкие цепи классов  $\kappa$  и  $\lambda$ , которые, соединяясь с

**Таблица 5.** Основные функции группы аполипопротеинов с выявленными окислительными PTMs

Белок	Кратность увеличения числа окислительных PTMs после КП	Основные функции белка
Аполипопротеин А-I	3.0	Исключительно важен для обратного переноса холестерина из тканей в печень для экскреции; стимулирует отток холестерина из клеток и выступает в качестве кофактора для лецитинхолестеринацилтрансферазы (ЛХАТ)
Аполипопротеин А-IV	4.3	Играет роль в секреции и катаболизме хиломикрон и ЛПОНП. Требуется для эффективной активации липопротеинлипазы ApoC-II. Мощный активатор ЛХАТ. Является основным компонентом ЛПВП и хиломикрон
Аполипопротеин А-II	5.3	Стабилизирует структуру ЛПВП (липопротеинов высокой плотности) путем его ассоциации с липидами, и тем самым влияет на метаболизм ЛПВП
Аполипопротеин L-I	4.0	Минорный апопротеиновый компонент ЛПВП, синтезируется в печени, а также во многих других тканях. Обнаруживается в эндотелии сосудов, печени, сердце, легких, плаценте, подоцитах, проксимальных канальцах почек. Имеет секретлируемую форму. Образует комплекс, известный как трипаносомный литический фактор (TLF), с частицами липопротеинов высокой плотности 3 (HDL3), (ApoA1) и гемоглобинсвязывающим, связанный с гаптоглобином белком (HPR). Играет роль в воспалительной реакции. Провоспалительные цитокины интерферон- $\gamma$ , фактор некроза опухоли- $\alpha$ (ФНО- $\alpha$ ) и p53 повышают его экспрессию
Аполипопротеин E	2.6	Основной апопротеин хиломикрона. Он связывается со специфическим рецептором печени и периферических клеток и необходим для клиренса остатков хиломикрона и ЛПОНП

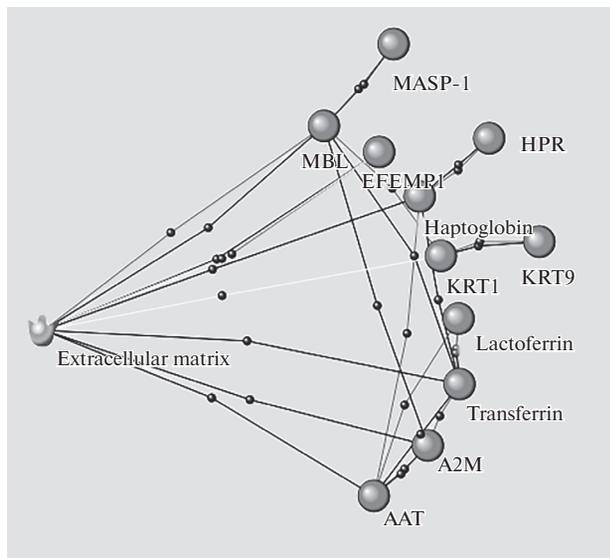
*Примечание:* PTMs – посттрансляционные модификации; ЛХАТ- лецитинхолестеринацилтрансфераза; ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности; ApoC-II – аполипопротеин C-II; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; TLF – трипаносомный литический фактор; HDL3 – липопротеины высокой плотности-3; ApoA1 – аполипопротеин А-I; и HPR – гемоглобинсвязывающий, связанный с гаптоглобином белок; ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли- $\alpha$ ; p53 – белок p53, регулирующий клеточный цикл.

тяжелыми цепями класса  $\mu$ , образуют антитела *IgM*. Зрелые *B*-клетки экспрессируют мембранные формы *IgM* и *IgD*, которые служат распознающими антигенами рецепторами и запускают активацию *B*-клеток. Рецепторы незрелых и зрелых *B*-клеток нековалентно связаны с интегринами, сигнальные функции которых необходимы для экспрессии поверхностных форм *IgM* и *IgD* [38]. Когда *B*-клетки активируются антигенами и другими стимулами, они превращаются в плазматические клетки, секретирующие антитела. В это же время переходит переключение классов антител, и клетка перестает синтезировать *IgM* и *IgD*, но начинает – *IgA*, *IgE* или *IgG*.

Нами выявлена повышенная, в 2 и более раз, интенсивность окислительных модификаций цепей как мембранных, так и секреторных форм

иммуноглобулинов (табл. 2). И поскольку окисление по дисульфидным мостикам, как наиболее вероятным сайтам окисления, ведет к их разрывам, можно предполагать фатальное изменение структуры и функции иммуноглобулинов, как минимум, классов *M* и *G*. Обращает на себя внимание состав окисленных фрагментов иммуноглобулинов – цепи ( $\kappa$ ,  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2$ ,  $\gamma 4$  и  $\mu$ ) константных доменов *Ig*. Поскольку каждая тяжелая цепь *Ig* имеет C-концевую константную (C) область, кодируемую отдельным геном C-области, которая определяет изотип антитела, окислительные модификации этой области выражено изменяют эффекторные или сигнальные функции этих молекул.

Как следует из табл. 5, группа аполипопротеинов (АПО) так же, как и фрагменты иммуноглобулинов, оказалась подвержена избыточному



**Рис. 1.** Ассоциативная связь белков крови, с повышенным содержанием окислительных модификаций после космического полета (КП), с внеклеточным матриксом.

окислению в послеполетных образцах, по сравнению с их состоянием перед полетом (АРОА1, АРОА2, АРОА4, АРОЛ1, АРОЕ). Липопротеины высокой плотности (ЛПВП), входящими в их состав АПО, представляют собой соединения, обладающие васкулопротекторными свойствами. Окисление считается наиболее распространенной посттрансляционной модификацией в аполипротеинах, особенно в АРОА1 (что обнаружено и нами). Так, окислительные модификации по остатку Тгр в АРОА1, обнаруженные в ткани и плазме, тесно связаны с потерей васкулопротекторных свойств ЛПВП у пациентов с абдоминальной аневризмой аорты [41]. Показано также, что окислительная модификация различных остатков АРОА1 присутствует в атеросклеротических бляшках и связана с дисфункцией ЛПВП [4, 42, 43]. Окисленные формы циркулирующего АРОА1 были выявлены в исследованиях у пациентов с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями [44, 45].

Мощными источниками окислительного стресса во внеклеточной жидкости, за счет высвобождения миелопероксидазы (МПО), и потенцирования процесса окислительно-восстановительным действием  $Fe^{2+}$  из свободного гемоглобина, являются нейтрофилы и эритроциты. В основном МПО выделяется активированными нейтрофилами, затем фермент катализирует реакцию между перекисью водорода и ионами хлорида с образованием хлорноватистой кислоты в качестве основного окислителя. МРО связан с ЛПВП, причем подтверждено, что ЛПВП от пациентов с аневризмой аорты несет более высокие уровни

МРО, по сравнению с ЛПВП в образцах от здоровых лиц [46]. Среди окислительных модификаций, происходящих под действием МПО, выделяется окисление сайта Тгр72 [44], что подтверждено *in vitro* и *in vivo*. Кроме оксидантов, полученных из нейтрофилов, важную роль в окислении АРОА1 могут играть другие источники АФК, такие как двухвалентное железо [47] или ферменты нейтрофилов, вышедшие из внеклеточных микрочастиц: никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФН) оксидазы [48]. Остатки Тгр являются ключевыми локусами, регулирующими МРО-опосредованную потерю ацепторной активности холестерина АРОА1 [49], следовательно, их окислительные модификации, могут объяснить снижение способности оттока холестерина из клеток [41].

Анализ основных функций сверхокисленных белковых компонентов аполипротеинов дает представление о функциях и биологических процессах, которые могут быть вследствие этого нарушены. Кроме влияния на метаболизм холестерина, клиренс остатков хиломикрон и ЛПОНП, провоспалительную активацию [50, 51], липопротеины входят в единую молекулярно-клеточную сеть, объединяющую функции иммунитета, регуляции комплемента, гемостаза, ремоделирование ВКМ [2, 16, 52].

Для прояснения и наглядного представления возможных механизмов, с помощью которых осуществляется влияние ВКМ на различные функции, с помощью программы *ANDsystem* были найдены связи некоторых “сверхокисленных” белков крови космонавтов после КП с процессами внеклеточного матрикса (рис. 1), в том числе — реализующимися через сигнальный путь ERK (рис. 2).

Участниками сети взаимодействий, воссозданной на рис. 1, оказались не только сверхокисленные белки, но и протеины, подвергшиеся *de novo* оксидативной модификации после полета. В целях упрощения схем взаимодействия мы ограничились воссозданием молекулярных цепочек без молекул-посредников (т.е. сети прямых взаимодействий). Однако в действительности молекулярные сети многозвенны. Так, рис. 1 иллюстрирует, как могут быть многообразны пути воздействия на ВКМ оксидативно измененных белков. Можно отметить, что в схему связей белков с внеклеточным матриксом вошли не все сверхокисленные белки. Кроме того, у некоторых белков связь оказалась не прямой (гаптоглобин-связывающий протеин — HPR, маннан-связывающая лектин-сериновая протеаза 1 — MASP1, кератин 1 типа, цитоскелетный 9 — KRT9), а через одного посредника из числа анализируемых белков. В то же время прямые связи с ВКМ были показаны для 8 белков: P01023|A2MG\_HUMAN — альфа-2-

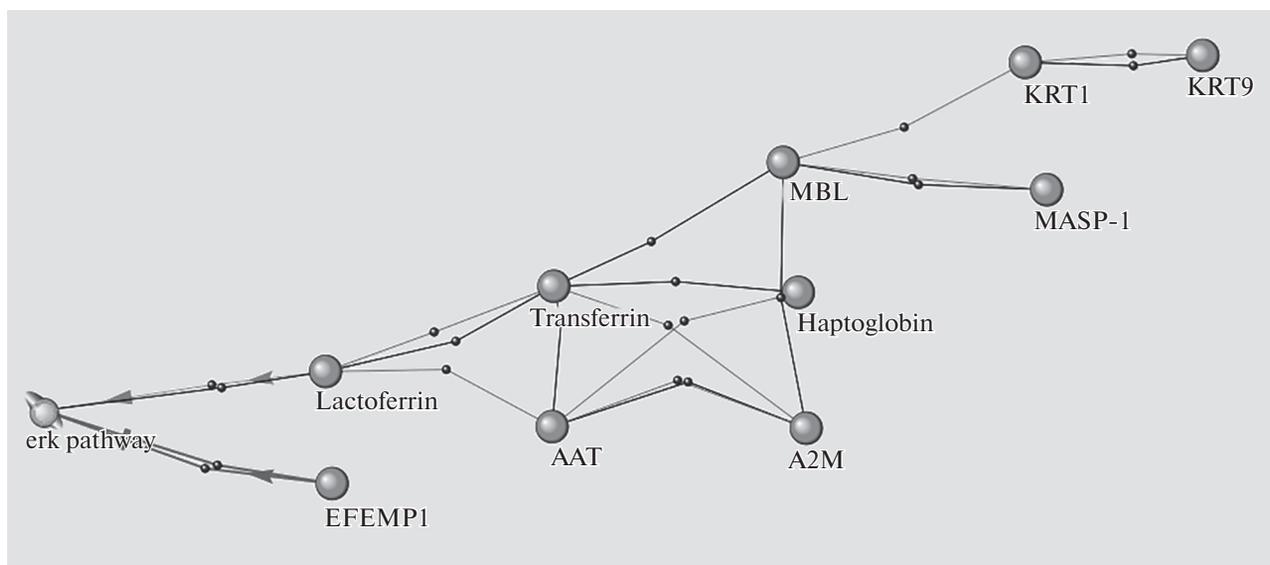


Рис. 2. Участие белков крови с повышенным содержанием окислительных модификаций после космического полета (КП) в сигнальном пути ERK.

макроглобулина, P02787|TRFE\_HUMAN – серотрансферрина, P01009|A1AT\_HUMAN – альфа-1-антитрипсина, P04264|K2C1\_HUMAN – кератина 2 типа, цитоскелетного, P00738|HPT\_HUMAN – гаптоглобина, P02788|TRFL\_HUMAN – лактоферрина, Q12805|FBLN3\_HUMAN – EGF-содержащего фибулин-подобного белка 1 внеклеточного матрикса, P11226|MBL2\_HUMAN – коллектина-1.

Сигнальным путем, через который белки с окислительной модификацией могут воздействовать на внутриклеточные события, по-видимому, является ERK, один из каскадов MAPK (рис. 2). Сопряжение функций иммунитета и внеклеточного матрикса отражено в работах [23–27], показывающих многообразие и сложность диалога клетка – внеклеточный матрикс. Интересно, что 2 белка из выше представленных (лактоферрин и EGF-содержащий фибулин-подобный белок 1 внеклеточного матрикса) напрямую участвуют в сигнальном пути ERK. Все остальные анализируемые белки были связаны с этим каскадом через молекулярных посредников.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно считать установленным, что посттрансляционные модификации белковых компонентов основного внеклеточного хаба (в который входит ВКМ), в т.ч. окислительные, индуцируются продолжительным пребыванием человека на борту космического объекта. При этом окисление белков, компонентов такой сложной сети взаимодействий, сказывается на функциях, осуществляемых как внеклеточно, так

и внутри клеток. В перспективе особенное внимание предстоит уделить взаимодействию этой молекулярной сети внеклеточной жидкости с эндотелиальными и гладкомышечными компонентами сосудов, поскольку приспособление к условиям КП сердечно-сосудистой системы лежит в основе многих интегративных функций, таких как физическая работоспособность, ортостатическая устойчивость, водно-электролитный баланс, терморегуляция.

**Этические нормы.** Исследования с участием Российских космонавтов проведены в рамках космического эксперимента “Протеом”, в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях, и одобрены комиссией по биомедицинской этике Института медико-биологических проблем РАН (Москва).

**Информированное согласие.** Каждый участник исследования представил добровольное письменное информированное согласие для участия в исследовании.

**Финансирование работы.** Исследования поддержаны программой фундаментальных научных исследований РАН 65.3. Исследование ПТМ белков плазмы крови с использованием масс-спектрометрии высокого разрешения проводилось в рамках проекта РФФ № 19-14-00306.

**Благодарности.** Авторы статьи выражают искреннюю благодарность космонавтам, принимавшим участие в исследовании.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ларина И.М., Григорьев А.И. Маркеры оксидативного стресса в жидкостях тела космонавтов после продолжительных космических полетов на МКС // Технологии живых систем. 2019. Т. 16. № 5. С. 5.  
*Larina I.M., Grigoriev A.I.* Markers of oxidative stress in body fluids of astronauts after prolonged space flights on the ISS // Technologies of Living Systems. 2019. V. 16. № 5. P. 5.
2. Chuang C.Y., Degendorfer G., Davies M.J. Oxidation and modification of extracellular matrix and its role in disease // Free. Radic. Res. 2014. V. 48. № 9. P. 970.
3. Winterbourn C.C., Kettle A.J., Hampton M.B. Reactive oxygen species and neutrophil function // Annu. Rev. Biochem. 2016. V. 85. P. 765.
4. Zheng L., Nukuna B., Brennan M.-L. et al. Apolipoprotein A-I is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease // J. Clin. Invest. 2004. V. 114. № 4. P. 529.
5. Ларина И.М., Бржозовский А.Г., Носовский А.М. и др. Посттрансляционные окислительные модификации белков плазмы крови космонавтов после продолжительного полета. Часть I // Физиология человека. 2020. Т. 46. № 5. С. 81.  
*Larina I.M., Brzhozovsky A.G., Nosovsky A.M. et al.* Post-Translational Oxidation Modifications of Blood Plasma Proteins of Cosmonauts after a Long-term Flight: Part I // Human Physiology. 2020. V. 46. № 5. P. 531.
6. Brzhozovskiy A.G., Kononikhin A.S., Indeykina M.I. et al. The effects of space flight factors on the human plasma proteome, including both real space missions and ground-based model experiments // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 20. № 13. P. 3194.
7. Bairoch A., Apweiler R. The SWISS-PROT protein sequence database and its supplement TrEMBL in 2000 // Nucleic. Acids. Res. 2000. V. 28. № 1. P. 45.
8. Gene Ontology Consortium, Blake J.A., Dolan M. et al. Gene Ontology annotations and resources // Nucleic. Acids. Res. 2013. V. 41(Database issue). P. D530.
9. Maere S., Heymans K., Kuiper M. BiNGO: a Cytoscape plugin to assess overrepresentation of gene ontology categories in biological networks // Bioinformatics. 2005. V. 21. № 16. P. 3448.
10. Kennett E.C., Rees M.D., Malle E. et al. Peroxynitrite modifies the structure and function of the extracellular matrix proteoglycan perlecan by reaction with both the protein core and the heparan sulfate chains // Free Radic. Biol. Med. 2010. V. 49. № 2. P. 282.
11. Degendorfer G., Chuang C.Y., Hammer A. et al. Peroxynitrous acid induces structural and functional modifications to basement membranes and its key component, laminin // Free Radic. Biol. Med. 2015. V. 89. P. 721.
12. Degendorfer G., Chuang C.Y., Kawasaki H. et al. Peroxynitrite-mediated oxidation of plasma fibronectin // Free Radic. Biol. Med. 2016. V. 97. P. 602.
13. Nybo T., Dieterich S., Gamon L.F. et al. Chlorination and oxidation of the extracellular matrix protein laminin and basement membrane extracts by hypochlorous acid and myeloperoxidase // Redox Biol. 2019. V. 20. P. 496.
14. Davies M.J., Hawkins C.L., Pattison D.I. et al. Mammalian heme peroxidases: from molecular mechanisms to health implications. Antioxid // Redox Signal. 2008. V. 10. № 7. P. 1199.
15. Pattison D.I., Davies M.J. Absolute rate constants for the reaction of hypochlorous acid with protein side chains and peptide bonds // Chem. Res. Toxicol. 2001. V. 14. № 10. P. 1453.
16. Ebnerasuly F., Hajebrahimi Z., Tabaie S.M. et al. Simulated Microgravity Condition Alters the Gene Expression of some ECM and Adhesion Molecules in Adipose Derived Stem Cells // Int. J. Mol. Cell. Med. 2018. V. 7. № 3. P. 146.
17. Seitzer U., Bodo M., Muller P.K. et al. Microgravity and hypergravity effects on collagen biosynthesis of human dermal fibroblasts // Cell. Tissue Res. 1995. V. 282. № 3. P. 513.
18. Ларина И.М., Буравкова Л.Б., Григорьев А.И. Кислород-зависимые адаптационные процессы в организме человека в обычных условиях жизнедеятельности и в космическом полете // Авиакосм. и экол. мед. 2021. Т. 55. № 1. С. 5.  
*Larina I.M., Buravkova L.B., Grigoriev A.I.* [Oxygen-dependent adaptation processes in the human organism in usual living conditions and during space flight] // Aviakosm. Ekol. Med. 2021. V. 55. № 1. P. 5.
19. Vannucci L. Stroma as an active player in the development of the tumor microenvironment // Cancer Microenviron. 2015. V. 8. № 3. P. 159.
20. Varol C., Sagi I. Phagocyte-extracellular matrix crosstalk empowers tumor development and dissemination // FEBS J. 2018. V. 285. № 4. P. 734.
21. Tenti P., Vannucci L. Lysyl oxidases: linking structures and immunity in the tumor microenvironment // Cancer Immunol. Immunother. 2020. V. 69. № 2. P. 223.
22. Schinzel R.T., Higuchi-Sanabria R., Shalem O. et al. The Hyaluronidase, TMEM2, Promotes ER Homeostasis and Longevity Independent of the UPRER // Cell. 2019. V. 179. № 6. P. 1306.
23. Goncalves R.L.S., Hotamisligil G.S. TMEM2 Modulates ER Stress in a Non-canonical Manner // Cell. Metab. 2019. V. 30. № 6. P. 999.
24. Patel S. Danger-Associated Molecular Patterns (DAMPs): the Derivatives and Triggers of Inflammation // Curr. Allergy Asthma Rep. 2018. V. 18. № 11. P. 63.
25. Chen Zhu, Ziqing Kong, Biao Wang et al. ITGB3/CD61: a hub modulator and target in the tumor microenvironment // Am. J. Transl. Res. 2019. V. 11. № 12. P. 7195.
26. Nagy N., Kuipers H.F., Marshall P.L. et al. Hyaluronan in immune dysregulation and autoimmune diseases // Matrix Biol. 2019. V. 78–79. P. 292.
27. Befani C., Liakos P. Hypoxia upregulates integrin gene expression in microvascular endothelial cells and promotes their migration and capillary-like tube formation // Cell. Biol. Int. 2017. V. 41. № 7. P. 769.
28. Sesé M., Fuentes P., Esteve-Codina A. et al. Hypoxia-mediated translational activation of ITGB3 in breast cancer cells enhances TGF- $\beta$  signaling and malignant features in vitro and in vivo // Oncotarget. 2017. V. 70. № 8. P. 114856.
29. Liu Z., Han L., Dong Y. et al. EGFRvIII/integrin  $\beta$ 3 interaction in hypoxic and vitronectin-enriching microenvironment promote GBM progression and metastasis // Oncotarget. 2016. V. 7. № 4. P. 4680.

30. *Paradise R.K., Lauffenburger D.A., Van Vliet K.J.* Acidic extracellular pH promotes activation of integrin alpha(v)beta(3) // *PLoS One*. 2011. V. 6. № 1. P. e15746.
31. *Silletti S., Kessler T., Goldberg J. et al.* Disruption of matrix metalloproteinase 2 binding to integrin alpha vbeta 3 by an organic molecule inhibits angiogenesis and tumor growth in vivo // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001. V. 98. № 1. P. 119.
32. *Imamaki R., Ogawa K., Kizuka Y. et al.* Glycosylation controls cooperative PECAM-VEGFR2-β3 integrin functions at the endothelial surface for tumor angiogenesis // *Oncogene*. 2018. V. 37. № 31. P. 4287.
33. *Huang R., Rofstad E.K.* Integrins as therapeutic targets in the organ-specific metastasis of human malignant melanoma // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2018. V. 37. № 1. P. 92.
34. *Ortega M.T., Pecaut M.J., Gridley D.S. et al.* Shifts In Bone Marrow Cell Phenotypes Caused By Spaceflight // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2009. V. 106. № 2. P. 548.
35. *Lescale C., Schenten V., Djeghloul D. et al.* Hind limb unloading, a model of spaceflight conditions, leads to decreased B lymphopoiesis similar to aging // *FASEB J.* 2015. V. 29. № 2. P. 455.
36. *Fitzgerald W., Chen S., Walz C. et al.* Immune Suppression Of Human Lymphoid Tissues And Cells In Rotating Suspension Culture And Onboard The International Space Station // *In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim.* 2009. V. 45. № 10. P. 622.
37. *Моруков Б.В., Рыкова М.П., Антропова Е.Н.* Иммунологические аспекты пилотируемого марсианского полета // *Физиология человека*. 2013. Т. 39. № 2. С. 19.  
*Morukov B.V., Rykova M.P., Antropova E.N. et al.* [Immunological aspects of a piloted mission to Mars] // *Fiziol. Cheloveka*. 2013. V. 39. № 2. P. 19.
38. *Ward C., Rettig T.A., Hlavacek S. et al.* Effects of spaceflight on the immunoglobulin repertoire of unimmunized C57BL/6 mice // *Life Sci. Space Res (Amst)*. 2018. V. 16. № 2. P. 63.
39. *Boxio R., Dournon C., Frippiat J.P.* Effects of a long-term spaceflight on immunoglobulin heavy chains of the urodele amphibian *Pleurodeles Waltl* // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2005. V. 98. № 3. P. 905.
40. *Bascope M., Gueguinou N., Schaerlinger B. et al.* Decrease in antibody somatic hypermutation frequency under extreme, extended spaceflight conditions // *Faseb J.* 2011. V. 25. № 9. P. 2947.
41. *Martínez-López D., Camafeita E., Cedó L. et al.* APOA1 oxidation is associated to dysfunctional high-density lipoproteins in human abdominal aortic aneurysm // *EBioMedicine*. 2019. V. 43. P. 43.
42. *Zheng L., Nukuna B., Brennan M.-L. et al.* Apolipoprotein A-I is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease // *J. Clin. Invest.* 2004. V. 114. № 4. P. 529.
43. *Bergt C., Pennathur S., Fu X. et al.* The myeloperoxidase product hypochlorous acid oxidizes HDL in the human artery wall and impairs ABCA1-dependent cholesterol transport // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2004. V. 101. № 35. P. 13032.
44. *Huang Y., DiDonato J.A., Levison B.S. et al.* An abundant dysfunctional apolipoprotein A1 in human atherosclerosis // *Nat. Med.* 2014. V. 20. № 2. P. 193.
45. *Shao B., Tang C., Sinha A. et al.* Humans with atherosclerosis have impaired ABCA1 cholesterol efflux and enhanced high-density lipoprotein oxidation by myeloperoxidase // *Circ Res.* 2014. V. 114. № 11. P. 1733.
46. *Ortiz-Muñoz G., Houard X., Martín-Ventura J.-L. et al.* HDL antielastase activity prevents smooth muscle cell anoikis, a potential new antiatherogenic property // *FASEB J.* 2009. V. 23. № 9. P. 3129.
47. *Martinez-Pinna R., Lindholt J.S., Madrigal-Matute J. et al.* From tissue iron retention to low systemic haemoglobin levels, new pathophysiological biomarkers of human abdominal aortic aneurysm // *Thromb. Haemost.* 2014. V. 112. № 1. P. 87.
48. *Smith C.K., Vivekanandan-Giri A., Tang C. et al.* Neutrophil extracellular trap-derived enzymes oxidize high-density lipoprotein: an additional proatherogenic mechanism in systemic lupus erythematosus // *Arthritis Rheumatol.* 2014. V. 66. № 9. P. 2532.
49. *Peng D.-Q., Brubaker G., Wu Z. et al.* Apolipoprotein A-I tryptophan substitution leads to resistance to myeloperoxidase-mediated loss of function // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008. V. 28. № 11. P. 2063.
50. *Sorokin L.* The impact of the extracellular matrix on inflammation // *Nature Rev. Immunol.* 2010. V. 10. № 10. P. 712.
51. *Gaggar A., Jackson P.L., Noerager B.D. et al.* A novel proteolytic cascade generates an extracellular matrix-derived chemoattractant in chronic neutrophilic inflammation // *J. Immunol.* 2008. V. 180. № 8. P. 5662.
52. *Bonnans C., Chou J., Werb Z.* Remodelling the extracellular matrix in development and disease // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2014. V. 15. № 12. P. 786.

