



РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ им. А. И. ГЕРЦЕНА
HERZEN STATE PEDAGOGICAL UNIVERSITY of RUSSIA

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ им. И. П. ПАВЛОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
PAVLOV INSTITUTE of PHYSIOLOGY, RUSSIAN ACADEMY of SCIENCES

ISSN 2687-1270

**ИНТЕГРАТИВНАЯ
ФИЗИОЛОГИЯ**

INTEGRATIVE PHYSIOLOGY

T. 4 № 3 2023

VOL. 4 No. 3 2023



1797

Российский государственный педагогический университет
им. А. И. Герцена

Институт физиологии им. И. П. Павлова Российской академии наук

Herzen State Pedagogical University of Russia

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences

ISSN 2687-1270 (online)

intphysiology.ru

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3>

2023. Том 4, № 3

2023. Vol. 4, no. 3

Интегративная физиология

Integrative Physiology

Свидетельство о регистрации СМИ ЭЛ № ФС 77 – 75141,

выдано Роскомнадзором 07.03.2019

Рецензируемое научное издание

Журнал открытого доступа

Учрежден в 2019 году

Выходит 4 раза в год

16+

Mass Media Registration Certificate EL No. FS 77 – 75141,

issued by Roskomnadzor on 7 March 2019

Peer-reviewed journal

Open Access

Published since 2019

4 issues per year

16+

Редакция

Главный редактор

А. П. Филаретова (Санкт-Петербург, Россия)

Заместитель главного редактора

Е. А. Никитина (Санкт-Петербург, Россия)

Ответственный редактор

О. А. Любашина (Санкт-Петербург, Россия)

Editorial Team

Editor-in-chief

Lyudmila P. Filaretova (St Petersburg, Russia)

Deputy Editor-in-chief

Ekaterina A. Nikitina (St Petersburg, Russia)

Executive Editor

Olga A. Lyubashina (St Petersburg, Russia)

Редакционная коллегия

В. Г. Александров (Санкт-Петербург, Россия)

Н. М. Бажан (Новосибирск, Россия)

Б. Боназ (Гренобль, Франция)

Л. Б. Буравкова (Москва, Россия)

Т. Д. Власов (Санкт-Петербург, Россия)

Дж. Вуд (Колумбус, США)

Н. В. Гуляева (Москва, Россия)

Д. Джебцова (Братислава, Словакия)

Н. Н. Дыгало (Новосибирск, Россия)

Н. А. Дюжикова (Санкт-Петербург, Россия)

Д. Зелена (Печ, Венгрия)

В. А. Кашкин (Санкт-Петербург, Россия)

Б. Мачадо (Сан-Паулу, Бразилия)

Е. Н. Михайлов (Санкт-Петербург, Россия)

М. П. Мошкин (Новосибирск, Россия)

П. Е. Мусиенко (Санкт-Петербург, Россия)

М. Покорский (Варшава, Польша)

Е. А. Рыбникова (Санкт-Петербург, Россия)

Ш. Сабо (Ирвайн, США)

С. В. Саранцева (Санкт-Петербург, Россия)

К. Такеучи (Киото, Япония)

И. Таше (Лос-Анджелес, США)

П. Фердинанди (Сегед, Венгрия)

Ж. Хельешь (Печ, Венгрия)

Ю. Е. Шелепин (Санкт-Петербург, Россия)

Editorial Board

Vyacheslav G. Aleksandrov (St Petersburg, Russia)

Nadezhda M. Bazhan (Novosibirsk, Russia)

Bruno Bonaz (Grenoble, France)

Lyudmila B. Buravkova (Moscow, Russia)

Timur D. Vlasov (St Petersburg, Russia)

Jackie Wood (Columbus, USA)

Natalia V. Gulyaeva (Moscow, Russia)

Daniela Jezova (Bratislava, Slovakia)

Nikolai N. Dygalo (Novosibirsk, Russia)

Natalya A. Duzhikova (St Petersburg, Russia)

Dora Zelena (Pécs, Hungary)

Vladimir A. Kashkin (St Petersburg, Russia)

Benedito Machado (São Paulo, Brazil)

Evgeny N. Mikhaylov (St Petersburg, Russia)

Mikhail P. Moshkin (Novosibirsk, Russia)

Pavel E. Musienko (St Petersburg, Russia)

Mieczysław Pokorski (Warsaw, Poland)

Elena A. Rybnikova (St Petersburg, Russia)

Sandor Szabo (Irvine, USA)

Svetlana V. Sarantseva (St Petersburg, Russia)

Koji Takeuchi (Kyoto, Japan)

Yvette Taché (Los Angeles, USA)

Peter Ferdinandy (Szeged, Hungary)

Zsuzsanna Helyes (Pécs, Hungary)

Yuri E. Shelepin (St Petersburg, Russia)

Издательство РГПУ им. А. И. Герцена

191186, г. Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, д. 48

E-mail: izdat@herzen.spb.ru

Телефон: +7 (812) 312-17-41

Publishing house of Herzen State Pedagogical

University of Russia

48 Moika Emb., Saint Petersburg 191186, Russia

E-mail: izdat@herzen.spb.ru

Phone: +7 (812) 312-17-41

Объем 17,6 Мб

Подписано к использованию 31.10.2023

Published at 31.10.2023

При использовании любых фрагментов ссылка на журнал «Интегративная физиология» и на авторов материала обязательна.

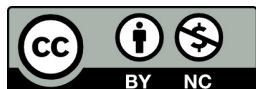
The contents of this journal may not be used in any way without a reference to the journal “Integrative Physiology” and the author(s) of the material in question.

Редактор М. А. Куракина

Редактор английского текста И. А. Наговицына

Оформление обложки О. В. Рудневой

Верстка Д. В. Романовой



Санкт-Петербург, 2023

© Российский государственный

педагогический университет им. А. И. Герцена, 2023

СОДЕРЖАНИЕ

Приветствие главного редактора	261
Обзоры	263
<i>Шадрина Н. Х., Шуваева В. Н.</i> Виктор Александрович Левтов — ученый, учитель, наставник ..	263
<i>Никитина Е. А.</i> Переливание крови: становление в России	274
<i>Солнушкин С. Д., Столярова Э. И., Чихман В. Н.</i> Программный интерактивный комплекс «Помощник логопеда-дефектолога» для использования при обучении детей со слухоречевыми нарушениями	298
Экспериментальные статьи	312
<i>Сушкевич Б. М., Михалкин А. А., Любашина О. А.</i> Дифференцированные реакции нейронов большого и дорсального ядер шва крысы на висцеральные и соматические болевые сигналы	312
<i>Сайфитдинова А. Ф., Павлова О. А., Зелинский А. А., Рябинина М. В., Глотов О. С., Богомаз Д. И., Рубель А. А.</i> Полногеномная амплификация малых количеств ДНК для определения молекулярного кариотипа клеток.	324
<i>Носикова И. Н., Рябова А. М., Китов В. В., Томиловская Е. С.</i> Эффективность космических средств профилактики для предотвращения развития гиперрефлексии.	335
<i>Полякова Н. В., Александров А. Ю., Князева В. М., Виноградова Е. П., Дмитриева Е. С., Станкевич Л. Н., Александров А. А.</i> Действие агониста TAAR1 RO 5263397 на дискинезию, вызываемую инъекцией α -NETA.	346
<i>Долганов Д. В., Трофимов А. О., Долганова Т. И.</i> Локомоторный профиль сократительного ресурса мышц у больных ДЦП и здоровых сверстников	356
<i>Зачепило Т. Г., Прибышина А. К.</i> Распределение супероксиддисмутазы-1 в мозге медоносной пчелы при действии электромагнитного излучения 2,4 ГГц	367
Краткие сообщения.	373
<i>Филиппов Ю. А., Степанов А. В., Карнишкина О. Ю., Панов А. А., Чистякова О. В., Добрецов М. Г.</i> Сравнение жидкой и сухой сахарозной диеты в развитии модели метаболического синдрома у крыс	373

CONTENTS

Letter from the Editor-in-Chief	261
Reviews.....	263
<i>Shadrina N. Kh., Shuvaeva V. N.</i> Viktor Levto: Scientist, teacher, mentor	263
<i>Nikitina E. A.</i> Blood transfusion: The genesis in Russia	274
<i>Solnushkin S. D., Stolyarova E. I., Chikhman V. N.</i> “Speech Pathologist’s Assistant”: Interactive software in teaching children with hearing and speech disorders.....	298
Experimental articles	312
<i>Sushkevich B. M., Mikhalkin A. A., Lyubashina O. A.</i> Differential reactions of neurons in the rat raphe magnus and dorsal raphe nuclei to visceral and somatic pain signals	312
<i>Saifitdinova A. F., Pavlova O. A., Zelinsky A. A., Ryabinina M. V., Glotov O. S., Bogomaz D. I., Rubel A. A.</i> Whole genome amplification of small amounts of DNA to determine the molecular karyotype of cells.....	324
<i>Nosikova I. N., Riabova A. M., Kitov V. V., Tomilovskaya E. S.</i> Effectiveness of space countermeasures to prevent hyperreflexia.....	335
<i>Polyakova N. V., Aleksandrov A. Yu., Knyazeva V. M., Vinogradova E. P., Dmitrieva E. S., Stankevich L. N., Aleksandrov A. A.</i> TAAR1 agonist reduces α -NETA induced dyskinesia	346
<i>Dolganov D. V., Trofimov A. O., Dolganova T. I.</i> Locomotor profile of muscle contractile potential in patients with cerebral palsy and healthy peers	356
<i>Zachepilo T. G., Pribyshina A. K.</i> Distribution of superoxide dismutase 1 in the honeybee brain under the action of electromagnetic radiation of 2.4 GHz	367
Brief notes	373
<i>Filippov Yu. A., Stepanov A. V., Karnishkina O. Yu., Panov A. A., Chistyakova O. V., Dobretsov M. G.</i> Comparison of liquid and dry sucrose diets in the development of a model of metabolic syndrome in rats	373

Приветствие главного редактора

Глубокоуважаемые коллеги!

Перед вами третий за 2023 год номер журнала «Интегративная физиология». Журнал выступает за укрепление позиций физиологии, одной из важнейших фундаментальных наук, без прогресса которой невозможно устойчивое развитие медицины.

О прогрессивном развитии российской физиологии свидетельствуют научные достижения, представленные на XXIV съезде Физиологического общества им. И. П. Павлова, прошедшем 11–15 сентября 2023 года в Санкт-Петербурге. Физиологическое общество имени И. П. Павлова, основанное 105 лет назад, является одним из старейших и престижных научных обществ России. Прошедший съезд, несомненно, стал главным событием для физиологов нашей страны за последние годы.

Редколлегия журнала «Интегративная физиология» сердечно поздравляет всех организаторов XXIV съезда Физиологического общества им. И. П. Павлова с его успешным проведением: Координационный комитет под председательством Президента общества академика РАН М. А. Островского, Программный комитет по председательством академика РАН П. М. Балабана. Наша особая благодарность Организационному комитету, его председателю член-корреспонденту РАН М. А. Фирсову и его ближайшей команде, сотрудникам Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН.

На закрытии Съезда был избран новый Президент Физиологического общества им. И. П. Павлова. Им стал академик РАН П. М. Балабан.

С материалами прошедшего съезда и сборником тезисов можно ознакомиться, пройдя по ссылке <https://rusphysiol2023.iephb.ru/predydushhie-sezdy/>

В сборнике представлены ключевые темы и направления исследований, которые обсуждались на съезде, в том числе и материалы 10 пленарных лекций. Сборник содержит тезисы докладов 47 симпозиумов, тематически охватывающих широкий спектр исследований, проводимых в России и за рубежом. Наш журнал планирует публикацию избранных развернутых материалов съезда, в том числе и публикацию аналитических обзоров прошедших на съезде симпозиумов.

На укрепление позиций физиологии, интегративной физиологии нацелено и проведение в Институте физиологии им. И. П. Павлова РАН ежегодной Всероссийской конференции с международным участием «Интегративная физиология». В 2023 году конференция будет проводиться 6–8 декабря. Журнал «Интегративная физиология» по сложившейся традиции приглашает участников конференции к публикации материалов докладов.

Приветствуя читателей третьего номера журнала, выражаю надежду на получение рукописей, содержащих новые знания о физиологических процессах целостного организма.

С благодарностью ко всем, кто сделал реальностью выпуск третьего номера журнала «Интегративная физиология» за 2023 год.

*С уважением,
главный редактор
А. П. Филаретова*

Letter from the Editor-in-Chief

Dear Colleagues,

You are holding the third issue of the journal *Integrative Physiology* in 2023. The Editorial Board of the journal stands for strengthening the position of physiology as one of the most important fundamental sciences since its progress encourages sustainable development of medicine.

The progressive development of Russian physiology is evidenced by the scientific advances presented at the 24th Congress of the Russian Pavlov Physiological Society that took place 11–15 September 2023, Saint Petersburg, Russia. The Society, founded 105 years ago, is one of the oldest and most prestigious scientific societies in Russia. It is no doubt that the past congress became the highlight of recent years for physiologists from across Russia.

The Editorial Board of the journal *Integrative Physiology* extend its heartfelt congratulation to all the organizers of the 24th Congress of the Russian Pavlov Physiological Society on the successful completion of the Congress: The Coordinating Committee chaired by M. A. Ostrovsky, President of the Russian Pavlov Physiological Society and Academician of the Russian Academy of Sciences (RAS) and the Program Committee chaired by RAS Academician P. M. Balaban. We express our special thanks to the Organizing Committee and its Chairman, RAS corresponding member M. L. Firsov, as well as his team at Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS.

The closing ceremony of the Congress saw the election of a new President of the Russian Pavlov Physiological Society — RAS Academician P. M. Balaban.

Congress materials and a book of abstracts are available at <https://rusphysiol2023.iephb.ru/predy-dushhie-sezdy/>.

The book of abstracts reflects the key topics and avenues of research that became the focus of the Congress. It includes ten papers from the plenary session and abstracts of papers from 47 symposia that embrace diverse research conducted in Russia and abroad. We are going to publish selected materials from the Congress, including analytical reviews of its symposia.

The annual Russian conference with international participation *Integrative Physiology* at Pavlov Institute of Physiology RAS aims to strengthen the positions of physiology and, in particular, integrative physiology. In 2023, the conference will be held 6–8 December. As is the tradition, *Integrative Physiology* welcomes contributions from the conference participants.

I welcome the readers of the third issue of the journal *Integrative Physiology* and encourage the contributors to submit manuscripts containing new knowledge about the physiological processes in the body as a whole.

I would like to extend my appreciation to all those who made the third issue of the journal *Integrative Physiology* for 2023 a reality.

*Yours respectfully,
Editor-in-chief
Lyudmila P. Filaretova*



Check for updates

Обзоры

УДК 612.1

EDN XTGUGM

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-263-273>

Виктор Александрович Левтов — ученый, учитель, наставник

Н. Х. Шадрина ^{✉1}, В. Н. Шуваева ¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторах

Нажия Хабибуллаевна Шадрина, Scopus AuthorID: [7003583378](https://orcid.org/0000-0003-2496-398X), ResearcherID: [J-5696-2018](https://orcid.org/J-5696-2018), ORCID: [0000-0003-2496-398X](https://orcid.org/0000-0003-2496-398X), e-mail: shadrinankh@infran.ru

Вера Николаевна Шуваева, Scopus AuthorID: [7004352541](https://orcid.org/7004352541), ResearcherID: [J-6774-2018](https://orcid.org/J-6774-2018), ORCID: [0000-0002-8517-7467](https://orcid.org/0000-0002-8517-7467), e-mail: shuvaevavn@infran.ru

Для цитирования: Шадрина, Н. Х., Шуваева, В. Н. (2023) Виктор Александрович Левтов — ученый, учитель, наставник. *Интегративная физиология*, т. 4, № 3, с. 263–273. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-263-273>
EDN XTGUGM

Получена 30 октября 2023; прошла рецензирование 26 ноября 2023; принята 27 ноября 2023.

Финансирование: Исследование не имело финансовой поддержки.

Права: © Н. Х. Шадрина, В. Н. Шуваева (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. В данной статье рассматриваются основные направления деятельности одного из ярчайших научных сотрудников Института физиологии им. И. П. Павлова РАН Виктора Александровича Левтова. Прослеживается его творческий путь, делается попытка передать неповторимую атмосферу творчества, создававшуюся им, неисчерпаемый творческий потенциал и многогранность его личности, оказавшие влияние на развитие новых научных направлений. Область его научных интересов охватывала широкий спектр вопросов, касающихся механизмов сосудистых реакций, кровоснабжения скелетных мышц, реологии крови. Основное направление его исследований в течение многих лет — изучение местных сосудистых реакций на химическую стимуляцию, исследование соотношения метаболизма, кровоснабжения и функции скелетных мышц, выявление фактов, подтверждающих либо опровергающих как традиционную трактовку механизмов рабочей гиперемии (метаболическая гипотеза), так и нетрадиционную (гистомеханическая гипотеза). Еще одна область его интересов — реологические свойства крови. В. А. Левтовым были расширены представления о видовых различиях агрегируемости эритроцитов. Большое внимание было уделено связи усиленной агрегации эритроцитов с клиническими формами заболеваний. Под руководством В. А. Левтова проводились уникальные исследования кровотока в микроциркуляторном русле. Кроме того, В. А. Левтов был одним из инициаторов создания ежегодных симпозиумов по биомеханике, объединяющих исследователей из разных областей науки и способствующих воспитанию молодых исследователей.

Ключевые слова: метаболизм, кровоснабжение и функции скелетных мышц, местные сосудистые реакции, рабочая и постэлонгационная гиперемия скелетных мышц, реология крови, агрегационные и деформационные свойства эритроцитов, высокомолекулярные кровезаменители

Viktor Levto: Scientist, teacher, mentor

N. Kh. Shadrina [✉]¹, V. N. Shuvaeva ¹

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences,
6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Authors

Nazhiya Kh. Shadrina, Scopus AuthorID: [7003583378](https://orcid.org/0000-0003-2496-398X), ResearcherID: [J-5696-2018](https://orcid.org/J-5696-2018), ORCID: [0000-0003-2496-398X](https://orcid.org/0000-0003-2496-398X), e-mail: shadrinankh@infran.ru

Vera N. Shuvaeva, Scopus AuthorID: [7004352541](https://orcid.org/0000-0002-8517-7467), ResearcherID: [J-6774-2018](https://orcid.org/J-6774-2018), ORCID: [0000-0002-8517-7467](https://orcid.org/0000-0002-8517-7467), e-mail: shuvaevavn@infran.ru

For citation: Shadrina, N. Kh., Shuvaeva, V. N. (2023) Viktor Levto: Scientist, teacher, mentor. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 263–273. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-263-273> EDN XTGUGM

Received 30 October 2023; reviewed 26 November 2023; accepted 27 November 2023.

Funding: The study did not receive any external funding.

Copyright: © N. Kh. Shadrina, V. N. Shuvaeva (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The article focuses on the key avenues of research pursued by Viktor A. Levto — one of the brightest scholars of the Pavlov Institute of Physiology RAS. Exploring his creative endeavors, the article attempts to convey the unique atmosphere of creativity, the inexhaustible creative potential, and the versatility that was part and parcel of Levto's personality and encouraged the emergence of new research paths. His scope of research includes a wide range of topics related to the mechanisms of vascular reactions, blood supply of skeletal muscles, and blood rheology. For many years, Levto studied local vascular responses to chemical stimulation and conducted research on the relationship between metabolism, blood supply, and the function of skeletal muscles. He also searched for the evidence that would confirm or refute both the traditional (metabolic hypothesis) and non-traditional (histomechanical hypothesis) interpretation of the mechanisms of active hyperemia. He also focused on rheological properties of blood. Levto contributed to understanding the differences in the aggregability of erythrocytes in different species. Much attention was paid to the links between increased erythrocyte aggregation and clinical forms of diseases. Levto led unique studies on blood flow in the microvasculature. In addition, he was one of the initiators of the annual symposia on biomechanics. It brought together researchers from different fields of science and promoted the education of young scholars.

Keywords: metabolism, blood supply and functions of skeletal muscles, local vascular reactions, active and post-elongation hyperemia of skeletal muscles, blood rheology, aggregation and deformation properties of erythrocytes, high-molecular blood substitutes

Научная деятельность Виктора Александровича Левтова (1931–1990) (рис. 1) началась в лаборатории физиологии кровообращения Института физиологии им. И. П. Павлова РАН, возглавляемой в то время Георгием Павловичем Конради, энциклопедистом, одним из «гигантов» отечественной физиологии. Примечательно, что в дарственной надписи на одной из своих монографий он обращается к В. А. Левтову: «О Гемфри Дэви говорили, что его лучшее открытие — Фарадей. При сохранении всех дистанций хочу сказать, дорогой Виктор, что мое „лучшее открытие“ — Вы».

Виктор Александрович в 1956 году с отличием окончил 1-й Ленинградский медицинский институт и несколько лет проработал главным врачом больницы в Якутии. Затем вернулся в родной город на Неве, и вся его дальнейшая творческая деятельность была связана с Институтом физиологии. Основное направление его

исследований в течение многих лет — изучение местных сосудистых реакций на химическую стимуляцию, исследование соотношения метаболизма, кровоснабжения и функции скелетных мышц (Кан, Левтов 1970; Конради, Левтов 1963; 1966; 1970; Конради и др. 1969а; 1969b; Левтов 1963а; 1963b; 1963с; 1965; Левтов, Мусящикова 1961; Левтов, Паролла 1969; Паролла, Левтов 1969; Шустова, Левтов 1974). Результатам исследований метаболической регуляции кровотока посвящена монография В. А. Левтова «Химическая регуляция местного кровообращения» (Левтов 1967), опубликованная после защиты диссертации «О механизмах местных сосудистых реакций на химическое раздражение» (1965) на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Позже в результате экспериментальной проверки основных положений метаболической теории на покоящейся икроножной мышце



Рис. 1. Виктор Александрович Левтов (1931–1990)

Fig. 1. Viktor A. Levtoev (1931–1990)

кошки В. А. Левтовым был поставлен вопрос об отказе от классической схемы метаболической регуляции (Левтов 1973). Примерно тогда же В. М. Хаютин предложил новый подход к механизму рабочей гиперемии. Согласно предложенной им гистомеханической гипотезе, ведущим фактором механизма рабочей гиперемии является деформирование внутримышечной сосудистой сети при активных сокращениях мышцы. Цикл работ В. А. Левтова был посвящен выявлению фактов, подтверждающих либо опровергающих как традиционную трактовку механизмов рабочей гиперемии (метаболическая гипотеза), так и новую, нетрадиционную (гистомеханическая гипотеза) (Левтов 1973; Левтов и др. 1992; Орлов, Левтов 1983; Шустова и др. 1988; 1989). В экспериментах с изометрическими тетанусами икроножной мышцы кошки различной длительности на фоне заданных уровней сниженной доставки кислорода было показано, что механизм гиперемии обуславливается сочетанием гистомеханического фактора с метаболическими сдвигами в ткани (Васильева и др. 1977; Левтов и др. 1979; 1982; 1983; Орлов, Левтов 1983; Степочкина, Левтов 1974; Шустова, Левтов 1978; Шустова и др. 1989).

Теоретические представления о роли метаболических и механических факторов в возникновении рабочей гиперемии получили свое развитие в работах В. А. Левтова, посвященных

кровообращению мышцы во время и после ее растяжения или сжатия внешней силой. Впервые было описано уменьшение тонуса артериальной части внутримышечных сосудов в ответ на удлинение сосудов — постэлонгационная гиперемия скелетных мышц, проявляющаяся в повышении кровотока при возвращении мышцы к начальной длине по сравнению с его исходной величиной. Эти опыты показали, что постэлонгационная гиперемия имеет преимущественно гистомеханическую природу, но это обстоятельство не препятствует действию на сосуды метаболических факторов, связанных с сокращением мышцы (Матчанов и др. 1983а; 1983b; Левтов 1984; Левтов и др. 1983; 1991а; Шустова и др. 1985а). Полученный результат подтвердил сделанный ранее автором вывод о сосуществовании различных факторов в едином комплексном регуляторном процессе. Оценка внешнего давления, действующего на сосуд, показала, что основной механический эффект увеличения гидравлического сопротивления при растяжении мышцы возникает за счет удлинения самих сосудов, а не вследствие внешнего давления как такового (Шустова и др. 1985b).

С конца 1960-х годов исследования показателей кровотока и метаболизма привели к появлению еще одного направления научной деятельности В. А. Левтова — исследованию реологических свойств крови, агрегационных и деформационных свойств эритроцитов. К этому же периоду относится и его знакомство с основоположником теоретической биомеханики в нашей стране С. А. Регирером, положившее начало длительному сотрудничеству и дружбе этих выдающихся ученых. Вместе со своими учениками и коллегами Виктор Александрович исследовал оптические и электрические свойства крови при разных режимах течения и показал существенную зависимость светопропускания, светоотражения и электрической проводимости крови от скорости кровотока и агрегационных свойств эритроцитов (Зеликсон и др. 1975; Левтов 1970; 1971, 1977; Левтов, Потапова 1983; Левтов, Шадрина 1971; Левтов и др. 1971; 1978b, 1981; Тухватулин и др. 1986; Шадрина и др. 1972). На основе этих исследований была разработана методика оценки агрегационной способности эритроцитов и в 1976 г. начато ее внедрение в клинику (Левтов и др. 1978а; Левтов, Никифоров 1979; Левтов, Потапова 1979; Потапова и др. 1977).