## Post-Translation Oxidation Modifications of Blood Plasma' Proteins of Cosmonauts after a Long-Term Flight. Part II

I. M. Larina<sup>a,\*</sup>, A. G. Brzhzovsky<sup>a</sup>, A. M. Nosovsky<sup>a</sup>, M. I. Indeykina<sup>b</sup>, A. S. Kononikhin<sup>a,c</sup>, E. N. Nikolaev<sup>c</sup>, O. I. Orlov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Biomedical Problems of the RAS, Moscow, Russia*

<sup>b</sup>*Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow, Russia*

<sup>c</sup>*Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia*

\*E-mail: irina.larina@gmail.com

During spaceflight in the human body, due to disequilibrium of production and elimination of free radicals and reactive oxygen species, oxidative damage of the main cellular components – DNA, lipids, proteins –

occurs more actively than in normal conditions. The article analyzes, using proteomics, the frequency of detection of oxidative post-translational modifications in blood plasma proteins received from Russian participants in semi-annual flights to the ISS. Influence of oxidative modification recorded after CP on functional features of protein groups according to bioinformatic analysis, involved in metabolism of extracellular matrix (ECM), lipids, performance of immune functions, as well as control of inflammation is considered. The protein components of apolipoproteins (APOA1, APOA2, APOA4, APOB, APOE) were subjected to excessive oxidation in post-flight samples compared to their pre-flight state, which disrupts their vasculoprotective properties. Increased, 2 times or more, intensity of oxidative modifications of chains of both membrane and secretory forms of immunoglobulins was revealed. The composition of oxidized immunoglobulin fragments – chains ( $\kappa$ ,  $\gamma$ 1,  $\gamma$ 2,  $\gamma$ 4 and  $\mu$ ) of constant immunoglobulin domains (Ig) indicates the possibility of changing the effector and/or signaling functions of Ig. The structural components of ECM and its associated compounds in extracellular fluid are a complex molecular hub that binds immune functions, vascular competencies, inflammation control, protease-counter-protease balance, hemostasis. The components of this system are considered in close relationship.

*Keywords:* space flight, proteomics, blood plasma, oxidative stress, posttranslational modifications.

УДК 612.014.461

## ФИЗИОЛОГИИ ПОЧКИ И ВОДНО-СОЛЕВОГО ГОМЕОСТАЗА ЧЕЛОВЕКА: НОВЫЕ ПРОБЛЕМЫ

© 2021 г. Ю. В. Наточин\*

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: [natochin1@mail.ru](mailto:natochin1@mail.ru)

Поступила в редакцию 29.11.2020 г.

После доработки 20.02.2021 г.

Принята к публикации 23.03.2021 г.

Предложены новые подходы к оценке роли почек в водно-солевом гомеостазе человека. Представлена роль почек в непрерывном воссоздании оптимального состава и объема жидкостей внутренней среды, формировании белкового состава сыворотки крови, ее онкотического давления для поддержания объемов внутри- и внесосудистой жидкости. Показаны значение и эндокринные механизмы регуляции реабсорбции жидкости в проксимальном сегменте нефрона. Проанализирована роль почек в поддержании эндокринного статуса крови. Доказано функциональное и диагностическое значение не только абсолютной концентрации ионов натрия и калия в сыворотке крови, но и их соотношения. Сформулировано представление о значении каскадной системы регуляции водно-солевого обмена в организме в смягчении резких сдвигов параметров жидкостей внутренней среды при потреблении воды и пищи. Обсуждается проблема функциональной организации сенсорного обеспечения физико-химических показателей крови (осморегуляция и др.). Найден подход к применению клиренсовых формул для оценки роли почек в регуляции объема клеток как одного из наиболее значимых физиологических параметров. Анализируется проблема специфики физиологии почек и водно-солевого гомеостаза у человека.

*Ключевые слова:* функции почки, проксимальная реабсорбция, гомеостаз, мозг, клиренс, осмоляльность, регуляция объема клетки.

DOI: 10.31857/S0131164621040111

Понимание функций физиологических систем у человека, их особенностей, требует проникновения в механизмы работы каждого молекулярного элемента, необходимо понять его роль в осуществлении физиологического акта с участием клеток и их ансамблей, а в конечном счете каждой структуры, но в условиях ее функционирования в целостном организме. Обязательным условием для эффективной функции любой клетки организма служит относительное постоянство физико-химических параметров околоклеточного окружения, жидкостей внутренней среды, того, что входит в понятие водно-солевой гомеостаз [1]. При раскрытии сути этого физиологического понятия необходимо охарактеризовать его назначение, численное значение показателей, описать эффекторные органы, участвующие в его реализации в организме. В процессе эволюции жизни на Земле появилось многоклеточных организмов сопровождалось возникновением околоклеточной жидкости, специальной среды у клеток. Это было необходимо для формирования оптимальных условий работы каждой клетки, обеспечения

независимости организма от колебаний физико-химических параметров окружающей живое существо внешней среды. Поскольку речь идет о физиологии водно-солевого гомеостаза, его изучение на уровне всего организма требует оценки состояния каждого из элементов системы водно-солевого обмена и их взаимосвязи. Данный подход может быть основой понимания роли элемента в целостном явлении, каким служит адаптация, изменение поведения особи в данное мгновение жизни.

Гомеостаз – непрерывно действующий процесс, он реализуется в целостном организме. Само по себе это явление в физиологии может быть раскрыто, если учтены структурные и функциональные компоненты всей совокупности молекулярных процессов, обеспечивающих его. Целью данной статьи является попытка охарактеризовать роль водно-солевого гомеостаза в деятельности человека, и в ряде случаев пересмотреть существующие представления. Речь идет о механизме сенсорного восприятия физико-химических факторов при интерорецепции, способах реабсорб-

ции веществ в канальцах почки, профильтровавшихся в клубочках и обеспечивающих среду для жизни клеток. Необходимо переосмысление понятия максимального канальцевого транспорта веществ при реабсорбции и секреции ( $T_m$ ), оценки роли метода клиренса ионов почкой, описание его новых вариантов как способов подхода к изучению регуляции объема клеточки в условиях целостного организма, обсуждение особенностей изучения водно-солевого гомеостаза у человека.

### Сенсорика и гомеостаз

Проблема физиологии сенсорных систем, о которой пойдет речь, по-видимому, никогда ранее не рассматривалась. Хорошо известно исключительное значение в жизни человека относительного постоянства таких физических и химических показателей как концентрация в сыворотке крови каждого иона, отдельных органических веществ. В справочниках точно указаны пределы нормальных значений многих показателей, измеренных с помощью точной аппаратуры. Описана группа термочувствительных ионных каналов TRPV2 и др. [2], исследованы особенности регуляции функций при отдельных заболеваниях, адаптации к экстремальным условиям [3]. Обсуждаются проблемы интерорецепции, типы рецепторов (осморорецепторы, натриорецепторы, терморецепторы), пути проведения импульсов по афферентным путям, локализация центров осморегуляции и др. [4, 5], регуляции объема клетки [6].

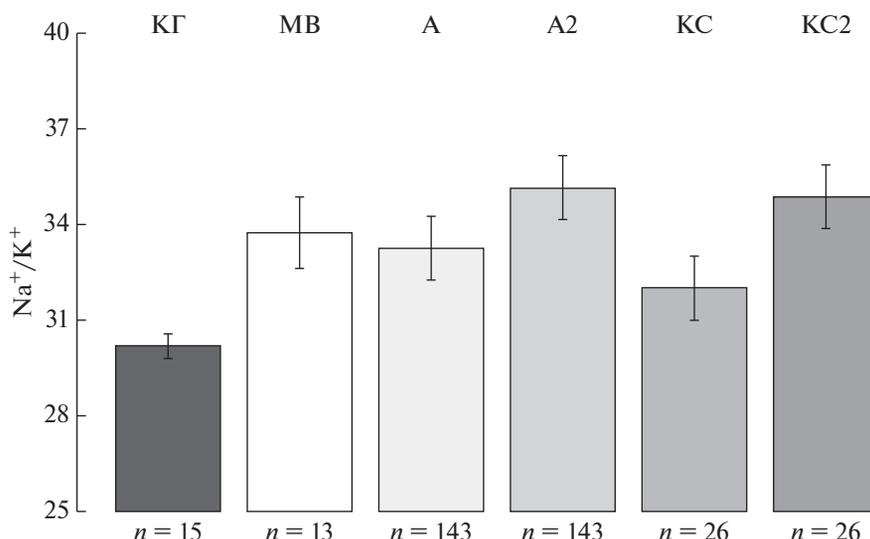
Сенсорная система для оценки значения физико-химического параметра должна иметь внутренний стандарт, с которым сопоставляется измеренное значение, чтобы сохранить заданную величину в строго заданных рамках для данного вида организмов. При ее увеличении или снижении включаются физиологические способы восстановления. Развитие патологического состояния (гипертермия, гипотермия) возможно не только из-за действия экстремального, инфекционного или иного фактора, влияющего на организм, но не исключено, что причиной может быть повреждение внутреннего стандарта сравнения. Если произошло нарушение состояния внутреннего эталона, с которым сопоставляются показатели от рецепторов, то возникнет неверный сигнал, развивается патологическое состояние, сопровождающееся изменением физического параметра. Ключевой вопрос, который не был даже поставлен в литературе, состоит в том, чтобы понять, как организован стандарт, на который ориентируется центр регуляции в гипоталамусе при поддержании специфической для организма функции.

Важно понять, что подобное рассуждение может быть распространено на системы регуляции осмоляльности, концентрации отдельных ионов

в сыворотке крови. Известно, насколько точно удерживает в сыворотке крови человека каждый из этих показателей, но нет точных сведений о молекулярной организации осморорецепторов, рецепторов для отдельных ионов, их химической структуре. Установлено существование осморорецепции, натриорецепции, пути проведения сигнала и локализация соответствующих центров [5], однако нет данных, как определяется численное значение каждого физико-химического показателя, концентрация данного вещества в крови у человека или животного.

### Зависимость $Na^+/K^+$ отношения в сыворотке крови от возраста и функционального состояния человека

В литературе по физиологии водно-солевого обмена обычно идет речь о концентрации и функциональной роли отдельных ионов в сыворотке крови [7, 8]. Однако неразработанным в проблеме ионного гомеостаза остается вопрос о соотношении концентраций отдельных ионов в околочелюточной среде. Обычно анализируется соотношение ионов между околочелюточной жидкостью и цитоплазмой, иными словами, между сывороткой крови и клеткой. В таблицы вносятся концентрация отдельных физико-химических показателей сыворотки крови, спинномозговой жидкости, мочи, приводятся стандартные значения и пределы этих величин [9]. Концентрация ионов натрия, кальция, калия, магния действительно имеет ключевое значение в анализе биоэлектрических явлений, оценке действия гормонов. Известно, что в физиологических процессах большое значение имеет соотношение ионов между клеткой и околочелюточной жидкостью, но согласно существующим представлениям объектом регуляции служит концентрация в сыворотке крови данного иона. Измерение внутриклеточной концентрации иона удел экспериментальных работ и редко — клинических. Так как варьирование концентрации иона в сыворотке влияет на функцию клетки, то для нормализации состояния организма следует допустить, что могут происходить компенсаторные изменения концентрации ионов в жидкости внутренней среды в ответ на отклонение от количественного содержания парного иона. Таким образом, вероятно, регулируется не только концентрация, но и соотношение ряда ионов во внутренней среде, а компенсаторные процессы оптимизируют данную функцию. Известно значение соотношения ионов натрия и калия в поддержании мембранного потенциала [10], который определяется концентрацией каждого из этих ионов в содержимом клетки и в околочелюточной жидкости, но в обсуждаемом нами случае речь идет о другом явлении — соотношении этих же ионов в сыворотке крови. В связи с этим, имеет ли значение только  $Na^+/K^+$



**Рис. 1.** Соотношение  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  в сыворотке крови у человека при экстремальных условиях и патологии. По вертикали:  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение. КГ – контрольная группа здоровые дети из спортивной школы; МВ – пациенты с муковисцидозом; А – астронавты, КС – космонавты до полета; А2 – астронавты, КС2 космонавты после космического полета. *n* – число обследованных. Первичные данные КГ и МВ по результатам совместных исследований с А.А. Кузнецовой и А.В. Нистаровой; данные исследования у астронавтов и космонавтов по [19].

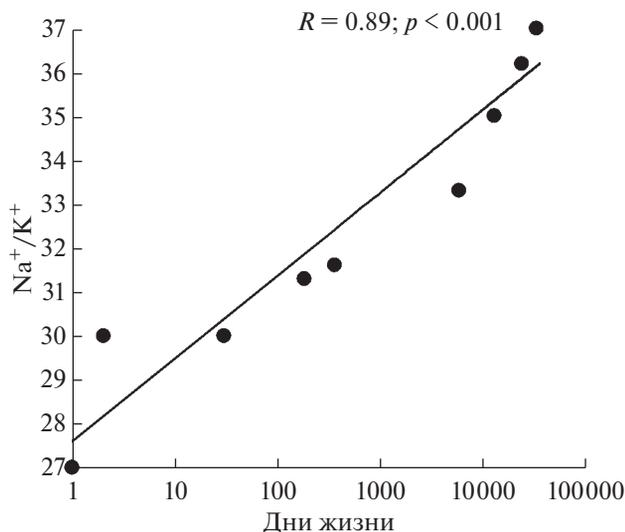
отношение между клеткой и сывороткой крови, или также параллельно в каждой из этих водных сред – цитоплазме и сыворотке крови? Например, гипокалиемия вызывает экстрасистолию, аритмию, при ней меняется  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение в сыворотке, но как это отражается на соотношении тех же ионов в кардиомиоците?

Важно понять, насколько значимо соотношение этих же ионов в сыворотке крови человека, регулируется ли оно специальными системами, или регуляции подвластна только концентрация каждого катиона в сыворотке крови, а не соотношение концентраций этих ионов. Нами проанализировано соотношение концентраций ионов при разных функциональных состояниях человека, а также при генетически верифицированных формах патологии у человека. Рассмотрение в данной статье особенностей, касающихся только одновалентных катионов ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ), вызвано тем, что в отличие от кальция и магния, основное количество натрия и калия представлено в сыворотке крови свободными ионами. В то же время в сыворотке крови человека двухвалентные катионы частично связаны, в свободном состоянии находится лишь около половины ионов кальция и ~75% ионов магния. Остальная часть двухвалентных катионов не активна, а связана с молекулами белков и некоторыми низкомолекулярными анионами. Тем самым, измерение их общей концентрации в сыворотке крови лишь частично отражает истинное участие в реализации функции.

Следует рассмотреть соотношение концентраций  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в сыворотке крови. В качестве объ-

екта изучения – данные здоровых людей, взрослых и подростков, обследованных в стандартных условиях и имеющих значение концентрации этих ионов в сыворотке крови в пределах нормы (рис. 1). Были взяты пробы у практически здоровых подростков, которые проходили обследование для возможности тренировки в спортивной школе. Они не имели хронических заболеваний и соответствовали нормам здорового человека. Другую группу составили советские и российские космонавты и американские астронавты, были сопоставлены данные после полета по сравнению с предполетными данными. У них концентрация  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  остается в пределах значений нормы, в то же время  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение после полета возросло почти на 10%. Такое же явление обнаруживается при патологии у детей с муковисцидозом (рис. 1). Выбор этой формы патологии был обусловлен возможностью генетической верификации заболевания, связанного с мембранным транспортом хлоридов.

Нами было рассчитано  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение в сыворотке крови и на разных этапах жизни человека со дня рождения до пожилого возраста. Становление водно-солевого обмена находит отражение в интегративной деятельности организма, обеспечивающей гомеостаз. Оказалось, что в течение жизни человека растет  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение в сыворотке крови, хотя концентрация  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  остается в пределах значений нормы (рис. 2). В литературе имеется огромное количество исследований, где была измерена концентрация  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  при разных функциональных состояни-



**Рис. 2.** Изменение отношения  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  в сыворотке крови человека в течение жизни. По оси абсцисс – жизнь человека в днях (lg); по оси ординат –  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение в сыворотке крови. Рассчитано по данным [9].

ях и при разных формах патологии у человека [9]. Хорошо известна роль  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в электрогенезе мембран клеток, что служит важнейшим функциональным проявлением процессов жизни. В этой связи, важно понять, регулируется ли только концентрация каждого из этих катионов или существует возможность контролировать и регулировать их соотношение, иначе говоря, имеет ли исключительное значение абсолютная концентрация каждого из этих ионов во внеклеточной жидкости и (или) их соотношение, как между клеткой и внеклеточной жидкостью, так и в сыворотке крови, которое определяется абсолютной концентрацией свободных ионов?

Поскольку у астронавтов и космонавтов это соотношение возрастает после полетов, возникло предположение, что в организме человека имеется система, которая реагирует не только на изменения концентрации веществ в жидкостях внутренней среды, но и на состояние объема клеток. Сигнал об этом параметре, при участии нервной и эндокринной систем, передается почкам, как основному эффекторному органу организма для поддержания оптимального физико-химического статуса организма. При увеличении осмоляльности сыворотки крови уменьшается объем клетки, чтобы его восстановить надо  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  насосом повысить поступление  $\text{K}^+$  в клетку. Это требовало поиска физиологического параметра, который подлежит жесткому гомеостатическому контролю, поддерживая баланс  $\text{K}^+$ .

### Метод клиренса в оценке роли почек в регуляции объема клеток

Быстрое развитие физиологии почек в первой половине XX в. во многом было обусловлено разработкой методов клиренса и методов микропункции нефронов, давших возможность количественной оценки функций почек в целостном организме. Методы клиренса широко используются в экспериментальной и клинической физиологии, нефрологии, физиологии человека для количественной характеристики процессов, лежащих в основе мочеобразования. Они позволили без применения наркоза в естественных условиях жизни измерять у человека скорость гломерулярной фильтрации (клиренс инулина, креатинина), почечного кровотока (клиренс ПАГ), показатели осморегулирующей функции почек (клиренс осмотически свободной воды). Клиренсовый подход имеет особое значение в физиологии почки человека, поскольку он дает интегральную характеристику работы почек, где одновременно функционируют несколько популяций нефронов, отличающихся по функции их отделов, регуляции деятельности клеток. Новые формулы клиренса открывают возможность оценки деятельности почек у человека для осморегуляции, стабилизации параметров сыворотки крови и регуляции объема клеток тела.

Осмоляльность сыворотки крови служит одним из наиболее строго поддерживаемых параметров у человека. Количественные параметры участия почек в осморегуляции организма, разработанные *H.W. Smith* [11], включают расчет клиренса осмотически свободной воды, который позволяет понять особенности работы почек при образовании разведенной и осмотически концентрированной мочи. Однако он не дает возможности оценить функциональное значение почек человека в создании условий для поддержания постоянного объема каждой клетки организма, эта функция может быть проанализирована при расчете клиренса свободной от натрия воды [12]. Регуляция объема клеток необходима для того, чтобы физиологические процессы могли стабильно протекать в заданном режиме [13]. Набухание или сморщивание клеток приводит к их дисфункции. В мембране клетки имеются водные каналы – аквапорины, поток воды по ним происходит по осмотическому градиенту и зависит от двух факторов – содержания осмотически активных веществ в цитоплазме клетки и осмоляльности околоклеточной среды. Осморегулирующая функция почек человека направлена на сохранение относительного постоянства осмотического давления сыворотки крови за счет экскреции или реабсорбции осмотически свободной воды. Таким образом, исключительное физиологическое значение имеет понимание физиологических меха-

низмов регуляции объема клетки и роли почек в создании в организме человека условий для оптимального выполнения этой задачи, что потребовало модификации классических клиренсовых методов.

Очищение от осмотически свободной воды, рассчитываемое по формуле *H.W. Smith* [11], включает осмоляльность мочи, осмоляльность сыворотки крови, диурез. Расчеты по такой формуле позволяют охарактеризовать процессы, происходящие в почке, реакцию почек для осморегуляции в организме, но не дают ответа на вопрос о количественном значении очищения организма от осмотически свободной воды, необходимой для регуляции объема клеток [12]. В норме осмоляльность сыворотки крови у человека практически совпадает с осмоляльностью внутриклеточного содержимого, но обеспечивается разными осмотически активными веществами. В клетке — это калий, в сыворотке крови — натрий, хлориды. В моче по сравнению с сывороткой крови, а тем более с цитоплазмой клеток, существенные отличия касаются концентрации ключевых осмотически активных веществ — ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и мочевины. Это принципиально важно для стабилизации важнейшего параметра клетки — регуляции ее объема.  $\text{Na}^+$  имеет ключевое значение для осмоляльности внеклеточной жидкости, сыворотки крови,  $\text{K}^+$  служит основным внутриклеточным катионом, его поступление в клетку зависит от мембранной проницаемости, работы  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  насоса в мембране. Мочевина относительно свободно проникает через плазматическую мембрану большинства клеток, а потому не существенна для осморегуляции клеток, но она вносит большой вклад в осмоляльность мочи. Осмометр не различает эти вещества и измеряет их в виде суммарной концентрации (осмоляльности) изучаемой жидкости. Так как в моче обычно высока концентрация натрия, мочевины и калия, следовательно, единственным из перечисленных веществ, имеющих существенное значение в оценке роли почек в поддержании объема клеток, имеют ионы натрия как основного внеклеточного осмотически активного вещества. Из этого следует, что для оценки роли почек в клеточной осморегуляции необходима формула, которая учитывает роль  $\text{Na}^+$  и позволит рассчитать выделение почкой воды, свободной от  $\text{Na}^+$  [12]. Проведенные нами исследования совместно с А.А. Кузнецовой и А.В. Нистаровой показали, что почка детей при муковисцидозе отличается от здоровых детей и пациентов с другими формами патологии повышенной чувствительностью к участию натрия в клеточной осморегуляции.

### Проблемы реабсорбции идеальной жидкости

Млекопитающие, как и человек, обитают в разных условиях внешней среды, но их клетки находятся в стабильном околоклеточном микроокружении, что обеспечивает независимость особи от колебаний внешних условий. Чем сложнее существо, чем выше оно находится в эволюционном ряду, тем эффективнее функционирует эта система. У человека с возрастом от рождения до совершеннолетия все стабильнее поддерживается концентрация каждого из компонентов жидкостей внутренней среды. Мысль о существовании внутренней среды была высказана К. Барнаром в 70-х гг. XIX в. [14]. Она получила развитие в работах *W.B. Cannon* [15], которому принадлежит и термин гомеостаз. Физиологическая трактовка этой идеи имеется в работах Дж. Баркрофта [16], *H.W. Smith* [17], Орбели [18].

Суть идеи гомеостаза в том, что многоклеточный организм, непрестанно приспосабливается к меняющейся внешней среде, а его физиологические системы обеспечивают постоянство внутренней среды, в которой функционируют клетки особи. У большинства многоклеточных организмов, включая человека, в процессе гомеостаза, в поддержании постоянства физико-химических параметров жидкостей внутренней среды ключевую роль играют почки [1, 17]. Эта система у человека столь эффективна, что позволяет достичь высокого уровня сохранения физико-химических параметров сыворотки крови в экстремальных условиях [19]. Участие почек в этом физиологическом процессе состоит в способности непрерывно воссоздавать идеальную по составу и концентрации веществ внеклеточную жидкость — сыворотку крови. В организме человека каждое мгновение до 22–25% крови, поступающей из сердца в аорту, достигает почек, которые поддерживают стандарт состава жидкостей внутренней среды. Высокое кровоснабжение и энергозатраты мозга у человека по сравнению с приматами рассматривались Ю.Н. Харари [20], как ключевой фактор становления человека. Расчеты показывают, что минутный кровоток почек человека выше, чем мозга, а это свидетельство исключительного значения стабильности внутренней среды для деятельности, прежде всего, мозга [21]. О значении функции почек, направленной на создание идеальной внутренней среды у человека можно судить и потому, что при общем объеме крови у человека около 5 л, кровоток почек превышает 1 л в мин, т.е. вся кровь могла бы очищаться почками каждые 4 мин.

После ультрафильтрации веществ в клубочках из плазмы крови в просвет нефрона поступают все вещества, необходимые для жизни, затем они всасываются, реабсорбируются в канальцах в идеальной для клеток концентрации. Проблема,

**Таблица 1.** Клубочковая фильтрация, реабсорбция, секреция и экскреция почкой здорового человека

Исследуемое вещество	Сыворотка крови, ммоль/л	Фильтрация, ммоль/24 ч	Реабсорбция, ммоль/24 ч	Экскреция, ммоль/24 ч	Экскреция в % от фильтрации
Натрий	141	23843	23758	90	0.37
Калий	4.5	760	684	76	10
Кальций	2.5	225	222	3	1.3
Магний	0.85	115	112.5	2.5	22
Глюкоза	5.5	990	989.8	0.2	0.02
Мочевина	6	1098	598	500	46
Вода		183 л	181.5 л	1.5 л	0.8

*Примечание:* расчеты проведены с учетом константы Доннана.

которую предстоит обсудить, состоит в том — реабсорбируется ли каждое вещество в проксимальном канальце независимо друг от друга или происходит возвращение в кровь жидкости, “идеальной” по составу. Иначе говоря, поддерживается ли не только концентрация каждого компонента, но и его строгое соотношение с другими веществами. Необходим ответ на вопрос, как количественно оценивается всасывание каждого вещества, его реабсорбция в кровь из канальца? В какой степени обеспечивается всасывание как сочетанный процесс для всей совокупности веществ сыворотки крови, синхронизирован ли он в клетках проксимального канальца? Каким образом скорректирована деятельность ансамбля транспортеров веществ в стенке канальца для реабсорбции из ультрафильтрата жидкости, идеальной по составу компонентов из поступивших в просвет почечного канальца при клубочковой фильтрации?

В гломерулах фильтруется огромное количество веществ, практически все, что нужно для жизни, и в очень больших количествах (табл. 1). К их числу относятся ионы, аминокислоты, витамины, дипептиды, различные физиологически активные вещества. Когда человек потребляет пищу, жидкость, в сыворотке крови после всасывания в кишке продуктов пищеварения возрастает концентрация веществ, которые образовались из пищи. В норме концентрация глюкозы в сыворотке крови 5 ммоль/л, в почечном канальце в пределах  $T_m$  глюкозы происходит ее реабсорбция. У здорового человека концентрация глюкозы в сыворотке и ультрафильтрате такова, что она полностью всасывается в кровь, если же человек съел много углеводов, из кишки всосется больше глюкозы, наступит гипергликемия, больше будет концентрация глюкозы, и в просвете нефрона, она будет реабсорбироваться пока не будет достигнута максимальная величина транспорта глюкозы ( $T_{mG}$ ), которую способен каналец всасывать в единицу времени. Тем самым будет увеличиваться концентрация глюкозы в крови, что способствует транзиторной гипергликемии.

Во время клубочковой фильтрации в просвет канальца поступает жидкость, полагают, что регулятором ее последующей реабсорбции в проксимальном канальце служит величина онкотического давления крови в капиллярах в зоне эфферентной артериолы. В околоточечную жидкость поступают вещества в процессе их реабсорбции. В почке вещества в составе ультрафильтрата проникают в просвет канальца, необходимые организму реабсорбируются, часть полимеров (измененные белки, пептиды) подвергаются гидролизу, а затем всасываются в виде аминокислот и дипептидов. Часть органических молекул, некоторые органические кислоты и основания, секретуется из крови в просвет канальца и удаляются с мочой. В итоге воссоздается идеальная по составу и концентрации жидкость внутренней среды. Возникает вопрос — где и каким образом устроен эталон, с которым сопоставляется то, что нужно всасывать в кровь, и оно соответствует идеалу здоровья с учетом депо этих веществ у человека. Почка непрерывно поддерживает этот ансамбль химических веществ, отвечающих стандарту жизни, а отклонения, вызываемые любыми причинами, чреватые дисфункцией, что находит отражение в разнообразии симптомов, если наступает патология.

В настоящий момент нет точного ответа, происходит ли реабсорбция отдельных веществ в шеточной каемке клеток совокупно *in toto* или раздельно, индивидуально. Как обеспечивается соотношение между компонентами? Имеющиеся данные говорят о том, что, скорей всего, каждое вещество транспортируется отдельно. В пользу этого свидетельствуют примеры патологических состояний с изолированной глюкозурией, избирательным дефектом транспорта отдельных аминокислот, например, глицинурией и т.п. [7, 22]. Однако гипотетически можно представить и систему, обеспечивающую одномоментный перенос трансэпителиально в микроворсинке клетки проксимального отдела нефрона полного спектра жизненно важных веществ из просвета в кровь в

идеальном соотношении теми же транспортерами. В этой транспортной “обойме” могут быть локусы для моносахара (глюкоза), каждой из групп аминокислот, отдельных ионов в нужном соотношении, благодаря контролю длительности открытого состояния каждого ионного канала и функции котранспортера. В этом случае генетический дефект транспортера будет проявляться отсутствием в общем механизме реабсорбции только переносчика для данного вещества. При рассмотрении такого типа транспорта сохраняется та же система энергетического источника переноса как  $\text{Na}^+$ -зависимый процесс и участие  $\text{Na}$ ,  $\text{K}$ -АТФазы.

Общепринятая концепция гомеостаза основана на том, что для каждого физико-химического параметра жидкостей внутренней среды существует рецептор, который воспринимает концентрацию данного вещества и сигнализирует в ЦНС о его сиюминутном значении [23]. Найдены ответы афферентных нервных волокон на изменение осмоляльности, что рассматривается как доказательство существования осморорецепторов, подобные суждения высказаны и о натриорецепторах. Существует предположение, что одни и те же рецепторы обеспечивают осморорецепцию (и натриорецепцию), однако не ясно, какова их организация, показано лишь изменение импульсации по афферентным нервам при инфузии в сосуды растворов с разной концентрацией  $\text{Na}^+$ , гипер- или гипоосмоляльной жидкости, по сравнению с кровью системного кровотока.

### Переосмысление $Tm$

В рамках классических представлений о работе почки на страже стабильности концентрации физиологически важного вещества в сыворотке крови стоит граничное значение его концентрации. Классическим примером, упоминавшимся ранее, является глюкоза, в норме ее концентрация в крови составляет около 5 ммоль/л, пределы колебаний от 4.0 до 6.0 ммоль/л. При повышении концентрации глюкозы в сыворотке более 10 ммоль/л все транспортеры глюкозы в клетках канальца заняты, избыток глюкозы не всасывается, она появляется в моче, наступает глюкозурия. Ответ на вопрос, меняется ли  $Tm$  при гипергликемии и при сахарном диабете, имеет важное значение для лечения этого заболевания и гипергликемических состояний, но точных данных нет [24].

В сутки почки человека с массой тела 70 кг в норме фильтруют в просвет нефрона и реабсорбируют около 990 ммоль глюкозы, а выделяют около 0.3 ммоль. Кривая расщепления транспорта глюкозы указывает на наличие разного транспортного порога в нефронах разных популяций. При концентрации глюкозы в диапазоне от 5.5

до 10 ммоль/л и выше продолжается транспорт глюкозы в кровь, что соответствует  $Tm_G$ , хотя при гипергликемии это начинает вредить гомеостазу, организму, если непрерывно продолжается поступление глюкозы из канальца в кровь при концентрации выше нормы, хотя почка должна была прекратить ее реабсорбцию для нормализации гликемии. Иначе говоря, проблема в том, как обеспечивается воссоздание “идеальной” внутренней среды, поддержание нормального уровня глюкозы и в подобных ситуациях для разных веществ при сдвигах их концентрации, при патологии или эта схема реабсорбции удел здорового человека.

Вопрос, затрагивают ли изменения один или несколько компонентов системы транспорта, как формируется компенсаторная реакция, остается открытым. Трудности в лечении нарушенных функций состоят в учете необходимости соразмерности ответа особи на физиологически активное вещество, чтобы избежать чрезмерного применения лекарственных средств. Из этого следует необходимость лечить организм, имея в виду его целостность, необходимость восстановления внутренней среды как единого ансамбля. Так было в классической медицине, например, в клинике С.П. Боткина, одним из основных был принцип лечения больного, а не болезни.

Известно, что в процессе мочеобразования у человека 2/3 ультрафильтрата всасывается в проксимальном сегменте нефрона в виде изоосмотической жидкости, что составляет около 120 л в сутки. Эта жидкость в норме практически соответствует идеальной внеклеточной жидкости. Установлены варианты транспортеров для отдельных ионов, аминокислот, витаминов, воды [7], известны многие гены, дефект которых чреват развитием патологического процесса, нарушением всасывания только данного вещества. Возникает вопрос, каким образом поддерживается определенная концентрация каждого из перечисленных выше веществ в сыворотке, синхронизировано ли их всасывание в кровь в количестве, необходимым для выполнения функции в данное время.

В процессе ультрафильтрации в просвет канальца поступают гормоны и другие физиологически активные вещества. Пептидные гормоны, образующиеся в организме при фильтрации жидкости в клубочках почек, поступают в просвет нефрона, гидролизуются в клетках проксимального канальца до аминокислот. Инактивируются в почке и стероидные гормоны. Тем самым, каждое мгновение, почки создают условия для поддержания оптимальной концентрации гормона, которая зависит от его секреции в кровь соответствующей эндокринной железой. В этом со-

стоит уникальная роль почек в поддержании эндокринного статуса организма человека.

### **Каскадная система регуляции водно-солевого гомеостаза**

Система регуляции водно-солевого обмена у человека отслеживает основные физико-химические параметры жидкостей внутренней среды, ранее речь шла о том, что к особо контролируемым относятся те, от которых зависит стабильность объема каждой клетки. Можно рассмотреть две крайних ситуации, одна из них происходит при изменении условий во внешней среде во время гипертермии – в жарком климате, при интенсивной физической работе, когда теряется жидкость при усиленном потоотделении. Это влечет повышение осмоляльности крови, другой вариант – гипоосмоляльность, которая наступает после питья больших объемов воды или гипоосмоляльных напитков. В первом случае, при гиперосмоляльности крови происходит выраженное сморщивание клеток из-за оттока воды из них по осмотическому градиенту. Ключевую роль в восстановлении осмоляльности крови будет играть измененная импульсация от интерорецепторов, возникает чувство жажды. При второй ситуации, когда человек пьет избыток воды, напитков, объем клеток будет возрастать, они будут набухать, почки увеличат выделение воды для восстановления осмоляльности крови. Оказалось, что деятельность физиологических систем состоит не только в изменении реабсорбции веществ в почке, но и в возможности предвосхитить, предупредить организм о предстоящих изменениях, не ждать, когда начнутся сдвиги в крови и наступит изменение осмоляльности крови, жидкостей внутренней среды, сыворотки крови, а в итоге должно быть предотвращено резкое изменение объема клеток.

Такая физиологическая система существует, одним из примеров служит павловский условный рефлекс на питье воды или потреблении пищи. Речь идет не только о стимуляции секреции желудочного сока при виде еды, что детально разработано школой И.П. Павлова [25], но и жидкости. Когда человек пьет воду, она поступает в желудок, затем переходит в начальные отделы кишки, ее всасывание в кровь приводит к снижению осмоляльности крови. Это естественный ход событий, но оказалось он включает еще ряд звеньев. Несколько лет назад в экспериментах с введением эксенатида, миметика глюкагоноподобного пептида 1 (ГПП1), в нашей лаборатории было обнаружено, что осмоляльность мочи становилась ниже осмоляльности крови. Детальный анализ этого явления привел к формулированию гипотезы о физиологическом механизме смягчения эффекта потребления избытка воды. Была

выявлена система, названная нами каскадной, установлен ряд звеньев ее реализации [26], установлены физиологические механизмы смягчения изменений осмоляльности крови после питья воды, последовательность упреждающих физиологических реакций у человека и ее механизмы. Первым из них, служит, вероятно, сигнал при питье воды или потребления солей, вторым – их поступление в желудок, его растяжение, еще до того, как вода и вещества начнут всасываться в начальных отделах тонкого кишечника и вызовут изменения концентрации веществ во внутренней среде, в крови, организм будет готов к сдвигу физико-химических параметров.

Оказалось, что питье воды стимулирует секрецию ГПП1 [26] и окситоцина. Секреция ГПП1 в этом случае оказалась столь же высока, как и при потреблении с пищей глюкозы. Оба эти пептидные гормона (ГПП1, окситоцин) уменьшают реабсорбцию жидкости в проксимальном канальце и больший ее объем достигает дистального сегмента нефрона. Ранее полагали, что в проксимальном сегменте нефрона реабсорбируется постоянный, стабильный объем ультрафильтруемой жидкости, отчего реабсорбция в этом канальце именовалась в руководствах по физиологии облигатной, обязательной. Когда было выявлено изменение соотношения реабсорбции жидкости и веществ между частями канальца, то потребовалась разработка новых подходов для выяснения механизмов регуляции мочеобразования с учетом перераспределения объемов реабсорбции жидкости между сегментами нефрона в условиях постоянной скорости клубочковой фильтрации. Такой механизм обеспечивает значительное увеличение объема экскретируемой почкой осмотически свободной воды. Механизм основан на том, что после питья воды снижение осмоляльности крови уменьшает секрецию вазопрессина, что способствует удалению из плазматической мембраны клеток эпителия, собирательных трубок аквапорина 2, стенка канальца становится водонепроницаемой. В итоге растет водный диурез и нормализуется осмоляльность крови. Значение каскадной системы состоит в ускорении экскреции осмотически свободной воды и более быстром восстановлении водно-солевого гомеостаза.

Подобная физиологическая система с перераспределением потоков жидкости в нефроне была обнаружена при регуляции окситоцином водного баланса. Этот гормон в низких концентрациях увеличивает экскрецию осмотически свободной воды, а в больших концентрациях вызывает натрийурез. Участие вазопрессина в деятельности почек обусловлено влиянием на 3 подтипа V-рецепторов:  $V_2$  стимулирует реабсорбцию воды,  $V_{1a}$  ионов Na и  $V_{1b}$  контролирует экскрецию  $K^+$  [27]. Ранее речь шла о том, что окситоцин



**Рис. 3.** Схема двух контуров регуляции параметров внутренней среды. В верхней части рисунка показан путь информации от органов чувств в мозг. В нижней части рисунка восприятие почкой и ее участие в регуляции параметров сыворотки крови. Стрелка — восприятие сигнала, двусторонняя стрелка — восприятие сигнала и участие в регуляции.

уменьшает проксимальную реабсорбцию жидкости и больший ее объем поступает в дистальный сегмент нефрона, при снижении проницаемости канальца для воды, возрастает ее выведение почкой. В случае регуляции баланса  $\text{Na}^+$  первая часть эффекта окситоцина сохраняется, больший объем жидкости поступает в толстый восходящий отдел петли Генле. В плазматических мембранах его клеток имеются  $V_{1a}$ -рецепторы, которые стимулируются при значительной концентрации обоих нонапептидных гормонов в крови, что уменьшает транспорт  $\text{Na}^+$  из просвета канальца в кровь. Антагонист  $V_{1a}$  рецепторов устраняет натрийуретический эффект окситоцина. Эти результаты демонстрируют значение в гомеостатических эффектах пептидных гормонов (ГПП1, нонапептиды нейрогипофиза), которые вызывают перераспределение объемов жидкости между сегментами нефрона даже при стабильном уровне гломерулярной фильтрации как адаптивного механизма регуляции водно-солевого обмена.

**Два контура регуляции водно-солевого гомеостаза в организме**

Представленные ранее данные позволяют высказать гипотезу о двух контурах регуляции водно-солевого гомеостаза. Один из них — мозг, который осуществляет взаимодействие организма с внешней средой, обеспечивает баланс систем регуляции у особи. Другим центром, “внутренним оком”, в системе водно-солевого гомеостаза, ко-

торый осуществляет стабилизацию параметров внутренней среды, можно рассматривать почки. Речь идет не только о том, что они являются эффекторным органом водно-солевого гомеостаза, обеспечивая изменение экскреции веществ и исполнения сигналов мозга, почки контролируют объем жидкости и количество солей в организме (рис. 3). В юктагломерулярном аппарате (ЮГА) функционирует сенсорный аппарат, имеется система синтеза и секреции физиологически активных веществ, реагирующая на объем притекающей к почке крови, растяжение приносящей артериолы. В ЮГА воспринимается и ряд сигналов о концентрации ионов  $\text{Na}^+$  ( $\text{Cl}^-$ ) в протекающей по дистальному канальцу жидкости у *macula densa*. Тем самым, контролируются параметры, касающиеся объема внутрисосудистой жидкости и реабсорбции ключевых ионов плазмы крови, а в зависимости от этих показателей в кровотоке секретируется ренин.

В регуляции участвуют и физиологически активные вещества мозгового слоя почек, в котором секретируются пептидные регуляторы и аутокоиды [7], в итоге объем жидкостей внутренней среды приводится в соответствие с емкостью внутрисосудистого пространства. Почки обеспечивают непрерывное воспроизводство идеальной по составу компонентов и их концентрации жидкости внутренней среды, они влияют на эритропоэз, число эритроцитов в крови и тем самым на гематокрит, свертываемость крови, сохранение в плазме крови только строго верифицированных

форм белков по заряду, молекулярной массе, а в итоге не только на осмотическое, но и на онкотическое давление крови. Сиюминутный гормональный статус организма также зависит от почек — при реабсорбции профильтровавшейся жидкости в клетках нефрона разрушаются, инактивируются пептидные и стероидные гормоны, что позволяет непрерывно поддерживать в крови нужную концентрацию гормонов, зависимую от секреции эндокринных желез. Последний фактор очень важен для целостной системы гуморальной регуляции в организме. Тщательный контроль касается осмоляльности крови, что влияет на объем каждой клетки, концентрации в околоклеточной среде  $\text{Ca}^{2+}$ . Этот ион имеет ключевое значение для регуляции функции клеток как вторичный посредник, а в сыворотке крови наряду с осмоляльностью относится к числу наиболее строго контролируемых параметров.

Естественно, что для понимания физиологических процессов, происходящих в организме человека [28], требуется применение методов молекулярной биологии, генетики, биохимии, биоинформатики [29], что позволяет понять молекулярные механизмы выполнения функций почки. Использование данных микроанатомии и физиологии дает возможность целостного восприятия процессов в организме с учетом влияния факторов регуляции. Это позволяет решать проблемы патогенеза заболеваний и выбора индивидуализированных, оптимальных способов лечения.

#### **Физиология водно-солевого гомеостаза человека в системе наук о живом**

Понимание особенностей и механизмов физиологических функций у человека включает не только стандартные приемы, но и использование данных патологии, рассмотрение проблем физиологии экстремальных состояний. Эту мысль обосновал и применил Л.А. Орбели, который считал, что патологический процесс возвращает функции к более эволюционно ранним этапам развития, что позволяет глубже проникать в механизмы осуществления функций. В нашем исследовании патогенеза орфанных болезней это нашло применение при обследовании пациентов с генетически измененными состояниями и позволило при моногенной патологии верифицировать не только частные, но и общие особенности сдвига физиологических функций. В этих случаях обнаруживались два компонента — изменение, обусловленное дефектом гена, и компенсаторная реакция организма на нарушение физико-химических параметров внутренней среды.

Физиология водно-солевого гомеостаза человека, как отдельная ветвь исследований, включает изучение численных показателей и особенности механизмов стабилизации каждого физико-

химического параметра жидкостей внутренней среды. Данные этих исследований позволяют формулировать закономерности физиологии человека, анализ численных параметров на примере  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  коэффициента дает возможность подойти к пониманию механизмов осуществления функций. Человек часть природы и на него распространяются общие законы физиологии, но многие особенности, прежде всего, с учетом социальной организации, образа жизни, трудовой деятельности.

Особенность человека как социального организма сопряжена с развитием мозга, выяснением механизмов его деятельности, что в прикладном варианте способствует обеспечению оптимальных условий его работы. Эта статья показывает особое значение для функционирования физиологических систем организма, и, прежде всего, мозга, гомеостаза, постоянства физико-химических параметров жидкостей внутренней среды, что служит обязательным условием эффективной, полноценной жизни человека.

В 2003 г. *Peter Agre* и *Roderick MacKinnon* были удостоены Нобелевской премии за открытие аквапоринов, молекулярных структур, по которым вода течет через мембрану в зависимости от осмотического градиента. Получены данные о молекулярных основах широкого круга физиологических процессов транспорта различных веществ, двигательных актов, передачи информации, иммунных процессов и мн. др. Стала понятна фантастическая сложность организации каждого явления в регуляции функции. Если на рубеже XIX–XX вв. сформировалось представление об участии в регуляции функций нервной системы и гуморальных агентов, прежде всего, гормонов, а их обнаружение и химическая идентификация были выполнены в первой половине XX в., то во второй половине XX в. достигнуты успехи в постижении сложности и многоэтапности их эффекта. Были открыты вторичные посредники, обеспечивающие передачу сигнала гормона внутри клетки. Выявлены модуляторы их эффекта, аутокоиды, описана роль инкретиннов. Современные методические возможности в той области знания, которая получила название “Науки о жизни”, дают новые подходы для глубокого проникновения в молекулярные механизмы осуществления функций клеток живых организмов, физиологических функций, которые реализуются одновременно и обеспечиваются мириадами реакций, от которых зависит конечный результат. Это совокупный итог активности однотипных или разных клеток, объединенных в органы, функциональные системы и в конечном счете в целостный организм. Для эффективной реакции человека необходима совокупная деятельность всех органов и систем в той степени, которая обеспечивает каждую функцию организма. Это

демонстрирует важнейшее значение гомеостаза в жизни особи. У человека 2 почки, в каждой из которых по 1 млн нефронов, их главного структурного элемента. Нефроны не одинаковые, имеется до 8 разных групп (популяций) нефронов. В каждом из них функционирует около 12 разных по строению и функции частей, а их клетки отличаются по структуре, функции, особенностям регуляции. Функция такого сложнейшего устройства должна быть столь точной, чтобы независимо от сиюминутных условий жизни обеспечить исключительную стабильность физико-химических констант организма независимо от того, живет ли он в пустыне или на Северном полюсе.