В 1970-е годы В. А. Левтов вместе со своими сотрудниками и группой научно-исследовательской кинематографии Института физиологии им. И. П. Павлова проводили уникальные

исследования агрегации эритроцитов в проточном режиме методом микрофотосъемки. К тому времени визуальные наблюдения за процессом агрегации осуществлялись лишь группой немецких ученых во главе с проф. Г. Шмид-Шонбейном (Аахен) в вискозиметрах «конус-плоскость». Под руководством Левтова впервые была получена динамическая картина распределения агрегатов по числу содержащихся в них эритроцитов в проточной кювете, ширина которой сопоставима с диаметром мелких артерий (Шадрин и др. 1974).

Эти исследования расширили представления о видовых различиях агрегируемости эритроцитов (Левтов и др. 1978а; Потапова и др. 1977). Большое внимание В. А. Левтов уделял также связи усиленной агрегации эритроцитов с клинической формой заболевания (Геллер и др. 1981; Левтов, Потапова 1979). Было выявлено агрегирующее влияние высокополимеризованных препаратов иммуноглобулина G.

В 1980-е годы Виктор Александрович активно участвовал в апробации высокомолекулярных кровезаменителей, таких как декстраны и полиоксиэтилены, выясняя их влияние на кровоснабжение и гемодинамику икроножной мышцы, а также на агрегацию эритроцитов и вязкость крови (Левтов и др. 1991b; Шуваева и др. 1988). Следствием этих исследований явилось сотрудничество с Институтом гематологии и переливания крови, в частности, исследование реологических свойств крови при ее частичном замещении модифицированным гемоглобином, разработанным гематологами (Шуваева и др. 1990).

В. А. Левтов является одним из авторов первой отечественной монографии по реологии крови (Левтов и др. 1982), обобщающей результаты собственных экспериментов и совместных исследований по реологии, осуществлявшихся в сотрудничестве с Институтом механики МГУ. Результаты исследований агрегационных свойств эритроцитов отражены также в обзоре (Levtov et al. 1990).

Под руководством В. А. Левтова проводились исследования кровотока в микроциркуляторном русле. Методом телевизионной микроскопии были выявлены повторяющиеся элементы («сосудистые ячейки») в капиллярном русле скелетных мышц кошек, описана пространственная и временная неоднородность распределения кровотока в капиллярах ячейки, объяснена причина возникновения «закономерной» составляющей неоднородного распределения скорости крови в капиллярах (Левтов и др. 1985; 1986), выявлена связь этой неоднородности с отноше-

нием суммарного сопротивления подводящего и отводящего сосудов к сопротивлению капиллярного участка ячейки. Совместно с Институтом прикладной физики АН СССР было исследовано воздействие вибрации на кровь. Выяснилось, что при пространственно однородной вибрации происходит концентрирование эритроцитов, были описаны образующиеся при этом структуры и показано, что образование малых подвижных групп свидетельствует об ослаблении агрегационных свойств крови, тогда как группировка фрактального типа указывает на усиление агрегации эритроцитов (Левтов и др. 1994). В теоретическом плане эта работа представляла интерес для оценки состояния красных клеток крови и изучения механизмов агрегации эритроцитов.

Виктор Александрович всегда сам участвовал и в технических разработках, необходимых для осуществления исследований, придумывая остроумные методические решения (Левкович и др. 1975; Левтов и др. 1964), и результаты своих работ старался довести до практического использования (Левтов, Никифоров 1979; Левтов, Потапова 1979).

Его умение систематизировать научные результаты особенно ярко проявилось при написании монографий, литературных обзоров и глав «Руководства по физиологии» (Левтов, Регирер 1984; Регирер, Левтов 1984; Ткаченко, Левтов 1984; 1986; Ткаченко и др. 1984).

Виктор Александрович легко устанавливал контакты с исследователями из разных научных учреждений, интересовался их своими научными идеями, в результате чего рождались совместные проекты. Он вовлекал в такое сотрудничество и своих учеников, представляя их маститым ученым на различных конференциях. Левтов буквально фонтанировал научными гипотезами и идеями, они были результатом знакомства с работами отечественных и зарубежных ученых, глубокого анализа различных научных направлений не только в области физиологии.

В. А. Левтов был активным участником научных дискуссий, его разносторонность, критический ум и эрудиция неизменно привлекали внимание аудитории. Он с удовольствием обучал молодых сотрудников и консультировал коллег. Вместе с С. А. Регирером инициировал создание Всесоюзного (Всероссийского) семинара по биомеханике, который с 1973 года проводится поочередно в Санкт-Петербурге (Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН) и Москве (Институт механики МГУ), и активно участвовал в его работе. Докладчиками семинара были как студенты, так и выдающиеся

физиологи и механики. В 2023 году в Санкт-Петербурге состоялось юбилейное I заседание семинара.

Под чутким руководством В. А. Левтова защищались кандидатские диссертации, он был мудрым наставником не только в научных, но и в «житейских» вопросах, настоящим другом учеников. К нему за советом шли люди разных возрастов. До сих пор его коллеги при принятии решений задаются вопросом, как бы он отреагировал в том или ином случае, каким было бы его мнение.

Литературный дар Виктора Александровича раскрылся не только в научных текстах, но и в пользовавшейся огромной популярностью институтской газете «Рефлекс», членом редколлегии которой он состоял. Музыкально одаренный, обладающий чувством юмора и обаянием, любознательный, жизнелюбивый, Виктор Александрович всегда был центром любой компании.

Жизнь его оборвалась внезапно. Проходят годы, и все яснее видится масштаб личности этого неординарного человека, с которым нам посчастливилось встретиться и пройти рядом часть жизненного пути.

Литература

- Васильева, Л. И., Вильде, Л. А., Левтов, В. А., Шустова, Н. Я. (1977) Соотношение метаболических и гемодинамических характеристик при изометрических тетанусах икроножной мышцы кошек. *Физиологический журнал СССР*, т. 63, № 8, с. 1117–1127.
- Геллер, Н. М., Кропачев, В. А., Левтов, В. А., Потапова, И. В. (1981) Влияние полиэтиленоксидов на агрегацию эритроцитов. *Полимеры в медицине*, т. 11, № 2, с. 83–93. PMID: [7339596](#)
- Зеликсон, Б. Б., Левтов, В. А., Шадрина, Н. Х. (1975) Оптические и электрические методы косвенного изучения реологических свойств крови. *Труды Рижского НИИ травматологии и ортопедии*, № 13, с. 188–193.
- Кан, В. Н., Левтов, В. А. (1970) Влияние артериальной и венозной окклюзии на гемодинамику и потребление кислорода в скелетной мышце. *Физиологический журнал СССР*, т. 56, № 4, с. 618–624.
- Конради, Г. П., Васильева, Л. И., Вильде, Л. А. и др. (1969а) О механизме функциональной гиперемии. В кн.: Г. И. Мchedlishvili (ред.). *Корреляция кровоснабжения с метаболизмом и функцией: Труды Международного симпозиума (Тбилиси, 27–31 мая 1968 г.)*. Тбилиси: Мецниереба, с. 110–119.
- Конради, Г. П., Левтов, В. А. (1963) О соотношении общих и местных вазомоторных реакций при химической стимуляции кровеносных сосудов. *Труды Института клинической и экспериментальной кардиологии АН Грузинской ССР*, т. 8, с. 551–553.
- Конради, Г. П., Левтов, В. А. (1966) О местных сосудистых реакциях. В кн.: *Центральные и периферические механизмы нервной деятельности*. Ереван: [б. и.], с. 262–274.
- Конради, Г. П., Левтов, В. А. (1970) Зависимость реактивной гиперемии в скелетных мышцах от длительности прекращения кровотока. *Физиологический журнал СССР*, т. 56, № 3, с. 366–374.
- Конради, Г. П., Левтов, В. А., Теплов, С. И. (1969b) Регионарное кровообращение как физиологическая проблема. В кн.: Г. П. Конради (ред.). *Вопросы регуляции регионарного кровообращения*. Л.: Наука, с. 3–17.
- Левкович, Ю. И., Левтов, В. А., Голубев, А. П. (1975) Установка для прижизненных микроспектрофотометрических исследований и методика ее использования. *Физиологический журнал СССР*, т. 61, № 3, с. 307–309.
- Левтов, В. А. (1963а) О местных сосудистых реакциях. В кн.: Г. П. Конради (ред.). *Вопросы регуляции кровообращения*. М.; Л.: Изд-во АН СССР, с. 64–84.
- Левтов, В. А. (1963b) Особенности вазомоторных реакций на химическую стимуляцию в условиях переменной перфузии тонкого кишечника кровью и раствором Рингера-Локка. *Физиологический журнал СССР*, т. 49, № 4, с. 470–481.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Вклад авторов

- Шадрина Нажия Хабибуллаевна — идея работы и подбор источников, написание и редактирование статьи;
- Шуваева Верна Николаевна — написание и редактирование статьи.

Author Contributions

- Nazhiya Kh. Shadrina — conceptualization, selection of sources, writing and editing the article;
- Vera N. Shuvaeva — writing and editing the article.

- Левтов, В. А. (1963с) Особенности вазомоторных реакций, вызываемых ацетилхолином, при различных условиях перфузии. В кн.: Г. П. Конради (ред.). *Вопросы регуляции кровообращения*. М.; Л.: Изд-во АН СССР, с. 85–104.
- Левтов, В. А. (1965) Органная специфичность формы местных сосудистых реакций, возникающих в ответ на химическую стимуляцию кровеносных сосудов. В кн.: *Регуляция регионарного кровообращения*. Л.: Изд-во АН СССР, с. 31–35.
- Левтов, В. А. (1967) *Химическая регуляция местного кровообращения*. Л.: Наука, 198 с.
- Левтов, В. А. (1970) Об оценке результатов прямого измерения кровотока по сосудам покоящейся скелетной мышцы. *Физиологический журнал СССР*, т. 56, № 5, с. 751–763.
- Левтов, В. А. (1971) Гемодинамические и метаболические эффекты частичных окклюзий артерии и вены в покоящейся скелетной мышце. *Физиологический журнал СССР*, т. 57, № 6, с. 863–871.
- Левтов, В. А. (1973) Экспериментальная проверка некоторых положений метаболической теории местной регуляции кровотока по сосудам скелетной мышцы. В кн.: Я. В. Скардс (ред.). *Регуляция кровообращения в скелетных мышцах*. Рига: Зинатне, с. 37–50.
- Левтов, В. А. (1977) Реологические свойства крови. В кн.: А. М. Чернух (ред.). *Вопросы физиологии и патологии кровообращения: Материалы II Всесоюзной школы-семинара по физиологии кровообращения*. Ставрополь: [б. и.], с. 70–80.
- Левтов, В. А. (1984) Внутримышечные кровеносные сосуды при одномоментном продольном растяжении икроножной мышцы. *Физиологический журнал СССР*, т. 70, № 5, с. 701–711.
- Левтов, В. А., Васильева, Л. И., Шустова, Н. Я. (1983) Кровоснабжение и потребление кислорода икроножной мышцей кошки при изометрическом тетанусе в условиях частичной окклюзии. *Физиологический журнал СССР*, т. 69, № 1, с. 106–113.
- Левтов, В. А., Левкович, Ю. И., Потапова, И. В., Ашкинази, Н. Я. (1978а) Об исследовании агрегационных свойств крови. *Физиология человека*, т. 4, № 3, с. 504–513.
- Левтов, В. А., Матчанов, А. Т., Анисимова, Н. П. и др. (1991а) Влияние динамического компонента механической деформации сосудов на кровоснабжение скелетных мышц. *Физиологический журнал СССР*, т. 77, № 10, с. 48–57.
- Левтов, В. А., Мусящикова, С. С. (1961) Соотношение местных и общих сосудистых реакций в зависимости от интенсивности раздражений химиорецепторов тонкого кишечника. *Физиологический журнал СССР*, т. 47, № 12, с. 1477–1483.
- Левтов, В. А., Никифоров, Н. И. (1979) *Способ определения насыщения кислородом текущей крови. Патент на изобретение SU696378A1*. Дата регистрации 05.11.1979.
- Левтов, В. А., Никифоров, Н. И., Попель, А. С. и др. (1978b) Об агрегации эритроцитов в текущей крови. В кн.: В. В. Орлов (ред.). *Регионарное и системное кровообращение*. Л.: Наука, с. 49–59.
- Левтов, В. А., Никифоров, Н. И., Шадрина, Н. Х. (1981) Об изменении агрегационной и ориентационной структуры крови при пульсирующем течении. *Физиологический журнал СССР*, т. 67, № 9, с. 1336–1341.
- Левтов, В. А., Осадчий, Л. И., Орлов, В. В., Востриков, Н. А. (1964) Простая модель тензометрического электроманометра для регистрации внутрисосудистого давления. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, № 5, с. 120–122.
- Левтов, В. А., Паролла, Д. И. (1969) Реактивность сосудов к циркулирующим катехоламинам и исходный сосудистый тонус. В кн.: Г. П. Конради (ред.). *Вопросы регуляции регионарного кровообращения*. Л.: Наука, с. 96–105.
- Левтов, В. А., Попель, А. С., Регирер, С. А., Шадрина, Н. Х. (1971) Об одном оптическом эффекте при течении крови. *Известия АН СССР. Серия: Механика жидкости и газа*, № 6, с. 161–165.
- Левтов, В. А., Потапова, И. В. (1979) *Фотометрическое определение агрегации эритроцитов в клинической практике*. Л.: [б. и.], 11 с.
- Левтов, В. А., Потапова, И. В. (1983) Особенности агрегации эритроцитов у разных животных и человека. *Физиологический журнал СССР*, т. 69, № 5, с. 660–665.
- Левтов, В. А., Регирер, С. А. (1984) Движение крови по артериям. В кн.: Б. И. Ткаченко (ред.). *Физиология кровообращения. Физиология сосудистой системы*. Л.: Наука, с. 94–140.
- Левтов, В. А., Регирер, С. А., Шадрина, Н. Х. (1982) *Реология крови*. М.: Медицина, 272 с.
- Левтов, В. А., Шадрина, Н. Х. (1971) О зависимости яркости крови от скорости кровотока. *Физиологический журнал СССР*, т. 57, № 2, с. 260–269.
- Левтов, В. А., Шуваева, В. Н., Тухватулин, Р. Т. и др. (1994) Неоднородное распределение суспензии эритроцитов в вибрационном поле. В кн.: *Современные проблемы биомеханики. Т. 9*. М.: Наука, с. 71–84.
- Левтов, В. А., Шуваева, В. Н., Шустова, Н. Я. и др. (1991b) Влияние высокомолекулярных соединений на реологические свойства крови и реактивность сосудов скелетной мышцы. *Физиологический журнал СССР*, т. 77, № 11, с. 72–81.
- Левтов, В. А., Шустова, Н. Я., Васильева, Л. И. (1979) Гипоксия как фактор механизма рабочей гиперемии скелетных мышц. В кн.: А. З. Колчинская (ред.). *Специальная и клиническая физиология гипоксических состояний: в 4 ч. Ч. 2*. Киев: Наукова думка, с. 39–44.

- Левтов, В. А., Шустова, Н. Я., Васильева, А. И., Шуваева, В. Н. (1982) Кровоснабжение и потребление кислорода икроножной мышцей кошки при изометрическом тетанусе в условиях внутриартериальной инфузии норадреналина. *Физиологический журнал СССР*, т. 68, № 11, с. 1544–1552.
- Левтов, В. А., Шустова, Н. Я., Регирер, С. А. и др. (1985) Топографическая и гидродинамическая неоднородность терминального русла сосудов икроножной мышцы кошки. *Физиологический журнал СССР*, т. 71, № 9, с. 1112–1124.
- Левтов, В. А., Шустова, Н. Я., Регирер, С. А. и др. (1986) Закономерная составляющая пространственной неоднородности капиллярного кровотока в микромодуле скелетной мышцы. *Физиологический журнал СССР*, т. 72, № 9, с. 1301–1310.
- Левтов, В. А., Шустова, Н. Я., Шаленков, В. Ф., Матчанов, А. Т. (1992) Суперпозиция нервных вазоконстрикторных и местных вазодилаторных влияний на сосуды скелетной мышцы. *Физиологический журнал СССР*, т. 78, № 2, с. 62–74.
- Матчанов, А. Т., Левтов, В. А., Орлов, В. В. (1983а) Об изменениях кровотока при продольных растяжениях икроножной мышцы кошки. *Физиологический журнал СССР*, т. 69, № 1, с. 74–83.
- Матчанов, А. Т., Шустова, Н. Я., Шуваева, В. Н. и др. (1983б) Влияние растяжения икроножной мышцы кошки на ее тетанусы, постконтракционную гиперемиию и показатели энергетического метаболизма. *Физиологический журнал СССР*, т. 69, № 2, с. 210–219.
- Орлов, В. В., Левтов, В. А. (1983) Современные представления о механизмах рабочей и реактивной гиперемии в скелетных мышцах. В кн.: П. Г. Костюк (ред.). *Управление деятельностью висцеральных систем*. Л.: Наука, с. 123–141.
- Паролла, Д. И., Левтов, В. А. (1969) Влияние исходного сосудистого тонуса на констрикторную реакцию сосудов мозга, вызванную раздражением симпатического нерва. *Физиологический журнал СССР*, т. 55, № 7, с. 802–808.
- Потапова, И. В., Никифоров, Н. И., Шадрина, Н. Х. и др. (1977) Фотометрическая характеристика агрегационных свойств эритроцитов. *Физиологический журнал СССР*, т. 63, № 9, с. 1357–1362.
- Регирер, С. А., Левтов, В. А. (1984) Основные гидродинамические закономерности движения крови по сосудам. В кн.: Б. И. Ткаченко (ред.). *Физиология кровообращения. Физиология сосудистой системы*. Л.: Наука, с. 55–93.
- Степочкина, Н. А., Левтов, В. А. (1974) О понижении тонуса магистральной артерии при периферической вазодилатации. *Физиологический журнал СССР*, т. 60, № 4, с. 603–612.
- Ткаченко, Б. И., Левтов, В. А. (1984) Сравнительная характеристика реакций органных сосудов. В кн.: Б. И. Ткаченко (ред.). *Физиология кровообращения. Физиология сосудистой системы*. Л.: Наука, с. 576–601.
- Ткаченко, Б. И., Левтов, В. А. (1986) Принципы регуляции кровообращения. В кн.: Б. И. Ткаченко (ред.). *Физиология кровообращения. Регуляция кровообращения*. Л.: Наука, с. 5–11.
- Ткаченко, Б. И., Теплов, С. И., Левтов, В. А. (1984) Реакции кровеносных сосудов как отражение принципов организации системного и органного кровообращения. В кн.: Б. И. Ткаченко (ред.). *Физиология кровообращения. Физиология сосудистой системы*. Л.: Наука, с. 337–351.
- Тухватулин, Р. Т., Левтов, В. А., Шуваева, В. Н., Шадрина, Н. Х. (1986) Агрегация эритроцитов в крови, помещенной в макро- и микрокуветы. *Физиологический журнал СССР*, т. 72, № 6, с. 775–784.
- Шадрина, Н. Х., Зеликсон, Б. Б., Левтов, В. А., Трифонова, Е. И. (1972) О значении обратимой агрегации эритроцитов в изменении электропроводности крови при ее движении. *Физиологический журнал СССР*, т. 58, № 4, с. 557–562.
- Шадрина, Н. Х., Стрельникова, Л. А., Левкович, Ю. И., Левтов, В. А. (1974) Исследование агрегации эритроцитов текущей крови методом микрофотосъемки. *Физиологический журнал СССР*, т. 60, № 10, с. 1548–1556.
- Шуваева, В. Н., Кузнецова, Н. П., Левтов, В. А. (1990) Реологические свойства крови при частичном замещении ее у крыс раствором модифицированного гемоглобина. *Физиологический журнал СССР*, т. 76, № 2, с. 192–199.
- Шуваева, В. Н., Савченко, А. Б., Левтов, В. А. (1988) О ноцигенных изменениях показателей вязкости крови у крыс. *Физиологический журнал СССР*, т. 74, № 10, с. 1390–1398.
- Шустова, Н. Я., Дик, И. Г., Недошивин, В. П., Левтов, В. А. (1989) Кровенаполнение скелетных мышц при реактивной гиперемии. *Физиологический журнал СССР*, т. 75, № 4, с. 493–507.
- Шустова, Н. Я., Левтов, В. А. (1974) Гемодинамические реакции и показатели кислородного баланса в покоящейся скелетной мышце при артериальной гипоксемии. *Физиологический журнал СССР*, т. 60, № 8, с. 1223–1234.
- Шустова, Н. Я., Левтов, В. А. (1978) О зависимости послерабочей гиперемии и показателей кислородного баланса скелетных мышц от длительности сокращений. В кн.: В. В. Орлов (ред.). *Регионарное и системное кровообращение*. Л.: Наука, с. 111–126.
- Шустова, Н. Я., Мальцев, Н. А., Левкович, Ю. И., Левтов, В. А. (1985а) Гиперемия в капиллярах икроножной мышцы после ее растяжения. *Физиологический журнал СССР*, т. 71, № 5, с. 599–608.

- Шустова, Н. Я., Матчанов, А. Т., Левтов, В. А. (1985b) Роль сдавливания сосудов икроножной мышцы в изменениях ее кровоснабжения при растяжении. *Физиологический журнал СССР*, т. 71, № 9, с. 1105–1111.
- Шустова, Н. Я., Шуваева, В. Н., Чуйкин, А. Е., Левтов, В. А. (1988) Влияние увеличения кровотока по сосудам скелетной мышцы на показатели ее функционирования и потребления кислорода. *Физиологический журнал СССР*, т. 74, № 12, с. 1776–1785.
- Levtov, V. A., Regirer, S. A., Shadrina, N. Kh. (1990) On red blood cell aggregation. In: G. G. Chernyi, S. A. Regirer (eds.). *Contemporary problems of biomechanics*. Boca Raton: CRC Press, pp. 55–74.