Знание молекулярных основ жизни создает предпосылки для понимания природы ее проявлений, эти исследования подтверждают значение взаимосвязей каждого из ее элементов в целостной системе. Новые знания, методы молекулярной биологии, генетики, биоинформатики обеспечивают возможность дальнейшего развития физиологии человека. Гармоничное развитие науки, обусловленное естественным ходом событий, творческим интеллектом исследователей обеспечивает развитие физиологии человека с использованием подходов сопредельных наук, создает предпосылки для разработки подходов к пониманию природы здоровья человека и использование этих данных в клинической медицине.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Принято считать, что развитие мозга, формирование сознания в первую очередь, рассматривают как особенность человека. Ранее цитировалась мысль Ю.Н. Харари [20], что в процессе эволюции увеличение кровотока мозга послужило ключевым фактором развития человека. В то же время, удельный кровоток почек у человека превышает кровоток мозга. Это говорит о значении гомеостаза, роли поддержания стабильности физико-химических условий внутренней среды для работы клеток мозга, осуществления функций различных органов и систем. В статье обоснована мысль о двух контурах регуляции параметров внутренней среды: в отношении внешней среды – это мозг, а внутренней среды – почки в кооперации с мозгом. Важно подчеркнуть, речь не о том, что почки эффекторный орган системы, а обосновано значение почек и как органа восприятия сигналов о внутренней среде и автоматического контроля ее состава для оптимальных условий работы каждой клетки организма, особенно для нейронов, учитывая значение мембранного потенциала,  $K^+$  – в стабилизации объема клетки. Представленные данные демонстрируют значение в гомеостазе расчета в сыворотке крови, жидкостях внутренней среды  $Na^+/K^+$  отношения. Показана принципиальная возмож-

ность сенсорного восприятия этих показателей и передачи сигнала об этом интегральном параметре почке, в которой меняется реабсорбция свободной от  $Na^+$  воды, что отражается на объеме каждой клетки тела. Обоснование этого положения было связано с разработкой новой формулы для расчета клиренса, а также выявления компонентов каскадной системы регуляции водно-солевого, углеводного и других видов обмена. В итоге, показана специфика регуляции функций висцеральных систем, что имеет значение в целостном понимании проблем физиологии человека, неотделимость преобразований водно-солевого гомеостаза, его сенсорного обеспечения, интенсификации кровоснабжения почек, реабсорбции идеальной жидкости для эффективной работы мозга человека.

**Финансирование работы.** Статья подготовлена в рамках плана госзадания.

**Благодарности.** Автор выражает благодарность А.В. Нистаровой за помощь в подготовке рисунков.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Наточин Ю.В.* Гомеостаз // Успехи физиол. наук. 2017. Т. 48. № 4. С. 3.
2. *Shibasaki K.J.* Physiological significance of TRPV2 as a mechanosensor, thermosensor and lipid sensor // *Physiol Sci.* 2016. V. 66. № 5. P. 359.
3. *Персон П.Б.* Энергетический и тепловой баланс, терморегуляция / Физиология человека с основами патофизиологии // Под ред. Шмидт Р.Ф., Ланг Ф., Хекманн М. Пер. с нем. М.: Лаборатория знаний, 2019. Т. 2. С. 407.
4. *Bourque C.W., Oliet S.H., Richard D.* Osmoreceptors, osmoreception, and osmoregulation // *Front. Neuroendocrinol.* 1994. V. 15. № 3. P. 231.
5. *Bankir L., Bichet D.G., Morgenthaler N.G.* Vasopressin: physiology, assessment, and osmosensation // *J. Internal Med.* 2017. V. 282. № 4. P. 284.
6. *Bortner C.D., Cidrowski J.A.* Ions, the Movement of Water and the Apoptotic Volume Decrease // *Front. Cell Dev. Biol.* 2020. V. 8. P. 611211.
7. *Seldin and Giebisch's The Kidney / Physiology and Pathophysiology* // Eds. Alpern R.J., Hedert S.C. Academic Press, 2008. V. 1–2. P. 2928.
8. *Шейман Д.А.* Патофизиология почки. М., СПб.: БИНОМ, 2019. 192 с.
9. *Кутина А.В., Кузнецова А.А., Наточин Ю.В.* Катионы в сыворотке крови человека // Успехи физиол. наук. 2005. Т. 36. № 3. С. 3.
10. *Камкин А.Г., Камкина О.В.* Общая физиология возбудимых тканей / Фундаментальная и медицинская физиология // Под ред. Камкина А.Г. М.: Де'Либри, 2019. Т. 1. С. 94.
11. *Smith H.W.* Principles on renal physiology. N.Y.: Oxford Univ. Press, 1956. 229 p.
12. *Наточин Ю.В.* Клиренс осмотически свободной и свободной от натрия воды: клиническое значение // *Нефрология.* 2012. Т. 16. № 2. С. 9.

13. *Lang F.* Cell volume control / Seldin and Giebisch's The Kidney. Physiology and Pathophysiology // Eds. Alpern R.J., Hedert S.C. Academic Press. 2008. V. 1. P. 169.
14. *Бернар К.* Курс общей физиологии. Жизненные явления, общие животным и растениям. СПб.: И.И. Билибин, 1878. 316 с.
15. *Cannon W.B.* Organization for physiological homeostasis // *Physiol. Rev.* 1929. V. 9. P. 399.
16. *Баркрофт Дж.* Основные черты архитектуры физиологических функций. М.—Л.: Госуд. изд. биол. и мед. литературы, 1937. 319 с.
17. *Smith H.W.* From fish to philosopher. Boston: Little, Brown, 1953. 264 p.
18. *Орбели Л.А.* Физиология почек / Избранные труды. М.—Л.: Наука, 1966. Т. 4. С. 85.
19. *Leach Huntoon C.S., Grigoriev A.I., Natochin Yu. V.* Fluid and Electrolyte Regulation in Spaceflight / American Astronautical Society Publication. San Diego: California, Univelt, Inc., 1998. V. 94. P. 220.
20. *Харари Ю.Н.* Sapiens. Краткая история человечества. М.: Синдбад, 2016. 520 с.
21. *Наточин Ю.В.* Целостность // Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова. 2018. Т. 68. № 6. С. 775.  
*Natochin Yu.V.* Integrity // *Neuroscience and Behavioral Physiology.* 2020. V. 50. № 1. P. 92.
22. *Игнатова М.С.* Детская нефрология. Руководство для врачей. 3-е изд. М.: МИА, 2011. 696 с.
23. *Черниговский В.Н.* Избранные труды (к 100-летию со дня рождения). СПб.: Наука, 2007. 574 с.
24. *The Diabetic Kidney.* Eds. Cortes P., Mogensen C.E. Humana Press. Totowa, New Jersey, 2006. 564 p.
25. *Павлов И.П.* Избранные труды. М.: Медицина, 1999. 445 с.
26. *Наточин Ю.В., Шахматова Е.И., Марина А.Е.* Каскадная система регуляция осмотического гомеостаза // Доклады РАН. Науки о жизни. 2020. Т. 490. № 1. С. 77.  
*Natochin Yu.V., Marina A.S., Shakhmatova E.I.* The Cascade System of Osmotic Homeostasis Regulation // *Doklady Biological Sciences.* 2020. V. 490. № 1. P. 5.
27. *Natochin Yu.V., Golosova D.V.* Vasopressin receptor subtypes and renal sodium transport // *Vitam. Horm.* 2020. V. 113. P. 239.
28. *Трееде Р.-Д.* Сомато-сенсорная система / Физиология человека с основами патофизиологии // Под ред. Шмидт Р.Ф., Ланг Ф., Хекманн М. М.: Лаборатория знаний, 2019. Т. 1. С. 317.
29. *Спейчер М.Р., Антонаракис С.Е., Мотулски А.Г.* Генетика человека по Фогелю и Мотулски / Проблемы и подходы. Пер. с англ. 4 изд. СПб.: Изд. Н-Л, 2013. 1056 с.  
*Speicher M.R., Antonarakis S.E., Motulsky A.G.* Vogel's and Motulsky's Human genetics / *Problems and Approaches.* Springer. Berlin, 2010. 981 p.

## Physiology of the Kidneys and Water-Salt Homeostasis of Human: New Problems

Yu. V. Natochin\*

*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the RAS, St. Petersburg, Russia*

\*E-mail: natochin1@mail.ru

New approaches to assessing the role of the kidneys water-salt homeostasis in human have been proposed. The idea of the role of the kidneys in the continuous restitution of the ideal composition and volume of the internal environment fluids, the formation of the protein composition of blood serum, its oncotic pressure for maintaining the volumes of intra- and extravascular fluid has been substantiated. The significance and endocrine mechanisms of regulation of fluid reabsorption in the proximal segment of the nephron have been substantiated. The role of the kidneys in maintaining the momentary endocrine status of the blood has been analyzed. The functional and diagnostic value of not only the absolute concentration of sodium and potassium ions in the blood serum, but also their ratio has been substantiated. The idea of the importance of the cascade system of regulation of water-salt balance in the body in mitigating sharp shifts in the physicochemical parameters of fluids in the internal environment during food consumption is formulated. The problem of the functional organization of sensory provision of stable physical and chemical parameters of blood (osmoregulation, etc.) is discussed. An approach has been found for the use of clearance formulas to assess the role of the kidneys in cell volume regulation as one of the most strictly maintained physiological parameters. The problem of the specificity of kidney physiology and water-salt homeostasis in humans is analyzed.

*Keywords:* renal function, proximal reabsorption, homeostasis, brain, clearance, osmolality, cell volume regulation.

УДК 612.822

## ПОТЕНЦИАЛЫ, СВЯЗАННЫЕ С СОБЫТИЯМИ, В ТЕСТЕ НА СРАВНЕНИЕ ПАР СЛОВ В ЗРИТЕЛЬНОЙ И СЛУХОВОЙ МОДАЛЬНОСТИ

© 2021 г. И. С. Никишена<sup>1</sup>, \*, В. А. Пономарев<sup>1</sup>, Ю. Д. Кропотов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт мозга человека имени Н.П. Бехтеревой РАН,  
Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: [nikishena@mail.ru](mailto:nikishena@mail.ru)

Поступила в редакцию 14.07.2020 г.

После доработки 16.09.2020 г.

Принята к публикации 25.11.2020 г.

Целью исследования было изучение особенностей работы мозга при сравнении речевых сигналов в условиях кроссmodalного взаимодействия. Исследовались связанные с событиями потенциалы (ПСС) у 166 здоровых испытуемых в двухmodalном двустимульном *GO-NOGO* тесте, в котором первым стимулом было напечатанное слово, а вторым – произнесенное слово. Показано, что при ожидании произносимого слова после предъявления напечатанного слова регистрируется активация лобной-височной зоны левого полушария ( $F_7$ ,  $F_3$ ), предположительно, связанная с формированием в памяти фонологического образа слова. После предъявления второго (произносимого) слова, при его совпадении с напечатанным, регистрируется активация с максимумом в задневисочных отведениях ( $T_5$ ,  $T_6$ ) в интервале времени 370–500 мс, а в случае несовпадения – в интервале 590–800 мс с максимумом в затылочных отведениях ( $O_1$ ,  $O_2$ ). Эти колебания потенциала, предположительно, связаны с процессами сличения вновь полученной информации от слуховой системы с фонологическим образом слова, хранящимся в рабочей памяти.

**Ключевые слова:** рабочая память, фонологический образ слова, кроссmodalное взаимодействие, связанные с событиями потенциалы, двухmodalный *GO-NOGO* тест.

**DOI:** 10.31857/S0131164621020107

Потенциалы, связанные с событиями (ПСС), представляет собой суммарную электрическую активность головного мозга в ответ на стимул. Метод признан удобным, поскольку дает хорошее временное разрешение при анализе процессов обработки стимула в зависимости от решаемой задачи. В литературе представлено значительное количество данных на основе анализа ПСС, связанных фактически со всеми этапами обработки информации (восприятие, память, внимание и прочие) [1, 2].

Начальным этапом в подготовке исследований методом ПСС является выбор дизайна теста. Предъявляемый участнику исследования тест моделирует ситуацию, в которой будут задействованы те или иные мозговые системы. В частности, широкое распространение получила *GO-NOGO*-парадигма [1–4]. В этой парадигме должны быть соблюдены некоторые условия: во-первых, наличие *GO*-стимула, требующего ответной реакции, вероятность этого стимула должна быть достаточно высока; во-вторых, наличие стимула, после которого необходимо сдерживать импульсивную

ответную реакцию; в-третьих, у выполняющего тест человека должно быть время на подготовку ответа после стимула. Такие тесты используются для изучения мозговых систем обеспечения внимания и контроля поведения, включающих рабочую память.

Существует двустимульный вариант *GO-NOGO*-парадигмы, в котором в каждой пробе предъявляются последовательно два типа стимулов. Первый стимул может быть как просто предупреждающим о начале пробы, так и несущим более сложную информацию для последующего сравнения со вторым стимулом в пробе. Второй стимул в пробе несет информационную нагрузку и требует ответной реакции участника исследования. Такие тесты дают возможность изучать два вида феноменов – ПСС между двумя стимулами в пробе и ПСС после запускающего стимула.

К первой группе феноменов относится медленное отрицательное колебание – условно негативная волна (УНВ, *contingent negative variation* – *CNV*) [5]. Это колебание регистрируется перед предъявлением второго стимула, при достаточно

длинном межстимульном интервале в нем выделяются две разные волны — ранняя О-волна УНВ и поздняя Е-волна УНВ. Ранняя УНВ связана с ориентировочной реакцией на первый стимул и обработкой содержащейся в нем когнитивной информации, регистрируется в проекции лобных отделов мозга [5]. Е-волну УНВ определяют как волну ожидания или готовности к действию после второго стимула, это колебание модулируется вниманием, этот компонент ПСС имеет максимальную величину в центральных и затылочных отведениях [6–9]. В случае тестового задания, без подготовки к двигательному ответу, может быть зарегистрирована низкоамплитудная волна “*stimulus preceding negativity*” (SPN), которую связывают с готовностью к восприятию информации о втором стимуле в паре, например, сравнению с использованием рабочей памяти [10–14].

Ко второй группе феноменов ПСС, регистрируемых после второго стимула, относятся компоненты, связанные с восприятием стимулов и контролем поведения [2], включая вовлечение или подавление действий.

Помимо этого, наличие в условии теста двух стимулов дает возможность изучать процессы сличения информации и формирования ответной реакции при сравнении двух сигналов, подаваемых на разные сенсорные входы, например, в зрительной и звуковой модальности.

Процессы запоминания и сличения информации являются основополагающими механизмами работы мозга [15–22]. Усложняет понимание этих механизмов то, что информация поступает по разным сенсорным каналам, а в случае человека — еще и в виде символов (букв, слов, знаков). Вопрос о том, как мозговые системы осуществляют кроссmodalное взаимодействие, имеет не только теоретическое, но и прикладное значение [23, 24]. Можно выделить несколько режимов сличения информации, во-первых, мультисенсорное взаимодействие, во-вторых, сличение отдельных характеристик стимулов разной модальности со следом, хранящимся в рабочей памяти, в-третьих, сравнение категорий стимулов на основе категоризации. Мультисенсорное взаимодействие относится к процессам восприятия, когда перцептивные системы связывают и интегрируют входные данные для создания единого образа [25–28]. Под категоризацией подразумевается процесс отнесения стимула к какому-либо классу по совокупности признаков [29]. По-видимому, существует еще один вариант, суть которого состоит в том, что до категоризации второго стимула может происходить сравнение в рабочей памяти характеристик разноmodalных стимулов, которые разделены по времени. Примером такого сличения информации является сравнение речевых сигналов, первый из которых — на-

печатанное слово, а второй — произнесенное. В этом случае можно предположить, что после первого стимула происходит формирование в памяти его “фонологического аналога” [15, 16, 23, 24]. И тогда одной из возможных “оптимальных” стратегий выполнения задачи, будет сравнение второго стимула с “фонологическим аналогом” первого. К сожалению, физиологические механизмы этого сличения, если оно действительно существует, мало изучены.

В данной статье представлены результаты пилотных исследований, полученные при сравнении ПСС при предъявлении напечатанного слова на экране монитора (первый, “*word*”-стимул) и произнесенного слова (второй, “*sound*”-стимул). Задачей испытуемого было запомнить первый стимул (“*word*”) и сравнить с произнесенным словом. Если слова были одинаковыми, следовало нажать на кнопку, если разными — на кнопку не нажимать. Можно предположить, что для того, чтобы запомнить слово, человек его читает и повторяет при помощи внутренней речи, чтобы создать и запомнить фонологический образ напечатанного слова. После предъявления второго стимула (“*sound*”-стимул) испытуемый сравнивает его со следом в памяти для формирования ответной реакции. Таким образом, предметом исследования были события, регистрируемые непосредственно перед вторым стимулом и события после второго стимула, предшествующие ответной реакции. Эти результаты представляют интерес, поскольку полученные данные показывают особенности мозговой организации ответа, связанной с функциями сохранения речевого образа и сличения информации.

## МЕТОДИКА

В исследовании принимали участие 166 здоровых испытуемых в возрасте от 7 до 16 лет (мужского пола — 91, женского пола — 75 чел.). Испытуемых подбирали по следующим критериям: 1) перинатальный период протекал без осложнений, 2) отсутствие неврологических и психиатрических заболеваний, травм мозга, судорожной активности в анамнезе, 3) нормальное психическое и физическое развитие, без нарушений слуха, нормальное или скорректированное зрение, 4) средняя или лучшая успеваемость в школе, 5) отсутствие медикаментозной терапии на момент исследования.

*Двухmodalный двустимульный тест.* Участникам исследования предъявляли два типа стимулов — зрительные и слуховые. Испытуемого располагали в кресле перед монитором, на экране которого демонстрировались зрительные стимулы, слуховые стимулы воспроизводились через динамики. В тесте было 20 слов в печатном виде и 20 слов, произнесенных вслух. Тест выполнялся на род-

ном языке участников исследования. Аудиофайлы были записаны носителем языка мужским голосом. Изображения с угловыми размерами, порядка  $3.8^\circ$ , предъявляли в центре экрана на белом фоне. Между предъявлением изображений на экране демонстрировался белый фон. Презентация изображений не сопровождалась миганием экрана монитора. Для предъявления стимулов использовали программу *Psytask* (Россия).

Тест состоял из 200 проб. Продолжительность теста составляла 6 мин 20 с. В каждой пробе стимулы предъявляли парами. Первым в паре предъявляли зрительный стимул в виде напечатанного слова (“word”-стимул). Вторым в паре был слуховой стимул в виде произнесенного слова (“sound”-стимул). Длительность предъявления зрительного стимула – 200 мс, интервал между стимулами в паре – 1000 мс, длительность слухового стимула 700 мс, а интервал между началами пар стимулов – 3100 мс.

Все пробы были разделены на две равные группы, в зависимости от сочетания стимулов в паре. Использовали следующие сочетания пар стимулов: одинаковые (“word”-стимул – парный “sound”-стимул), различающиеся (“word”-стимул – отличающийся “sound”-стимул). Испытуемые нажимали на кнопку правой рукой как можно точнее и быстрее, если произнесенное слово соответствовало печатному – *GO*-условие, таких пар было 50%. В случае, если произнесенное слово отличалось от напечатанного, испытуемый должен был воздержаться от нажатия кнопки (*NOGO*-условие 50% проб). Слова в парах были подобраны следующим образом: они различались одной начальной буквой в написании слова и одной фонемой в начале слова при произнесении слова. Пример *GO*-условия – *DINO-DINO*, пример *NOGO*-условия – *DINO-KINO*. Пробы предъявляли в квазислучайном порядке.

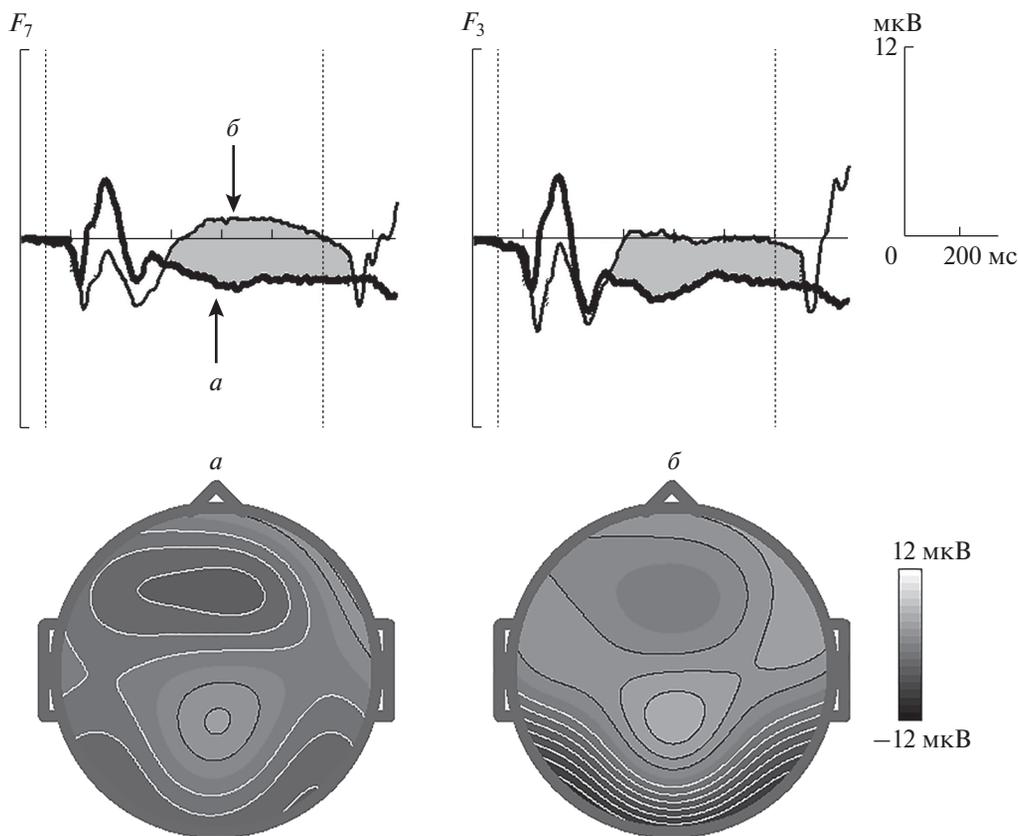
Пробы, в которых испытуемые неправильно выполняли задание, исключали из анализа. Перед началом исследования волонтерам предоставляли несколько десятков проб для тренировки. В ходе теста делали одну паузу длительностью 1–2 мин для отдыха.

ЭЭГ была записана с помощью компьютерного электроэнцефалографа “Мицар-ЭЭГ” (Россия). Для постановки электродов использовали международную систему 10-20. Референтные электроды крепили на мочки ушей, использовали объединенные электроды. Заземляющий электрод был закреплен в точке *Fpz*. Сопротивление электродов не превышало 5 кОм. Частота квантования сигналов составляла 250 Гц. Параметры ФВЧ и ФНЧ – 0.53 ( $\tau = 0.3$  с) и 50 Гц соответственно. Сетевую электромагнитную помеху подавляли с использованием цифрового режекторного фильтра с полосой непропускания 45–55 Гц.

Данные обрабатывали с использованием программы *WinEEG*. Коррекцию артефактов моргания выполняли с помощью метода, предложенного *R.N. Vigário* [30], использующего разложение на независимые компоненты. Также пробы, содержащие артефакты, исключали из дальнейшего анализа. В частности было принято (эмпирически подобрано), что пробы, в которых: 1) потенциалы более 50 мкВ для электродов *Fp1* и *Fp2* и более 100 мкВ для остальных электродов; 2) медленные волны в диапазоне от 0.53 до 1 Гц, с амплитудой более 50 мкВ; 3) быстрые колебания сигнала в интервале частот от 20 до 35 Гц, с амплитудой более 35 мкВ содержали артефакты. ПСС были рассчитаны методом усреднения отдельно для каждого из двух условий. Все компоненты, описываемые в результатах, были выделены при помощи *t*-критерия для парных измерений. Для снижения шума, записи, в которых было менее 30 проб для каждого из условий, удаляли из исследования.

*Зрительный двустимульный тест.* При сравнении и обсуждении полученных данных использовали зрительный *GO-NOGO* тест, результаты обработки которого публиковались в работах [31, 32]. Зрительный *GO-NOGO* тест представляет собой двустимульный тест, в котором в качестве стимулов используются изображения, относящиеся к разным категориям – животные (Ж), растения (Р). Варианты предъявления стимулов в пробе: Ж-Ж, Ж-Р, Р-Р, Р-Ж. Все пары стимулов предъявляли с равной вероятностью, порядок пар был квазислучайным. Интервал между первым и вторым стимулов составлял 1000 мс, длительность предъявления зрительного стимула на экране – 100 мс, длительность пробы 3000 мс. Проба, требующая ответного нажатия на кнопку – Ж-Ж. Если участник исследования отвечал неправильно, такую пару исключали из обработки данных. Для каждого из четырех вариантов предъявления проб ПСС вычисляли отдельно. Записи, в которых было менее 30 проб для каждого из условий, удаляли из исследования.