References

- Geller, N. M., Kropachev, V. A., Levtov, V. A., Potapova, I. V. (1981) Vliyanie polietilenoksidov na agregatsiyu eritrotsitov [Effect of polyethylene oxides on erythrocyte aggregation]. *Polimery v meditsine*, vol. 11, no. 2, pp. 83–93. PMID: 7339596 (In Russian)
- Kan, V. N., Levtov, V. A. (1970) Vliyanie arterial'noj i venoznoj okklyuzii na gemodinamiku i potreblenie kisloroda v skeletnoj myshtse [The effect of arterial and venous occlusion on hemodynamics and oxygen consumption in the skeletal muscle]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 56, no. 4, pp. 618–624. (In Russian)
- Konradi, G. P., Levtov, V. A. (1963) O sootnoshenii obshchikh i mestnykh vazomotornykh reaktivnykh pri khimicheskoy stimulyatsii krovenosnykh sosudov [On the relationship between general and local vasomotor reactions during chemical stimulation of blood vessels]. *Trudy Instituta klinicheskoy i eksperimental'noj kardiologii AN Gruzinskoj SSR*, vol. 8, pp. 551–553. (In Russian)
- Konradi, G. P., Levtov, V. A. (1966) O mestnykh sosudistykh reaktivnykh [About local vascular reactions]. In: *Tsentrallye i perifericheskie mekhanizmy nervnoj deyatel'nosti*. Yerevan: [s. n.], pp. 262–274. (In Russian)
- Konradi, G. P., Levtov, V. A. (1970) Zavisimost' reaktivnoj giperemii v skeletnykh myshtsakh ot dlitel'nosti prekrashcheniya krovotoka [Dependence of reactive hyperemia in skeletal muscles on the duration of cessation of blood flow]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 56, no. 3, pp. 366–374. (In Russian)
- Konradi, G. P., Levtov, V. A., Teplov, S. I. (1969b) Regionarnoe krovoobrashchenie kak fiziologicheskaya problema [Regional blood circulation as a physiological problem]. In: G. P. Konradi (ed.). *Voprosy regulyatsii regionarnogo krovoobrashcheniya [Issues of regulation of regional blood circulation]*. Leningrad: Nauka Publ., pp. 3–17. (In Russian)
- Konradi, G. P., Vasil'eva, L. I., Vil'de, L. A. et al. (1969a) O mekhanizme funktsional'noj giperemii [About the mechanism of functional hyperemia]. In: G. I. Mchedlishvili (ed.). *Korrelyatsiya krovosnabzheniya s metabolizmom i funktsiej: Trudy Mezhdunarodnogo simpoziuma (Tbilisi, 27–31 maya 1968 g.) [Correlation of blood supply with metabolism and function. Proceedings of the International Symposium (Tbilisi, May 27–31, 1968)]*. Tbilisi: Metsniereba Publ., pp. 110–119. (In Russian)
- Levkovich, Yu. I., Levtov, V. A., Golubev, A. P. (1975) Ustanovka dlya prizhiznennykh mikrospektrofotometricheskikh issledovanij i metodika ee ispol'zovaniya [Installation for intravital microspectrophotometric studies and methods of its use]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 61, no. 3, pp. 307–309. (In Russian)
- Levtov, V. A. (1963a) O mestnykh sosudistykh reaktivnykh [About local vascular reactions]. In: G. P. Konradi (ed.). *Voprosy regulyatsii krovoobrashcheniya [Issues of blood circulation regulation]*. Moscow; Leningrad: Academy of Sciences of the USSR Publ., pp. 64–84. (In Russian)
- Levtov, V. A. (1963b) Osobennosti vazomotornykh reaktivnykh na khimicheskuyu stimulyatsiyu v usloviyakh peremennoy perfuzii tonkogo kishchnika krov'yu i rastvorom Ringera-Lokka [Features of vasomotor reactions to chemical stimulation under conditions of variable perfusion of the small intestine with blood and Ringer-Locke solution]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 49, no. 4, pp. 470–481. (In Russian)
- Levtov, V. A. (1963c) Osobennosti vazomotornykh reaktivnykh, vyzvaemykh atsetilkholinom, pri razlichnykh usloviyakh perfuzii [Features of vasomotor reactions caused by acetylcholine under different perfusion conditions]. In: G. P. Konradi (ed.). *Voprosy regulyatsii krovoobrashcheniya [Issues of blood circulation regulation]*. Moscow; Leningrad: Academy of Sciences of the USSR Publ., pp. 85–104. (In Russian)
- Levtov, V. A. (1965) Organnaya spetsifichnost' formy mestnykh sosudistykh reaktivnykh, vznikayushchikh v otvet na khimicheskuyu stimulyatsiyu krovenosnykh sosudov [Organ specificity of the form of local vascular reactions that occur in response to chemical stimulation of blood vessels]. In: *Regulyatsiya regionarnogo krovoobrashcheniya [Regulation of regional blood circulation]*. Leningrad: Academy of Sciences of the USSR Publ., pp. 31–35. (In Russian)
- Levtov, V. A. (1967) *Khimicheskaya regulyatsiya mestnogo krovoobrashcheniya [Chemical regulation of local blood circulation]*. Leningrad: Nauka Publ., 198 p. (In Russian)
- Levtov, V. A. (1970) Ob otsenke rezul'tatov pryamogo izmereniya krovotoka po sosudam pokoyashcheysya skeletnoj myshtsy [On the evaluation of the results of direct measurement of blood flow through the vessels of resting skeletal muscle]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 56, no. 5, pp. 751–763. (In Russian)
- Levtov, V. A. (1971) Gemodinamicheskie i metabolicheskie efekty chastichnykh okklyuzij arterii i veny v pokoyashcheysya skeletnoj myshtse [Hemodynamic and metabolic effects of partial artery and vein occlusions in resting skeletal muscle]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 57, no. 6, pp. 863–871. (In Russian)

- Levtov, V. A. (1973) Eksperimental'naya proverka nekotorykh polozhenij metabolicheskoy teorii mestnoj regulyatsii krovotoka po sosudam skeletnoj myshtsy [Experimental verification of some provisions of the metabolic theory of local regulation of blood flow through the vessels of skeletal muscle]. In: Ya. V. Skards (ed.). *Regulyatsiya krovoobrashcheniya v skeletnykh myshtsakh [Regulation of blood circulation in skeletal muscles]*. Riga: Zinatne Publ., pp. 37–50. (In Russian)
- Levtov, V. A. (1977) Reologicheskie svoystva krovi [Rheological properties of blood]. In: A. M. Chernukh (ed.). *Voprosy fiziologii i patologii krovoobrashcheniya*. Stavropol: [s. n.], pp. 70–80. (In Russian)
- Levtov, V. A. (1984) Vnutrimyshechnye krovenosnye sosudy pri odnomomentnom prodol'nom rastyazhenii ikronozhnoj myshtsy [Intramuscular blood vessels during simultaneous longitudinal stretching of the gastrocnemius muscle]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 70, no. 5. pp. 701–711. (In Russian)
- Levtov, V. A., Levkovich, Yu. I., Potapova, I. V., Ashkinazi, N. Ya. (1978a) Ob issledovanii agregatsionnykh svoystv krovi [On the study of blood aggregation properties]. *Fiziologiya cheloveka — Human Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 504–513. (In Russian)
- Levtov, V. A., Matchanov, A. T., Anisimova, N. P. et al. (1991a) Vliyanie dinamicheskogo komponenta mekhanicheskoy deformatsii sosudov na krovosnabzhenie skeletnykh myshts [The influence of the dynamic component of mechanical deformation of blood vessels on the blood supply to skeletal muscles]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 77, no. 10, pp. 48–57. (In Russian)
- Levtov, V. A., Musyashchikova, S. S. (1961) Sootnoshenie mestnykh i obshchikh sosudistykh reaktsij v zavisimosti ot intensivnosti razdrasheniya khimioireseptorov tonkogo kishechnika [The ratio of local and general vascular reactions depending on the intensity of stimulation of the chemoreceptors of the small intestine]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 47, no. 12, pp. 1477–1483. (In Russian)
- Levtov, V. A., Nikiforov, N. I. (1979) *Sposob opredeleniya nasyshcheniya kislorodom tekushchej krovi. Patent na izobretenie SU696378A1 [A method for determining the oxygen saturation of flowing blood. Patent SU696378A1]*. Register date 05.11.1979. (In Russian)
- Levtov, V. A., Nikiforov, N. I., Popel', A. S. et al. (1978b) Ob agregatsii eritrotsitov v tekushchej krovi [About the aggregation of erythrocytes in flowing blood]. In: V. V. Orlov (ed.). *Regionarnoe i sistemnoe krovoobrashchenie [Regional and systemic circulation]*. Leningrad: Nauka Publ., pp. 49–59. (In Russian)
- Levtov, V. A., Nikiforov, N. I., Shadrina, N. Kh. (1981) Ob izmenenii agregatsionnoj i orientatsionnoj struktury krovi pri pul'siruyushchem techenii [On changes in the aggregation and orientation structure of blood during pulsating flow]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 67, no. 9, pp. 1336–1341. (In Russian)
- Levtov, V. A., Osadchij, L. I., Orlov, V. V., Vostrikov, N. A. (1964) Prostaya model' tenzometricheskogo elektromanometra dlya registratsii vnutrisosudistogo davleniya [A simple model of a strain gauge electromanometer for recording intravascular pressure]. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i meditsiny — Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, no. 5, pp. 120–122. (In Russian)
- Levtov, V. A., Parolla, D. I. (1969) Reaktivnost' sosudov k tsirkuliruyushchim katekholaminam i iskhodnyj sosudistyj tonus [Vascular reactivity to circulating catecholamines and initial vascular tone]. In: G. P. Konradi (ed.). *Voprosy regulyatsii regionarnogo krovoobrashcheniya [Issues of regulation of regional blood circulation]*. Leningrad: Nauka Publ., pp. 96–105. (In Russian)
- Levtov, V. A., Popel', A. S., Regirer, S. A., Shadrina, N. Kh. (1971) Ob odnom opticheskom effekte pri techenii krovi [About one optical effect during blood flow]. *Izvestiya AN SSSR. Seriya: Mekhanika zhidkosti i gaza*, no. 6, pp. 161–165. (In Russian)
- Levtov, V. A., Potapova, I. V. (1979) *Fotometricheskoe opredelenie agregatsii eritrotsitov v klinicheskoy praktike [Photometric determination of erythrocyte aggregation in clinical practice]*. Leningrad: [s. n.], 11 p. (In Russian)
- Levtov, V. A., Potapova, I. V. (1983) Osobennosti agregatsii eritrotsitov u raznykh zhivotnykh i cheloveka [Features of erythrocyte aggregation in different animals and humans]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 69, no. 5, pp. 660–665. (In Russian)
- Levtov, V. A., Regirer, S. A. (1984) Dvizhenie krovi po arteriyam [Movement of blood through arteries]. In: B. I. Tkachenko (ed.). *Fiziologiya krovoobrashcheniya. Fiziologiya sosudistoj sistemy [Physiology of blood circulation. Physiology of the vascular system]*. Leningrad: Nauka Publ., pp. 94–140. (In Russian)
- Levtov, V. A., Regirer, S. A., Shadrina, N. Kh. (1982) *Reologiya krovi [Blood rheology]*. Moscow: Meditsina Publ., 272 p. (In Russian)
- Levtov, V. A., Regirer, S. A., Shadrina, N. Kh. (1990) On red blood cell aggregation. In: G. G. Chernyi, S. A. Regirer (eds.). *Contemporary problems of biomechanics*. Boca Raton: CRC Press, pp. 55–74. (In English)
- Levtov, V. A., Shadrina, N. Kh. (1971) O zavisimosti yarkosti krovi ot skorosti krovotoka [On the dependence of blood brightness on blood flow speed]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 57, no. 2, pp. 260–269. (In Russian)
- Levtov, V. A., Shustova, N. Ya., Vasil'eva, L. I. (1979) Gipoksiya kak faktor mekhanizma rabochej giperemii skeletnykh myshts [Hypoxia as a factor in the mechanism of working hyperemia of skeletal muscles]. In: A. Z. Kolchinskaya (ed.). *Spetsial'naya i klinicheskaya fiziologiya gipoksicheskikh sostoyanij: v 4 ch. Ch. 2 [Special and clinical physiology of hypoxic conditions: In 4 pts. Pt. 2]*. Kiev: Naukova dumka Publ., pp. 39–44. (In Russian)
- Levtov, V. A., Shustova, N. Ya., Regirer, S. A. et al. (1986) Zakonomernaya sostavlyayushchaya prostranstvennoj neodnorodnosti kapillyarnogo krovotoka v mikromodule skeletnoj myshtsy [Regular component of spatial

- heterogeneity of capillary blood flow in the micromodule of skeletal muscle]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 72, no. 9, pp. 1301–1310. (In Russian)
- Levtov, V. A., Shustova, N. Ya., Regirer, S. A. et al. (1985) Topograficheskaya i gidrodinamicheskaya neodnorodnost' terminal'nogo rusla sosudov ikronozhnoj myshtsy koshki [Topographic and hydrodynamic heterogeneity of the terminal bed of the vessels of the gastrocnemius muscle of the cat]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 71, no. 9, pp. 1112–1124. (In Russian)
- Levtov, V. A., Shustova, N. Ya., Shalencov, V. F., Matchanov, A. T. (1992) Superpozitsiya nervnykh vazokonstriktornykh i mestnykh vazodilatatornykh vliyaniy na sosudy skeletnoj myshtsy [Superposition of neural vasoconstrictor and local vasodilator effects on skeletal muscle vessels]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 78, no. 2, pp. 62–74. (In Russian)
- Levtov, V. A., Shustova, N. Ya., Vasil'eva, L. I., Shuvaeva, V. N. (1982) Krovosnabzhenie i potreblenie kisloroda ikronozhnoj myshtsey koshki pri izometricheskom tetanuse v usloviyakh vnutriarterial'noj infuzii noradrenalina [Blood supply and oxygen consumption by the gastrocnemius muscle of a cat with isometric tetanus under conditions of intra-arterial infusion of norepinephrine]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 68, no. 11, pp. 1544–1552. (In Russian)
- Levtov, V. A., Shuvaeva, V. N., Shustova, N. Ya. et al. (1991b) Vliyanie vysokomolekulyarnykh soedinenij na reologicheskie svoystva krovi i reaktivnost' sosudov skeletnoj myshtsy [The influence of high-molecular compounds on the rheological properties of blood and the reactivity of skeletal muscle vessels]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 77, no. 11, pp. 72–81. (In Russian)
- Levtov, V. A., Shuvaeva, V. N., Tukhvatulin, R. T. et al. (1994) Neodnorodnoe raspredelenie suspenzii eritrotsitov v vibratsionnom pole [Heterogeneous distribution of erythrocyte suspension in a vibration field]. In: *Sovremennyye problemy biomekhaniki (Reologiya krovi i mikrotsirkulyatsiya). T. 9 [Modern problems of biomechanics (Blood rheology and microcirculation). Vol. 9]*. Moscow: Nauka Publ., no. 9, pp. 71–84. (In Russian)
- Levtov, V. A., Vasil'eva, L. I., Shustova, N. Ya. (1983) Krovosnabzhenie i potreblenie kisloroda ikronozhnoj myshtsey koshki pri izometricheskom tetanuse v usloviyakh chastichnoj okklyuzii [Blood supply and oxygen consumption by the gastrocnemius muscle of a cat with isometric tetanus under conditions of partial occlusion]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 69, no. 1, pp. 106–113. (In Russian)
- Matchanov, A. T., Levto, V. A., Orlov, V. V. (1983a) Ob izmeneniyakh krovotoka pri prodol'nykh rastyazheniyakh ikronozhnoj myshtsy koshki [About changes in blood flow during longitudinal stretching of the gastrocnemius muscle of a cat]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 69, no. 1, pp. 74–83. (In Russian)
- Matchanov, A. T., Shustova, N. Ya., Shuvaeva, V. N. et al. (1983b) Vliyanie rastyazheniya ikronozhnoj myshtsy koshki na ee tetanusu, postkontraktsionnyuyu giperemiyu i pokazateli energeticheskogo metabolizma [The effect of stretching the cat's gastrocnemius muscle on its tetanus, post-contraction hyperemia and indicators of energy metabolism]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 69, no. 2, pp. 210–219. (In Russian)
- Orlov, V. V., Levto, V. A. (1983) Sovremennyye predstavleniya o mekhanizmakh rabochej i reaktivnoj giperemii v skeletnykh myshtsakh [Modern ideas about the mechanisms of working and reactive hyperemia in skeletal muscles]. In: *Upravlenie deyatel'nost'yu vistseral'nykh sistem [Control of the activity of visceral systems]*. Leningrad: Nauka Publ., pp. 123–141. (In Russian)
- Parolla, D. I., Levto, V. A. (1969) Vliyanie iskhodnogo sosudistogo tonusa na konstriktornyuyu reaktsiyu sosudov mozga, vyzvannuyu razdrasheniem simpaticeskogo nerva [The influence of initial vascular tone on the constrictor response of cerebral vessels caused by irritation of the sympathetic nerve]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 55, no. 7, pp. 802–808. (In Russian)
- Potapova, I. V., Nikiforov, N. I., Shadrina, N. Kh. et al. (1977) Fotometricheskaya kharakteristika agregatsionnykh svoystv eritrotsitov [Photometric characteristics of aggregation properties of erythrocytes]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 63, no. 9, pp. 1357–1362. (In Russian)
- Regirer, S. A., Levto, V. A. (1984) Osnovnyye gidrodinamicheskie zakonomernosti dvizheniya krovi po sosudam [Basic hydrodynamic patterns of blood movement through vessels]. In: *Fiziologiya krovoobrashcheniya: Fiziologiya sosudistoj sistemy [Physiology of blood circulation: Physiology of the vascular system]*. Leningrad: Nauka Publ., pp. 55–93. (In Russian)
- Shadrina, N. Kh., Strel'nikova, L. A., Levkovich, Yu. I., Levto, V. A. (1974) Issledovanie agregatsii eritrotsitov tekushchej krovi metodom mikrofotos'emki [Study of aggregation of erythrocytes in flowing blood using microphotography]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 60, no. 10, pp. 1548–1556. (In Russian)
- Shadrina, N. Kh., Zelikson, B. B., Levto, V. A., Trifonova, E. I. (1972) O znachenii obratimoy agregatsii eritrotsitov v izmenenii elektroprovodnosti krovi pri ee dvizhenii [On the significance of reversible aggregation of erythrocytes in changing the electrical conductivity of blood during its movement]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 58, no. 4, pp. 557–562. (In Russian)
- Shuvaeva, V. N., Kuznetsova, N. P., Levto, V. A. (1990) Reologicheskie svoystva krovi pri chastichnom zameshchenii ee u krysa rastvorom modifitsirovannogo gemoglobina [Rheological properties of blood when it is partially replaced in rats with a solution of modified hemoglobin]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 76, no. 2, pp. 192–199. (In Russian)

- Shuvaeva, V. N., Savchenko, A. B., Levto, V. A. (1988) O notsigennykh izmeneniyakh pokazatelej vyazkosti krovi u krys [On nocigenic changes in blood viscosity in rats]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 74, no. 10, pp. 1390–1398. (In Russian)
- Shustova, N. Ya., Dik, I. G., Nedoshivin, V. P., Levto, V. A. (1989) Krovenapolnenie skeletnykh myshts pri reaktivnoj giperemii [Blood supply to skeletal muscles during reactive hyperemia]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 75, no. 4, pp. 493–507. (In Russian)
- Shustova, N. Ya., Levto, V. A. (1974) Gemodinamicheskie reaksii i pokazateli kislorodnogo balansa v pokoyashejsya skeletnoj myshtse pri arterial'noj gipoksemii [Hemodynamic reactions and indicators of oxygen balance in resting skeletal muscle during arterial hypoxemia]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 60, no. 8, pp. 1223–1224. (In Russian)
- Shustova, N. Ya., Levto, V. A. (1978) O zavisimosti poslerabochej giperemii i pokazatelej kislorodnogo balansa skeletnykh myshts ot dlitel'nosti sokrashchenij [On the dependence of post-work hyperemia and indicators of oxygen balance in skeletal muscles on the duration of contractions]. In: V. V. Orlov (ed.). *Regionarnoe i sistemnoe krovoobrashchenie [Regional and systemic circulation]*. Leningrad: Nauka Publ., pp. 111–126. (In Russian)
- Shustova, N. Ya., Mal'tsev, N. A., Levkovich, Yu. I., Levto, V. A. (1985a) Giperemiya v kapillyarakh ikronozhnoj myshtsy posle ee rastyazheniya [Hyperemia in the capillaries of the gastrocnemius muscle after stretching]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 71, no. 5, pp. 599–608. (In Russian)
- Shustova, N. Ya., Matchanov, A. T., Levto, V. A. (1985b) Rol' sdavlivaniya sosudov ikronozhnoj myshtsy v izmeneniyakh ee krovosnabzheniya pri rastyazhenii [The role of compression of the vessels of the gastrocnemius muscle in changes in its blood supply during stretching]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 71, no. 9, pp. 1105–1111. (In Russian)
- Shustova, N. Ya., Shuvaeva, V. N., Chujkin, A. E., Levto, V. A. (1988) Vliyanie uvelicheniya krovotoka po sosudam skeletnoj myshtsy na pokazateli ee funkcionirovaniya i potrebleniya kisloroda [The effect of increased blood flow through the vessels of skeletal muscle on indicators of its functioning and oxygen consumption]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 74, no. 12, pp. 1776–1785. (In Russian)
- Stepochkina, N. A., Levto, V. A. (1974) O ponizhenii tonusa magistral'noj arterii pri perifericheskoj vazodilatatsii [About the decrease in the tone of the main artery during peripheral vasodilation]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 60, no. 4, pp. 603–612. (In Russian)
- Tkachenko, B. I., Levto, V. A. (1984) Sravnitel'naya kharakteristika reaksij organnykh sosudov [Comparative characteristics of organ vascular reactions]. In: B. I. Tkachenko (ed.). *Fiziologiya krovoobrashcheniya: Fiziologiya sosudistoj sistemy [Physiology of blood circulation: Physiology of the vascular system]*. Leningrad: Nauka Publ., pp. 576–601. (In Russian)
- Tkachenko, B. I., Levto, V. A. (1986) Printsipy regulyatsii krovoobrashcheniya [Principles of blood circulation regulation]. In: B. I. Tkachenko (ed.). *Fiziologiya krovoobrashcheniya. Regulyatsiya krovoobrashcheniya [Physiology of blood circulation. Regulation of blood circulation]*. Leningrad: Nauka Publ., pp. 5–11. (In Russian)
- Tkachenko, B. I., Teplov, S. I., Levto, V. A. (1984) Reaksii krovenosnykh sosudov kak otrazhenie printsipov organizatsii sistemnogo i organnogo krovoobrashcheniya [Reactions of blood vessels as a reflection of the principles of organization of systemic and organ circulation]. In: B. I. Tkachenko (ed.). *Rukovodstvo po fiziologii. Fiziologiya krovoobrashcheniya. Fiziologiya sosudistoj sistemy [Guide to Physiology. Physiology of blood circulation. Physiology of the vascular system]*. Leningrad: Nauka Publ., pp. 337–351. (In Russian)
- Tukhvatulin, R. T., Levto, V. A., Shuvaeva, V. N., Shadrina, N. Kh. (1986) Agregatsiya eritrotsitov v krovi, pomeshchennoj v makro- i mikrokyuvety [Aggregation of erythrocytes in blood placed in macro- and microcuvettes]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 72, no. 6, pp. 775–784. (In Russian)
- Vasil'eva, L. I., Vil'de, L. A., Levto, V. A., Shustova, N. Ya. (1977) Sootnoshenie metabolicheskikh i gemodinamicheskikh kharakteristik pri izometricheskikh tetanusakh ikronozhnoj myshtsy koshek [The relationship between metabolic and hemodynamic characteristics in isometric tetanus of the gastrocnemius muscle of cats]. *Fiziologicheskij zhurnal SSSR*, vol. 63, no. 8, pp. 1117–1127. (In Russian)
- Zelikson, B. B., Levto, V. A., Shadrina, N. Kh. (1975) Opticheskie i elektricheskie metody kosvennogo izucheniya reologicheskikh svojstv krovi [Optical and electrical methods for indirectly studying the rheological properties of blood]. *Trudy Rzhskogo NII travmatologii i ortopedii*, no. 13, pp. 188–193. (In Russian)



Check for updates

Обзоры

УДК 616.15 + 612.13

EDN HULATU

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-274-297>

Переливание крови: становление в России

Е. А. Никитина ^{✉1, 2}

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

² Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена,
191186, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, д. 48

Сведения об авторе

Екатерина Александровна Никитина, SPIN-код: [7844-8621](https://orcid.org/0000-0003-1897-8392), Scopus AuthorID: [56603106300](https://orcid.org/56603106300), ResearcherID: [L-5761-2014](https://orcid.org/L-5761-2014), ORCID: [0000-0003-1897-8392](https://orcid.org/0000-0003-1897-8392), e-mail: 21074@mail.ru

Для цитирования: Никитина, Е. А. (2023) Переливание крови: становление в России. *Интегративная физиология*, т. 4, № 3, с. 274–297. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-274-297> EDN HULATU

Получена 5 сентября 2023; прошла рецензирование 10 октября 2023; принята 11 октября 2023.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке Государственной программы РФ 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030), тема 0134-2019-0004.

Права: © Е. А. Никитина (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. Данный обзор отражает основные направления развития переливания крови в России до открытия групп крови. О переливании крови в допетровской России достоверно неизвестно. Предпосылки возникновения российской трансфузиологии возникают в XVIII веке в связи с формированием систематического отечественного медицинского образования. XIX век знаменуется становлением национальной научной медицинской школы. Этот период можно по праву считать и временем становления переливания крови в России. Первое в России переливание крови от человека к человеку было осуществлено 20 апреля 1832 года в Санкт-Петербурге Андреем Мартыновичем Вольфом, учеником С. Ф. Хотовицкого. Вслед за этим к проблеме гемотрансфузии обращаются многие российские медики. Среди них прежде всего необходимо выделить И. В. Буяльского, стоявшего у истоков трансфузиологии; А. М. Филомафитского, автора первого в России трактата о переливании крови; В. В. Сутугина, заложившего основы консервирования крови. Особое место занимают работы С. П. Коломнаина, осуществившего первое в мире переливание дефибринированной крови раненым в военно-полевых условиях. Именно развитие военной трансфузиологии, а также успешное применение гемотрансфузий при заболеваниях и отравлениях составляли отличительные черты российской практики переливания крови.

Ключевые слова: кровообращение, переливание крови, история физиологии, история медицины, трансфузиология в России

Blood transfusion: The genesis in Russia

E. A. Nikitina ^{1,2}¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia² Herzen State Pedagogical University of Russia, 48 Moika Emb., Saint Petersburg 191186, Russia**Author**

Ekaterina A. Nikitina, SPIN: 7844-8621, Scopus AuthorID: 56603106300, ResearcherID: L-5761-2014, ORCID: 0000-0003-1897-8392, e-mail: 21074@mail.ru

For citation: Nikitina, E. A. (2023) Blood transfusion: The genesis in Russia. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 274–297. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-274-297> EDN HULATU**Received** 5 September 2023; reviewed 10 October 2023; accepted 11 October 2023.**Funding:** This study was supported by the State Program 47 GP Scientific and Technological Development of the Russian Federation (2019–2030), theme 0134-2019-0004.**Copyright:** © E. A. Nikitina (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. This review reflects the main trends in the development of blood transfusion in Russia before the discovery of blood groups. Not much is known about blood transfusion in pre-Petrine Russia. The prerequisites for the emergence of Russian transfusiology arose in the 18th century in connection with the formation of systematic domestic medical education. The 19th century was marked by the formation of a national medical school of thought. This period can rightfully be considered the time of the formation of blood transfusion in Russia. The first person-to-person blood transfusion in Russia was carried out on 20 April 1832 in Saint Petersburg by Andrei M. Wolf, a student of S. F. Khotovitsky. Following this, many Russian doctors turned to blood transfusion. High among them are I. V. Buyalsky, who stood at the origins of transfusiology; A. M. Filomafitsky, the author of the first treatise on blood transfusion in Russia; and V. V. Sutugin, who laid the foundations for blood conservation. A special place is held by S. P. Kolomnin, who performed the world's first transfusion of defibrinated blood to the wounded in field hospitals. It was the development of military transfusion medicine and the success of blood transfusion for sick and poisoned patients that made up the hallmarks of the Russian practice of blood transfusion.

Keywords: circulation, blood transfusion, history of physiology, history of medicine, transfusiology in Russia

...за многия службы и за радения, и за промысл, и за правду, и за кровь.

Н. С. Лесков «Захудалый род». 1874

Введение

Переливание крови ведет свою историю с древнейших времен. Идеи об исцелении от болезней с помощью крови и о перемещении крови из одного организма в другой возникли много веков назад (Никитина 2012). К ранним страницам истории переливания крови, впечатляющим, драматичным, а подчас и трагичным, мы обращались прежде (Никитина 2020), так же как и к периоду становления переливания крови в зарубежной физиологии и медицине (Никитина 2022). Настоящая часть нашего повествования посвящена российским истокам трансфузионной медицины.

История древнерусской врачебной словесности необширна. Первые упоминания о врачевании встречаются еще в Изборнике Святослава (1073 г.). В допетровскую эпоху известно свыше 200 врачебных рукописей, подавляющее большинство которых были

переводными, среди них труды Галена, Аристотеля, Гиппократов, арабских врачей, а также записки путешественников, содержавшие сведения о врачевании. Таким образом, зарубежные медицинские концепции были известны на Руси, но крайне узкому кругу людей. Приглашение иноземных врачей и аптекарей началось в первой половине XVI века, в конце XVI столетия основан Аптекарский приказ. Зарождение отечественного медицинского образования происходит при Алексее Михайловиче. В 1654 году при Аптекарском приказе открыта Лекарская школа, куда набрано 30 первых русских учеников, сначала обучавшихся в аптеках фармакологии, анатомии, патологии, лечению внутренних болезней и латинскому языку. На третий год обучения они поступали к иноземным лекарям для изучения хирургической патологии и практики; обучение длилось от четырех до шести лет (Змеев 1896; Сорокина 2008).

Предпосылки переливания крови

Систематическое отечественное медицинское образование начинает складываться в XVIII веке, тогда же зарождается и национальная медицинская литература. Медицинская коллегия — высший орган государственного управления медицинским делом в России — учреждена указом Екатерины II 23 ноября 1763 года (Чистович 1870). К этому периоду относятся первые указания о вреде кровотечений и предпосылках переливания крови.

Здесь отдельно необходимо упомянуть Христиана и Матвея Пекенов. Христиан Пекен (1731–1779), родом венгр, получил степень доктора медицины в 1751 году в Виттенберге. В 1755-м он приезжает в Санкт-Петербург, поступает на государственную службу в Медицинскую коллегия, где избирается ученым секретарем, а также служит врачом в госпитале и кадетском корпусе. По поручению Коллегии Пекен составил в 1765 году первый в России печатный лечебник «Домашний лечебник, или Простой способ лечения болезней» (Пекен 1765). Эта книга, дополненная его сыном Матвеем Христиановичем Пекеном (1755–1819), выдержала еще два издания (Половцов 1902).

М. Х. Пекен получил медицинское образование в Геттингене, после чего вернулся в Россию и в 1779 году был определен на службу в Санкт-Петербургский Генеральный адмиралтейский госпиталь. В мае 1781 года переведен в Кронштадтский Генеральный адмиралтейский госпиталь лекционным доктором вместо Нестора Максимовича Максимовича-Амбодика (Чистович 1883). Будучи профессором Кронштадтского врачебного училища, в книге «Физиология или наука о естестве человеческого» М. Х. Пекен подробнейшим образом описывает строение и принципы работы кровеносной системы, указывая на опасность кровопотерь: «исхождения оныя изо всего тела, наносящее смерть, есть несомненное доказательство взаимного соединения и сообщения всех бьющихся с кровезовратными жилами. От повреждения артерии... случалось видеть сильнейшия и смертоносныя кровотечения и по семи, двадцати, тридцати фунтов истекшей крови» (Пекен 1788, 28). В то время были предприняты коренные преобразования в организации русских врачебных школ — в 1786 году они были отделены от госпиталей, сделаны самостоятельными и получили название медико-хирургических училищ. В 1795 году профессорам было предоставлено избрать адъюнктов, и 30 сентября того же года по желанию Матвея Пекена к нему был назначен адъ-

юнком Ефрем Мухин, состоявший до этого при Московском университете. При помощи Мухина Пекен учредил по указу Медицинской Коллегии в Московском госпитале «постоянную клиническую палату», открытую 10 февраля 1797 года. Это была первая терапевтическая клиника в России, устроенная по заграничному образцу и снабженная всем необходимым. 10 февраля 1812 года Пекен удостоился избрания в число почетных членов Императорской Медико-хирургической академии (ИМХА) (Половцов 1902).

XIX век знаменуется становлением российской национальной научной медицинской школы. По словам Я. А. Чистовича, «Начало XIX столетия было знаменательною эпохою в истории русской медицины... возникала чисто русская национальная медицина» (Чистович 1876а, 289). Этот период можно по праву считать и временем становления переливания крови в России. Идеи Джеймса Бланделла (1790–1878) оказали огромное влияние на российских врачей. Первое теоретическое обоснование переливания крови принадлежит профессору ИМХА Степану Фомичу Хотовицкому (1796–1885) (рис. 1). Он известен как основоположник отечественной педиатрии (Цвелев, Шабалов 2010). Однако С. Ф. Хотовицкий был подлинным энциклопедистом, существенно расширившим и преобразовавшим различные области медицины и гигиены. Мы же коснемся лишь тех граней его таланта, которые имеют непосредственное отношение к настоящему повествованию.

Его научные интересы закладывались в период обучения в ИМХА (1813–1817), где преподавали выдающиеся ученые того времени, в том числе Сергей Алексеевич Громов (1776–1856), руководивший кафедрой судебной медицины, медицинской полиции и повивального искусства. Его фундаментальный труд «Краткое изложение судебной медицины для академического и практического употребления» (1832) представлял собой первый отечественный учебник по судебной медицине (Громов 1832). Кроме того, Громов был автором первых научных трудов по акушерству. Именно кафедра профессора Громова привлекала С. Ф. Хотовицкого, поэтому после окончания академии с серебряной медалью в августе 1817 года своей специальностью он избрал акушерство с включением женских и детских болезней, судебную медицину, медицинскую полицию, чему и была посвящена его заграничная стажировка (1818–1822). Вернувшись в Россию, он был утвержден в звании адъюнкт-профессора по кафедре повивального искусства, судебной медицины и медицинской

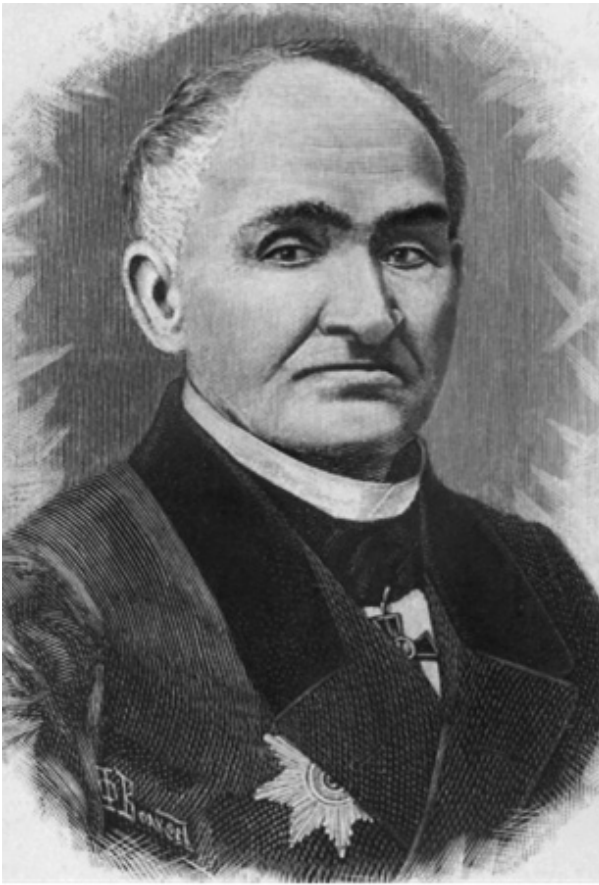


Рис. 1. Степан Фомич Хотовицкий (1796–1885)
(Микиртичан и др. 2021)

Fig. 1. Stepan F. Khotovitsky (1796–1885)
(Mikirtichan et al. 2021)

полицей при профессоре С. А. Громе, которую возглавил в 1836 году. Однако положение осложнялось тем, что С. Ф. Хотовицкий реорганизовывал преподавание, закладывая основы отечественной педиатрии, не имея при этом клиники. Он оставался руководителем теоретической кафедры акушерства, женских и детских болезней. Невозможность осуществления практической клинической деятельности угнетала Степана Фомича, ему так и не удалось создать своей школы в акушерстве и педиатрии. В 1847 году по выслуге лет он ушел в отставку (Микиртичан и др. 2021).

Однако для развития отечественной медицины вынужденная сосредоточенность Хотовицкого на теоретических изысканиях сослужила добрую службу. Блестящая подготовка, свободное владение латинским, немецким, английским, французским, польским и греческим языками, доскональное знание достижений медицины и физиологии того времени, позволили ему систематизировать имевшиеся знания в различных областях медицины, опираясь на фундаментальные научные положения, а так-

же заложить основы новых направлений. Так, в 1830 году в Военно-медицинском журнале выходит статья «О болезненном состоянии кровяных испражнений из матки», где он высказывает идею о необходимости переливания крови в случае сильной кровопотери у рожениц (Микиртичан и др. 2021). В этой работе С. Ф. Хотовицкий подробно описывает физиологическую роль менструации, а также прямо указывает на настоятельную потребность незамедлительного переливания крови при маточных кровотечениях (Хотовицкий 1830). Можно с уверенностью сказать, что именно идеи Хотовицкого послужили предпосылкой для осуществления первого переливания крови в России.

Первое переливание крови в России

Неподдельный интерес к гемотрансфузии как возможности спасения жизни рожениц С. Ф. Хотовицкий смог передать своему ученику Андрею Мартыновичу Вольфу. О его жизни известно крайне мало, что, очевидно, обусловлено отсутствием значимых постов и званий. Вольф занимал должность гражданского генерал-штаб-доктора, что соответствовало положению младшего (позднее старшего) акушера и гинеколога. Точные даты жизни неизвестны, но к моменту описываемого переливания крови Вольф имел 20-летний опыт работы в акушерстве и был уважаемым петербургским врачом. По инициативе Хотовицкого А. М. Вольф на рубеже 1820–1830-х годов был командирован в Лондон в клинику Джеймса Бланделла (Huestis 2004). Детали этой поездки нигде не описаны, однако, очевидно стажировка Вольфа была успешной, так как он овладел методикой гемотрансфузии знаменитого английского акушера, а также привез из Англии гемотрансфузионный аппарат Бланделла. Вероятнее всего, это был сконструированный Бланделлом в 1828 году гравитатор (рис. 2), хотя Вольф не описывает точную модификацию аппарата.

Двадцатого апреля 1832 года Вольф был вызван к роженице, умиравшей от обширной кровопотери. Он сразу понимает, что она при смерти, и промедление непременно приведет к ее гибели, а единственная надежда на спасение — гемотрансфузия. И Андрей Мартынович принимает единственно верное решение — приступает к переливанию крови, первому в России. В записях не указано ни кто был донором, ни какое количество крови было перелито. Он использовал аппарат Бланделла с дополнительным шприцем, кровоприемной чашей с прикрепленными трубками. Устройство было установлено

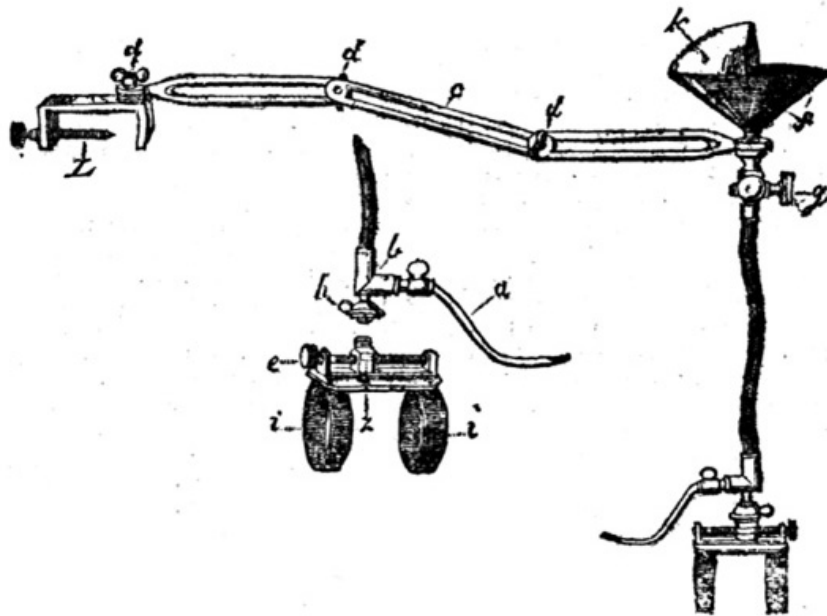


Рис. 2. Устройство гравитатора: а — венозная трубка, b — угловая латунная трубка, с — серебряные гибкие кронштейн-опоры, d — гайки кронштейн-опор, e — винт, f — приемник, g — запорный кран, h — шар и колпачок, i — браслет или пружинный зажим, k — козырек, L — винт или прочный зажим, z — винт (Blundell 1828)

Fig. 2. The Gravitator device. a — the venous tubule, b — the angular brass tube, c — the silver flexible arm-support, d — the nuts of the flexible arm-support, e — the screw, f — the receiver, g — the stop-cock, h — the ball and the cap, i — the bracelet or the spring clasp, k — the hood, L — the strong clamp or the vice, z — the screw (Blundell 1828)

на стуле между пациенткой, лежавшей на кровати, и донором. Вскрытие вен производили у локтя, чтобы при необходимости немедленно пережать для предотвращения дальнейшей кровопотери (Huestis 2004). Описание процеду-

ры переливания крови совпадает с изложенным Бланделлом (Blundell 1828), это служит в пользу предположения, что использованный гемотрансфузионный аппарат представлял собой именно гравитатор (рис. 3).



Рис. 3. Аппарат-гравитатор, готовый к использованию (Blundell 1828)

Fig. 3. The Gravitator ready for use (Blundell 1828)

Проведенное А. М. Вольфом первое переливание крови в России было успешным и привело к полному выздоровлению больной. Известна не только конкретная дата — оно состоялось в пятницу на Страстной неделе, 20 апреля 1832 года (8 апреля по ст. ст.), — но и точный адрес. Гемотрансфузия была проведена на квартире пациентки, в Санкт-Петербурге в доме Рагинского на Большой Мастерской улице (ныне Лермонтовский пр.), д. 10, кв. 53 (рис. 4). Именно 20 апреля в России ежегодно отмечают Национальный день донора крови, который был учрежден 20 февраля 2007 года на Круглом столе по проблемам донорства и службы крови в Государственной Думе РФ.

Обсуждая это успешное переливание и последующие шесть, повлекшие гибель пациенток, Вольф, как и Бланделл, указывал на необходи-

мость тщательного соблюдения условий проведения процедуры: вскрытие вены донора должно быть аккуратным, слишком большой размер отверстия приводит к быстрому току крови и ее свертыванию; важно следить за положением канюли у пациента, чтобы она не выскользнула. Инъекции крови должны повторяться столько раз, сколько необходимо для восстановления пациента (Huestis 2004). Однако нужно отметить, что в отличие от подробнейших описаний Бланделла и его коллег, записи Вольфа были отрывочными.

Первый случай переливания крови Вольф представил в устном докладе в 1832 г. И лишь в 1838 г., по приглашению профессора Ивана Федоровича Буша (1771–1843), известного петербургского хирурга, Андрей Мартынович доложил о проделанных им нескольких



Рис. 4. Вид центрального фасада дома № 10 на Лермонтовском проспекте. Архитектор Павел Данилович Шретер, год постройки — 1822. Центральный государственный архив кинофотофонодокументов Санкт-Петербурга. Архивный шифр ЦГАКФФД СПб. Гр 71141, дата съемки — 1949 г. (Источник: <https://spbarchives.ru/infres/-/archive/cgakffd/photo/gr71141>)

Fig. 4. The central facade of house No. 10 in Lermontovskiy Avenue, Saint Petersburg, Russia. Designed by the architect Pavel D. Schroeter, constructed in 1822. Central State Archive of Film, Photographic and Phonographic Documents of Saint Petersburg. Archival code CSAFPPD SPb Gr 71141, shooting date 1949 (URL: <https://spbarchives.ru/infres/-/archive/cgakffd/photo/gr71141>)

переливаниях. Печатный текст этого выступления, занимавший всего три страницы, появился на немецком языке только в 1842 году в Трудах Общества немецких врачей в Санкт-Петербурге и содержал крайне скудное описание методики переливания крови, примененной Вольфом (Huestis 2004). Сообщение Вольфа не привлекло большого внимания российских врачей. Резонанс это событие приобрело в 1846 году после разгоревшейся в печати дискуссии о переливании крови, начатой признанным авторитетом того времени академиком Ильей Васильевичем Буяльским (1789–1866). На личности Буяльского, сыгравшего важнейшую роль в привлечении внимания к проблеме переливания крови в России, стоит остановиться чуть подробнее.

И. В. Буяльский, доктор медицины и хирургии, заслуженный профессор Санкт-Петербургской ИМХА (рис. 5), принадлежал к плеяде знаменитых российских врачей, стоявших у истоков отечественной медицинской школы. Он был последователем виднейших ученых того времени: Петра Андреевича Загорского (1764–1846), Сергея Алексеевича Громова (1776–1856), Ефрема Осиповича Мухина (1766–1850), Ивана

Федоровича Буша (1771–1843). До глубокой старости с огромной теплотой Илья Васильевич вспоминал своего первого преподавателя анатомии в Московском отделении медико-хирургической академии Е. О. Мухина, о котором мы уже упоминали выше. Мухин был не только талантливым врачом и педагогом, но и распространителем необходимейших в России того времени переводных медицинских изданий, что было крайне важно в период, когда еще отсутствовали отечественные медицинские журналы. Также огромное влияние на Буяльского оказал И. Ф. Буш, профессор хирургической патологии и клиники ИМХА. Буяльский завоевал неизменное доверие Буша и был одним из его любимых учеников. Вполне закономерно, что сформировавшиеся под их влиянием профессиональные интересы И. В. Буяльского лежали именно в сфере анатомии и хирургии (Чистович 1876а; Шевченко и др. 2014).

Буяльский вел обширную хирургическую практику — им было выполнено свыше 2000 различных операций. Одним из важнейших предметов, занимавших внимание Ильи Васильевича, было изучение аневризм, чему и была



Рис. 5. Портрет профессора Медико-хирургической академии Ильи Васильевича Буяльского (1789–1866). Михаил Иванович Теребнев, 1829 г. Собрание Государственного Русского музея, Санкт-Петербург (Источник: https://rasmuseumvrm.ru/data/collections/painting/17_19/zh_5244/index.php)

Fig. 5. Portrait of Prof. Ilya V. Buyalsky (1789–1866) of the Medical and Surgical Academy. Mikhail I. Terebenev, 1829. Collection of the State Russian Museum, Saint Petersburg (URL: https://rasmuseumvrm.ru/data/collections/painting/17_19/zh_5244/index.php)

посвящена его «Медико-хирургическая диссертация, содержащая некоторые вопросы об аневризмах, относящихся к патологии и терапии», в которой он предложил новую теорию патогенеза аневризм, описал методы их лечения, подчеркнув значение лигирования артерий. Проблема купирования кровотечений как одна из ключевых в медицине была в центре внимания Буяльского, рассматривавшего ее как с хирургической, так и анатомической точки зрения. Поставив закономерный вопрос — нельзя ли облегчить изучение анатомического устройства органов и физиологических их отправления, равно как и патологий, через изолирование составляющих их анатомических элементов, он начал свои попытки именно с изолирования кровеносной системы. Плодом семилетних трудов по изучению аневризм стали Анатомико-хирургические таблицы, вышедшие в трех частях (1828, 1835, 1852), — первый в России оригинальный атлас по оперативной хирургии с текстами на русском и латинском языках, что принесло Буяльскому мировую известность (Чистович 1876а). Кроме того, занимаясь оперативным акушерством, он ввел и в этой области несколько весьма важных нововведений. Так, для остановки смертельного кровотечения при выкидышах Буяльский впервые решился на извлечение содержимого матки литотомической ложкой и восемь раз успешно провел эту операцию (Чистович 1876б).

И. В. Буяльский прослужил ровно 30 лет на преподавательской должности в ИМХА и в 1844 году вышел на пенсию, сохранив должность почетного члена ИМХА. Большая часть его литературных работ относится именно к периоду после 1844 года, он становится распространителем знаний, накопленных в ходе длительной хирургической практики. По утверждению Я. А. Чистовича, «не было медика в России, который бы не знал и не уважал его имени» (Чистович 1876б, 606). Неудивительно, что признанный авторитет, яркий талант и широчайший кругозор Буяльского определили живой интерес российских медиков к поднятой им проблеме переливания крови.

В 1846 году Буяльский опубликовал статью, посвященную переливанию крови и возможностям его применения в медицине. Вначале вышел материал в нескольких газетах, включая «Северную пчелу», а затем статья в Военно-медицинском журнале (Буяльский 1846). Он подробно рассматривал показания и условия этой операции, подчеркивал важность и востребованность гемотрансфузии и сокрушался, что, насколько ему известно, она еще не была

произведена в России. Закономерно возникает вопрос — был ли Буяльский знаком с докладом Вольфа? Вероятно, да. В статье он упоминает, что подобные процедуры были осуществлены, но не описаны их детали (кому была проведена процедура, когда, в чьем присутствии, кто выступил донором, сколько было перелито крови и т. д.), поэтому они не могут быть приняты как достоверные. Ссылаясь на Лоуэра, Дени и других зарубежных ученых, Буяльский выступил против рекомендаций избегать трансфузий крови животных человеку, а также отказаться от заполнения трубок водой и использования открытого шприца, допускающего контакт крови с воздухом, утверждая, что подобной опасности нет (Иванов, Петренко 2012). Далее он предлагает свой способ трансфузии, подробно описывая процедуру и снаряд для переливания крови, представляющий собой двойной сифон (наружная часть медная, внутренняя оловянная, между ними вливается теплая вода) с медной трубкой, оканчивающейся серебряной канюлей (Буяльский 1846).

Реакция Вольфа последовала незамедлительно. Он выступил в петербургских газетах, а также отправил статью в Военно-медицинский журнал, где заявил, что действительно осуществил успешное переливание крови уже в 1832 году. Его критика была опубликована в формате редакционной статьи, подписанной «Неизвестный автор». Вольф описал свои эксперименты, включая расширенную русскоязычную версию статьи, опубликованной на немецком языке в 1842 году. Русский перевод этой статьи и дополнительные комментарии Вольфа занимают 15 из 27 страниц, остальной текст является опровержением со стороны редакции журнала. Завершалось опровержение французской поговоркой: «C'est par les morsures de certaines guêpes, qu'on découvre le miel» — терпя жало осы, мы находим мед (Huestis 2004). Однако, отвлекаясь от личного характера дискуссии, необходимо отметить, что она привлекла широкое внимание к проблеме переливания крови, которой интересовались уже многие российские медики.

Развитие переливания крови в XIX веке

Особо среди них следует выделить Алексея Матвеевича Филомафитского (1807–1849), доктора медицины, профессора и декана медицинского факультета Московского университета (рис. 6). По окончании обучения он прошел стажировку в Дерптском университете, а также в лаборатории знаменитого физиолога Иоганна Петера Мюллера (1801–1858), а в 1835 году стал

преемником Е. О. Мухина по курсу физиологии в Московском университете. Филомафитский выступал горячим сторонником экспериментального метода в физиологии, впервые ввел в преподавание демонстрацию опытов на животных. Широко применял оптические приборы, одним из первых в России использовал микроскоп Плесселя для исследования клеток крови (Коштова 1946).

В 1848 году А. М. Филомафитский издает «Трактат о переливании крови (как единственном средстве во многих случаях спасти угасаю-

щую жизнь)» (рис. 7), первую в России монографию о переливании крови, где описывает историю переливания крови с древнейших времен до современного ему периода, систематизирует имевшиеся представления о трансфузии и дает блестящее обоснование значения переливания крови при кровопотере, уделяя особое внимание роли переносимого кровью кислорода: «мы с уверенностью можем ожидать животворного влияния насыщенной кислородом крови на ослабленную жизненность головного и спинного мозга, а с ними и всего организма»



Рис. 6. Интерьер в квартире Алексея Матвеевича Филомафитского в Москве в Антипьевском переулке. Николай Иванович Подключников. 1830-е гг. Слева направо: Г. И. Сокольский — профессор терапии, патологии и психиатрии (крайний слева); А. М. Филомафитский — профессор физиологии, общей патологии, декан медицинского факультета (сидит на подоконнике); П. Г. Редькин — профессор законовещения и правоведения (в центре с книгой); Л. Д. Крюков — профессор римской словесности и древней истории (на диване с трубкой); Ф. И. Иноземцев — профессор практической хирургии.