Для сравнения в настоящем исследовании были выбраны условия Ж-Ж (*GO*-условие), Ж-Р (*NOGO*-условие). Из описания зрительного *GO-NOGO* теста видно, что условия двух тестов не были идентичными, поэтому сравнивался не весь компонентный состав после первого стимула, а только события, непосредственно предшествующие второму стимулу. В этот временной период характеристики первого стимула влияют в наименьшей степени, и происходят процессы подготовки к приему и сравнительной обработке второго стимула в соответствии (что особенно важно) с поставленной задачей.



**Рис. 1.** Усредненные по группе ПСС для электродов  $F_7$ ,  $F_3$  в  $GO$ -условии после первого стимула в двух тестах. *а* – Двухмодальный тест, *б* – зрительный тест. Стрелками указано позднее отрицательное колебание перед вторым стимулом. По оси абсцисс – время, мс, по оси ординат – величина потенциала, мкВ. Момент начала стимула указан вертикальной пунктирной линией. Топографии, определенные для максимальных значений потенциала в двухмодальном (*а*) и зрительном (*б*) тестах.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Поведенческие показатели.** Количество пропусков значимых стимулов – 9.63% ( $SD = 7.93$ ), время реакции – 876 мс ( $SD = 134$ ); количество ложных тревог – 3.29% ( $SD = 2.88$ ).

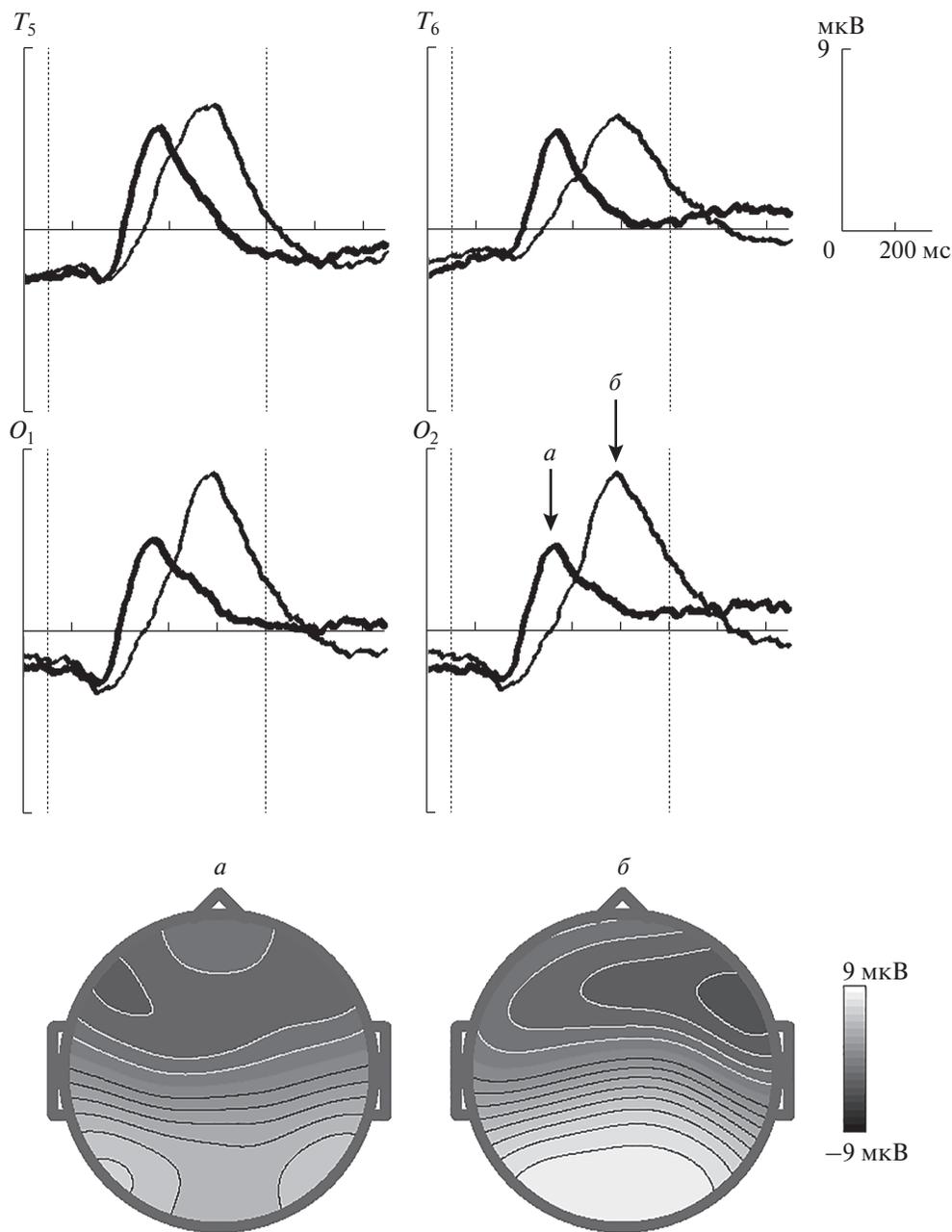
**Компоненты потенциалов, связанных с событиями после предъявления первого стимула.** Перед предъявлением “*sound*”-стимула наблюдается медленное отрицательное отклонение потенциала в интервале 500–1100 мс от начала первого стимула, максимально выраженное в отведениях  $F_7$ ,  $F_3$  и  $F_z$  (рис. 1) со статистической значимостью  $p < 10^{-6}$ , которая оценивалась по отношению к среднему значению электрического потенциала в интервале перед первым стимулом.

**Компоненты потенциалов, связанных с событиями после предъявления второго стимула.** На рис. 2 представлены усредненные потенциалы в референтном монтаже для обоих условий теста. На рис. 2 видно, что различия после второго стимула регистрируются в интервале 350–800 мс. Ответ на совпадение слов регистрируется раньше, чем на несовпадение. При совпадении напеча-

танного слова с услышанным, возникает положительное отклонение потенциала в интервале 370–500 мс, с максимумом в 428 мс в задневисочных отведениях  $T_5$  и  $T_6$ . В случае несовпадения регистрируется положительная волна, достигающая максимума позднее, в интервал времени 590–800 мс, с максимумом в 680 мс в затылочных отведениях ( $O_1$ ,  $O_2$ ). Статистическая значимость этих волн по отношению к среднему значению в интервале перед первым стимулом  $p < 10^{-6}$ . Статистическая значимость различия сигналов в  $GO$ - и  $NOGO$ -условиях в интервале 300–450 мс  $p < 10^{-5}$  для затылочных отведений и  $p < 10^{-6}$  – для височных.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Существует несколько теорий относительно процесса сравнения кросс-модальных стимулов [15, 24]. Например, трехкомпонентная модель рабочей памяти предполагает отдельное хранение вербальной, пространственной информации и информации об объектах. В соответствии с трех-



**Рис. 2.** Усредненные по группе ПСС после второго стимула в двухмодальном тесте. *a* – GO-условие, совпадение слов, *б* – NOGO-условие, несовпадение слов для электродов  $T_5$ ,  $T_6$ ,  $O_1$ ,  $O_2$ . Стрелками указаны волны в GO- и NOGO-условии. По оси абсцисс – время, мс, по оси ординат – величина потенциала, мкВ. Начало и конец второго стимула указаны вертикальными пунктирными линиями. Топографии, определенные для максимальных значений в GO-условии (*a*), в NOGO-условии (*б*).

компонентной моделью рабочей памяти, после предъявления зрительного образа слова, стимул преобразуется в фонологический аналог (*articulatory rehearsal*) для дальнейшей обработки и удержания в рабочей памяти [24, 33].

Авторы настоящей статьи сконструировали двустимульный тест, требующий от участника исследования сравнения двух стимулов в каждой

пробе и ответной реакции. В двухмодальном тесте было зарегистрировано отрицательное отклонение после первого стимула в интервале 500–1100 мс (рис. 1). Фокус активности приходится на лобное центральное отведение ( $F_z$ ), но в дополнение к этому наблюдается активация в проекции лобных отделов левого полушария ( $F_3$ ,  $F_7$ ) (рис. 1). В GO-NOGO тестах подобного дизайна *после первого*

стимула в интервале 500 мс и до предъявления второго стимула развивается негативное отклонение УНВ [5, 9]. О-волна УНВ не имеет выраженной латерализации. Что касается поздней УНВ, то Е-волна УНВ может иметь асимметрию, которая приходится на центральные отделы и зависит от используемой в ответе руки [8], а отрицательное колебание *SPN* регистрируется в лобных и затылочных отделах в слуховой и зрительной модальностях соответственно, но не имеет асимметрии в локализации [34]. Следовательно, ни одно из этих колебаний в полной мере не соответствует полученному нами медленно отрицательному колебанию ПСС после первого стимула в “двух-модальном” тесте.

Физиологический смысл этого отрицательно-го колебания с максимумом в проекции лобных отделов левого полушария можно объяснить следующим образом. В конструкции двухмодального теста первый стимул был зрительным, и предположительно, для создания модели стимула, происходит его перевод в фонологический образ (*articulatory rehearsal*, внутреннее произнесение слова), и соответственно задействуются отделы мозга, связанные с артикуляционным аппаратом и лежащие в проекции лобных отделений слева (зона Брока).

Результаты исследования показали, что различия в обработке сигнала *после второго стимула* в *GO*- и *NOGO*-условиях регистрируются в виде положительных колебаний электрического потенциала в ответ на второй стимул с латентным периодом 428 и 680 мс. Это значительно раньше, чем время реакции ( $876 \pm 20.6$  мс). Важно учитывать, что в предложенном тесте длина второго стимула составляет 700 мс, поэтому наблюдается увеличение латентного периода когнитивных компонентов по сравнению с данными других авторов. Топографии рассматриваемых положительных отклонений потенциала после второго стимула отличаются от стандартной *GO-NOGO*-парадигмы. В качестве примера можно привести топографию компонента  $P_3$  в *NOGO*-условии (рис. 3) в зрительном двустимульном тесте у детей [31, 32]. Из рис. 3 видно, что этот *NOGO*-компонент имеет центрально-теменное распределение, в то время как в двухмодальном тесте при несовпадении слов регистрируется положительное колебание в затылочных областях. На основе сравнения представленных в этом исследовании экспериментальных данных о локализации компонент ПСС, а также данных литературы и собственных [32], можно предположить, что полученные нами компоненты не соответствуют по локализации  $P_3$  *NOGO*-компонентам.

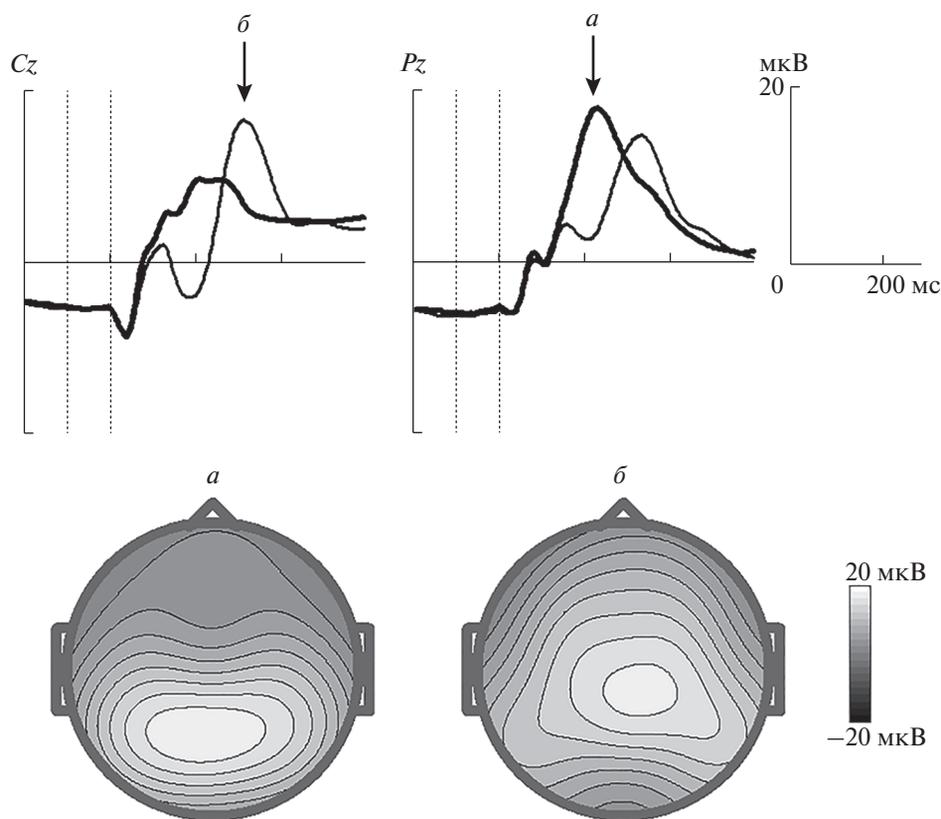
Длина второго стимула составляет 700 мс. На рис. 4 представлены все 20 вариантов слов, наложенных друг на друга, стрелкой указан конец

первого слога. Из рис. 4 видно, что окончание первого слога приходится примерно на 350 мс, начало первого из рассматриваемых колебаний потенциала приблизительно соответствует этому времени, т.е. еще до окончания слова. Значит полный образ слова, и, следовательно, категория объекта (действия) еще не могут быть сформированы. Эти данные показывают, что, вероятно, наблюдаемые феномены не являются вариантом компонента  $P_3$ , а связаны с операцией сравнения предъявляемого стимула с внутренней репрезентацией, хранящейся в рабочей памяти.

По данным литературы и исследованиям авторов настоящей статьи, в задаче на детекцию рас-согласования стимулов в теменных отведениях в тесте *GO-NOGO* регистрируется колебание  $P_2$  (с пиковой латентностью 200–300 мс). В литературе описан компонент  $P_2$  в *NOGO*-условии в тесте на предъявление зрительных стимулов с разными физическими характеристиками, но относящиеся к одной категории (*GO*-условие), или к разным категориям (*NOGO*-условие) [18]. Этот компонент наблюдается в задневисочных отведениях и отражает процессы обнаружения конфликта при сравнении входящей информации с образом, хранящимся в рабочей памяти. В двухмодальном тесте различия наблюдаются в проекции височно-затылочных отделов мозга в *GO*-условии. Можно предположить, что для сравнения речевых стимулов на раннем этапе сравнения, используются те же механизмы мозга, что и неречевых зрительных и слуховых образов, и основная роль принадлежит указанным или близлежащим отделам.

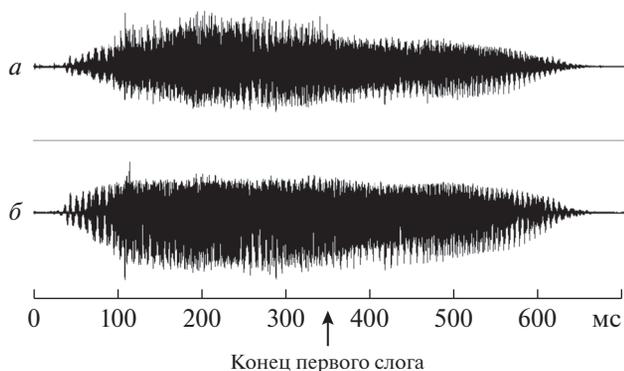
Сравнимые данные были получены С.В. Си-ницыным [35], в тесте на сравнение зрительных паттернов и фонологических образов у детей, процессы обработки стимулов отражались в положительных колебаниях потенциала в задних теменных и височных отделах в интервале 248–528 мс, автор также связывает эти колебания с процессами в рабочей памяти.

В соответствии с описанием двухмодального теста, отдельной задачи понять смысл слова не ставилось, поэтому одной из возможных стратегий, которую, вероятно, принимали большинство испытуемых, была следующей. После первого стимула участник исследования, вероятно, переводил напечатанное слово в фонологический “проговариваемый” вариант, после второго стимула достаточно было сравнения звукового сочетания, без учета смысловой нагрузки. Это утверждение, естественно, не исключает дальнейшей или параллельной обработки смысловых характеристик сигнала, которая могла продолжаться и после нажатия на кнопку. Такая стратегия поведения подтверждается коротким временем реакции – около 763 мс, окончание произносимого



**Рис. 3.** Усредненные по группе ПСС после второго стимула в зрительном тесте. *а* – *GO*-условие, совпадение зрительных образов, *б* – *NOGO*-условие, несовпадение зрительных образов для электродов *Cz* и *Pz*. По оси абсцисс – время, мс, по оси ординат – величина потенциала, мкВ. Стрелками указаны волны  $P_3$  *GO* и  $P_3$  *NOGO*. Начало и конец второго стимула указаны вертикальными пунктирными линиями. Топографии, определенные для максимальных значений *GO*-условия (*а*), *NOGO*-условия (*б*).

слова приходилось на 650 мс (рис. 4). Это позволило давать ответ быстрее, но привело к большому количеству ошибок по сравнению с *NOGO*-условием.



**Рис. 4.** Изображение, полученное наложением друг на друга 20-и графиков оцифрованных слов (“*sound*”-стимулов). Стрелкой указан конец первого слога. По оси абсцисс – время, в мс. *а* – левый динамик, *б* – правый динамик.

Латентный период положительного компонента в *NOGO*-условии больше, чем *GO*, т.е. формирование мозгового ответа на *NOGO*-условие требует более длительной обработки сигнала. В *NOGO*-условии было допущено меньше ошибок (*GO*-условие 9.63% vs *NOGO* 3.31%). Большее количество пропусков одинаковых пар нельзя объяснить неточным опознанием, тогда и разные пары слов опознавались как одинаковые, а количество ложных нажатий на *NOGO*-пробы было бы сравнимо с количеством пропусков значимых стимулов. Возможно, эволюционно выгодно рассматривать схожие стимулы в условиях дефицита времени как разные и формировать на них ориентировочную реакцию.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты анализа ПСС в двухмодальном тесте с предъявлением слов показали несколько процессов, которые протекают при обработке стимула в виде слова. После предъявления первого “*word*”-стимула и перед предъявлением второго “*sound*”-стимула наблюдается активация в проек-

ции лобных отделов левого полушария в зоне Брока. Эта активация связана с формированием в рабочей памяти фонологического аналога предъязычного слова.

После второго стимула в двух условиях регистрируются положительные компоненты ПСС. Эти колебания предположительно связаны с механизмами сличения сигналов в рабочей памяти. Компонент в *GO*-условии регистрируется раньше по времени и имеет задневисочную локализацию. Компонент ПСС в *NOGO*-условии регистрируется позднее с максимумом в затылочных отведениях. Эти характеристики отражают особенности сличения сигналов в рабочей памяти в ситуации вовлечения в действие и подавления действия.

Полученные результаты заслуживают внимания, поскольку затрагивают сложные вопросы кросс-модального взаимодействия, памяти и речевых функций, в частности, возможности участия рабочей памяти на достаточно ранних этапах обработки слова до его смыслового анализа и категоризации. Данные могут быть полезны исследователям, занимающимся указанными вопросами. Однако полученные результаты являются не окончательными и предполагают продолжить исследования в данном направлении.

**Этические нормы.** Исследование проведено в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях, и одобрены Комитетом по этике Института мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН (Санкт-Петербург) и Местным комитетом по этике кантона Граубюнден (Швейцария).

**Информированное согласие.** Законный представитель каждого участника исследования представил добровольное письменное информированное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования.

**Финансирование работы.** Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки по теме № АААА-А19-119101890066-2.

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность *Dr. Andreas Muller*, Детский центр г. Кур (Швейцария) за предоставленные записи ПСС в *GO-NOGO* тесте.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кротов Ю.Д. Количественная ЭЭГ, когнитивные вызванные потенциалы мозга человека и нейротерапия / Донецк: Издатель Заславский Ю.А., 2010. 512 с.
2. The Oxford handbook of event-related potential components / Eds. Luck S.J., Kappenman E.S. Oxford: Oxford University Press, 2011. 642 p.
3. Verleger R., Paehge T., Kolev V. et al. On the relation of movement-related potentials to the go/no-go effect on P3 // Biol Psychol. 2006. V. 73. № 3. P. 298.
4. Vuillier L., Bryce D., Szücs D., Whitebread D. The maturation of interference suppression and response inhibition: ERP analysis of a cued Go/Nogo Task // PLoS One. 2016. V. 11. № 11. P. e0165697
5. Walter W.G., Cooper R., Aldridge V.J. et al. Contingent negative variation: an electric sign of sensorimotor association and expectancy in the human brain // Nature. 1964. V. 203. P. 380.
6. Brunia C.H., van Boxtel G.J. Wait and see // Int. J. Psychophysiol. 2001. V. 43. № 1. P. 59.
7. Tecce J.J. Contingent negative variation (CNV) and psychological processes in man // Psychol. Bull. 1972. V. 77. № 2. P. 73.
8. Gomez C.M., Delinte A., Vaquero E. et al. Current source density analysis of CNV during temporal gap paradigm // Brain Topogr. 2001. V. 13. № 3. P. 149.
9. Taylor B.K., Gavin W.J., Davies P.L. The test-retest reliability of the visually-evoked contingent negative variation (CNV) in children and adults // Dev. Neuropsychol. 2016. V. 41. № 3. P. 162.
10. Brunia C.H. Movement and stimulus preceding negativity // Biol. Psychol. 1988. V. 26. № 1–3. P. 165.
11. Qiao Z., Geng H., Wang Y., Li X. Anticipation of uncertain threat modulates subsequent affective responses and covariation bias // Front. Psychol. 2018. V. 11. № 9. A. 2547.
12. Johnen A.-K., Harrison N.R. Level of uncertainty about the affective nature of a pictorial stimulus influences anticipatory neural processes: An event-related potential (ERP) study // Neuropsychologia. 2020. V. 146. A. 107525.
13. Michalowski J.M., Pane-Farre C.A., Low A., Hamm A.O. Brain dynamics of visual attention during anticipation and encoding of threat- and safe-cues in spider-phobic individuals // Soc. Cognit. Affect. Neurosci. 2015. V. 10. № 9. P. 1177.
14. Tanovic E., Pruessner L., Joormann J. Attention and anticipation in response to varying levels of uncertain threat: an ERP study // Cognit. Affect Behav. Neurosci. 2018. V. 18. № 6. P. 1207.
15. Baddley A.D., Hitch G.J. Working memory / Recent advances in learning and motivation // Ed. Bower G. N.Y.: Academic Press, 1974. V. 8. P. 47.
16. Baddeley A.D. Working memory: theories, models, and controversies // Annu. Rev. Psychol. 2012. V. 63. P. 1.
17. Miller E.K., Lundqvist M., Bastos A.M. Working memory 2.0 // Neuron. 2018. V. 24. № 100(2). P. 463.
18. Кротов Ю.Д., Пономарев В.А., Пронина М.В., Полякова Н.В. Эффекты повторения и рассогласования стимулов в сенсорных зрительных компонентах потенциалов, связанных с событиями // Физиология человека. 2019. Т. 45. № 4. С. 5.  
Kropotov Y.D., Ponomarev V.A., Pronina M.V., Polyakova N.V. Effects of Repetition and Stimulus Mismatch in Sensory Visual Components of Event-Related Potentials // Human Physiology. 2019. V. 45. № 4. P. 349.