Музей В. А. Тропинина и московских художников его времени, Москва

(Источник: <https://museum-tropinina.ru/wp-content/uploads/2022/12/MT-KP-432-Podklyuchnikov-N.I.-Kartina-Interer-v-kvartire-Alekseya-Matveevicha-Filamofitskogo-v-Moskve-v-Antipevskom-pereulke-okolo-1.jpg>)

Fig. 6. Interior of Alexei M. Filamofitsky's apartment in Antipevsky Lane, Moscow. Nikolai I. Podvyachnikov, 1830s. From left: G. I. Sokolsky, Professor of Therapy, Pathology and Psychiatry (far left); A. M. Filamofitsky, Professor of Physiology, General Pathology, Dean of the Faculty of Medicine (sitting on the windowsill); P. G. Redkin, Professor of Law (in the center, with a book); L. D. Kryukov, Professor of Roman Literature and Ancient History (on the sofa, with a pipe); F. I. Inozemtsev, Professor of Practical Surgery. Collection of the Museum of V. A. Tropinin, Moscow (URL: <https://museum-tropinina.ru/wp-content/uploads/2022/12/MT-KP-432-Podklyuchnikov-N.I.-Kartina-Interer-v-kvartire-Alekseya-Matveevicha-Filamofitskogo-v-Moskve-v-Antipevskom-pereulke-okolo-1.jpg>)

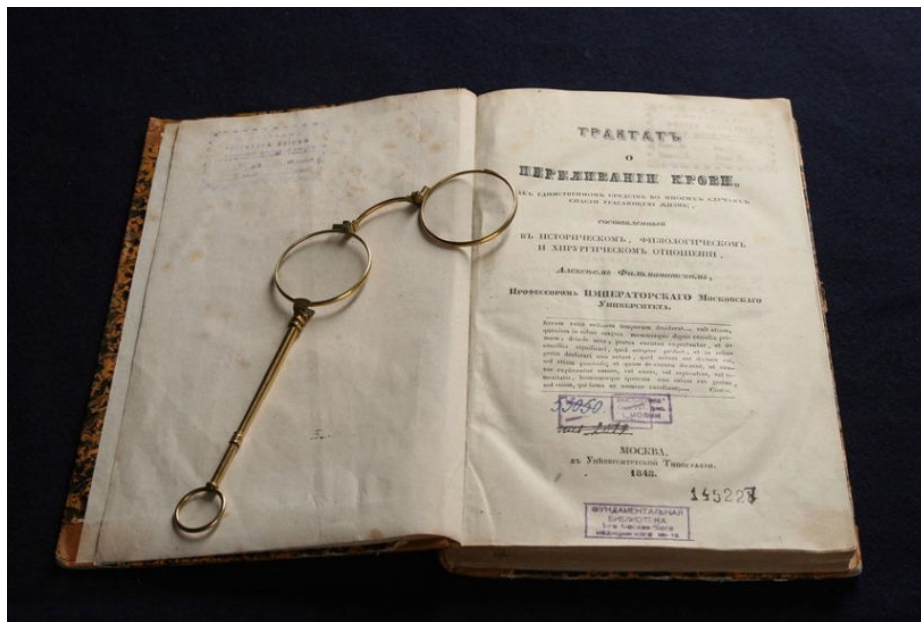


Рис. 7. Титульный лист книги «Трактат о переливании крови (как единственном средстве во многих случаях спасти угасающую жизнь)» А. М. Филомафитского (1848) (Источник: <https://old.nlrs.ru/exhibitions/spasaya-zhizni/>)

Fig. 7. The title page of “Treatise on Blood Transfusion as, in Many Instances, the Only Means to Save a Fading Life” by A. M. Filomafitsky (1848) (URL: <https://old.nlrs.ru/exhibitions/spasaya-zhizni/>)

(Филомафитский 1848, 282). Кроме того, он приводит собственные обширные экспериментальные наблюдения, проведенные на протяжении 13 лет. В его опытах животные доводились до «обморочного» состояния кровопусканиями, а затем им вводили дефибрированную кровь других животных как одного вида, так и разных видов, родов и даже семейств (собаки, кошки, козы, овцы, жеребята). Это приводило к полному выздоровлению животных: «постоянный результат всех указанных опытов был самый счастливый» (Филомафитский 1848, 295). Вливание же птичьей крови собакам приносило худшие результаты — переливание голубиной крови всегда влекло гибель собак. Таким образом, он подтверждает постулат о необходимости переливания крови близких видов, предпочтительно одного вида.

Филомафитский детально описывает процедуру гемотрансфузии и используемые инструменты, а также прилагает описание предложенного им трансфузионного аппарата, состоящего из стеклянной цилиндрической трубки с медной оправой и краном и изогнутой серебряной трубки, соединенной с цилиндром эластической трубкой. Он обращает внимание на необходимые предосторожности: вливание крови необходимо производить медленно; не нужно вливать столько же крови, сколько потеряно (одной шестой доли потерянного количества будет достаточно для возбуждения

угасающей жизни); кровь нужно очищать от фибрина; следить, чтобы с вливаемой кровью в вены не попадал воздух; подогревать кровь во избежание свертывания (Филомафитский 1848). Заключает Алексей Матвеевич свой трактат указанием случаев, когда переливание крови «может быть употреблено с пользою для страждущего человечества» (Филомафитский 1848, 312). Он советует применять вливание дефибрированной крови во всех случаях значительной кровопотери: при ранениях, тяжелых операциях, сильных кровотечениях, в том числе акушерских. Кроме того, переливание он рекомендует при заболеваниях крови, например, анемии, а также других заболеваниях, в частности, холере.

Переливанию сыворотки крови телят человека, больному холерой, уделено значительное место в трактате. Сам Филомафитский не проводил трансфузий людям, он описывает операцию, проведенную прозектором Московского университета Иваном Матвеевичем Соколовым (1816–1872) (рис. 8) в 1847 году. В то время Соколов только начинал свою профессиональную деятельность после окончания Московского университета в 1843 году (Змеев 1885). Он по предложению Филомафитского и с одобрения главного доктора временной холерной больницы профессора Федора Ивановича Иноземцева (1802–1869) вместо солевого раствора, ранее употребляемого без успеха, влил больному

холерой полфунта крови теленка. Случай этот описан весьма подробно. Крестьянин Ефрем Никифоров, в возрасте около 50 лет, был помещен во временную холерную больницу утром 24 ноября 1847 года с симптомами холеры, вскоре ему стало хуже, пульс стал слабеть, дыхание было сильно затруднено. Около 12 часов утра Соколов приступил к вливанию телячьей сыворотки, подогретой до 32° по Реомюру. При этом был использован кровевливательный аппарат Филомафитского, примененный им ранее в опытах на животных. Процедура трансфузии описана подробнейшим образом, при этом отражено детальное наблюдение за состоянием больного во время операции. По окончании трансфузии больного укутали одеялами и оставили в покое, к 7 часам вечера состояние его улучшилось, а наутро сделалось еще лучше, пульс составлял 70 ударов в минуту. 26 ноября восстановились все физиологические функции, 29-го Никифоров был переведен в палату выздоравливающих, а через несколько дней выписан совершенно здоровым (Филомафитский 1848).

Важность данного события следует подчеркнуть особо — это было первое в мире переливание сыворотки крови. За рубежом сыворотка впервые была перелита лишь спустя почти 100 лет, в 1932 году австрийским врачом Гансом Кунцем (Иванов, Петренко 2012).



Рис. 8. Иван Матвеевич Соколов (1816–1872)
(Волков, Куликова 2003)

Fig. 8. Ivan M. Sokolov (1816–1872)
(Volkov, Kulikova 2003)

Эти работы дали мощный толчок для посвященных проблемам переливания крови исследований русских ученых. Среди них нужно отдельно выделить Василия Васильевича Сутугина (1839–1900) (рис. 9), акушера, гинеколога, прослужившего 20 лет доктором при штате Собственного Его Величества двора и конторы августейших детей и состоявшего членом-учредителем Московско-Петербургского медицинского общества, Санкт-Петербургского акушерско-гинекологического общества, Русского хирургического общества Пирогова и членом-корреспондентом Эдинбургского акушерского общества (как тут не вспомнить выдающуюся роль Эдинбургского университета в развитии переливания крови) (Альманах... 1897).

В. В. Сутугин был учеником Антона Яковлевича Красовского (1821–1898), выдающегося русского медика, доктора медицины, профессора ИМХА, основоположника акушерства в России, высказывавшего идеи о переливании крови в акушерских случаях. Именно под влиянием Красовского Сутугин обратился к трансфизиологическим изысканиям, по результатам которых в 1865 году защитил диссертацию «О переливании крови» на соискание степени

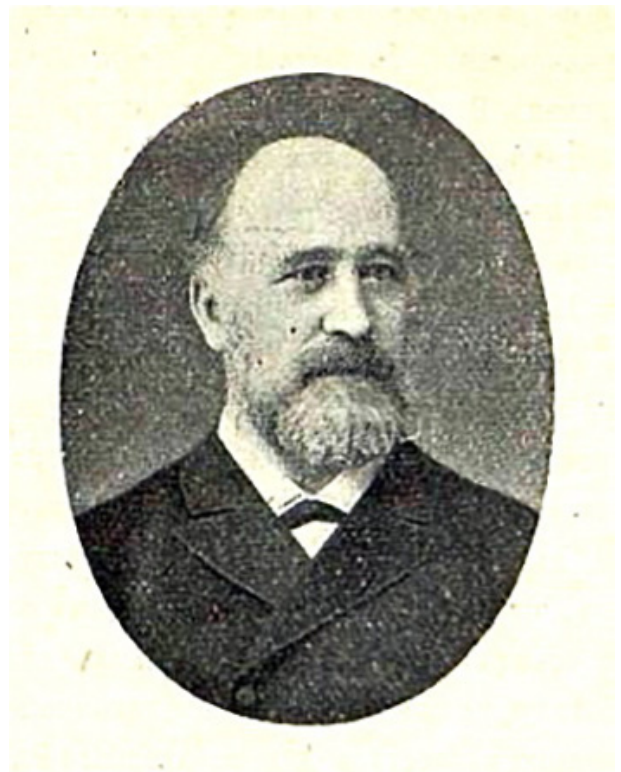


Рис. 9. Василий Васильевич Сутугин (1839–1900)
(Альманах... 1897)

Fig. 9. Vasily V. Sutugin (1839–1900)
(Almanac... 1897)

доктора медицины, где поднял проблему свертывания крови: «дефибринированная кровь скорее замедляет свертывание, чем ускоряет его» (Сутугин 1865, 15). В этой работе он впервые в мире предложил два основополагающих метода трансфузиологии: 1) консервирование крови для ее последующего применения и 2) возвращение (реинфузия) излившейся крови в сосудистое русло реципиента (Сутугин 1865). В качестве способа консервирования Сутугин предлагал хранение дефибринированной крови в течение недели при температуре 0° С, основываясь на экспериментах, проведенных им на собаках с использованием аппарата Эммерта (рис. 10). Он выступал за переливание дефибринированной крови и подчеркивал важность внутривидовой трансфузии: «для человека брать только человеческую кровь» (Сутугин 1865, 54).

Подробно описывая процедуру трансфузии, Сутугин уделял большое внимание ее возможным последствиям: попадание воздуха в вены, паралич сердца от большого вливания крови, тромбоз, возможность заражения инфекционными заболеваниями. Обосновывая необходимость предложенных методов, он подчеркивал важнейшее значение гемотрансфузий в условиях военных действий. Нужно отметить, что военная трансфузиология в XIX веке наиболее успешно развивалась именно в России. Еще И. В. Буяльский в 1846 году впервые указывал на необходимость переливания крови раненым (Буяльский 1846), и далее мы увидим многочисленные успехи русской военной трансфузиологии.

Для трансфузиологии, особенно военной, когда остро стоит вопрос времени, крайне важна проблема консервирования крови. Однако реализация этой идеи на практике стала возможной лишь с открытием веществ, предотвращающих быстрое свертывание крови вне кровяного русла. Научный прорыв совершил Вильгельм Михайлович Раутенберг (1840—1879), доказавший в экспериментах на собаках, что добавление минимального количества углекислого натрия задерживает свертываемость крови, не лишая ее необходимых для переливания свойств (Раутенберг 1867). Он на четверть века опередил английского бактериолога и иммунолога Алмрота Эдварда Райта (1861—1947), сообщившего об увеличении времени свертывания крови у животных при введении небольшого количества цитратов (Wright 1894). Кроме того, Раутенберг обращается к вопросу возможности применения переливания крови при отравлениях. Проведенные им гемотрансфузии собакам при отравлении хлороформом и морфием показали, что замена крови может за несколько

минут вывести животное из самой глубокой анестезии (Раутенберг 1867).

В 1872 году А. Н. Прозоров впервые в мире совершил успешное переливание крови при отравлении угарным газом. Пациент шесть часов провел в комнате с угарным газом. Прозоров за восемь приемов перелил четыре унции дефибринированной человеческой крови. На третий день после переливания больной пришел в сознание, а затем полностью выздоровел (Табуре 1873).

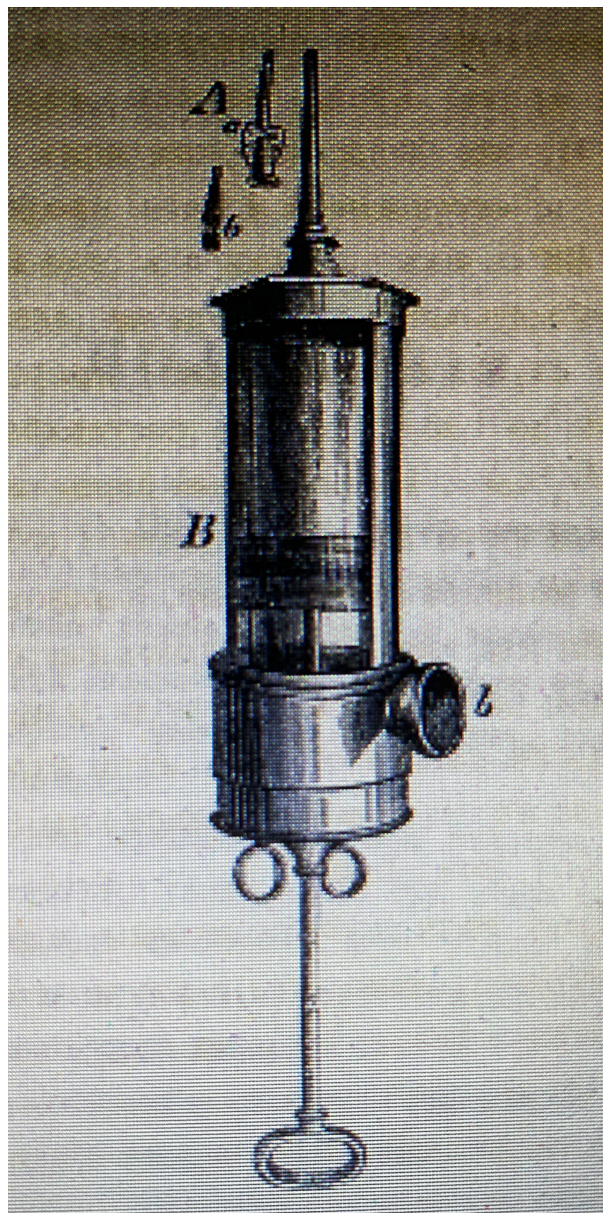


Рис. 10. Трансфузионный аппарат, используемый В. В. Сутугиным. А — трубочка Эммерта: а — крылышко, б — пробочка. В — сифон Матье: б — воронка для вливания крови (Сутугин 1865)

Fig. 10. Transfusion apparatus used by V. V. Sutugin. А — Emmert's tube: а — a wing, б — a plug. В — Mathieu's siphon: б — a funnel for blood infusion (Sutugin 1865)

Обоснованию огромной роли переливания крови в военно-полевой хирургии посвящена и диссертация Николая Александровича Табуре (1838–1916), который очень основательно подошел к изучаемой проблеме. Он обращает внимание на изменение химического состава крови при кровопотере, показанное как русскими, так и зарубежными медиками. Потеря крови влечет за собой обеднение ее форменными элементами — Толмачев в 1868 году нашел, что количество гемоглобина при кровопотере уменьшается, и тем больше, чем значительнее кровопотеря. Последствия потери крови, как показала работа Юрия Трофимовича Чудновского (1843–1896), приводят к повышению температуры тела, воспалению в различных органах и лихорадке (Чудновский 1869). Табуре подтверждает, что значительная потеря крови ранеными занимает едва ли не первое место среди причин осложнений ран. С целью обоснования различных способов переливания крови раненым он при участии профессора ИМХА Николая Васильевича Склифосовского (1835–1904) прodelывает серию опытов с переливанием крови как одного, так и разных видов животных, в основном используя собак, но также кошек, овец и телят. В работе Табуре подробнее описаны 28 экспериментов на животных с указанием их веса, состояния, процедуры переливания, проводимых операций (ампутаций), самочувствия после операций (рис. 11). На основании проведенных опытов Николай Александрович приходит к следующим выводам: 1) дифибринированная кровь легко переносится, если будет переливаться медленно и в меньших количествах в сравнении с потерянной кровью; 2) дефибрированная кровь, сохраняемая при 0° С, действует так же, как и тотчас дефибрированная; 3) переливание дефибрированной крови незадолго перед ампутацией и тотчас после нее ведет к смертельным кровотечениям из раны, а за сутки перед ампутацией и через двое суток после нее — к благополучному исходу; 4) переливание цельной крови по своим неудобствам и опасностям далеко уступает переливанию дефибрированной; 5) переливание дефибрированной крови травоядных животных может быть применено раненым в полевых лазаретах; 6) для осуществления переливания крови в лазаретах должны быть специальные наборы для сбора, фильтрации и переливания крови (стеклянный сифон, тричетыре серебряных прута для дефибрирования крови, тканевые фильтры, изогнутые серебряные канюли) (Табуре 1873).

С рекомендациями Н. А. Табуре относительно переливания крови при ампутациях согла-

шался и приват-доцент кафедры десмургии и ортопедии Императорского Казанского университета Николай Иванович Студентский (1845–1891). Он в 1874 году советовал применять переливание крови в качестве профилактического средства перед оперативным вмешательством, впоследствии эта идея получила всеобщее признание (Загоскин 1900; Иванов, Петренко 2012).

Особое место в истории военной трансфузиологии занимают работы профессора Сергея Петровича Коломнина (1842–1886) (рис. 12). По окончании обучения в 1865 году он был оставлен при ИМХА ординатором госпитальной хирургической клиники, руководимой профессором Александром Александровичем Китером (1813–1879), основоположником русской хирургической гинекологии. В 1869 году Коломнин защитил диссертацию «Восстановление кровообращения у человека после перевязки больших артериальных стволов» под руководством профессора Петра Павловича Пелехина (1789–1871). Работа была выполнена во многом под влиянием Николая Ивановича Пирогова. Именно Н. И. Пирогов обратил внимание хирургов и анатомов на хирургическую анатомию кровеносных сосудов (Михалкина, Михалкин 2022). В 1872 году Коломнин занял должность доцента кафедры госпитальной хирургии Императорского Киевского университета имени Святого князя Владимира, сменив Н. В. Склифосовского. В этом же году в Киеве он проводил переливание крови по методу Гютера: свежую дефибрированную кровь переливал в периферический конец лучевой артерии с помощью шприца объемом 200–400 мл, отмечая простоту и эффективность этого метода, не требующего сложных аппаратов. Коломнин отдавал предпочтение методу внутриартериального переливания дефибрированной крови, что, по его мнению, приводило к меньшему количеству осложнений, чем при внутривенном переливании (Почтарник, Рева 2016). Эту точку зрения в 1879 году профессор отстаивал, выступая с сообщением «Об артериальном переливании дефибрированной крови» в прениях на заседании Общества русских врачей под председательством С. П. Боткина, где сожалел, что артериальное переливание — операция весьма безопасная и очень полезная, незаменимая при травматических кровотечениях и в области акушерства — применяется очень редко (Околов 2009).

По приглашению Сергея Петровича Боткина (1832–1889) со снаряженным им на личные средства санитарным отрядом в 1876 году С. П. Коломнин отправился на балканский театр

— 82 —

№ опыта	Время наблюдения	НАДЪ ИШКОБЕЦЪ	Взвѣска				Всѣхъ веществъ	Въ развѣсѣ	Отъ этого количества вѣсы при 100°	Качество	Прочность	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°
			Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°													
1	1873 г. 1311 годъ	Сѣно въ жаркѣ	3718	200	3078	388	43,0		Сѣно, сѣно и сѣно	120	20,15	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
2	1874	Сѣно въ жаркѣ	4264	230	4234	230	55,0		Сѣно, сѣно и сѣно	60	11,31	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
3	1906	Сѣно въ жаркѣ	3638	200	3038	238	65,0		Сѣно, сѣно и сѣно	260	12,03	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
4	1876	Сѣно въ жаркѣ	7441	340	7101	340	30,0		Сѣно, сѣно и сѣно	200	12,43	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
5	1873 г. 22-е июля	Сѣно въ жаркѣ	5444	230	5114	230	38,0		Сѣно, сѣно и сѣно	180	16,85	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
6	1873	Сѣно въ жаркѣ	2628	200	2428	228	34,0		Сѣно, сѣно и сѣно	200	20	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
7	1873 г. 22-е июля	Сѣно въ жаркѣ	4222	230	4112	230	50,0		Сѣно, сѣно и сѣно	60	11,15	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
8	1873 г. 2-е июля	Сѣно въ жаркѣ	6928	340	6588	340	50,0		Сѣно, сѣно и сѣно	200	12,20	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
9	1873	Сѣно въ жаркѣ	3176	200	2976	200	51,8		Сѣно, сѣно и сѣно	110	7,28	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
10	1873	Сѣно въ жаркѣ	1920	100	1820	120	54,3		Сѣно, сѣно и сѣно	100	40,91	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
11	1873	Сѣно въ жаркѣ	3271	150	3121	150	31,1		Сѣно, сѣно и сѣно	100	17,48	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
12	1873	Сѣно въ жаркѣ	2005	100	1905	100	21,9		Сѣно, сѣно и сѣно	100	13,56	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
13	1873	Сѣно въ жаркѣ	3071	100	2971	100	42,0		Сѣно, сѣно и сѣно	100	15,04	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
14	1873	Сѣно въ жаркѣ	3113	100	3013	100	37,0		Сѣно, сѣно и сѣно	100	12,43	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
15	1873	Сѣно въ жаркѣ	2005	100	1905	100	34,3		Сѣно, сѣно и сѣно	100	15,04	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
16	1873	Сѣно въ жаркѣ	3005	100	2905	100	34,3		Сѣно, сѣно и сѣно	100	15,04	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
17	1873	Сѣно въ жаркѣ	3005	100	2905	100	34,3		Сѣно, сѣно и сѣно	100	15,04	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°

— 83 —

№ опыта	Время наблюдения	НАДЪ ИШКОБЕЦЪ	Взвѣска				Всѣхъ веществъ	Въ развѣсѣ	Отъ этого количества вѣсы при 100°	Качество	Прочность	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°
			Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°	Вѣсъ при 100°													
18	1873	Сѣно въ жаркѣ	2925	100	2825	100	33,3		Сѣно, сѣно и сѣно	100	12,11	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
19	1873	Сѣно въ жаркѣ	3111	150	2961	150	26,11		Сѣно, сѣно и сѣно	100	12,11	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
20	1873	Сѣно въ жаркѣ	3628	200	3428	200	48,0		Сѣно, сѣно и сѣно	200	12,03	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
21	1873	Сѣно въ жаркѣ	2905	150	2755	150	50,1		Сѣно, сѣно и сѣно	100	20,28	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
22	1873	Сѣно въ жаркѣ	1508	100	1408	100	26		Сѣно, сѣно и сѣно	100	21	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
23	1873	Сѣно въ жаркѣ	1505	100	1405	100	21,36		Сѣно, сѣно и сѣно	10	2,12	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
24	1873	Сѣно въ жаркѣ	4147	200	3947	200	50,31		Сѣно, сѣно и сѣно			Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
25	1873	Сѣно въ жаркѣ	3185	100	3085	100	38,34		Сѣно, сѣно и сѣно	100	12,11	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
26	1873	Сѣно въ жаркѣ	3721	200	3521	200	47,83		Сѣно, сѣно и сѣно	200	48,52	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
27	1873	Сѣно въ жаркѣ	1855	100	1755	100	41,50		Сѣно, сѣно и сѣно	200	20,18	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°
28	1873	Сѣно въ жаркѣ	15475	250	15225	250	20,30		Сѣно, сѣно и сѣно	230	43,05	Вѣсъ при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°	Сѣно при 100°

Рис. 11. Сводная таблица экспериментов Н. А. Табуре (Табуре 1873)

Fig. 11. A summary table of experiments by N. A. Tabure (Tabure 1873)



Рис. 12. Сергей Петрович Коломнин (1842–1886)
(Почтарник, Рева 2016)

Fig. 12. Sergey P. Kolomnin (1842–1886)
(Pochtarnik, Reva 2016)

Сербско-турецкой войны, где участвовал в руководстве хирургической частью походных лазаретов. Проявив себя не только прекрасным военно-полевым хирургом, но и превосходным организатором, он впоследствии по приглашению главного управления Общества Красного Креста принимал участие в медицинском обеспечении русской армии в Румынии и Бессарабии во время Русско-турецкой войны 1877–1878 годов, разразившейся вслед за Сербско-турецкой войной (Воронихин 1890). Именно в период Сербско-турецкой военной кампании 1876 года Коломнин произвел первое в мире переливание дефибринированной крови раненым в военно-полевых условиях, а затем во время Русско-турецкой войны несколько раз осуществлял гемотрансфузии. Результатом почти двухлетнего пребывания Коломнина на театре военных действий стал «Общий медицинский очерк Сербско-турецкой войны 1876 года и тыла армии в Бессарабии и Румынии во время Турецкой войны 1877 г.», где хирург описывает проведенные

в условиях боевых действий гемотрансфузии (Коломнин 1878). Это стало несомненным успехом русской военной трансфузиологии и в дальнейшем спасло жизни многим раненым.