19. Chai W.J., Abd Hamid A.I., Abdullah J.M. Working memory from the psychological and neurosciences perspectives: A review // *Front. Psychol.* 2018. V. 9. P. 401.
20. D'Esposito M., Postle B.R. The cognitive neuroscience of working memory // *Rev. Psychol.* 2015. V. 3. № 66. P. 115.
21. Nee D.E., D'Esposito M. The representational basis of working memory // *Curr. Top. Behav. Neurosci.* 2018. V. 37. P. 213.
22. Clark R.E. A history and overview of the behavioral neuroscience of learning and memory / *Behavioral Neuroscience of Learning and Memory* // Eds. Clark R.E., Martin S. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* Cham: Springer, 2017. V. 37. P. 1.
23. Ruchkin D.S., Berndt R.S., Johnson R.Jr. et al. Modality-specific processing streams in verbal working memory: evidence from spatio-temporal patterns of brain activity // *Brain Res. Cogn. Brain Res.* 1997. V. 6. № 2. P. 95.
24. Peters J., Suchan B., Zhang Ya., Daum I. Visuo-verbal interactions in working memory: evidence from event-related potentials // *Brain Res. Cogn. Brain Res.* 2005. V. 25. № 2. P. 406.
25. Hidaka S., Teramoto W., Sugita Y. Spatiotemporal processing in crossmodal interactions for perception of the external world: A review // *Front. Integr. Neurosci.* 2015. V. 22. № 9. P. 62.
26. Stock A.K., Gohil K., Huster R.J., Beste C. On the effects of multimodal information integration in multitasking // *Sci Rep.* 2017. V. 7. № 1. A. 4927.
27. Tang X., Wu J., Shen Y. The interactions of multisensory integration with endogenous and exogenous attention // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2016. V. 61. P. 208.
28. Sanders P., Thompson B., Corballis P., Searchfield G. On the timing of signals in multisensory integration and crossmodal interactions: A scoping review // *Multisens. Res.* 2019. V. 1. № 32(6). P. 533.
29. Kropotov J.D., Ponomarev V.A. Differentiation of neuronal operations in latent components of event-related potentials in delayed match-to-sample tasks // *Psychophysiology.* 2015. V. 52. № 6. P. 826.
30. Vigário R.N. Extraction of ocular artefacts from EEG using independent component analysis // *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1997. V. 103. № 3. P. 395.
31. Кротонов Ю.Д. Современная диагностика и коррекция синдрома дефицита внимания. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2005. 148 с.
32. Kropotov J.D., Ponomarev V.A., Tereshchenko E.P. et al. Effect of aging on ERP components of cognitive control // *Front. Aging Neurosci.* 2016. V. 8. P. 69.
33. Smith E.E., Jonides J. Working memory: A view from neuroimaging // *Cogn. Psychol.* 1997. V. 33. № 1. P. 5.
34. Brunia C.H., van Boxtel G.J.M. Anticipatory attention to verbal and non-verbal stimuli is reflected in a modality-specific SPN // *Exp. Brain Res.* 2004. V. 156. № 2. P. 231.
35. Синуцын С.В. Отражение в связанных с событием потенциалах процессов рабочей памяти у детей младшего школьного возраста // *Физиология человека.* 2008. Т. 34. № 2. С. 128.  
Sinityn S.V. Working memory in young schoolchildren: A study using event-related potentials // *Human Physiology.* 2008. V. 34. № 2. P. 250.

## Event-Related Potentials in a Test for Comparing Word Pairs in Visual and Auditory Modality

I. S. Nikishena<sup>a,\*</sup>, V. A. Ponomarev<sup>a</sup>, J. D. Kropotov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Bechtereva Institute of the Human Brain, RAS, St. Petersburg, Russia*

\*E-mail: nikishena@mail.ru

The aim of the study was to investigate the characteristics of the brain activity when comparing verbal signals under conditions of crossmodal interaction. Event-related potentials (ERP) were recorded from scalp of 166 healthy subjects in a two-modal two-stimulus test in the GO-NOGO paradigm, in which the first stimulus was visual presentation of word and the second was the auditory presentation of word. It is shown that during waiting for an auditory presentation of word after visual presentation, the activation of the frontal-temporal brain area of the left hemisphere (F<sub>7</sub>, F<sub>3</sub>) is recorded, presumably associated with the preparation of a phonological representation of word in a memory. When second stimulus (pronounced word) coincides with the first one, activation is recorded with a maximum in the posterior temporal positions (T<sub>5</sub>, T<sub>6</sub>) in the interval 370–500 ms, and in case of discrepancy – in the time interval 590–800 ms with a maximum in the occipital position (O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>). These ERP waves are presumably associated with the processes of comparing newly received information from the auditory system with the phonological representation of word stored in working memory.

**Keywords:** working memory, phonological representation of word, crossmodal interaction, event-related potentials (ERP), cued GO-NOGO paradigm.

УДК 612.821

## РОЛЬ СИГМА-1 РЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СЕРДЦА. ЧАСТЬ 2. РОЛЬ СИГМА-1 РЕЦЕПТОРОВ В КАРДИОПРОТЕКЦИИ

© 2021 г. С. А. Крыжановский<sup>1</sup>, \*, И. А. Мирошкина<sup>1</sup>, Е. О. Ионова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”, Москва, Россия

\*E-mail: sak-538@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.05.2020 г.

После доработки 09.06.2020 г.

Принята к публикации 15.01.2021 г.

Во 2-ой части обзора приводятся литературные данные, свидетельствующие о наличии у сигма-1 рецепторов выраженной кардиопротективной активности, связанной как с мембранотропной, так и шаперонной активностью. Показано, что активированные сигма-1 рецепторы обладают выраженным антиаритмическим/антифибрилляторным действием, проявляют антиишемическую активность и в условиях патологии препятствуют развитию гипертрофии и ремоделирования левого желудочка сердца. Напротив, блокада сигма-1 рецепторов инициирует развитие злокачественных нарушений сердечного ритма, провоцирует развитие гипертрофии и ремоделирования миокарда.

**Ключевые слова:** сигма-1 рецепторы, шапероны, агонисты, антагонисты, кардиопротекция, саркоплазматический ретикулум, IP3-рецепторы 3-го типа, риадиноновые рецепторы 2-го типа, ионы Ca<sup>2+</sup>.

DOI: 10.31857/S013116462104007X

Интерес к изучению роли сигма-1 рецепторов ( $\sigma 1R$ ) в физиологии и патологии сердечной мышцы возник в 2011 г. после публикации в журнале *Expert Opinion on Therapeutic Targets* результатов исследований *M.S. Bhuiyan* и *K. Fukunaga*, свидетельствующих о том, что уровень экспрессии мРНК  $\sigma 1R$  в миокарде желудочков на порядок превышает таковой в нейронах ЦНС [1]. Кроме того, авторы этого исследования убедительно продемонстрировали, что индуцированная агонистами активация  $\sigma 1R$  модулирует различные трансмембранные ионные каналы, встроенные в клеточную мембрану кардиомиоцитов, и тем самым регулирует работу сердца. Учитывая тот факт, что  $\sigma 1R$  являются важным внутриклеточным образованием, поддерживающим/регулирующим функциональную активность клетки, *M.S. Bhuiyan* и *K. Fukunaga* высказали предположение о том, что потенциально агонисты  $\sigma 1R$  могут рассматриваться как новая оригинальная группа лекарственных средств для лечения различных сердечно-сосудистых заболеваний [1].

Вторая часть настоящего обзора посвящена описанию роли  $\sigma 1R$  в кардиопротекции.

### Влияние блокады $\sigma 1R$ на функциональную активность сердца

Роль  $\sigma 1R$  в развитии патологии миокарда в настоящее время до конца не ясна. Согласно имеющимся данным, применяемые в клинике антагонисты  $\sigma Rs$  обладают достаточно широким спектром сердечно-сосудистых побочных эффектов. Наиболее полно описаны кардиотоксические эффекты антипсихотического препарата галоперидол, который является неселективным блокаторм  $\sigma Rs$  [2, 3], однако его сродство к  $\sigma 2R$  более чем в 170 раз меньше, чем к  $\sigma 1R$  [4]. Константа ингибирования ( $K_i$ ) галоперидолом  $\sigma 1R = 2.7$  нМ.

Показано, что на фоне систематической терапии галоперидолом у пациентов отмечается клинически значимое удлинение интервала QT на ЭКГ, что влечет за собой развитие злокачественных желудочковых аритмий, в том числе полиморфной желудочковой тахикардии *torsades de pointes* (тахикардия “пляска точек” или тахикардия “пируэт”), которая значительно повышает риск развития внезапной сердечной смерти [5, 6]. Как известно, галоперидол обладает сложным механизмом антипсихотического действия и помимо  $\sigma Rs$  блокирует D2 и D3 дофаминовые и  $\alpha$ -адренорецепторы. Вместе с тем, маловероятно, что его аритмогенные эффекты могут быть связаны с блокадой дофаминовых рецепторов, поскольку

известно, что способностью удлинять интервал QT на ЭКГ обладают не антагонисты, а агонисты этих рецепторов [7]. Для антагонистов  $\alpha$ -адренорецепторов и антагонистов  $\sigma 2R$  аритмогенные эффекты не описаны. Таким образом, есть все основания полагать, что нарушения сердечного ритма на фоне приема галоперидола могут быть связаны с блокадой  $\sigma 1R$ , приводящей к нарушению/подавлению функциональной активности  $Ca^{2+}$  каналов саркоплазматического ретикула (СПР). Такое предположение подтверждают результаты экспериментальных исследований, в которых, в частности, показано, что на фоне систематической терапии галоперидолом в предсердиях и желудочках сердца крыс значимо увеличивается экспрессия мРНК генов  $\sigma 1R$  [8]. Аналогичные данные были получены этими авторами и в экспериментах *in vitro*, выполненных на изолированных кардиомиоцитах. Также в этом исследовании было показано, что на фоне терапии галоперидолом в правом и левом предсердиях сердца увеличивается экспрессия мРНК генов IP3R1 и IP3R2. Позднее эти наблюдения были подтверждены и в других исследованиях [9]. Их авторы высказывают предположение о том, что увеличение уровня экспрессии  $\sigma 1R$  и IP3R может привести к нарушению гомеостаза ионов  $Ca^{2+}$  в кардиомиоцитах и, таким образом, способствовать изменению чувствительности сердца к аритмогенным воздействиям.

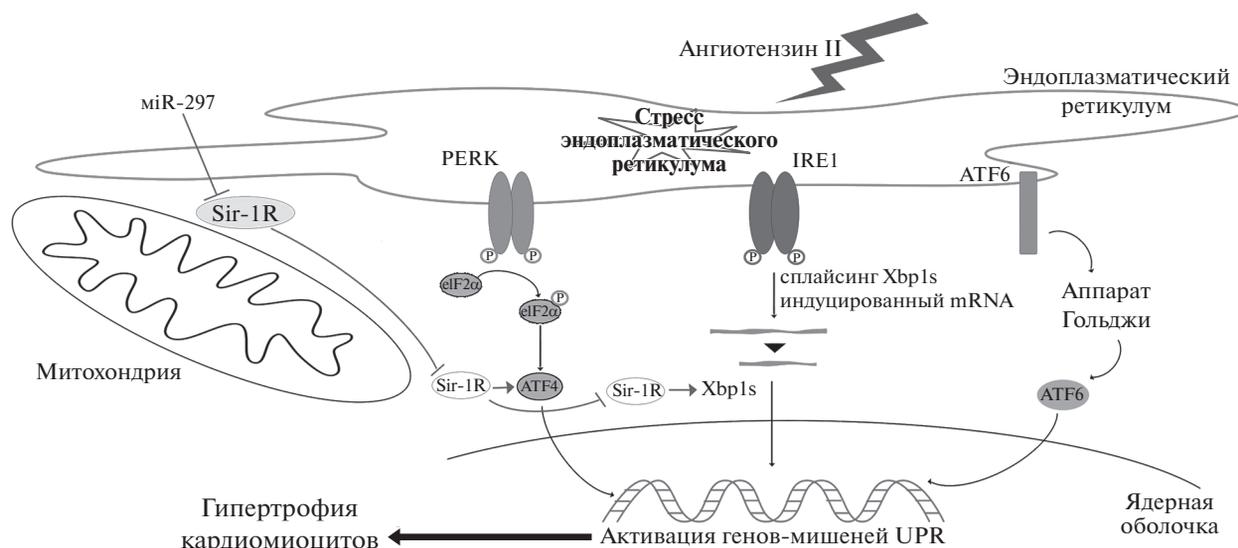
Возможен и другой механизм галоперидолопосредованного аритмогенеза. Показано, что препарат обладает способностью блокировать трансмембранные потенциалзависимые  $K^+$  каналы hERG (Kv11.1) [10], через которые протекает быстрый выходящий  $K^+$  ток замедленного выпрямления (*Kr*), преимущественно формирующий 3-ю фазу реполяризации кардиомиоцитов. Общеизвестно, что именно замедление формирования 3-й фазы реполяризации кардиомиоцитов ответственно за удлинение интервала QT на ЭКГ. Ранее мы сообщали о том, что агонисты  $\sigma 1R$  обладают способностью блокировать hERG и тем самым подавлять *IKr* [11]. Нельзя исключить, что гиперэкспрессия  $\sigma 1R$ , наблюдаемая на фоне систематической терапии галоперидолом, может повлечь за собой блокаду hERG-каналов и тем самым замедлить формирование 3-й фазы реполяризации и, следовательно, вызвать удлинение интервала QT на ЭКГ.

Также из литературы известно, что галоперидол обладает выраженной цитотоксичностью, в том числе и кардиотоксичностью [12]. В первой части настоящего обзора были приведены данные о том, что  $\sigma 1R$  рассматривают как уникальный белковый комплекс, выполняющий в клетке функцию “скорой помощи”, обладающий, в том числе, и цитопротекторной активностью [13, 14].

В этом контексте не исключено, что кардиотоксичность галоперидола, в той или иной мере, связана с его способностью блокировать  $\sigma 1R$  в кардиомиоцитах. Также нельзя исключить, что кардиотоксичность галоперидола может вносить определенный вклад в удлинение интервала QT на ЭКГ.

В модельных экспериментах, выполненных на мышцах с коарктацией аорты, показано, что систематическая терапия галоперидолом (0.1 мг/кг, *per os*, в течение 4-х нед.) приводит к статистически значимому ( $p < 0.01$ ) по сравнению с контрольными животными с коарктацией аорты снижению (более чем на 50%) экспрессии  $\sigma 1R$  в кардиомиоцитах, а также к уменьшению ( $p < 0.01$ ) продукции аденозинтрифосфата (АТФ) митохондриями и развитию интерстициального фиброза [15]. Согласно результатам эхокардиографических (ЭхоКГ) исследований, у крыс, получавших галоперидол, по сравнению с ложнопонирующими, фракция выброса снижается с 82 до 70% ( $p < 0.01$ ), что, по мнению авторов, свидетельствует о том, что у животных, получавших галоперидол, развивается ремоделирование миокарда и формируется сердечная недостаточность. Помимо этого, авторы исследования отмечают, что в контрольной группе животных летальность составила 33%, тогда как в группе, получавшей галоперидол, — 86% ( $p < 0.05$ ). В экспериментах *in vitro*, выполненных на неонатальных кардиомиоцитах крысы, показано, что галоперидол, блокируя  $\sigma 1R$ , усиливает ангиотензин II-индуцированную гипертрофию миокарда ( $p < 0.01$ ), а также интенсифицирует апоптоз клеток сердца, о чем свидетельствует значимое ( $p < 0.05$ ), по сравнению с контролем, увеличение количества TUNEL-позитивных клеток [15]. Авторы этого исследования высказали предположение о том, что гипертрофия миокарда развивается вследствие нарушения митохондриальной мобилизации ионов  $Ca^{2+}$ , вызванной потерей  $\sigma 1R$  их функциональной активности, однако механизм этого феномена оставался не ясным. Позднее появились данные о том, что в основе этого процесса может лежать гиперэкспрессия микроРНК-297, приводящая к уменьшению пула функционально активных  $\sigma 1R$  на мембране СПР гипертрофированных кардиомиоцитов.

Известно, что перегрузка сердца давлением, что было смоделировано в ранее приведенном исследовании, инициирует стресс СПР [16, 17]. Стресс СПР и последующая гиперпродукция активных форм кислорода (ROS) инициируют в кардиомиоцитах экспрессию неправильно свернутых/развернутых белков, таких как PERK-киназы (син. РНК-киназы протеинкиназы или PKR-подобная ER-киназа), инозитол-требующего фермента 1 альфа (IRE1 $\alpha$ ) и транскрипционного фактора 6 (ATF6), путем отмежевания от



**Рис. 1.** Схематическое отображение роли miR-297 в развитии гипертрофии кардиомиоцитов (по [20]).  
Объяснения в тексте.

них молекулярного шаперона BiP [18]. IRE1 $\alpha$  является одной из основных трансмембранных сигнальных молекул СПР, а его активация инициирует нетрадиционное удаление 26-основного интрона из мРНК-связывающего белка x-box 1 (XBP1s), который является ключевым передатчиком сигнала стресса в СПР [19]. Активированный XBP1s стимулирует синтез различных белков, в том числе шаперонов СПР, компонентов деградации СПР (ERAD) и факторов транскрипции, которые облегчают расщепление белков. В модельных экспериментах на крысах, у которых гипертрофия левого желудочка сердца была вызвана коарктацией аорты, было показано, что у них, по сравнению с ложноперирированными, в кардиомиоцитах статистически значимо ( $p < 0.05$ ) снижена экспрессия  $\sigma 1R$ : на 51% на уровне мРНК и на 34% на уровне белка [20]. Помимо этого, было зарегистрировано значительное увеличение (в 1.9 раза) экспрессии микроРНК-297 (miR-297). MiR – это небольшие некодирующие РНК, которые связываются с последовательностью 3'-нетранслируемой области (некодирующий участок мРНК, располагающийся на ее 3'-конце после кодирующей области; 3'-UTR) целевого гена, что влечет за собой подавление его экспрессии. Показано, что miR-297 избирательно связывается 3'-UTR областью гена  $\sigma 1R$  и тем самым подавляет экспрессию  $\sigma 1R$  в гипертрофированных кардиомиоцитах [20]. Также в этом исследовании было продемонстрировано, что miR-297 инициирует развитие гипертрофии миокарда не только за счет подавления экспрессии  $\sigma 1R$ , но и путем активации XBP1s и сопряженного с IRE1 $\alpha$  активирующего фактора транскрипции 4 – ATF4 (рис. 1), а блокада активности miR-297 ее специфическим

ингибитором RmiR-AN1221-SN-10 восстанавливает уровень экспрессии  $\sigma 1R$  и подавляет активность прогипертрофических факторов XBP1s и ATF4.

В литературе имеется достаточное количество публикаций, подтверждающих вышеизложенное и свидетельствующих о том, что экспериментальная патология миокарда влечет за собой уменьшение пула  $\sigma 1R$  в кардиомиоцитах [15, 21–23]. Так, например, в модельных экспериментах, в которых сердечную недостаточность у мышей вызывали путем коарктации аорты, показано, что у них через 4 нед. после операции экспрессия  $\sigma 1R$  в кардиомиоцитах, по сравнению с ложноперирированными, была снижена более чем на 50% ( $p < 0.01$ ) [24].

В 2019 г. были опубликованы результаты крупного экспериментального исследования, посвященного изучению влияния длительной терапии антагонистом  $\sigma 1R$  – BD1047 (0.3 мг/кг, в/б, в течение 28 дней) на электрофизиологические и гистологические характеристики состояния предсердий крыс [25]. Было показано, что через 28 дней от момента начала терапии у крыс, получавших BD1047, по сравнению с контрольными, эффективный рефрактерный период кардиомиоцитов уменьшился с  $36.80 \pm 3.16$  до  $19.4 \pm 2.50$  мс ( $p < 0.01$ ), также статистически значимо ( $p < 0.01$ ) уменьшилась и длительность потенциала действия  $APD_{90}$  (длительность потенциала действия на уровне 90% фазы реполяризации PD). Если у контрольных животных программная стимуляция предсердий (50 Гц в течение 2 с) не вызвала фибрилляцию предсердий (ФП), то у крыс ( $n = 10$ ), получавших BD1047, эпизоды ФП развивались в

80% случаев ( $p < 0.01$ ). Анализ вариабельности сердечного ритма продемонстрировал, что у животных, получавших BD1047, усилена тоническая симпатическая активность и подавлено парасимпатическое звено вегетативной регуляции, что влечет за собой развитие симпато-вагального дисбаланса, который, как известно, является одним из триггеров ФП [25]. Согласно данным гистологических и молекулярных исследований, у крыс, получавших BD1047, развивается интенсивный фиброз миокарда предсердий, а иммуноблоттинг свидетельствует о том, что в кардиомиоцитах значимо ( $p < 0.01$ ) снижена экспрессия коннексина Cx40. В настоящее время фиброз миокарда предсердий рассматривается как ключевой субстрат для развития ФП, обеспечивающий структурное ремоделирование предсердий, приводящее к замедлению распространения нервного импульса и/или возникновению петли ринентри [26]. Cx40 считается наиболее важным коннексином, экспрессируемым в предсердии, а его потеря тесно связана с замедлением проводимости, обеспечивающим аномальный субстрат для поддержания ФП [27].

Таким образом, основываясь на имеющихся литературных данных, можно говорить о том, что длительная блокада  $\sigma 1R$  влечет за собой развитие злокачественных наджелудочковых и желудочковых нарушений сердечного ритма, инициирует гипертрофию и ремоделирование сердца, приводящие к развитию сердечной недостаточности. Помимо этого, показано, что в условиях сердечной недостаточности экспрессия  $\sigma 1R$  в кардиомиоцитах значимо снижается.

Это заключение подтверждают результаты недавно опубликованного исследования, выполненного на нокаутных по  $\sigma 1R$  мышах, согласно которому, у них, в отличие от интактных животных, развивается прогрессирующая систолическая дисфункция, приводящая к снижению фракции укорочения и фракции выброса, сопровождающаяся по данным гистохимических исследований фиброзом миокарда, отложением коллагена, а также увеличением содержания экстрацеллюлярного белка периостина, который, как известно, оказывает повреждающее действие на кардиомиоциты, что, в свою очередь, приводит к нарушению их сократительной способности и последующей гибели, т.е. периостин провоцирует развитие ХСН. Ультраструктурный анализ показал, что у нокаутных по  $\sigma 1R$  животных кардиомиоциты неправильной формы, количество митохондрий в них снижено, митохондрии увеличены в размерах и содержат аномальные кристы. Также в этом исследовании продемонстрировано, что у нокаутных по  $\sigma 1R$  животных нарушена экспрессия митохондриальных регуляторных белков и существенно снижены показатели, отражающие дыхательную функцию митохондрий [28].

### Роль $\sigma 1R$ в кардиопротекции

Начиная с 2007 г., сотрудниками Университета Тохоку (Япония) и НИИ фармакологии имени В.В. Закусова (Россия) проводятся систематические экспериментальные исследования по изучению возможности использования агонистов  $\sigma 1R$  в качестве кардиопротективных лекарственных средств.

В качестве агонистов  $\sigma 1R$  японские исследователи используют селективный ингибитор обратного захвата серотонина антидепрессант флувоксамин [21–23], константа связывания которого с  $\sigma 1R = 36$  нМ [29], а также эндогенный агонист этих рецепторов дегидроэпиандростерон (DHEA) [30, 31].

Японские исследователи в модельных экспериментах, выполненных на подвергнутых билатеральной овариэктомии самках крыс, у которых сердечную недостаточность воспроизводили путем коарктации брюшной аорты между правой и левой почечными артериями, изучали кардиопротективные эффекты агониста  $\sigma 1R$  флувоксамина. Препарат (0.5 и 1.0 мг/кг) вводили *per os* с первого дня после коарктации аорты в течение 4-х нед. [32]. Овариэктомию проводили, исходя из ранее полученных авторами данных, свидетельствующих о том, что эта манипуляция на фоне коарктации брюшной аорты значимо ускоряет формирование и утяжеляет течение сердечной недостаточности, а также интенсифицирует развитие патологического ремоделирования миокарда, что, по их мнению, связано с аномальной активностью в кардиомиоцитах протеинкиназы В (Akt) и эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) [33]. Показано, что у животных, получавших флувоксамин, уровень экспрессии  $\sigma 1R$  значимо выше, чем у контрольных животных (для дозы 0.5 мг/кг  $p < 0.05$ , а для дозы 1.0 мг/кг  $p < 0.01$ ). Помимо этого было продемонстрировано, что у животных, получавших флувоксамин (1.0 мг/кг), значимо ( $p < 0.001$ ) ниже интенсивность гипертрофии миокарда, а инотропная функция левого желудочка выше ( $p < 0.001$ ). Также на фоне терапии флувоксамином (1.0 мг/кг) в кардиомиоцитах левого желудочка значимо восстанавливалась активность eNOS ( $p < 0.01$ ) и Akt ( $p < 0.01$ ). Антагонист  $\sigma 1R$  – NE-100 (1 мг/кг) полностью блокировал кардиопротективное действие флувоксамина. Восстановление, обусловленное активацией  $\sigma 1R$  PI3K/Akt/eNOS сигнального пути, представляется достаточно важным, поскольку известно, что этот сигнальный каскад играет одну из ключевых ролей в регуляции/подавлении процессов апоптоза [34, 35].

Практически аналогичные данные были получены и при оценке результатов экспериментальной терапии агонистом  $\sigma 1R$  – DHEA (15 и 30 мг/кг; *per os*, в течение 14 дней) самок крыс, подвергну-

тых овариэктоми и коарктации брюшной аорты [36].

В эксперименте, построенном по аналогичному плану, что и эксперименты по изучению кардиопротективного действия флувоксамина и DHEA, были изучены кардиопротективные эффекты селективного агониста  $\sigma 1R$  (+)-пентазоцина (0.5 и 1.0 мг/кг; в/б, в течение 14 дней). Было показано, что он также как и флувоксамин, и DHEA, восстанавливает сниженную экспрессию  $\sigma 1R$ , уменьшает интенсивность гипертрофии и ремоделирования левого желудочка сердца, повышает его инотропную функцию [37]. Помимо этого было показано, что если у контрольных животных с коарктацией аорты экспрессия  $\sigma 1R$  в кардиомиоцитах левого желудочка была значимо снижена, то экспрессия IP3R2 была значимо выше ( $p < 0.01$ ). Систематическая терапия (+)-пентазоцином препятствовала гиперэкспрессии IP3R2 и восстанавливала физиологическое соотношение  $\sigma 1R$ /IP3R2. Авторы полагают, что восстановление баланса между  $\sigma 1R$ /IP3R2 на фоне терапии (+)-пентазоцином коррелирует с его кардиопротективной активностью.

Уровень экспрессии RyR2 у контрольных животных, в отличие от уровня экспрессии IP3R2, не изменялся, однако уменьшение экспрессии  $\sigma 1R$  привело к снижению их регулирующего влияния на функциональную активность RyR2, что и реализовалось в резком увеличении RyR2-опосредованного выброса ионов  $Ca^{2+}$  из депо СПР в цитоплазму кардиомиоцитов. Увеличение уровня экспрессии  $\sigma 1R$  на фоне терапии (+)-пентазоцином приводило к восстановлению их ко-локализации с RyR2 на мембране СПР, что, в свою очередь, и препятствовало перегрузке ионами  $Ca^{2+}$  цитозоля кардиомиоцитов. Антагонист  $\sigma 1R$  – NE-100 (1 мг/кг) полностью блокировал все вышеприведенные эффекты (+)-пентазоцина.

Поскольку известно, что и гиперэкспрессия IP3R2, и дисрегуляция RyR2 влекут за собой как утечку ионов  $Ca^{2+}$  из депо СПР, так и нарушение энергопродуцирующей функции митохондрий, и, следовательно, активируют внутриклеточные сигнальные пути, которые способствуют развитию гипертрофии, инициируют развитие нарушений сердечного ритма и ремоделирование левого желудочка сердца и последующее развитие сердечной недостаточности [38, 39], авторы этого исследования логически заключили, что в основе кардиопротективного действия агонистов  $\sigma 1R$  лежит их способность восстанавливать IP3R2-опосредованную митохондриальную продукцию АТФ и подавлять RyR2-опосредованную утечку ионов  $Ca^{2+}$  из СПР.

С точки зрения теории возможен еще один механизм кардиопротективного действия агонистов  $\sigma 1R$ .

Нейротрофический фактор мозга (*brain-derived neurotrophic factor*, BDNF), относится к нейротрофинам – веществам, стимулирующим и поддерживающим развитие нейронов. BDNF, также как  $\sigma 1R$ , синтезируется и локализуется на мембране СПР, при стрессе СПР оказывает протективное действие посредством активации специфических для него TrkB-рецепторов, а также принимает участие в поддержании гомеостаза ионов  $Ca^{2+}$  в цитоплазме нейронов [40–43]. Показано, что агонисты  $\sigma 1R$  регулируют уровень экспрессии BDNF и сопряженные с ним сигнальные пути [44, 45]. В частности,  $\sigma 1R$  потенцируют в кортикальных нейронах BDNF-индуцированную активацию сигнального пути PLC $\gamma$ /IP3/ $Ca^{2+}$ , который, как известно, играет важную роль в поддержании нормальной функциональной активности клеток [44].

В литературе также имеются данные о том, что BDNF играет важную роль в поддержании функциональной активности миокарда. Так например, показано, что у нокаутных по BDNF мышей, по сравнению с интактными, значимо больше площадь инфаркта миокарда ( $p < 0.05$ ), а инотропная функция левого желудочка ниже ( $p < 0.01$ ) [46]. В этом же исследовании аналогичные результаты были получены и у нокаутных по TrkB-рецепторам мышей. Напротив, BDNF, введенный интракардиально крысам за сутки до воспроизведения инфаркта миокарда, препятствовал снижению инотропной функции сердца (фракция выброса: ложнооперированные – 82%, контроль инфаркт 50% –  $p < 0.001$ , инфаркт + BDNF 74% –  $p < 0.01$ ) и развитию постинфарктного ремоделирования левого желудочка сердца, а также способствовал уменьшению площади инфаркта ( $p < 0.05$ ) [47]. Кроме того, было показано, что в кардиомиоцитах животных, получавших BDNF, уровень экспрессии гена мРНК каспазы-3 был снижен ( $p < 0.05$ ) по сравнению контролем, а Bcl-2 – повышен ( $p < 0.001$ ), что свидетельствует о том, что BDNF в условиях инфаркта миокарда препятствует апоптозу кардиомиоцитов. Согласно клиническим наблюдениям, у пациентов с острым коронарным синдромом уровень BDNF в плазме крови по сравнению со здоровыми людьми существенно ниже ( $p < 0.05$ ) [48].

В экспериментах на крысах показано, что систематическая терапия (в течение 2-х нед.) высокоселективным агонистом  $\sigma 1R$  кутамезином (SA4503, 1 мг/кг, в/б), который инициирует активацию  $\sigma 1R$  посредством его диссоциации от шаперона BiP, приводила к двукратному статистически значимому ( $p < 0.05$ ) повышению уровня BDNF в гиппокампе [49].

В экспериментах *in vitro*, выполненных на культуре клеток нейробластомы крысы B104, показано, что агонист  $\sigma 1R$  кутамезин потенцирует превращение предшественника BDNF (proBDNF) в зрелый BDNF и усиливает секрецию зрелого BDNF во внеклеточное пространство [50]. Антагонист  $\sigma 1R$  – NE 100 (1.0 мг/кг) полностью блокирует BDNF-позитивное действие кутамезина. Авторы высказывают предположение о том, что поскольку  $\sigma 1R$ , локализованные преимущественно на мембране СПР, регулируют экспрессию BDNF, то они могут ингибировать его агрегацию, индуцированную стрессом СПР, который, как известно, играет одну из ключевых ролей в патогенезе не только неврологических, но и сердечно-сосудистых заболеваний.

Поскольку известно, что в условиях ишемического повреждения миокарда в кардиомиоцитах значительно снижается экспрессия BDNF, приводящая, как было отмечено ранее, к увеличению площади ишемического повреждения, ремоделированию левого желудочка сердца и апоптозу клеток сердца, есть все основания полагать, что стимуляция экспрессии BDNF в клетках сердца агонистами  $\sigma 1R$  может внести существенный вклад в их кардиопротективное действие.

Таким образом, можно говорить о том, что согласно результатам исследований, проведенных японскими авторами, систематическая экспериментальная терапия агонистами  $\sigma 1R$  в условиях перегрузки сердца давлением препятствует развитию гипертрофии и ремоделированию миокарда и поддерживает его инотропную функцию, что свидетельствует о том, что агонистам  $\sigma 1R$  присуща кардиопротективная активность.

Отечественные исследователи в качестве агониста  $\sigma 1R$  используют анксиолитик фабомотизол (афобазол), который согласно данным экспериментов *in vitro* активизирует  $\sigma 1R$  в концентрации  $5.9 \times 10^{-6}$  М [13].

В опытах на животных (кошки, крысы) с интактным миокардом было показано, что фабомотизол в дозах 0.5–5.0 мг/кг (в/в) не оказывает какого-либо влияния на основные показатели деятельности сердца и гемодинамики. При увеличении дозы препарата до 10 мг/кг в первые 5–20 мин отмечается незначительное и обратимое снижение АД и урежение ЧСС (порядка 5–7%), что свидетельствует о том, что препарат в указанных дозах гемодинамически нейтрален.

При изучении спектра антиаритмической активности фабомотизола на скрининговых моделях нарушения сердечного ритма было показано, что препарат обладает выраженным антиаритмическим и противofiбрилляторным действием [51, 52].

В модельных экспериментах ваготонической фибрилляции предсердий (ФП) у кошек было по-

казано, что фабоматизол (7.5 мг/кг в/в) в 7 из 8 случаев предотвращал развитие ваготонической ФП [53]. Эти результаты согласуются с клиническими наблюдениями, в которых у 65 пациентов было показано, что фабоматизол уменьшает как частоту, так и длительность пароксизмов ФП [54]. Наличие способности у агонистов  $\sigma 1R$  предотвращать ФП было продемонстрировано и в ряде экспериментальных исследований. Например, было показано, что систематическая экспериментальная терапия агонистом  $\sigma 1R$  соединением SA4503 препятствует развитию ФП у крыс с депрессией [55].

Препарат проявляет высокую антифибрилляторную активность и на моделях, воспроизводящих реперфузионную фибрилляцию желудочков сердца. Так, в опытах на наркотизированных кошках, в условиях 30-минутной окклюзии и дальнейшей реперфузии коронарной артерии, были получены следующие результаты: в контрольной серии опытов фибрилляция желудочков возникла у 6 животных из 10, тогда как у 12 животных, получавших фабомотизол (5 мг/кг в/в), фибрилляции желудочков ни в одном случае не развивалась [56].

Есть все основания полагать, что антиаритмическая/антифибрилляторная активность фабомотизола реализуется на уровне сердечной мышцы, поскольку показано, что антифибрилляторное действие препарата проявляется и у животных с денервированным миокардом [52]. Согласно литературным данным, в основе антиаритмической активности препарата лежит его агонистическое влияние в отношении  $\sigma 1R$ : в экспериментах на крысах показано, что на фоне предварительного введения неселективного антагониста  $\sigma R$ s галоперидола антифибрилляторное действие фабомотизола не реализуется [57].

По всей видимости, в основе антифибрилляторной активности препарата лежит его способность подавлять очаги аномальной деполяризации в предсердиях, поскольку с помощью множественного картирования электрического поля сердца у крыс с острым инфарктом миокарда (ОИМ) было показано, что у получавших фабомотизол (15 мг/кг, в/в) животных, по сравнению с контрольными с ОИМ, не происходит изменения временных показателей деполяризации субэпикарда предсердий ( $p < 0.05$ ): начала деполяризации эпикарда предсердий; перехода волны возбуждения от правого к левому предсердию ( $p < 0.03$ ); окончания деполяризации предсердий ( $p < 0.05$ ).

На разработанной нами трансляционной модели алкогольной кардиомиопатии (АКМП), которая развивается у крыс через 24 нед. систематического приема алкоголя [58], изучили молекулярные механизмы, лежащие в основе антиаритмического действия фабомотизола. Выбор

этой модели был обусловлен тем, что, как следует из большого числа экспериментальных и клинических данных, при этой патологии крайне высок риск развития злокачественных нарушений сердечного ритма [59–62]. Было показано, что систематическая экспериментальная терапия фабомотизолом (15 мг/кг, в/б, ежедневно, в течение 28 дней, начиная с 25-ой нед. алкоголизации) приводит к статистически значимому, по сравнению с алкоголизированным контролем, снижению экспрессии мРНК генов ключевых рецепторов и белков, ответственных за поддержание в кардиомиоцитах гомеостаза ионов  $Ca^{2+}$  и регуляцию их ритмической активности: регуляторных белков *Eras1* ( $p = 0.02$ ) и *Eras2* ( $p = 0.02$ ), регуляторного белка кальмодулина ( $p = 0.00002$ ), генов инозитол-1,4,5-трифосфатных рецепторов 1-го, 2-го и 3-го типов – *IP3R1* ( $p = 0.037$ ), *IP3R2* ( $p = 0.006$ ) и *IP3R3* ( $p = 0.001$ ), и генов *RyR2* ( $p = 0.032$ ). Известно, что в кардиомиоцитах *RyR2*, а также *IP3Rs*, расположенные на наружной мембране СПР, регулируют поступление ионов  $Ca^{2+}$  в цитозоль кардиомиоцитов, что играет ключевую роль в регуляции их ритмической активности [63], а их гиперэкспрессия, также как гиперэкспрессия регуляторного белка *Eras2* [64], увеличивает риск развития злокачественных нарушений ритма сердца.

Таким образом, результаты молекулярных исследований позволяют высказать предположение о том, что антиаритмические эффекты агониста  $\sigma 1R$  фабомотизола могут быть связаны с его способностью препятствовать развитию/подавлять стресс СПР, а также восстанавливать гомеостаз ионов  $Ca^{2+}$  в кардиомиоцитах. Также следует отметить, что результаты, полученные в этой серии экспериментов, практически полностью согласуются с результатами исследований японских исследователей, которые в модельных экспериментах, воспроизводящих гипертрофию миокарда перегрузкой давлением, показали, что длительная терапия агонистом  $\sigma 1R$  (+)-пентазоцином препятствует развитию стресса СПР за счет оптимизации уровня экспрессии в кардиомиоцитах *RyR2* и *IP3R2*, экспрессия которых в условиях патологии значимо возрастает [37].

Помимо антиаритмической активности, фабомотизол обладает и выраженным антиишемическим действием. На модели субэндокардиальной ишемии миокарда у крыс, вызываемой изопроterenолом, было показано, что фабомотизол (10 мг/кг в/в), так же как и эталонный для этой модели антагонист ионов  $Ca^{2+}$  верапамил (1 мг/кг в/в), статистически значимо ( $p < 0.05$ ) уменьшает депрессию сегмента ST на ЭКГ. Галоперидол (0.5 мг/кг в/в) блокировал противоишемический эффект фабомотизола, но не влиял на антиишемическое действие верапамила [65], что также

подтверждает вышеприведенные данные о том, что кардиопротективное действие фабомотизола связано с его родством с  $\sigma 1R$ .

В модельных экспериментах, воспроизводящих ОИМ у крыс, показано, что систематическая экспериментальная терапия фабомотизолом (10 мг/кг/сут, в течение 7 дней) в значительной степени защищает миокард от ишемического повреждения и уменьшает интенсивность постинфарктного ремоделирования левого желудочка сердца [66]. Схожие результаты были получены и в других близких по дизайну исследованиях [67, 68]. Также на модели ОИМ было показано, что систематическая экспериментальная терапия фабомотизолом (15 мг/кг/сут, в течение 14 дней), по сравнению с контролем статистически значимо ( $p = 0.019$ ) подавляет экспрессию индуцибельной NO-синтазы (*iNOS*) в ишемизированном миокарде [69]. Эти данные хорошо согласуются с результатами исследований, полученными при изучении нейропротективной активности агонистов  $\sigma_1$ -рецепторов в экспериментах как *in vivo*, так и *in vitro*, свидетельствующими о том, что их протективная активность в значительной мере связана со способностью подавлять экспрессию индуцибельной NO-синтазы (*iNOS*) и тем самым в условиях ишемии защищать нейроны от свободнорадикальной агрессии [70, 71].

В экспериментах, выполненных на разработанной нами трансляционной модели ХСН у крыс [72], которая развивается через 90 дней после воспроизведения переднего трансмурального инфаркта миокарда, были изучены кардиопротективные эффекты длительной экспериментальной терапии фабомотизолом (15 мг/кг, в/б, ежедневно, в течение 28 дней, начиная с 91-го дня после воспроизведения инфаркта миокарда) [73]. При проведении ЭхоКГ-исследований было продемонстрировано, что фабомотизол уменьшает интенсивность ремоделирования левого желудочка сердца и способствует восстановлению инотропной функции левого желудочка. Так, например, если у контрольных животных конечно-систолический размер левого желудочка сердца за период с 91-го по 120-й день после воспроизведения инфаркта увеличился с  $4.26 \pm 0.29$  до  $4.35 \pm 0.36$  мм, то у крыс, получавших фабомотизол, он уменьшился с  $4.12 \pm 0.32$  до  $3.78 \pm 0.21$  мм. Фракция выброса левого желудочка сердца, отражающая его инотропную функцию у контрольных животных, за этот период уменьшилась с  $58.2 \pm 4.6$  до  $55.5 \pm 3.2\%$ , тогда как у животных, получавших фабомотизол, она увеличилась с  $54.3 \pm 5.5$  до  $64.8 \pm 3.4\%$  ( $p = 0.001$ ). Согласно данным молекулярных исследований у животных, на фоне фабомотизола, статистически значимо ( $p < 0.05$ ) по сравнению как с ложнооперированными, так и контрольными животными с инфарктом в биоптатах миокарда левого желудочка

сердца увеличилась (более чем на 30%) экспрессия мРНК генов  $\sigma 1R$ , что позволяет высказать предположение об активизации в кардиомиоцитах сопряженных с  $\sigma 1R$  внутриклеточных сигнальных путей, ответственных за активацию репаративных процессов: восстановление гомеостаза ионов  $Ca^{2+}$ , стабилизацию функциональной активности трансмембранных потенциалзависимых ионных каналов, снижение стресса СПР, улучшение энергообразующей функции митохондрий и т.д.

Помимо этого, у животных, получавших фабомотизол, по сравнению с контрольными, в миокарде была статистически значимо ( $p < 0.05$ ) снижена экспрессия мРНК генов ангиотензиновых (AT1R) и глюкокортикоидных (GR) рецепторов.

Известно, что в постинфарктном периоде активация AT1R влечет за собой развитие гипертрофии кардиомиоцитов, стимулирует синтез внеклеточного матрикса, гиперплазия гладкомышечных клеток коронарных артерий и увеличение их жесткости [74], что во многом связано с их способностью инициировать экспрессию трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF $\beta$ 1) [75]. Активация TGF $\beta$ 1 увеличивает транслокацию белков Smad в ядро и транскрипцию генов таких белков как коллаген, фибронектин и фактор роста соединительной ткани (CTGF) и, как следствие этого, развитие гипертрофии последующего ремоделирования левого желудочка сердца.

В биоптатах миокарда контрольных животных наблюдается двукратное увеличение экспрессии глюкокортикоидных рецепторов (GR). Роль глюкокортикоидов в развитии сердечной патологии в настоящее время не ясна [76], однако показано, что в кардиомиоцитах они проявляют высокую аффинность к минералокортикоидным рецепторам – MR [77]. Это обусловлено тем, что в кардиомиоцитах экспрессируется  $11\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа типа 1 (11 $\beta$ -HSD1), которая регенерирует активный кортизол/кортикостерон из инертного кортизона/11-дегидрокортикостерона и практически отсутствует  $11\beta$ -HSD2 изоформа фермента, превращающая эндогенные глюкокортикоиды в их неактивный метаболит [78]. Это указывает на то, что в сердце эндогенные глюкокортикоиды могут быть преобладающим лигандом и для MR [78]. Авторы полагают, что в кардиомиоцитах в нормальных условиях глюкокортикоиды, связывающиеся с MR, имеют ограниченную транскрипционную активность, но при патологических состояниях транскрипционная активность глюкокортикоидов, опосредованная через MR, резко возрастает. В частности, показано, что в постинфарктном периоде активация сопряженных с MR сигнальных путей влечет за собой снижение инотропной функции миокарда, инициирует тахикардию и фиброз миокарда, а

также повышает экспрессию провоспалительных цитокинов [78].

Результаты этих экспериментов практически полностью совпадают с данными, полученными на трансляционной модели ХСН при профилактической терапии фабомотизолом (15 мг/кг, в/б, ежедневно, в течение 15-и дней) начиная с 1-го дня после воспроизведения инфаркта миокарда [79].

Немаловажно и то, что в плазме крови животных, получавших фабомотизол, уровень мозгового натрийуретического пептида (BNP) статистически значимо ниже ( $p = 0.0004$ ), чем у контрольных крыс, и практически не отличается от такового у интактных животных.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, имеющиеся в настоящее время данные позволяют говорить о том, что  $\sigma 1R$  играют одну из ключевых ролей в поддержании функциональной активности сердечной мышцы. Они оптимизируют работу трансмембранных ионных каналов, под их контролем находится гомеостаз ионов  $Ca^{2+}$  и процессы электромеханического сопряжения кардиомиоцитов, а благодаря своей шаперонной активности они контролируют процессы поступления ионов  $Ca^{2+}$  в митохондрии и тем самым обеспечивают энергетические потребности клеток сердца. В условиях патологии активированные  $\sigma 1R$  проявляют антиаритмическую/антифибрилляторную активность, реализуемую как путем блокады аномальной активности трансмембранных ионных каналов, так и путем стресс-протективного действия в отношении СПР. Со способностью  $\sigma 1R$  препятствовать/подавлять стресс СПР, во многом связано и их антиишемическое действие, а также способность предотвращать развитие патологического ремоделирования левого желудочка сердца. Напротив, блокада  $\sigma 1R$  инициирует развитие злокачественных нарушений сердечного ритма, провоцирует развитие гипертрофии и ремоделирования миокарда.

Приведенные данные подтверждают результаты опубликованного в декабре 2019 г. системного анализа, посвященного роли  $\sigma 1R$  в кардиопротекции, из которого следует, что  $\sigma 1R$  являются крайне перспективной биомишенью для создания оригинальных кардиопротективных лекарственных средств [80].