Результаты работ С. П. Коломнина воочию наблюдал Николай Иванович Пирогов (1810–1881), во время Русско-турецкой войны Общество Красного Креста возложило на знаменитого хирурга поручение осмотреть все санитарные учреждения на театре войны и в тылу действующей армии (рис. 13), а также средства транспортировки больных и раненых по грунтовым и железным дорогам (Малис 1893). Громадный собранный материал с выводами и заключениями Пирогов изложил в известном сочинении «Военно-врачебное дело и частная помощь на театре войны в Болгарии и в тылу действующей армии в 1877–1878 гг.», изданном Обществом Красного Креста в 1879 году (рис. 14). В этом труде Пирогов высоко оценивает организаторские способности С. П. Коломнина, многократно ссылаясь на его очерк 1878 года. Упоминает о проведенных Коломниным переливаниях крови в боевых условиях: «Профессоръ Коломнинъ въ Фратештахъ прибѣгалъ нѣсколько разъ къ переливанію крови, въ случаяхъ отчаяннаго анэмического истощенія и предпосылалъ эту операцію ампутаціямъ. Онъ переливалъ, непосредственно, вслѣдъ за ампутаціею около одного фунта дефибринированной крови въ периферический конецъ лучевой артеріи. Хотя изъ 4 ампутированныхъ, при переливаніи крови, ни одинъ не остался въ живыхъ; но, одинъ, съ огнестрѣльнымъ переломомъ предплечія, послѣ ампутаціи праваго плеча, соединенной съ переливаніемъ крови въ лѣвую лучевую артерію, прежде не поднимавшій головы отъ головокруженія, на другой же день операціи сидѣлъ на кровати, черезъ недѣлю гулялъ, и только черезъ мѣсяць умеръ, вслѣдствіе хоронической септикэміи. Наконецъ, въ одномъ случаѣ, раненный пулею въ плечо, потерявшій много крови и пережившій сдѣланную по этому поводу перевязку подкрыльцевой артеріи, ослабѣлъ въ теченіи мѣсяца, вслѣдствіе обширныхъ гнойныхъ затековъ, поносовъ и болотной лихорадки, до того, что считался безнадежнымъ. Ему сдѣлана была трансфузія, темъ же самымъ способомъ (до 260 - 300 куб. сент. человѣческой дефибринированной крови въ периферическій конецъ лучевой артеріи). Я его видѣлъ въ яскомъ барачномъ госпиталѣ (въ концѣ сентября 77 года) уже съ зажившими ранами въ весьма удовлетворительномъ состояніи, а черезъ 6 недель, после нашего посѣщенія (въ ноябрѣ 77 г.), онъ отправленъ выздоровѣвшимъ въ транспортъ.

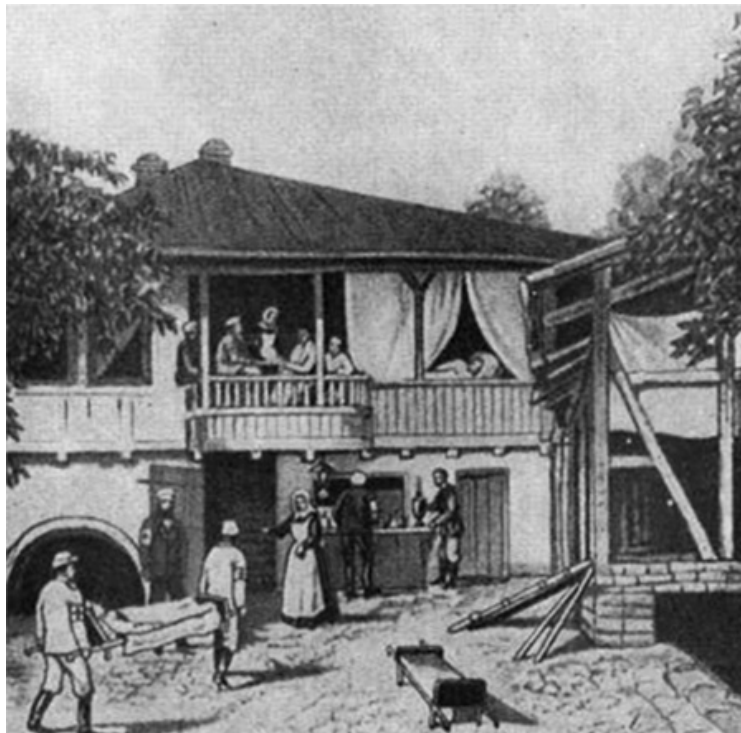


Рис. 13. Н. И. Пирогов в лазарете в Систово во время Русско-турецкой войны (Порудоминский 1969)
Fig. 13. N. I. Pirogov in the military hospital in Sistova during the Russian-Turkish war (Porudominsky 1969)



Рис. 14. Титульный лист книги Н. И. Пирогова «Военно-врачебное дело и частная помощь на театре войны в Болгарии и в тылу действующей армии в 1877–1878 гг.» (1879)
(Источник: <https://www.litfund.ru/auction/440s1/23/>)

Fig. 14. The title page of “Military Medicine and Private Medical Help at the Battlefield in Bulgaria and in the Rear, 1877–1878” by N. I. Pirogov (URL: <https://www.litfund.ru/auction/440s1/23/>)

Артериальная трансфузия въ госпитальной практике тѣмъ безопаснѣе венозной, что она не располагает къ развитію піемій» (Пирогов 1879, 271–272). Пирогов, основываясь на опыте Коломнина, подчеркивал, что гемотрансфузии должны явиться составной частью хирургической помощи раненым в госпиталях. Он не только наблюдал за становлением этого нового лечебного метода, но и сам исследовал его экспериментально, а также перенес переливание крови в клинику (Шевченко и др. 2019).

При этом надо отметить, что переливание крови как сложный хирургический метод, требовавший особых условий, не гарантировало благоприятного исхода и не получило широкого применения в военной медицине XIX века. Хотя Жаклин Даффин в книге «История медицины» (Duffin 2021) упоминает о переливании цельной крови в армиях Австрии, Бельгии и России во время Франко-прусской войны 1870–1871 годов, скорее всего, речь идет о якобы имевшей место гемотрансфузии при помощи устройства для прямого переливания крови, изобретенного в 1864 году швейцарским врачом Жозефом-Антуаном Русселем (1837–1901) (Roussel 1877). Этот аппарат не имел успеха на Парижской международной выставке 1867 года. Руссель, обладавший незаурядной коммерческой жилкой, понял, что массовое применение его изобретения наиболее перспективно в военной медицине. В 1870-х годах он активно пропагандировал свой трансфузионный аппарат и смог организовать его поставку армиям Австро-Венгрии (1874 г.), России (1874 г.), Бельгии (1876 г.), именно тех стран, о которых упоминает Даффин. Французские и немецкие власти не закупали аппараты Русселя ни для гражданских больниц, ни для армейских медицинских служб (Sergeeva, Panova 2021). Аппарат Русселя описан нами ранее (Никитина 2022), здесь же коснемся попыток его применения в России. В 1873 году на Венской всемирной ярмарке Руссель представил свой аппарат Венскому обществу врачей и международной медицинской комиссии под руководством Теодора Биллрота (1829–1894), созданной специально для обсуждения моделей аппаратов с учетом опыта Франко-прусской войны (1870–1871). Она включала видных исследователей, изучавших переливание крови (И. Дж. Нойдорфер, Р. Вирхов и др.). Россию в комиссии представляли чиновники Главного военно-медицинского управления Николай Илларионович Козлов (1814–1889), Христиан Богданович Риттер (1814–1885), генералы Михаил Николаевич Анненков (1835–1899) и Александр Карлович Баумгартен (1815–1883), военные

врачи Иосиф Васильевич Бертенсон (1833–1895) и Ипполит Осипович Корженевский (1827–1879). Комиссия признала аппарат «идеальным устройством для прямого переливания крови» и рекомендовала его для использования в военной хирургии. В декабре 1873 года Руссель отправил письмо Главному военно-медицинскому инспектору Н. И. Козлову с предложением о внедрении его изобретения. В январе 1874 года Руссель был приглашен в Россию, где заключил контракт на поставку 200 приборов и был награжден орденом Святого Владимира четвертой степени. В феврале того же года Руссель работал в различных больницах Санкт-Петербурга, таких как хирургическая клиника ИМХА, родильная клиника, военно-морская клиника и тюремный госпиталь. Он проводил публичные процедуры переливания крови при участии известных российских медиков Раутенберга, Гезелиуса, Корженевского, военных и гражданских врачей, слушателей ИМХА и даже герцога Александра Константина Фридриха Ольденбургского (1844–1932) (Sergeeva, Panova 2020).

Поддерживал Русселя Оскар Фердинандович Гейфельдер (1828–1890), немецкий хирург, поступивший в 1854 году на службу в России. Он был знаком с Русселем после Парижской международной выставки 1867 года, помогал в демонстрациях его устройства и составил подробный отчет об их результатах и возможности применения в военной медицине. Согласно докладу Гейфельдера, Руссель провел свыше 20 переливаний крови в России, в том числе пациентам, страдавшим цингой, холерой, опухолями глотки или матки, диареей, нагноением локтевых или коленных суставов, воспалением почек, тифом, катаральным воспалением легких, кишечными язвами. В качестве доноров выступали здоровые крестьяне от 30 до 40 лет, жены пациентов или сотрудники больницы. Трансфузии приводили к улучшению состояния пациентов, однако тяжелые больные впоследствии умерли. Гейфельдер писал, что устройство Русселя может быть названо лучшим из известных в то время и пригодным для использования в военно-медицинской практике, отмечая, что внедрение требует дальнейшего экспериментального исследования. На основании доклада Гейфельдера Главное военно-медицинское ведомство рекомендовало оснастить все военно-медицинские учреждения этими устройствами. Подобный успех вскружил голову Русселю, пожелавшему стать монополистом в поставке устройств для переливания крови в России. Он потребовал от Главного военно-медицинского управления не покупать и не производить устройства, аналогичные его

аппарату, и приобретать усовершенствованные устройства только у него. Как это ни удивительно, Управление согласилось на все требования Русселя, и вскоре 200 трансфузионных аппаратов на сумму 10 000 рублей были закуплены и отправлены в военные госпитали всех российских округов. Однако их массовое использование было крайне затруднено непродуманностью условий эксплуатации, сложностью конструкции с использованием резиновых деталей, новых для тех лет, необходимостью подготовки военных хирургов к использованию аппарата. Чиновники Управления А. А. Китер и Х. Б. Риттер затребовали инструкции для аппарата, однако их у Русселя не было. В марте 1875 года было получено 200 аппаратов из Женевы. Они были осмотрены на заводе военно-медицинских препаратов в Санкт-Петербурге И. О. Корженевским и О. Ф. Гейфельдером и отправлены во все российские военные госпитали, а также рекомендованы для использования в гражданских больницах Министерством внутренних дел. Однако местные власти не торопились следовать этим рекомендациям. Так, власти Забайкалья отказались покупать аппараты Русселя из-за высокой цены в 50 рублей и малоизвестности процедуры переливания крови. Таким образом, несмотря на то, что аппараты Русселя были закуплены и доставлены в российские военные госпитали, они не получили широкого распространения в российской военно-полевой хирургии в 1870-х годах (Sergeeva, Panova 2020). Впервые выполненные в боевых условиях С. П. Коломнинным переливания крови были осуществлены с использованием других подходов и устройств. Нет официальных сведений об использовании аппарата Русселя в военной медицине, особенно на поле боя (Bernier 2020). Более того, устройство Русселя фактически не использовалось в больницах или частной практике, в том числе по причине сложной конструкции, требовавшей от врачей специальных навыков для использования (Jennings 1883).

Итак, можно заключить, что эпопея с поставками трансфузионных аппаратов Русселя в русскую армию — это история финансового успеха, тщетная с медицинской точки зрения. Однако на данное предприятие можно взглянуть и под другим углом — оно наглядно показывает, что потребности военной медицины в массовом применении гемотрансфузий опережали технические возможности их реализации. Кроме того, именно в России Русселю удалось добиться столь значительных поставок своего устройства, что убедительно доказывает востребованность массового переливания крови для спасения

жизней раненых не только среди военных хирургов, но и на государственном уровне.

Еще один интересный аспект пребывания Русселя в России — обострение дискуссии о возможности гетерологичного переливания крови. И. О. Корженевский и А. Я. Красовский выполнили переливание крови с использованием аппарата Русселя под его наблюдением. При этом Руссель отметил, что они категорически отказались от переливания крови животных людям (Sergeeva, Panova 2020). Описывавший же это Гейфельдер поддерживал идею переливания крови животных человеку, как и присутствовавший на демонстрациях Франц Федорович Гезелиус (1840–1900). Последний в 1873 году опрометчиво выступил с одобрением использования овечьей крови для переливания (Roux et al. 2007). Эти представления постепенно полностью были вытеснены мнением о допустимости трансфузий раненым и больным только человеческой крови. Так, С. П. Коломнин предостерегал от переливаний крови животных людям, которые могут приводить к опасным осложнениям (Коломнин 1878).

Профессор ИМХА Виктор Васильевич Пашутин (1845–1901), основатель первой в России научной школы патофизиологов, подробно описал симптомы посттрансфузионного осложнения, такие как падение кровяного давления, апатия, гиперемия, напряжение подкожных вен, потение, тошнота, затруднение дыхания, сильные позывы к испражнению, головокружение, головная боль, потемнение сознания, боли в крестце, лихорадка, кровяные испражнения, судороги, расширение зрачков. Подводя своего рода итог дискуссии о возможности переливания гетерологичной крови, он указывает: «нужно принять, как общее правило, что инородная кровь не только не может служить к замещению кровяной ткани и помогать в этом смысле воспринявшему ее организму; но наоборот, такая кровь является весьма вредным веществом, вызывающим заболевание организма и даже быструю его смерть» (Пашутин 1881, 435), заключая, что «человеку не должна быть произведена трансфузия инородной крови» (Пашутин 1881, 441). Также он проводит сравнительный обзор различных способов переливания крови: артериальная трансфузия в центробежном направлении (наиболее рациональный способ), трансфузия в эндотелиальные полости (грудную и брюшную), трансфузия в рыхлую клетчатку (подкожную). Большое внимание Пашутин уделяет предложенному В. Н. Никольским способу трансфузии в брюшную полость, при котором кровь, прежде чем попасть в кровеносную

систему, проходит по пути лимфатических сосудов. Этот подход, хотя и требует нескольких дней для всасывания крови, позволяет переливать большие количества крови без болезненных симптомов. И наконец, Пашутин обращается к причинам посттрансфузионных осложнений, отмечая, что красные кровяные тельца, попав в сыворотку инородной крови, скучиваются в глыбы, что может приводить к эмболии, при этом из них выходит гемоглобин. Однако на тот момент ответить на вопрос, что же лежит в основе разрушения эритроцитов, наука еще не могла: «причина, почему происходит гибель красных телец при смешении двух различных родов крови, остается совершенно необъясненной» (Пашутин 1881, 439).

В свете этих соображений медики того времени задавались крайне важным вопросом об источнике получения крови для переливания. В. М. Раутенберг полагал, что необходимо быть осторожным при выборе доноров, которыми могут быть мужчины или женщины не старше 40 лет, не пугающиеся крови, не страдающие заболеваниями, изменяющими состав крови (анемия, сифилис и проч.) и не находящиеся в состоянии психического потрясения (Раутенберг 1867).

Расширил представления о возможностях переливания крови Алексей Васильевич Алексеевский (1853–1913), исследовавший применение трансфузии при септицемии. Он указывал, что взгляд на септицемию как вид интоксикации, при котором действие яда сосредоточивается в крови, подобно отравлению окисью углерода или хлороформом, предполагает эффективность применения переливания дефибринированной крови. Алексеевский проводил переливания, как и Коломнин, по методу Гютера, используя свою конструкцию шприца (рис. 15). Также медик подчеркивал преимущество артериальной трансфузии перед венозной (Алексеевский 1883).

Продолжались исследования свертывания крови и путей его предотвращения. В 1884 году С. Н. Афанасьевский предложил в качестве стабилизатора использовать пептонно-солевой раствор (Камельских, Серебряный 2022). В конце XIX века Александр Александрович Шмидт (1831–1894) создал первую научную ферментативную теорию свертывания крови, пролившую свет на роль различных веществ, в том числе ионов кальция, в процессе свертывания. Он считал, что сохранность крови в жидком состоянии в кровеносном русле и ее свертывание обеспечиваются сложной физиологической регуляцией. Основным положением предложенной теории свертывания крови стала гипотеза о существовании фермента, катализирующего

образование фибрина, которому Шмидт дал название «тромбин». Он доказал, что тромбин отсутствует в циркулирующей крови и образуется при повреждении сосудов из неактивного предшественника — протромбина (Макацария 2022). Ферментативная теория Шмидта, резюмированная в монографии «К учению о крови» (1892), лежит в основе современных представлений о свертывающей системе крови и послужила научной базой для создания консервантов.



Рис. 15. Трансфузионный шприц А. В. Алексеевского (Алексеевский 1883)

Fig. 15. A. V. Alekseevskiy's Transfusion syringe (Alekseevskiy 1883)

Заключение

Становление переливания крови в России происходит в XIX веке. По имеющимся сведениям, в XIX столетии в мире было осуществлено свыше 600 переливаний крови, в том числе в России около 145 (Вильянинов, Попова 2019). В целом развитие российской трансфузиологии находилось в русле общемировых, прежде всего европейских тенденций. Пройден необратимый путь от трансфузий крови животных к внедрению в медицинскую практику переливания крови от человека к человеку и доказательству опасности гетерологичного переливания; разработана и усовершенствована аппаратура для сбора и переливания крови; предложены подходы к предотвращению свертывания крови, в том числе связанные с необходимостью ее консервирования. Показаниями для гемотрансфузий в то время служили кровопотеря (острая и хроническая), гнойно-септические осложнения,

отравления. Наиболее часто использовали трансфузии дефибринированной крови в периферические артерии конечностей, подкожную клетчатку. Особенностью российской практики переливания крови являлось развитие военной трансфузиологии, а также успешное применение гемотрансфузий при заболеваниях и отравлениях. Многие идеи и подходы, предложенные в XIX веке, впоследствии послужили основой для будущих практических разработок переливания крови, особенно в военных условиях.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The author declares that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Литература

- Алексеевский, А. В. (1883) *О переливании дефибринированной крови при септицемии*. СПб.: Типография Д. И. Шеметкина, 160 с.
- Альманах современных русских государственных деятелей*. (1897) СПб.: Типография Исидора Гольдберга, 1250 с.
- Буяльский, И. В. (1846) О переливании крови (Transfusio sanguinis). *Военно-медицинский журнал*, т. 47, № 1, с. 7–23.
- Вильянинов, В. Н., Попова, Н. Н. (2019) Вклад ученых Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова в развитие военной трансфузиологии (к 100-летию со дня рождения профессора С. В. Рыжкова). *Вестник Российской Военно-медицинской академии*, т. 21, № 2 (66), с. 261–266.
- Волков, В. А., Куликова, М. В. (2003) *Московские профессора XVIII — начала XX веков: естественные и технические науки*. М.: Янус-К, 293 с.
- Воронихин, Н. А. (1890) *Двадцатипятилетие деятельности врачей, окончивших курс в Императорской Медико-хирургической академии в 1865 году*. СПб.: Типография В. С. Балашева, 272 с.
- Громов, С. А. (1832) *Краткое изложение судебной медицины, для академического и практического употребления*. СПб.: Типография Штаба Отдельного Корпуса Внутренней Стражи, 554 с.
- Загоскин, Н. П. (сост.). (1900) *Деятели Императорского Казанского университета 1805 г. — 1900 г.: Опыт краткого биографического словаря профессоров и преподавателей Казанского университета за первые 95 лет его существования*. Казань: Типография Императорского университета, 179 с.
- Змеев, Л. Ф. (1885) *Словарь врачей, получивших степень доктора медицины (и хирургии) в Императорском Московском университете до 1863 г.* СПб.: Типография В. П. Апостолова, 70 с.
- Змеев, Л. Ф. (1896) *Чтения по врачебной истории России*. СПб.: Типография В. Демакова, 252 с.
- Иванов, Д. О., Петренко, Ю. В. (2012) Этапы истории переливания крови в акушерстве и педиатрии. *Проблемы женского здоровья*, т. 7, № 2, с. 79–87.
- Камельских, Д. В., Серебряный, Р. С. (2022) Переливание крови как инновация в медицине (от напитков из крови животных до мечты о «биотехе»). *Бюллетень Национального научно-исследовательского института общественного здоровья имени Н. А. Семашко*, № 4, с. 104–109. <https://doi.org/10.25742/NRIPH.2022.04.019>
- Коломнин, С. П. (1878) *Общий медицинский очерк Сербско-турецкой войны 1876 г. и тыла армии в Бессарабии и Румынии во время Турецкой войны 1877 года*. СПб.: Типография А. Суворина и В. Лихачева, 200 с.
- Коштоянц, Х. С. (1946) *Очерки по истории физиологии в России*. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 248 с.
- Макацария, Н. А. (2022) Отец свертывания крови. *Акушерство, Гинекология и Репродукция*, т. 16, № 1, с. 96–98. <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.292>
- Малис, Ю. Г. (1893) *Н. И. Пирогов: его жизнь и научно-общественная деятельность*. СПб.: Типография и хромолитография П. П. Сойкина, 96 с.

- Микиртичан, Г. А., Селедцова, А. А., Селедцов, Р. П. (2021) Степан Фомич Хотовицкий — ученый-энциклопедист, один из основоположников научной гигиены и общественного здоровья. К 225-летию со дня рождения. *Медицина и организация здравоохранения*, т. 6, № 2, с. 77–91.
- Михалкина, М. В., Михалкин, А. П. (2022) «Невольник чести»: трагическая судьба и важная роль в развитии анатомии хирурга С. П. Коломнина. В кн.: С. А. Кутя (ред.). *Clio Anatomica*. Симферополь: Издательский дом Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского, с. 24–31.
- Никитина, Е. А. (2012) *Наследование группы крови*. СПб.: Изд-во РГПУ им. А. И. Герцена, 105 с.
- Никитина, Е. А. (2020) Переливание крови: начало. *Интегративная физиология*, т. 1, № 3, с. 169–180. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2020-1-3-169-180>
- Никитина, Е. А. (2022) Переливание крови: становление. *Интегративная физиология*, т. 3, № 3, с. 286–307. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-3-286-307>
- Околов, В. А. (2009) Рыцарь Российской хирургии. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*, т. 2, № 3, с. 256–259.
- Пашутин, В. В. (1881) *Лекции общей патологии (патологической физиологии)*. Ч. 2. Патология систем тела. СПб.: Типография А. Траншеля, 784 с.
- Пекен, М. Х. (1788) *Физиология или наука о естестве человеческого*. СПб.: Типография Вильковского и Галченкова, 375 с.
- Пекен, Х. (1765) *Домашний лечебник или Простой способ лечения, сочинен Христианом Пекеном, медицины доктором и коллежским советником, а по апробации Государственной Медицинской коллегии на российский язык переведен Алексеем Протасовым, Императорской Академии наук экстраординарным профессором и доктором медицины*. СПб.: Императорская Академия Наук, 342 с.
- Пирогов, Н. И. (1879) *Военно-врачебное дело и частная помощь на театре войны в Болгарии в тылу действующей армии в 1877–1878 гг.* Ч. 2. СПб.: Издание главного управления Общества попечения о раненных и больных воинах, 382 с.
- Половцов, А. А. (1902) *Русский биографический словарь: в 25 т. Т. 13. Павел, преподобный — Петр (Илейка)*. СПб.: Императорское Русское историческое общество, 711 с.
- Порудоминский, В. И. (1969) *Пирогов*. М.: Молодая гвардия, 272 с.
- Почтарник, А. А., Рева, В. А. (2016) Профессор Сергей Петрович Коломнин (1842–1886) (к 130-летию со дня смерти). *Вестник хирургии имени И. И. Грекова*, т. 175, № 6, с. 95–97.
- Раутенберг, В. М. (1867) *О переливании крови. Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук*. СПб.: Типография Я. Трея, 75 с.
- Сорокина, Т. С. (2008) *История медицины*. М.: Академия, 560 с.
- Сутугин, В. В. (1865) *О переливании крови*. СПб.: Типография Я. Трея, 60 с.
- Табуре, Н. А. (1873) *О переливании крови. Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук*. СПб.: Типография Н. М. Котомина, 96 с.
- Филомафитский, А. М. (1848) *Трактат о переливании крови (как единственном средстве во многих случаях спасти угасающую жизнь)*. М.: Университетская типография, 314 с.
- Хотовицкий, С. Ф. (1830) О болезненном состоянии кровавых испражнений из матки. *Военно-медицинский журнал*, т. 16, с. 325–383.
- Цвелев, Ю. В., Шабалов, Н. П. (2010) *Академик Степан Хотовицкий. Основоположник отечественной педиатрии*. СПб.: Изд-во Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, 271 с.
- Чистович, Я. А. (1870) *Очерки из истории русских медицинских учреждений XVIII столетия*. СПб.: Типография Я. Трея, 416 с.
- Чистович, Я. А. (1876а) Илья Васильевич Буяльский, заслуженный профессор С.-Петербургской медико-хирургической академии. 1789–1866. *Русская старина*, т. XV, № 2, с. 289–310.
- Чистович, Я. А. (1876б) Илья Васильевич Буяльский, заслуженный профессор С.-Петербургской медико-хирургической академии. 1789–1866. *Русская старина*, т. XV, № 3, с. 599–616.
- Чистович, Я. А. (1883) *История первых медицинских школ в России*. СПб.: Типография Я. Трея, 1034 с.
- Чудновский, Ю. Т. (1869) *Материалы для клинического изучения действия кровопускания. Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук*. СПб.: Типография Я. Трея, 176 с.
- Шевченко, Ю. А., Епифанов, С. А., Матвеев, С. А. (2014) Илья Васильевич Буяльский — анатом, хирург, педагог (к 225-летию со дня рождения). *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н. И. Пирогова*, т. 9, № 4, с. 3–5.
- Шевченко, Ю. А., Карпов, О. Э., Жибурт, Е. Б. (2019) Переливание крови: история и современность (к 100-летию переливания крови в России). *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н. И. Пирогова*, т. 14, № 4, с. 4–11. <https://doi.org/10.25881/BPNMSC.2020.29.78.001>
- Berner, V. (2020) *Strange blood. The rise and fall of lamb blood transfusion in 19th century medicine and beyond*. Bielefeld: Transcript Publ., 217 p.
- Blundell, J. (1828) Observations on transfusion of blood by Dr. Blundell with a description of his gravitator. *The Lancet*, vol. II, no. 302, pp. 321–324.