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bhuiyan M.S., Fukunaga K.* Targeting sigma-1 receptor signaling by endogenous ligands for cardioprotection // *Expert Opin. Ther. Targets.* 2011. V. 15. № 2. P. 145.
2. *Bowen W.D., Moses E.L., Tolentino P.J., Walker J.M.* Metabolites of haloperidol display preferential activity at sigma receptors compared to dopamine D-2 receptors // *Eur. J. Pharmacol.* 1990. V. 177. № 3. P. 111.
3. *Matsumoto R.R., Pouw B.* Correlation between neuroleptic binding to sigma(1) and sigma(2) receptors and acute dystonic reactions // *Eur. J. Pharmacol.* 2000. V. 40. № 2. P. 155.
4. *Klouz A., Loueslati M.H., Daghfous R., Morin D.* Are sigma receptors implicated in ischemic injury? // *Therapie.* 2001. V. 56. № 5. P. 557.
5. *Wu C.S., Tsai Y.T., Tsai H.J.* Antipsychotic drugs and the risk of ventricular arrhythmia and/or sudden cardiac death: a nation-wide case-crossover study // *J. Am. Heart. Assoc.* 2015. V. 4. № 2. P. e001568.
6. *Huikuri H.V.* Psychotropic medications and the risk of sudden cardiac death // *J. Am. Heart. Assoc.* 2015. V. 4. № 2. P. e001894.
7. *Gomez M.J., Rousseau G., Nadeau R. et al.* Functional and autoradiographic characterization of dopamine D2-like receptors in the guinea pig heart // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2002. V. 80. № 6. P. 578.
8. *Novakova M., Sedlakova B., Sirova M. et al.* Haloperidol increases expression of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptors in rat cardiac atria, but not in ventricles // *Gen. Physiol. Biophys.* 2010. V. 29. № 4. P. 381.
9. *Stracina T., Slaninova I., Polanska H. et al.* Long-term haloperidol treatment prolongs QT interval and increases expression of sigma 1 and IP3 receptors in guinea pig hearts // *Tohoku. J. Exp. Med.* 2015. V. 236. № 3. P. 199.
10. *Suessbrich H., Schönherr R., Heinemann S.H. et al.* The inhibitory effect of the antipsychotic drug haloperidol on HERG potassium channels expressed in *Xenopus* oocytes // *Br. J. Pharmacol.* 1997. V. 120. № 5. P. 968.
11. *Crottès D., Martial S., Rapetti-Mauss R. et al.* Sig1R protein regulates hERG channel expression through a post-translational mechanism in leukemic cells // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286. № 32. P. 27947.
12. *Raudenska M., Gumulec J., Babula P. et al.* Haloperidol cytotoxicity and its relation to oxidative stress // *Mini-Rev. Med. Chem.* 2013. V. 13. № 14. P. 1993.
13. *Середенин С.Б., Воронин М.В.* Нейрорецепторные механизмы действия афобазола // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2009. Т. 72. № 1. С. 3.
14. *Katz J.L., Hong W.C., Hiranita T., Su T.P.* A role for sigma receptors in stimulant self-administration and addiction // *Behav. Pharmacol.* 2016. V. 27. № 2–3 (Spec Issue). P. 100.
15. *Shinoda Y., Tagashira H., Bhuiyan M.S. et al.* Haloperidol aggravates transverse aortic constriction-induced heart failure via mitochondrial dysfunction // *J. Pharmacol. Sci.* 2016. V. 131. № 3. P. 172.
16. *Shimizu I., Minamino T.* Physiological and pathological cardiac hypertrophy // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2016. V. 97. P. 245.
17. *Zhao G.L., Yu L.M., Gao W.L. et al.* Berberine protects rat heart from ischemia/reperfusion injury via activating JAK2/STAT3 signaling and attenuating endoplasmic reticulum stress // *Acta. Sin.* 2016. V. 37. № 3. P. 354.
18. *Liu M.Q., Chen Z., Chen L.X.* Endoplasmic reticulum stress: a novel mechanism and therapeutic target for cardiovascular diseases // *Acta Pharmacol. Sin.* 2016. V. 37. № 4. P. 425.
19. *Li X., Han F., Shi Y.* IRE1alpha-XBP1 pathway is activated upon induction of single prolonged stress in rat neurons of the medial prefrontal cortex // *J. Mol. Neurosci.* 2015. V. 57. № 1. P. 63.
20. *Bao Q., Zhao M., Li Chen L. et al.* MicroRNA-297 promotes cardiomyocyte hypertrophy via targeting sigma-1 receptor // *Life Sci.* 2017. V. 175. P. 1.
21. *Tagashira H., Bhuiyan M.S., Shioda N., Fukunaga K.* Fluvoxamine rescues mitochondrial Ca<sup>2+</sup> transport and ATP production through  $\sigma_1$ -receptor in hypertrophic cardiomyocytes // *Life Sci.* 2014. V. 95. № 2. P. 89.
22. *Bhuiyan M.S., Tagashira H., Fukunaga K.* Crucial interactions between selective serotonin uptake inhibitors and sigma-1 receptor in heart failure // *J. Pharmacol. Sci.* 2013. V. 121. № 3. P. 177.
23. *Tagashira H., Matsumoto T., Taguchi K. et al.* Vascular endothelial  $\sigma_1$ -receptor stimulation with SA4503 rescues aortic relaxation via Akt/eNos signaling in ovariectomized rats with aortic banding // *Circ. J.* 2013. V. 77. № 11. P. 2831.
24. *Tagashira H., Bhuiyan M.S., Shioda N. et al.* Sigma-1 receptor stimulation with fluvoxamine ameliorates aortic constriction-induced myocardial hypertrophy and dysfunction in mice // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2010. V. 299. № 5. P. H1535.
25. *Ye T., Liu X., Qu C. et al.* Chronic inhibition of the sigma-1 receptor exacerbates atrial fibrillation susceptibility in rats by promoting atrial remodeling // *Life Sci.* 2019. V. 235. P. 116837.
26. *Koduri H., Ng J., Cokic I. et al.* Contribution of fibrosis and the autonomic nervous system to atrial fibrillation electrograms in heart failure // *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2012. V. 5. № 4. P. 640.
27. *Gemel J., Levy A.E., Simon A.R. et al.* Connexin40 abnormalities and atrial fibrillation in the human heart // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2014. V. 76. P. 159.
28. *Abdullah C.S., Alam S., Aishwarya R.* Cardiac dysfunction in the sigma 1 receptor knockout mouse associated with impaired mitochondrial dynamics and bioenergetics // *J. Am. Heart. Assoc.* 2018. V. 7. № 20. P. 1.
29. *Narita N., Hashimoto K., Tomitaka S., Minabe Y.* Interactions of selective serotonin reuptake inhibitors with subtypes of sigma receptors in rat brain // *Eur. J. Pharmacol.* 1996. V. 307. № 1. P. 117.
30. *Tagashira H., Bhuiyan M.S., Shioda N., Fukunaga K.* Distinct cardioprotective effects of 17 $\beta$ -estradiol and dehydroepiandrosterone on pressure-overload-induced hypertrophy in ovariectomized female rats // *Menopause.* 2011. V. 18. № 12. P. 1317.
31. *Bhuiyan M.S., Tagashira H., Fukunaga K.* Dehydroepiandrosterone-mediated stimulation of sigma-1 receptor activates Akt-eNOS signaling in the thoracic aorta of

- ovariectomized rats with abdominal aortic banding // *Cardiovasc. Ther.* 2011. V. 29. № 4. P. 219.
32. *Bhuiyan M.S., Tagashira H., Shioda N. et al.* Targeting sigma-1 receptor with fluvoxamine ameliorates pressure-overload-induced hypertrophy and dysfunctions // *Expert. Opin. Ther. Targets.* 2010. V. 14. № 10. P. 1009.
  33. *Bhuiyan M.S., Shioda N., Fukunaga K.* Ovariectomy augments overload-induced associated with changes in Akt and nitric oxide synthase signaling pathways in female rats // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007. V. 293. № 6. P. 1606.
  34. *He F., Xu B.L., Chen C. et al.* A suppresses ischemia/reperfusion-induced myocardial apoptosis in mice via activating PI3K/Akt/eNOS signaling pathway // *Acta Pharmacol. Sin.* 2016. V. 37. № 6. P. 763.
  35. *Sun Y., Jiang C., Jiang J., Qiu L.* Dexmedetomidine protects mice against myocardium ischaemic/reperfusion injury by activating an AMPK/PI3K/Akt/eNOS pathway // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2017. V. 44. № 9. P. 946.
  36. *Bhuiyan M.S., Fukunaga K.* Stimulation sigma-1 receptor signaling dehydroepiandrosterone ameliorates hypertrophy and dysfunctions in ovariectomized rats // *Expert. Opin. Ther. Targets.* 2009. V. 13. № 11. P. 1253.
  37. *Tagashira H., Bhuiyan M.S., Fukunaga K.* Diverse regulation of IP3 and ryanodine receptors by pentazocine through  $\sigma$ 1-receptor in cardiomyocytes // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2013. V. 305. № 8. P. H1201.
  38. *Nakayama H., Bodi I., Maillet M. et al.* The IP3 receptor regulates cardiac hypertrophy in response to select stimuli // *Circ. Res.* 2010. V. 107. № 5. P. 659.
  39. *Zou Y., Liang Y., Gong H. et al.* Ryanodine receptor type 2 is required for the development of pressure overload-induced cardiac hypertrophy // *Hypertension.* 2011. V. 58. № 6. P. 1099.
  40. *Hashimoto K.* Sigma-1 receptor chaperone and brain-derived neurotrophic factor: emerging links between cardiovascular disease and depression // *Prog. Neurobiol.* 2013. V. 100. P. 15.
  41. *Qiu B., Hu S., Liu L. et al.* CART attenuates stress response induced by cerebral ischemia and reperfusion through upregulating synthesis and secretion // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2013. V. 436. № 4. P. 655.
  42. *Mizoguchi Y., Monji A.* Microglial Intracellular  $Ca^{2+}$  Signaling in Synaptic Development and its Alterations in Neurodevelopmental Disorders // *Front. Cell. Neurosci.* 2017. V. 11. Article 69. P. 1.
  43. *Mattson M.P.* Glutamate and neurotrophic factors in neuronal plasticity and disease // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2008. V. 1144. P. 97.
  44. *Yagasaki Y., Numakawa T., Kumamaru E. et al.* Chronic antidepressants potentiate via sigma-1 receptors the brain-derived neurotrophic factor-induced signaling for glutamate release // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. № 18. P. 12941.
  45. *Penas C., Pascual-Font A., Mancuso R. et al.* Sigma receptor agonist 2-(4-morpholinethyl)1 phenylcyclohexanecarboxylate (Pre084) increases GDNF and BiP expression and promotes neuroprotection after root avulsion injury // *J. Neurotrauma.* 2011. V. 28. № 5. P. 831.
  46. *Okada S., Yokoyama M., Toko H. et al.* Brain neurotrophic factor protects against cardiac dysfunction after myocardial infarction via central nervous system-mediated pathway // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2012. V. 32. № 8. P. 1902.
  47. *Hang P., Zhao J., Cai B. et al.* Brain neurotrophic factor regulates TRPC3/6 channels and protects against myocardial infarction in rodents // *Int. J. Biol. Sci.* 2015. V. 11. № 5. P. 536.
  48. *Manni L., Nikolova V., Vyagova D. et al.* Reduced plasma levels of NGF and BDNF in patients with acute coronary syndromes // *Int. J. Cardiol.* 2005. V. 102. № 1. P. 169.
  49. *Kikuchi-Utsumi K., Nakaki T.* Chronic treatment with a selective ligand for the sigma-1 receptor chaperone, SA4503, up-regulates BDNF protein levels in the rat hippocampus // *Neurosci. Lett.* 2008. V. 440. № 1. P. 19.
  50. *Fujimoto M., Hayashi T., Urfer R. et al.* Sigma-1 receptor chaperones regulate the secretion of brain-derived neurotrophic factor // *Synapse.* 2012. V. 66. № 7. P. 630.
  51. *Крыжановский С.А., Столярук В.Н., Вититнова М.Б. и др.* Плейотропные (кардиотропные) эффекты анксиолитика афобазола (обзор экспериментальных исследований) // *Терапевт.* 2012. № 1. С. 32.
  52. *Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Цорин И.Б., Крыжановский С.А.* Изучение противofибрилляторной активности афобазола у животных с интактным и денервированным миокардом // *Вестн. РАМН.* № 4. С. 45.
  53. *Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Цорин И.Б., Крыжановский С.А.* Оценка эффективности афобазола на модели ваготонической фибрилляции предсердий // *Вестн. РАМН.* 2010. № 4. С. 49.
  54. *Татарский Б.А., Бисерова И.Н.* Использование афобазола при лечении пароксизмальной формы фибрилляции предсердий // *РМЖ.* 2007. Т. 15. № 9. С. 760.
  55. *Liu X., Qu C., Yang H. et al.* Chronic stimulation of the sigma-1 receptor ameliorates autonomic nerve dysfunction and atrial fibrillation susceptibility in a rat model of depression // *J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2018. V. 315. № 6. P. H1521.
  56. *Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А.* Изучение эффектов афобазола на модели реперфузионных аритмий // *Вестн. РАМН.* 2010. № 4. С. 41.
  57. *Крыжановский С.А., Столярук В.Н., Вититнова М.Б. и др.* К механизму противofибрилляторного действия афобазола // *Бюл. эксп. биол. и мед.* 2010. Т. 149. № 3. С. 290.
  58. *Крыжановский С.А., Колик Л.Г., Столярук В.Н. и др.* Трансляционная модель алкогольной кардиомиопатии // *Молекулярная медицина.* 2015. № 3. С. 40.
  59. *Чазов Е.И.* Внезапная смерть // *Medicus Amicus.* 2013. [URL: <http://medicusamicus.com/index.php?action=2x1229x1>].
  60. *Iacovoni A., De Maria R., Gavazzi A.* Alcoholic cardiomyopathy // *J. Cardiovasc. Med.* 2010. V. 11. № 12. P. 884.
  61. *Смирнова С.Л., Роцевская И.М., Роцевский М.П. и др.* Деполаризация предсердий крыс с алкогольной кардиомиопатией // *ДАН.* 2018. Т. 479. № 1. С. 96.

62. Кожевникова Л.М., Цорин И.Б., Столярук В.Н. и др. Белки Ерас и кальмодулин как возможный триггер аритмогенеза при алкогольной кардиомиопатии // Бюл. эксп. биол. и мед. 2018. Т. 165. № 5. С. 553.
63. Harzheim D., Movassagh M., Foo R.S. et al. Increased InsP3Rs in the junctional sarcoplasmic reticulum augment Ca<sup>2+</sup> transients and arrhythmias associated with cardiac hypertrophy // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. № 27. P. 11406.
64. Hothi S.S., Gurung I.S., Heathcote J.C. et al. Ерас activation, altered calcium homeostasis and ventricular arrhythmogenesis in the murine heart // Pflugers Arch. 2008. V. 457. № 2. P. 253.
65. Середенин С.Б., Цорин И.Б., Вититнова М.Б. и др. К механизму противоишемического действия препарата “Афобазол” // Бюл. эксп. биол. и мед. 2013. Т. 155. № 6. С. 723.
66. Крыжановский С.А., Сорокина А.В., Столярук В.Н. и др. Изучение антиишемического действия “Афобазола” в условиях экспериментального инфаркта миокарда // Бюл. эксп. биол. и мед. 2010. Т. 150. № 9. С. 284.
67. Цорин И.Б., Палка И.П., Чичканов Г.Г. Особенности действия селективного анксиолитика афобазола на сердечно-сосудистую систему // Эксперим. и клин. фармакол. 2009. Т. 72. № 1. С. 41.
68. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Вититнова М.Б. и др. Кардиопротективные эффекты афобазола у животных с хронической ишемией миокарда // Молекулярная медицина. 2013. № 5. С. 37.
69. Крыжановский С.А., Антипова Т.А., Цорин И.Б. и др. Влияние афобазола на уровень индуцибельной NO-синтазы в ишемизированном миокарде // Молекулярная медицина. 2016. Т. 14. № 3. С. 26.
70. Kurata K., Takebayashi M., Morinobu S., Yamawaki S. Beta-estradiol, dehydroepiandrosterone, and dehydroepiandrosterone sulfate protect against N-methyl-D-aspartate-induced neurotoxicity in rat hippocampal neurons by different mechanisms // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2004. V. 311. № 1. P. 237.
71. Vagnerova K., Hurn P.D., Bhardway A., Kirsch J.R. Sigma 1 receptor agonists act as neuroprotective drugs through inhibition of inducible nitric oxide synthase // Anesth. Analg. 2006. V. 103. № 2. P. 430.
72. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Ионова Е.О. и др. Трансляционная модель хронической сердечной недостаточности у крыс // Пат. физиол. эксп. терапия. 2018. Т. 62. № 2. С. 129.
73. Крыжановский С.А., Кожевникова Л.М., Цорин И.Б. и др. К механизму кардиопротективного действия агониста  $\sigma$ 1-рецепторов анксиолитика фобомоти-зола гидрохлорида (афобазола) // Бюл. эксп. биол. и мед. 2018. Т. 165. № 5. С. 605.
74. Grothusen A., Divchev D., Luchtefeld M., Schieffer B. Angiotensin II type 1 receptor blockade: high hopes sent back to reality? // Minerva Cardioangiol. 2009. V. 57. № 6. P. 773.
75. Ding Y., Chen J., Cui G. et al. Pathophysiological role of osteopontin and angiotensin II in atherosclerosis // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2016. V. 471. № 1. P. 5.
76. Ren R., Oakley R.H., Cruz-Topete D., Cidlowski J.A. Dual role for glucocorticoids in cardiomyocyte hypertrophy and apoptosis // Endocrinology. 2012. V. 153. № 11. P. 5346.
77. Oakley R.H., Cidlowski J.A. Glucocorticoid signaling in the heart: A cardiomyocyte perspective // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2015. V. 153. P. 27.
78. Gray G.A., White C.I., Castellon R.F. et al. Getting to the heart of intracellular glucocorticoid regeneration: 11 $\beta$ -HSD1 in the myocardium // J. Mol. Endocrinol. 2017. V. 58. № 1. P. R1.
79. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Столярук В.Н. и др. Отдаленные результаты экспериментальной терапии афобазолом у крыс, перенесших острый инфаркт миокарда // Бюл. эксп. биол. и мед. 2017. Т. 163. № 2. С. 140.
80. Lewis R., Li J., McCormick P.J. et al. Is the sigma-1 receptor a potential pharmacological target for cardiac pathologies? A systematic review // Int. J. Cardiol. Heart. Vasc. 2019. V. 26. P. 100449.

## The Role of Sigma-1 Receptors in the Heart Activities Regulation.

### Part 2. The Role of Sigma-1 Receptors in Cardioprotection

S. A. Kryzhanovskii<sup>a,\*</sup>, I. A. Miroshkina<sup>a</sup>, E. O. Ionova<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia

\*E-mail: sak-538@yandex.ru

The second part of the literature review proves the presence of the pronounced cardioprotective activity in sigma-1 receptors associated with both membranotropic and chaperone activity. It is revealed that activated sigma-1 receptors have a pronounced antiarrhythmic/antifibrillatory effect, exhibit anti-ischemic activity and, in the conditions of pathology, prevent the development of hypertrophy and remodeling of the left heart ventricle. On the contrary, sigma-1 receptor blockade initiates the development of malignant cardiac arrhythmias, provokes the development of hypertrophy and myocardial remodeling.

**Keywords:** sigma-1 receptors, chaperones, agonists, antagonists, cardioprotection, sarcoplasmic reticulum, IP3-receptors type 3, ryanodine receptors type 2, Ca<sup>2+</sup> ions.

## ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ ДЛЯ АВТОРОВ

### *Уважаемые авторы!*

Обращаем Ваше внимание на правила оформления рукописей для журнала “Физиология человека”.

### **ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ**

Для подачи рукописи в редакцию должны быть **подписи всех авторов** (как согласие на участие в подготовке результатов исследований к публикации), а также **официальное направление учреждения** (где работают авторы).

Одним из обязательных условий публикации в журнале “Физиология человека” является соблюдение **авторской этики**.

“Физиология человека”/“Human Physiology” является членом Committee on Publication Ethics (COPE) и в обязательном порядке проверяет все входящие рукописи на предмет некорректного заимствования в системе **Антиплагиат**. Для экспериментальных и клинических статей допустимый уровень заимствования не должен превышать 25%, для обзорных – не более 30%.

• **ОБЪЕМ РУКОПИСИ:** обобщающих теоретико-экспериментальных и обзорных работ, а также экспериментальных – не более одного авторского листа (т.е. 40 000 знаков), включая список цитированной литературы, таблицы и подписи к рисункам; методических и кратких сообщений – до 9 000 знаков. Рукописи большего размера, присланные без согласования с редакцией, не рассматриваются.

• **ОФОРМЛЕНИЕ РУКОПИСИ:** перед статьей ставится индекс **УДК**, после помещаются заглавие, инициалы и фамилии авторов, название учреждений, **E-mail** автора для связи с редакцией и издательством, а также читателей с авторским коллективом. Обязательна краткая **аннотация и ключевые слова** на русском языке, а также **перевод аннотации на английский язык**, включая название статьи, фамилии авторов, учреждение, где выполнена работа и ключевые слова.

Изложение материала в статье экспериментального характера строится в определенном порядке: краткое **ВВЕДЕНИЕ, МЕТОДИКА, РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ, ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ (возможно объединение с результатами в одном разделе), ЗАКЛЮЧЕНИЕ/ ВЫВОДЫ, СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ, английская аннотация, таблицы, подписи к рисункам**. Рукопись предоставляется в формате DOC, размер шрифта 12–14, через 1.5 интервала.

• **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ** составляется в **порядке цитирования** (в статье литература дается нумерацией в квадратных скобках, например [1]). Для журнальных статей указываются: фамилии и инициалы авторов *курсивом* (фамилии иностранных авторов даются в оригинальной транскрипции, как в списке литературы, так и в тексте), если авторов – 4, то указываются все, а если 5 и более – то указываются фамилии первых трех авторов, а затем “и др.” или “et al.”, название статьи, название журнала, год, том (Т.), выпуск (Вып.), номер (№), начальная страница (С.).

### **Важные требования к библиографии статей на русском языке:**

1. Если цитируется статья из журнала, переводящегося на английский язык и/или, может быть найдена в международных текстовых базах данных (Pubmed/WoS/Scopus) ссылку необходимо указывать в списке литературы в двух вариантах используя переводное название статьи и журнала ИЛИ транслитерацию в том виде, как представлено в текстовых базах данных.

### **Образец:**

1. *Капилевич Л.В., Ложкина М.Б., Кривошеков С.Г.* Электрофизиологические характеристики нервно-мышечной системы у спортсменов в тренировочном процессе силовой направленности // Физиология человека. 2016. Т. 42. № 4. С. 51.

*Kapilevich L.V., Lojkina M.B., Krivoshekov S.G.* Electrophysiological neuromuscular systemic characteristics of athletes in power training // Human Physiology. 2016. V. 42. № 4. P. 392.

### **или:**

1. *Гурфинкель В.С., Дебрева Е.Е., Левик Ю.С.* Роль внутренней модели в восприятии положения и планировании движения // Физиология человека. 1986. Т. 12. № 5. С. 769.

*Gurfinkel V.S., Debreva E.E., Levik Y.S.* [Role of internal model in the position perception and planning of arm movement] // Fiziologiya Cheloveka. 1986. V. 12. № 5. P. 769.

2. Если цитируется статья из журнала, который НЕ полностью переводится на английский язык и журнал НЕ включен в международные текстовые базы данных, но по требованиям журнала заглавие и абстракт статьи переводятся авторами на английский язык, ссылку необходимо указывать в списке литературы в двух вариантах, используя

транслитерацию и заглавие статьи на английском языке. При этом следует второй вариант выделить.

#### Образец:

1. *Гурфинкель В.С., Дебрева Е.Е., Левик Ю.С.* Роль внутренней модели в восприятии положения и планировании движения // Физиология человека. 1986. Т. 12. № 5. С. 769.

*Gurfinkel V.S., Debreva E.E., Levik Y.S.* [Role of internal model in the position perception and planning of arm movement] // Fiziologiya Cheloveka. 1986. V. 12. № 5. P. 769.

3. Для монографий и сборников указываются фамилии и инициалы авторов, название книги, место издания, издательство, год, страница. Ссылка указывается на двух языках, при этом следует второй вариант выделить.

#### Образец:

1. *Шерлок Ш., Дули Дж.* Заболевания печени и желчных путей / Пер. с англ. М., 1999. 864 с. *Sherlock Sh., Dooley G.* Diseases of the liver and biliary system. Moscow, 1999. 864 p.

4. Если цитируется статья, малопредставленная в текстовых базах данных, необходимо к ссылке добавлять DOI или ссылку на интернет ресурс (PMID).

5. Не менее 50% цитируемой в статье литературы должно быть новой, т.е. опубликованной за 5 последних лет (за исключением особых случаев, согласованных с редакцией).

6. Настоятельно просим ссылаться на работы, опубликованные в журнале “Физиология человека”, но цитирование не должно превышать 15%.

7. Самоцитирование (ссылки на работы авторов и соавторов статьи) не должно превышать 15%.

8. В библиографических ссылках на диссертации и авторефераты необходимо указывать их тип (канд., докт.), город и год.

9. Ссылки на Интернет-ресурсы (URL), патенты на изобретения и научные отчеты **не выносятся** в список литературы, а даются в тексте в круглых скобках с указанием ссылки, авторов, № и даты.

• **ОБЯЗАТЕЛЬНЫЕ рубрики** должны быть представлены после заключения по данному шаблону:

**Этические нормы.** Все исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской эти-

ки и одобрены локальным этическим комитетом “\_\_\_\_\_” (ОБЯЗАТЕЛЬНО УКАЗАТЬ учреждение и город!!!).

**Информированное согласие.** Каждый участник исследования представил добровольное письменное информированное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования.

**Финансирование работы.** В этом разделе упомянуть гранты, которыми поддержано исследование.

**Благодарности.** Общая информация о любой помощи в проведении и подготовке статьи.

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

**Вклад авторов в публикацию.** В этом разделе необходимо указать роль каждого автора в подготовке публикации.

• **Иллюстрации** принимаются высокого разрешения не менее 300 dpi (не более пяти), в отдельных файлах только в формате TIFF или JPEG. Иллюстрации должны иметь размеры, соответствующие их информативности: 8–8.5 см (на одну колонку), либо 17–17.5 см (на две колонки). В тексте указываются только ссылки на рисунки, н/р: (рис. 1). На рисунках должно быть минимальное количество обозначений, все пояснения выносятся в подписи, где **не допускается** воспроизведение небуквенных и нецифровых знаков (квадраты, кружки и т. д.), используемых на рисунке.

Подробное описание: <https://www.pleiades.online/ru/authors/guidlines/prepare-electronic-version/images/>

• **Оформление подписей к рисункам:** порядковый номер рисунка, его название и объяснение значений всех кривых, цифр, букв и прочих условных обозначений.

• **Контакты.** На последней странице должны быть указаны телефоны с кодами городов и адреса авторов, а также действующий адрес электронной почты для оперативной связи.

**Несоблюдение этих требований может стать причиной отклонения или задержки выхода статьи!**

Дополнительную информацию смотрите на сайтах:

<https://www.pleiades.online/ru/authors/guidlines/>

<http://sciencejournals.ru/journal/chelfiz/>