- Duffin, J. (2021) *History of medicine: A scandalously short introduction*. 3rd ed. Toronto: University of Toronto Press, 560 p.
- Huestis, D. W. (2004) The first blood transfusion in Russia (1832). *Transfusion*, vol. 44, no. 9, pp. 1367–1369. <https://doi.org/10.1111/j.0041-1132.2004.04067.x>
- Jennings, C. E. (1883) *Transfusion: Its history, indications, and modes of application*. London: Baillière, Tindall and Cox Publ., 102 p.
- Roussel, J.-A. (1877) *Transfusion of human blood by the method of J. Roussel (of Geneva)*. London: J. & A. Churchill Publ., 96 p.
- Roux, F. A., Sai, P., Deschamps, J.-Y. (2007) Xenotransfusions, past and present. *Xenotransplantation*, vol. 14, no. 3, pp. 208–216. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3089.2007.00404.x>
- Sergeeva, M. S., Panova, E. L. (2020) The studies of blood transfusion and the attempts of its implementation into medical practice in 1800–1875: The fate of J.-A. Roussel's device in Russia. *Medicina Historica*, vol. 4, no. 2, article e2020003.
- Sergeeva, M. S., Panova, E. L. (2021) Brilliant promotion for a doubtful invention: The blood transfusion device of doctor Joseph-Antoine Roussel (1837–1901) in European medical science and practice in 1860–1880. *Bylye Gody*, vol. 16, no. 1, pp. 244–252.
- Wright, A. E. (1894) Remarks on methods of increasing and diminishing the coagulability of the blood, with especial reference to their therapeutic employment. *The British Medical Journal*, vol. 2, no. 1750, pp. 57–61. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.1750.57>

References

- Alekseevskij, A. V. (1883) *O perelivanii defibrinirovannoj krovi pri septitseмии [About defibrinated blood transfusion in septicemia]*. Saint Petersburg: D. I. Shemetkin Publ., 160 p. (In Russian)
- Al'manakh sovremennykh russkikh gosudarstvennykh deyatelej [Almanac of modern Russian statesmen]*. (1897) Saint Petersburg: Isidora Gol'dberg Publ., 1250 p. (In Russian)
- Berner, B. (2020) *Strange blood. The rise and fall of lamb blood transfusion in 19th century medicine and beyond*. Bielefeld: Transcript Publ., 217 p. (In English)
- Blundell, J. (1828) Observations on transfusion of blood by Dr. Blundell with a description of his gravitator. *The Lancet*, vol. II, no. 302, pp. 321–324. (In English)
- Buyal'skij, I. V. (1846) O perelivanii krovi (Transfusio sanguinis) [On blood transfusion (Transfusio sanguinis)]. *Voенно-медицинский журнал*, vol. 47, no. 1, pp. 7–23. (In Russian)
- Chistovich, Ya. A. (1870) *Oчерки из истории русских медицинских учреждений XVIII столетия [Essays from the history of Russian medical institutions of the 18th century]*. Saint Petersburg: Ya. Trej Publ., 416 p. (In Russian)
- Chistovich, Ya. A. (1876a) Il'ya Vasil'evich Buyalskij, zaslužhennyj professor S-Peterburgskoj mediko-khirurgicheskoj akademii. 1789–1866 [Ilya Vasilievich Buyalsky, honored professor of the St. Petersburg Medical and Surgical Academy. 1789–1866]. *Russkaya starina*, vol. XV, no. 2, pp. 289–310. (In Russian)
- Chistovich, Ya. A. (1876b) Il'ya Vasil'evich Buyalskij, zaslužhennyj professor S-Peterburgskoj mediko-khirurgicheskoj akademii. 1789–1866 [Ilya Vasilievich Buyalsky, honored professor of the St. Petersburg Medical and Surgical Academy. 1789–1866]. *Russkaya starina*, vol. XV, no. 3, pp. 599–616. (In Russian)
- Chistovich, Ya. A. (1883) *Istoriya pervykh meditsinskikh shkol v Rossii [History of the first medical schools in Russia]*. Saint Petersburg: Ya. Trej Publ., 1034 p. (In Russian)
- Chudnovskij, Yu. T. (1869) *Materialy dlya klinicheskogo izucheniya dejstviya krovopuskaniya [Materials for the clinical study of the effect of bloodletting]*. PhD dissertation (Medicine). Saint Petersburg: Ya. Trej Publ., 176 p. (In Russian)
- Duffin, J. (2021) *History of medicine: A scandalously short introduction*. 3rd ed. Toronto: University of Toronto Press, 560 p. (In English)
- Filomafitskij, A. M. (1848) *Traktat o perelivanii krovi (kak edinstvennom sredstve vo mnogikh sluchayakh spasti ugasayushchuyu zhizn') [Treatise on blood transfusion (as the only means in many cases to save a dying life)]*. Moscow: Universitetskaya tipografiya Publ., 314 p. (In Russian)
- Gromov, S. A. (1832) *Kratkoe izlozhenie sudebnoj meditsiny, dlya akademicheskogo i prakticheskogo upotrebleniya [Summary of forensic medicine, for academic and practical use]*. Saint Petersburg: Shtab Otdel'nogo Korpusa Vnutrennej Strazhi Publ., 554 p. (In Russian)
- Huestis, D. W. (2004) The first blood transfusion in Russia (1832). *Transfusion*, vol. 44, no. 9, pp. 1367–1369. <https://doi.org/10.1111/j.0041-1132.2004.04067.x> (In English)
- Ivanov, D. O., Petrenko, Yu. V. (2012) Etapy istorii perelivaniya krovi v akusherstve i pediatrii [Stages of the history of blood transfusion in obstetrics and pediatrics]. *Problemy zhenskogo zdorov'ya — Problems of Women Health*, vol. 7, no. 2, pp. 79–87. (In Russian)
- Jennings, C. E. (1883) *Transfusion: Its history, indications, and modes of application*. London: Baillière, Tindall and Cox Publ., 102 p. (In English)

- Kamelskikh, D. V., Serebryany, R. S. (2022) Perelivanie krovi kak innovatsiya v meditsine (ot napitkov iz krovi zhivotnykh do mechty o “biotekhe”) [Blood transfusion as an innovation in medicine]. *Byulleten' Natsional'nogo nauchno-issledovatel'skogo instituta obshchestvennogo zdorov'ya imeni N. A. Semashko — Bulletin of Semashko National Research Institute of Public Health*, no. 4, pp. 104–109. <https://doi.org/10.25742/NRIPH.2022.04.019> (In Russian)
- Khotovitskij, S. F. (1830) O bolezennom sostoyanii krovavykh isprazhnenij iz matki [On the painful state of bloody bowel movements from the uterus]. *Voenno-meditsinskij zhurnal*, vol. 16, pp. 325–383. (In Russian)
- Kolomnin, S. P. (1878) *Obshchij meditsinskij ocherk Serbo-turetskoj vojny 1876 g. i tyla armii v Bessarabii i Rumynii vo vremya Turetskoj vojny 1877 goda* [General medical essay of the Serbo-Turkish War of 1876 and the rear of the army in Bessarabia and Romania during the Turkish War of 1877]. Saint Petersburg: A. Suvorin i V. Likhachev Publ., 200 p. (In Russian)
- Koshtoyants, Kh. S. (1946) *Ocherki po istorii fiziologii v Rossii* [Essays on the history of physiology in Russia]. Moscow; Leningrad: Academy of Sciences of the USSR Publ., 248 p. (In Russian)
- Makatsariya, N. A. (2022) Otets svertyvaniya krovi [The father of blood coagulation]. *Akusherstvo, Ginekologiya i Reproduktsiya — Obstetrics, Gynecology and Reproduction*, vol. 16, no. 1, pp. 96–98. <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.292> (In Russian)
- Malis, Yu. G. (1893) *N. I. Pirogov: ego zhizn' i nauchno-obshchestvennaya deyatel'nost'* [N. I. Pirogov: His life and scientific and social activities]. Saint Petersburg: “Tipografiya i khromolitografiya P. P. Sojkina” Publ., 96 p. (In Russian)
- Mikhalkina, M. V., Mikhalkin, A. P. (2022) “Nevol'nik chesti”: tragicheskaya sud'ba i vazhnaya rol' v razvitii anatomii khirurga S. P. Kolomnina [“Slave of honour”: Tragic fate and important role in the development of anatomy of surgeon S. P. Kolomnin]. In: S. A. Kutya (ed.). *Clio Anatomica*. Simferopol: V. I. Vernadsky Crimean Federal University Publ., pp. 24–31. (In Russian)
- Mikirtichan, G. L., Seledtsova, A. L., Seledtsov, R. P. (2021) Stepan Fomich Khotovitskij — uchenyj-entsiklopedist, odin iz osnovopolozhnikov nauchnoj gigieny i obshchestvennogo zdorov'ya. K 225-letiyu so dnya rozhdeniya [Stepan Fomich Khotovitsky as an encyclopedic scientist, one of the founders of scientific hygiene and public health. For the 225th anniversary of his birth]. *Meditsina i organizatsiya zdravookhraneniya — Medicine and Health Care Organization*, vol. 6, no. 2, pp. 77–91. (In Russian)
- Nikitina, E. A. (2012) *Nasledovanie grupp krovi* [The inheritance of blood groups]. Saint Petersburg: Herzen State Pedagogical University of Russia Publ., 105 p. (In Russian)
- Nikitina, E. A. (2020) Perelivanie krovi: nachalo [Blood transfusion: The beginning]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 1, no. 3, pp. 169–180. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2020-1-3-169-180> (In Russian)
- Nikitina, E. A. (2022) Perelivanie krovi: stanovlenie [Blood transfusion: The genesis]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 3, no. 3, pp. 286–307. <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-3-286-307> (In Russian)
- Okolov, V. L. (2009) Rytsar' Rossijskoj khirurgii [The knight of the Russian surgery]. *Vestnik eksperimental'noj i klinicheskoy khirurgii — Journal of Experimental and Clinical Surgery*, vol. 2, no. 3, pp. 256–259. (In Russian)
- Pashutin, V. V. (1881) *Lektsii obshchej patologii (patologicheskoy fiziologii). Ch. 2. Patologiya sistem tela* [General pathology (pathological physiology) lectures. Pt. 2. Pathology of body systems]. Saint Petersburg: A. Transhel' Publ., 784 p. (In Russian)
- Peken, Kh. (1765) *Domashnij lechebnik ili Prostoj sposob lecheniya, sochinen Khristianom Pekenom, meditsiny doktorom i kollezhskim sovetnikom, a po aprobatsii Gosudarstvennoj Meditsinskoj kollegii na rossijskij yazyk pereveden Alekseem Protasovym, Imperatorskoj Akademii nauk ekstraordinarnym professorom i doktorom meditsiny* [Home medicine or Simple method of treatment, composed by Christian Peken, medicine doctor and college adviser, and on testing the state medical college into Russian translated by Alexei Protasov, Imperial Academy of Sciences extraordinary professor and doctor of medicine]. Saint Petersburg: Imperatorskaya Akademiya Nauk Publ., 342 p. (In Russian)
- Peken, M. Kh. (1788) *Fiziologiya ili nauka o estestve chelovecheskom* [Physiology or science of human nature]. Saint Petersburg: Vil'kovskij i Galchenkov Publ., 375 p. (In Russian)
- Pirogov, N. I. (1879) *Voenno-vrachebnoe delo i chastnaya pomoshch na teatre vojny v Bolgarii v tylu dejstvuyushchej armii v 1877–1878 gg. Ch. 2* [Military medical business and private assistance at the theater of war in Bulgaria in the rear of the army in 1877–1878. Pt. 2]. Saint Petersburg: Izdanie Glavnogo upravleniya Obshchestva popecheniya o ranennykh i bol'nykh voynakh Publ., 382 p. (In Russian)
- Pochtarnik, A. A., Reva, V. A. (2016) Professor Sergej Petrovich Kolomnin (1842–1886) (k 130-letiyu so dnya smerti) [Professor Sergey Petrovich Kolomnin (1842–1886) (on the 130th anniversary of his death)]. *Vestnik khirurgii imeni I. I. Grekova — Vestnik khirurgii named after I. I. Grekov*, vol. 175, no. 6, pp. 95–97. (In Russian)
- Polovtsov, A. A. (1902) *Russkij biograficheskij slovar': v 25 t. T. 13. Pavel, prepodobnyj — Petr (Ilejka)* [Russian Biographical Dictionary: In 25 vols. Vol. 13. Paul, the Venerable — Peter (Ileika)]. Saint Petersburg: Imperatorskoe Russkoe istoricheskoe obshchestvo Publ., 711 p. (In Russian)
- Porudominskij, V. I. (1969) *Pirogov* [Pirogov]. Moscow: Molodaya gvardiya Publ., 272 p. (In Russian)
- Rautenberg, W. M. (1867) *O perelivanii krovi* [About transfusion]. PhD dissertation (Medicine). Saint Petersburg: Ya. Trej Publ., 75 p. (In Russian)

- Roussel, J.-A. (1877) *Transfusion of human blood by the method of J. Roussel (of Geneva)*. London: J. & A. Churchill Publ., 96 p. (In English)
- Roux, F. A., Saï, P., Deschamps, J.-Y. (2007) Xenotransfusions, past and present. *Xenotransplantation*, vol. 14, no. 3, pp. 208–216. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3089.2007.00404.x> (In English)
- Sergeeva, M. S., Panova, E. L. (2020) The studies of blood transfusion and the attempts of its implementation into medical practice in 1800–1875: The fate of J.-A. Roussel's device in Russia. *Medicina Historica*, vol. 4, no. 2, article e2020003. (In English)
- Sergeeva, M. S., Panova, E. L. (2021) Brilliant promotion for a doubtful invention: The blood transfusion device of doctor Joseph-Antoine Roussel (1837–1901) in European medical science and practice in 1860–1880. *Bylye Gody*, vol. 16, no. 1, pp. 244–252. (In English)
- Shevchenko, Yu. L., Epifanov, S. A., Matveev, S. A. (2014) Il'ya Vasilievich Buyal'skij — anatom, khirurg, pedagog (k 225-letiyu so dnya rozhdeniya) [Ilya Vasilevich Buyalsky — anatomist, surgeon, teacher (to the 225th anniversary of his birth)]. *Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo Tsentra im. N. I. Pirogova — Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center*, vol. 9, no. 4, pp. 3–5. (In Russian)
- Shevchenko, Yu. L., Karpov, O. E., Zhiburt, E. B. (2019) Perelivanie krovi: istoriya i sovremennost' (k 100-letiyu perelivaniya krovi v Rossii) [Blood transfusion: History and modernity (on the 100th anniversary of blood transfusion in Russia)]. *Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo Tsentra im. N. I. Pirogova — Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center*, vol. 14, no. 4, pp. 4–11. <https://doi.org/10.25881/BPNMSC.2020.29.78.001> (In Russian)
- Sutugin, V. V. (1865) *O perelivanii krovi [About transfusion]*. Saint Petersburg: Ya. Trej Publ., 60 p. (In Russian)
- Tabure, N. A. (1873) *O perelivanii krovi [About transfusion]*. PhD dissertation (Medicine). Saint Petersburg: N. M. Kolomnina Publ., 96 p. (In Russian)
- Tsvelev, Yu. V., Shabalov, N. P. (2010) *Akademik Stepan Khotovitskij. Osnovopolozhnik otechestvennoj pediatrii [Academician Stepan Khotovitsky. Founder of domestic pediatrics]*. Saint Petersburg: Military Medical Academy named after S. M. Kirov Publ., 271 p. (In Russian)
- Vilyaninov, V. N., Popova, N. N. (2019) Vklad uchenykh Voenno-meditsinskoj akademii imeni S. M. Kirova v razvitie voennoj transfuziologii (k 100-letiyu so dnya rozhdeniya professora S. V. Ryzhkova) [The contribution of scientists of the Kirov military medical academy to the development of military transfusiology, in commemoration of the 100th anniversary of the birth of professor S. V. Ryzhkov]. *Vestnik Rossijskoj Voenno-meditsinskoj akademii*, vol. 21, no. 2 (66), pp. 261–266. (In Russian)
- Volkov, V. A., Kulikova, M. V. (2003) *Moskovskie professora XVIII — nachala XX vekov: estestvennye i tekhnicheskie nauki [Moscow professors (in the 18th — the beginning of the 20th centuries)]*. Moscow: Janus-K Publ., 293 p. (In Russian)
- Voronikhin, N. A. (1890) *Dvadsatipyatiletie deyatelnosti vrachej, okonchivshikh kurs v Imperatorskoj Mediko-khirurgicheskoy akademii v 1865 godu [Twenty-fifth anniversary of the activities of doctors who graduated from the course at the Imperial Medical and Surgical Academy in 1865]*. Saint Petersburg: V. S. Balashev Publ., 272 p. (In Russian)
- Wright, A. E. (1894) Remarks on methods of increasing and diminishing the coagulability of the blood, with especial reference to their therapeutic employment. *The British Medical Journal*, vol. 2, no. 1750, pp. 57–61. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.1750.57> (In English)
- Zagoskin, N. P. (comp.). (1900) *Deyateli Imperatorskogo Kazanskogo universiteta 1805 g. — 1900 g.: Opyt kratkogo biograficheskogo slovarya professorov i prepodavatelej Kazanskogo universiteta za pervye 95 let ego sushchestvovaniya [Figures of the Imperial Kazan University 1805–1900: The experience of a short biographical dictionary of professors and teachers of Kazan University in the first 95 years of its existence]*. Kazan: Imperatorskij universitet Publ., 179 p. (In Russian)
- Zmeev, L. F. (1885) *Slovar' vrachej, poluchivshikh stepen' doktora meditsiny (i khirurgii) v Imperatorskom Moskovskom universitete do 1863 g. [Dictionary of doctors who received a doctorate in medicine (and surgery) at Imperial Moscow University until 1863]*. Saint Petersburg: V. P. Apostolov Publ., 70 p. (In Russian)
- Zmeev, L. F. (1896) *Chteniya po vrachebnoj istorii Rossii [Readings on the medical history of Russia]*. Saint Petersburg: V. Demakov Publ., 252 p. (In Russian)



УДК 004.4; 376.3; 612.85

EDN UNATWQ

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-298-311>

Программный интерактивный комплекс «Помощник логопеда-дефектолога» для использования при обучении детей со слухоречевыми нарушениями

С. Д. Солнушкин¹, Э. И. Столярова¹, В. Н. Чихман^{✉1}

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторах

Сергей Дмитриевич Солнушкин, Scopus AuthorID: [6602924586](https://orcid.org/0000-0003-4009-6716), ORCID: [0000-0003-4009-6716](https://orcid.org/0000-0003-4009-6716), e-mail: solnushkin@list.ru

Эльвира Ивановна Столярова, SPIN-код: [9196-9852](https://orcid.org/0000-0002-4784-6156), ORCID: [0000-0002-4784-6156](https://orcid.org/0000-0002-4784-6156), e-mail: Elvirast74@gmail.com

Валерий Николаевич Чихман, SPIN-код: [2405-9435](https://orcid.org/0000-0002-4955-4608), Scopus AuthorID: [7801665503](https://orcid.org/0000-0002-4955-4608), ORCID: [0000-0002-4955-4608](https://orcid.org/0000-0002-4955-4608), e-mail: chikhmanvn@infran.ru

Для цитирования: Солнушкин, С. Д., Столярова, Э. И., Чихман, В. Н. (2023) Программный интерактивный комплекс «Помощник логопеда-дефектолога» для использования при обучении детей со слухоречевыми нарушениями. *Интегративная физиология*, т. 4, № 3, с. 298–311. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-298-311>
EDN UNATWQ

Получена 8 июня 2023; прошла рецензирование 25 июля 2023; принята 4 августа 2023.

Финансирование: Работа поддержана средствами НЦМУ Павловский центр «Интегративная физиология – медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости» (направление «Биологические и социальные основы инклюзии»).

Права: © С. Д. Солнушкин, Э. И. Столярова, В. Н. Чихман (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Данная работа выполнена в рамках направления «Биологические и социальные основы инклюзии» НЦМУ Павловский центр «Интегративная физиология – медицине» сотрудниками лаборатории информационных технологий и математического моделирования и лаборатории психофизиологии речи ИФ РАН. В статье приводится описание программного комплекса «Помощник логопеда – дефектолога» (ПЛД), предназначенного для коррекционно-образовательных занятий и тестирования детей с нарушениями слухоречевой функции, вызывающими трудности овладения навыками чтения и письма. Программный комплекс обеспечивает ведение учебного журнала с сохранением сведений об учащихся (реализованного в виде реляционной базы данных), подготовку педагогом материала учебных заданий в виде текстовых матриц с использованием дидактического материала из профильной педагогической литературы, сохранение в базе разработанных заданий и быстрый доступ к ним во время проведения урока, различные форматы представления материала заданий на экране компьютера, автоматическое определение значимых показателей выполнения заданий учеником (время выполнения, число ошибок и правильных решений), автоматическое сохранение результатов занятий в персонифицированных файлах. Программный комплекс прошел государственную регистрацию в Российском фонде алгоритмов и программ для ЭВМ (свидетельство № 2023614912), а также успешно использован в процессе учебных занятий в специализированной школе для детей со слухоречевыми нарушениями.

Ключевые слова: слухоречевая функция, специальная педагогика, нарушения слуха и речи, информационно-компьютерные технологии, онлайн и офлайн обучение

“Speech Pathologist’s Assistant”: Interactive software in teaching children with hearing and speech disorders

S. D. Solnushkin¹, E. I. Stolyarova¹, V. N. Chikhman ✉

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Authors

Sergey D. Solnushkin, Scopus AuthorID: 6602924586, ORCID: 0000-0003-4009-6716, e-mail: solnushkin@list.ru

Elvira I. Stolyarova, SPIN: 9196-9852, ORCID: 0000-0002-4784-6156, e-mail: Elvirast74@gmail.com

Valery N. Chikhman, SPIN: 2405-9435, Scopus AuthorID: 7801665503, ORCID: 0000-0002-4955-4608, e-mail: chikhmanvn@infran.ru

For citation: Solnushkin, S. D., Stolyarova, E. I., Chikhman, V. N. (2023) “Speech Pathologist’s Assistant”: Interactive software in teaching children with hearing and speech disorders. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 298–311. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-298-311> EDN UNATWQ

Received 8 June 2023; reviewed 25 July 2023; accepted 4 August 2023.

Funding: The work was supported by the funds of the World-Class Research Center Pavlov Center “Integrative Physiology to Medicine, High-Tech Healthcare and Technologies of Stress Resistance” (focus area “Biological and Social Foundations of Inclusion”).

Copyright: © S. D. Solnushkin, E. I. Stolyarova, V. N. Chikhman (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The reported study is part of the focus area “Biological and Social Foundations of Inclusion” of the WCRC Pavlov Center “Integrative Physiology to Medicine, High-Tech Healthcare and Technologies of Stress Resistance”. The study was carried out by the staff of the Laboratory of Information Technologies and Mathematical Modeling and the Laboratory of Psychophysiology of Speech, IF RAS. The article describes the software package “Speech Pathologist’s Assistant” (SPA) intended for remediation, training and testing of children with hearing impairments that cause difficulties in mastering reading and writing skills. The software package is installed on a personal computer. It offers the following functionalities: a training log with information about students (a relational database); an option of developing training text matrices based on didactic material from specialized educational literature; a database that stores training materials and provides a quick access to them during the class; various formats of presenting the assignments for the student on the computer screen; automatic determination of significant indicators of student performance (time to complete the task, the number of wrong and correct answers); the results of classes saved automatically in personalized files. The software complex has a state certificate of registration issued by the Russian Fund of Algorithms and Computer Programs (No. 2023614912). It proved to be effective during the training sessions at a specialized school for children with hearing and speech disorders.

Keywords: auditory-speech function, special pedagogy, hearing and speech disorders, information and computer technologies, online and offline learning

Введение

В наши дни практикующие логопеды-дефектологи имеют возможность пользоваться различными вспомогательными компьютерными средствами, повышающими эффективность обучающих и коррекционных занятий. Так, по отзывам учителей специализированной школы, они активно используют в своих занятиях электронные учебные материалы, предназначенные для развития фонематического слуха, навыков чтения и письма, — образовательный портал «Инфоурок»; общероссийский проект «Школа цифрового века»; программно-аппаратный комплекс «Видимая речь III»; аудиовизуальная программа «Мир звуков» (*Hear the World*); компьютерная тренажерная система

«Учись слушать»; развивающие игры «Мерсибо»; сборники упражнений на CD-дисках по коррекции ошибок, обусловленных несформированностью фонематического восприятия и навыков письменной речи; российские методические разработки «МИМИО» и презентации, созданные на этой платформе самостоятельно (Столярова и др. 2022, 80). В то же время сохраняется постоянная потребность в создании для логопедической практики новых информационных систем, включающих в себя не только познавательно-речевые игровые методики, но и процедуры тестирования слухоречевого статуса детей, определения объективных (количественных) показателей степени усвоения материала в процессе занятий, прослеживания динамики формирования и закрепления

требуемых навыков, оценки результативности используемой методики (Любимов и др. 2019). К таким разработкам относятся информационная система «Речевые технологии» для массовой диагностики и коррекционного сопровождения речевых нарушений у детей дошкольного и младшего школьного возраста (Борисова и др. 2019) и созданный в 2020 году аппаратно-программный комплекс *Speech-Assistant* с основной программой *Aud_Sp_Dis* для использования при тестировании и обучении школьников со слухоречевыми нарушениями (Свидетельство о регистрации № 2021618474). Его подробное описание содержится в работах (Столярова и др. 2020а; 2022). Для пользователей комплекса было издано руководство и методическое пособие (Столярова и др. 2020b). Часть материала из этих публикаций включена в настоящую статью, поскольку она содержит базовую информацию о работе программы *Aud_Sp_Dis*.

Разработка концепции и структуры программы велась на основании изучения особенностей слухоречевой функции у детей с нарушениями слуха и речи различного генеза, проводимого на протяжении ряда лет в лаборатории психофизиологии речи Института физиологии им. И. П. Павлова РАН в сотрудничестве с медицинскими и образовательными учреждениями (Корнев и др. 2014; Королева, Огородникова 2018; Огородникова и др. 2017а; 2017b; Столярова, Белова 2019; 2021), а также опыта создания аппаратно-программных средств автоматизации экспериментальных физиологических исследований в лаборатории информационных технологий и математического моделирования ИФ РАН (Чихман и др. 2022). Разработку программных средств комплекса проводили с «прицелом» на реализацию в электронном виде методик и дидактического материала из корректирующих педагогических образовательных программ (Божедомова и др. 2019; Буйко, Сыропятова 2013; Ефименкова 2015; Яковлева 2015). Принимали во внимание и потребность практикующих учителей-дефектологов в комфортной в эксплуатации системе, обеспечивающей удобство использования как в процессе подготовки материалов занятий, так и при проведении уроков, быстром получении результатов занятий и их сохранении.

Программный комплекс (ПК) успешно применяется в занятиях с учениками 5–9 классов специализированной школы, начиная с 2020 года и по настоящее время (за исключением карантинных ограничений в связи с Covid-19) (Столярова, Белова 2020). За время эксплуатации комплекса появились определенные соображе-

ния (пожелания) по расширению числа опций программы и коррекции ряда существующих разделов. Так, введение карантинных ограничений, препятствовавших проведению очных учебных занятий, обусловило необходимость разработки дополнительной опции «импорт-экспорт», позволяющей использовать программу в интерактивном режиме дистанционного обучения. При этом принимали во внимание положительный опыт использования комплекса при очном обучении школьников; способность школьников самостоятельно работать с программами комплекса при выполнении учебных заданий; современные возможности доступа к сети Интернет в домашних условиях; опыт онлайн занятий. Создание раздела «Презентации» способствовало расширению числа возможных заданий с использованием разнообразных изобразительных материалов и объемных текстов. Интересные предложения при обсуждении перспективы практического применения комплекса были высказаны специалистами по обучению русскому языку инофонов (русский язык не является родным), а также логопедами — учителями младших классов. Все это послужило основанием для разработки новой версии программного комплекса — «Помощник логопеда-дефектолога» с модернизацией и расширением числа опций базовой программы *Aud_Sp_Dis* (Свидетельство о регистрации № 2023614912).

Краткие сведения о программном комплексе «Помощник логопеда-дефектолога»

Программное обеспечение комплекса реализовано для эксплуатации в широко распространенной среде *Windows*, модули разработаны в среде *Delphi* с использованием *Paradox* для ведения базы данных, проведения занятий в режимах онлайн и офлайн с сохранением результатов выполнения заданий учащимися. Созданы модули сформированных тестовых заданий по теме планируемого занятия, модули сохранения данных соответствующего типа: справочной информации о дате проведения занятия, ученике (ФИО, возраст, класс, особые замечания), виде занятия, результатах. Модули сохранения данных ориентированы на использование систем управления базами данных (СУБД) и включают следующие таблицы: 1) персональные данные; 2) сформированные тестовые задания, сгруппированные по разделам программы; 3) результаты (ответы и речевые реакции ученика / испытуемого). Реализованы программные модули

заполнения и корректировки таблиц данных учащихся, формирования таблиц тестовых заданий для занятий по соответствующему разделу, исполняемые модули, включающие фиксацию ответов в таблице результатов и записи повторения учеником тестового стимула (речевое воспроизведение) в звуковой файл, а также модули просмотра результатов занятий.

Программное обеспечение комплекса построено по принципу интерактивного взаимодействия с набором форм и таблиц. В настоящий момент реализована только русскоязычная версия программы. На рис. 1 показана начальная форма программы *Aud_Sp_Dis*.

Программа реализует работу в трех разделах: «Задания», «Результаты» и «Сервис», содержащих ряд подразделов.

Раздел «Задания»

В рамках подразделов «Слух, Чтение» и «Паронимы» реализуется класс учебных заданий по развитию фонематического слуха — дифференциация гласных и согласных звуков, также в подразделе «Слух, Чтение» содержатся учебные задания по чтению различного текстового материала (буквы, слоги, слова, квазислова).

Форма представления материала — табличные матрицы.

В подразделе «Упражнения» реализуются задания для развития внимания, орфографической зоркости, закрепления правил орфографии, расширения словарного запаса, аналитико-синтетической деятельности. Примеры заданий: «вставить пропущенную букву / слог / слово».

В подразделе «Презентации» осуществляется работа с предварительно созданными презентациями с различным дидактическим и изобразительным материалом. Например, задания по чтению и пониманию текста: «прочти эти слоги / слова / текст», «прочти текст и перескажи его содержание», «прочти текст и ответь на вопросы»; задания по звуко-слоговому составу слова: «прочти слова, разбивая их на слоги», «прочти слова, вставив пропущенную букву/слог»; задания по проверке словарного запаса: «посмотри на картинки и назови неодушевленные / одушевленные предметы; птиц / зверей и т. д.».

Раздел «Результаты»

В разделе осуществляется просмотр и сохранение результатов выполнения учениками заданий из соответствующих подразделов программы.

The screenshot shows the initial 'working' form of the *Aud_Sp_Dis* software. It is divided into several sections:

- Ученик (Student):** A table with columns: Группа (Group), Имя (Name), Фамилия (Surname), Дата рожд. (Date of birth), and Доп. инф. (Additional info). The data is as follows:

Группа	Имя	Фамилия	Дата рожд.	Доп. инф.
Класс 5	Ваня	Пак	23.01.2014	зпр
	Дима	Пак	21.03.2013	зпр
	Ира	Смирнова	11.12.2013	ки
- Задания (Tasks):** Four buttons: **Слух Чтение** (selected), **Паронимы**, **Упражнения**, and **Презентации**.
- Результаты (Results):** Three buttons: **Слух Чтение**, **Паронимы**, and **Упражнения**.
- Сервис (Service):** Four buttons: **Импорт/экспорт**, **Создать архивную копию**, **Восстановить из архива**, and **Очистить базу**.

Рис. 1. Начальная «рабочая» форма программы *Aud_Sp_Dis* с введенными данными о группе учеников и выбором учащегося для выполнения задания из соответствующих разделов программы

Fig. 1. The initial format of the *Aud_Sp_Dis* software with the data about the group of students and the choice of the student to complete the task from the relevant sections of the program

Раздел «Сервис»

Раздел «Сервис» предназначен для выполнения операций (действий) с данными выполненными заданиями (подразделы «Создать архивную копию», «Восстановить из архива») и обмена заданиями и упражнениями (рабочими материалами) между пользователями (подраздел «Импорт / экспорт»).

Подраздел «Очистить базу» полностью обнуляет все таблицы базы данных программы.

В подразделе «Импорт / экспорт» может осуществляться процедура обмена рабочими материалами между пользователями, имеющими в своем распоряжении программу *Aud_Sp_Dis*.

Порядок работы с программой

Предварительная работа учителя при планировании занятия с использованием программы включает следующие действия: заполнение базы данных учеников (аналогия со школьным журналом); выбор тематического дидактического материала для запланированной темы урока; подготовку рабочих матриц заданий в разделах «Слух, Чтение» и «Паронимы»; подготовку презентаций для раздела «Презентации»; подготовку текстового и изобразительного материала для раздела «Упражнения».

В качестве примера рассмотрим процесс создания рабочей матрицы задания из раздела «Слух» по теме «дифференциация гласных звуков» (рис. 2).

Аналогичным образом создаются рабочие матрицы в разделе «Паронимы» с использованием редактора матриц паронимов.

В процессе проведения урока школьники выполняют учебные задания с использованием подготовленных матриц заданий в виде изображений на экране монитора, манипулируя мышью. Отметим, что программа во время проведения урока обеспечивает возможность выбора и быстрого подключения заданий из разных разделов по теме урока.

Ниже показаны примеры изображений рабочих матриц на экране монитора в разных разделах программы.

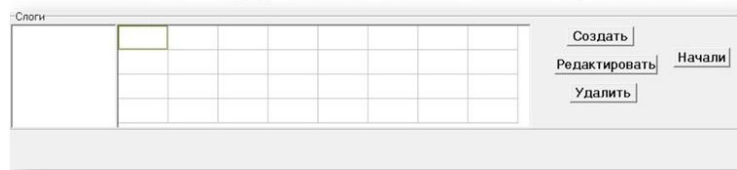
Слух

На рис. 3 представлены варианты матриц заданий по дифференциации гласных звуков [а]-[о]: «найди звук /букву {а}» и «подбери пароним к выделенному слову с парными гласными ([а]-[о])».

На рис. 4 показано изображение на экране монитора матриц заданий по дифференциации согласных звуков.

Подготовка рабочей матрицы задания в разделе «Слух».

Тема: «Дифференциация гласных звуков». Задание: «найди звук/букву {а}»



Вид окна редактора для формирования матрицы задания («команда «Создать»)

Вводятся данные: «Звук» – {а} .

«Имя : «а-о»

В ячейки матрицы вносятся целевые и дополнительные стимулы.



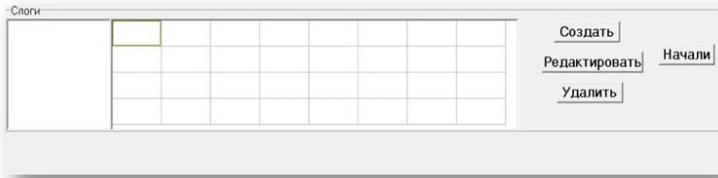
Вид рабочего окна матрицы задания



Вид рабочей матрицы задания «найди звук/букву {а}»

Рис. 2. Формирование рабочей матрицы задания «найди звук / букву {а}»

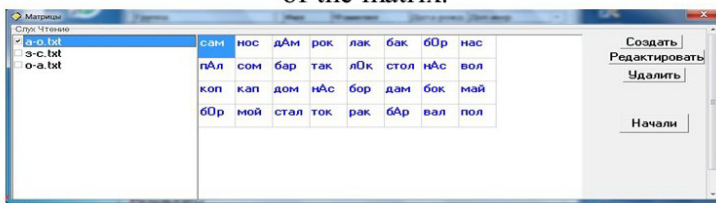
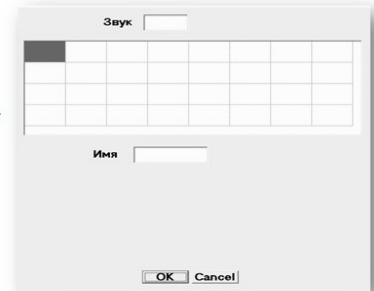
Preparation of a working matrix of the task in the "Hearing" section.
 Topic: "Differentiation of vowel sounds." Task: "find the sound / letter {a}"



Task matrix window

Editor window for generating the task matrix
 ("Create" command)

Data is entered: "Sound" - {a}, "Name: "a-o"
 Target and additional incentives are entered into the cells
 of the matrix.



Job matrix "Find the sound/letter {a}"

Fig. 2. Development of the working matrix of the task "Find the sound / letter {a}"



Рис. 3. Вид экрана при выполнении двух вариантов заданий по дифференциации гласных звуков ([a]-[o]). а. Задание: «найди звук / букву {a}». б. Задание: «подбери пароним к выделенному слову с парными гласными ([a]-[o])»

Fig. 3. Two variants of tasks for differentiating vowel sounds of the first row (a-o). а. Task: Find the sound/letter {a}. б. Task: Choose a paronym for the highlighted word with paired vowels (a-o)



Рис. 4. Вид экрана при выполнении задания по дифференциации согласных звуков. а. Подбери пароним к выделенному слову с парными согласными по признаку «глухость-звонкость». б. Подбери пароним к выделенному слову с парными согласными по признаку «твердость-мягкость»

Fig. 4. A task on the differentiation of consonant sounds. а. Choose a paronym for the highlighted word with paired consonants — deaf vs. voiced. б. Choose a paronym for the highlighted word with paired consonants — hard vs. soft

Чтение

Цикл заданий по освоению навыков чтения и понимания текста может быть реализован в двух вариантах: в табличной форме — клавиша «Слух. Чтение» (рис. 5а) или с использованием предварительно созданной презентации (рис. 5б).

Упражнения

Ниже показаны примеры упражнений по теме «Расширение словарного запаса: названия птиц»

(задание: «вставить пропущенные буквы в слове «с_р_к_») (рис. 6) и по теме «Предлоги» (задание: «вставить нужное слово в предложение») (рис. 7).

Ученик в процессе выполнения задания должен «перетащить» с помощью мыши нужные буквы из ряда, расположенного внизу экрана, и вставить их в надлежащее место вверху экрана, причем выбрав нужный регистр. В случае верного ответа появляется картинка — визуальное поощрение действий ученика.

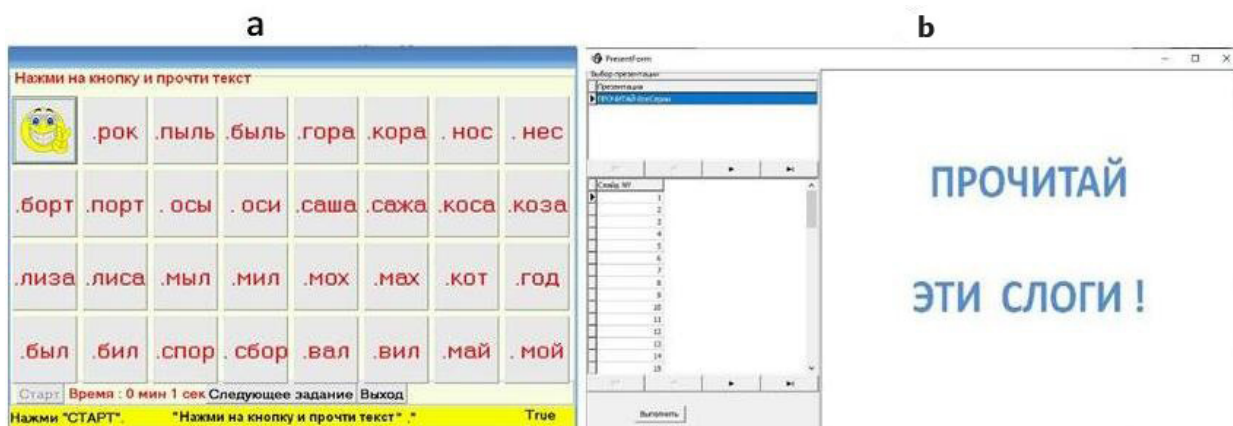


Рис. 5. Вид экрана при выполнении задания «Чтение». а. При табличном представлении текстового материала. б. При использовании опции «Презентации»

Fig. 5. The “Reading” task. а — text as a table. б — text as a presentation

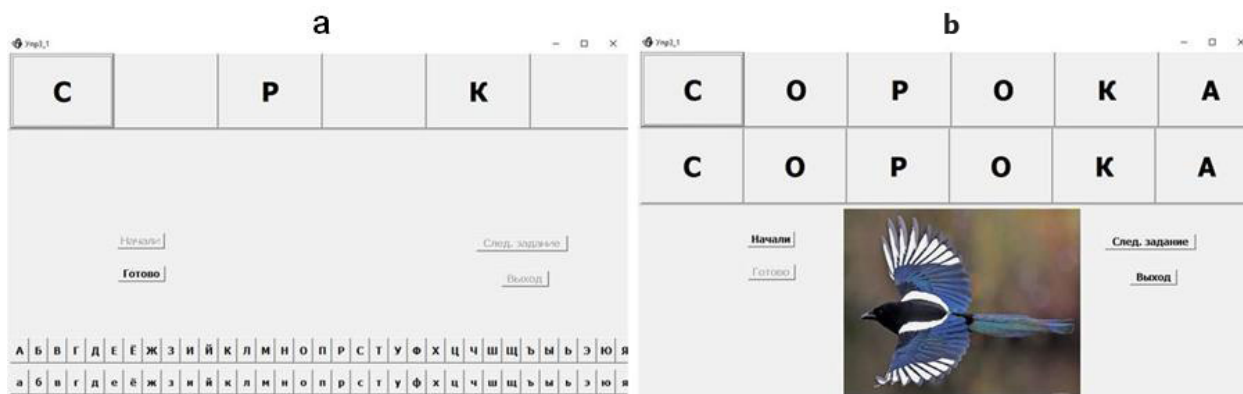


Рис. 6. Вид экрана при выполнении задания из раздела «Упражнения». а. Перед выполнением задания. б. После выполнения задания при верном ответе

Fig. 6. A task from the “Exercises” section (insert the missing letter). а — before the assignment. б. — after completing the task with the correct answer

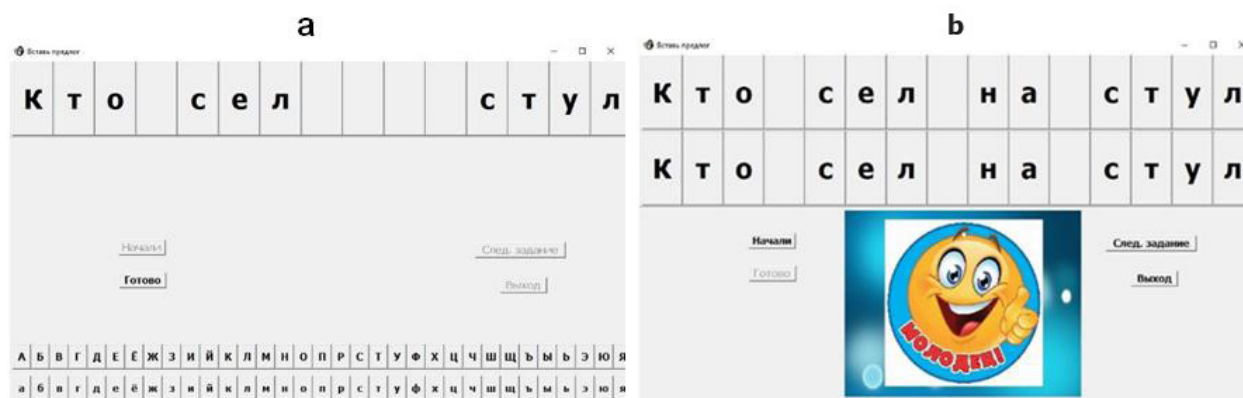


Рис. 7. Вид экрана при выполнении задания из раздела «Упражнения». а. Перед выполнением задания. б. После выполнения задания при верном ответе

Fig. 7. A task from the “Exercises” section (insert the missing word). а — before the assignment. б — after completing the task with the correct answer

Результаты

В процессе выполнения заданий автоматически определяются объективные показатели: время выполнения задания, число правильных и ошибочных ответов, число пропусков целевых стимулов, а также осуществляется запись речевого материала. Их просмотр производится при нажатии клавиши «Результаты» (рис. 1). Все результаты занятий сохраняются в базе данных в формате персонифицированных excel-файлов (табл. 1) и wav-файлов (рис. 8).

На рис. 8 представлена звуковая запись чтения слогов при выполнении задания с использованием опции «Презентации».

Импорт — Экспорт

При использовании этого подраздела предполагается, что у различных пользователей

программы сформированы рабочие матрицы заданий, представляющие взаимный интерес. К примеру, пользователь № 1 (условно) хочет получить определенные матрицы заданий от пользователя № 2, создавшего эти матрицы. В таком случае ему следует связаться с автором заданий и заказать нужные матрицы. Пользователь № 2 на своем компьютере переносит матрицы в базу обмена, используя опцию «Экспорт», и отправляет их пользователю № 1, который загружает матрицы в свою базу заданий с помощью опции «Импорт», и далее работает с ними в процессе занятий. Для проведения уроков в удаленном режиме программа *Aud_Sp_Dis* устанавливается на домашних компьютерах учеников. В процессе интерактивного урока учитель посылает рабочие матрицы заданий по выбранной теме занятий и получает от учеников результаты

Табл. 1. Результаты выполнения заданий: «найди звук/букву{а}» и «подбери пароним к выделенному слову с парными гласными (“а”–“о”»)

Класс 5	Ученик	Инициалы					
Дата, время	Файл	Звук	Время, с	Всего целевых стимулов	Всего нажатий	Ошибка	Пропуск
14.11.2022 10:45:49	Гл. а–о	А	22	14	14	1	0
20.12.2022 10:30:15	Гл. а–о	А	17	14	14	0	0
15.11.2022 10:20:20	Пар. гл.–зв.	Гл.–зв.	28	10	10	2	0
15.11.2022 10:55:16	Пар. тв.–мяг.	Тв.–мяг.	24	10	10	1	0

Примечание: в столбце «Файл» содержатся названия файлов рабочих матриц учебных заданий, которые присваивает создатель матрицы по своему усмотрению. В данном случае в названии кратко обозначены категории стимулов для слуховой дифференциации при выполнении задания: «Гласные а–о» — «Гл. а–о» и «Паронимы глухой-звонкий» — «Пар. гл.–зв.», «Паронимы твердый-мягкий» — «Пар. тв.–мяг.». В столбце «Звук» содержатся обозначения целевых стимулов при выполнении заданий («А», «гл.–зв.», «тв.–мяг.»).

Table 1. The results of the tasks: “find the sound / letter {a}” and “choose a paronym for the highlighted word with paired vowels (‘a’–‘o’)”

Class 5	Pupil	Initials					
Date, time	File	Sound	Time, s	Total target stimuli	Total clicks	Error	Skip
14.11.2022 10:45:49	Vow. a–o	A	22	14	14	1	0
20.12.2022 10:30:15	Vow. a–o	A	17	14	14	0	0
15.11.2022 10:20:20	Par. deaf–voice	Deaf–voice	28	10	10	2	0
15.11.2022 10:55:16	Par. hard–soft	Hard–soft	24	10	10	1	0

Note: The “File” column contains the names of the training task work matrix files that the matrix creator assigns at his discretion. In this case, the title briefly indicates the categories of stimuli for auditory differentiation when performing the task: “Vowels a–o” — “Vow. a–o” and “Paronyms of the deaf-voice” — “Par. deaf–voice”, “Paronyms of the hard-soft” — “Par. hard–soft”. The “Sound” column contains designations of target stimuli when performing tasks (“A”, “deaf-voice”, “hard–soft”).

их выполнения. Отображение окна обмена информацией при использовании опции «Импорт — Экспорт» показано на рис. 9.

В верхнем поле окна обмена информацией «Импорт — Экспорт» показано содержимое текущей базы сформированных рабочих матриц заданий. В нижнем поле — содержимое базы обмена, в которую нужно задание переносится из текущей базы. Эта операция выполняется нажатием кнопки «из текущей базы в обмен». Файлы базы обмена могут быть сохранены на внешнем носителе и доступны для других пользователей программы. Для осуществления процедуры импорта / экспорта файлов заданий используется создаваемая при инсталляции

папка *Exchange*, содержимое которой при работе с программой *Aud_Sp_Dis* следует перенести на компьютер.

Заключение

Программа предназначена для обучающихся и корректирующих занятий, проводимых логопедами-дефектологами с детьми школьного возраста, в частности, в условиях образовательного учреждения. Ее использование учитывает специфику организации учебного процесса. Учтены потребности учителей логопедов-дефектологов по созданию комплекса учебных заданий, проведению занятий, получению объ-

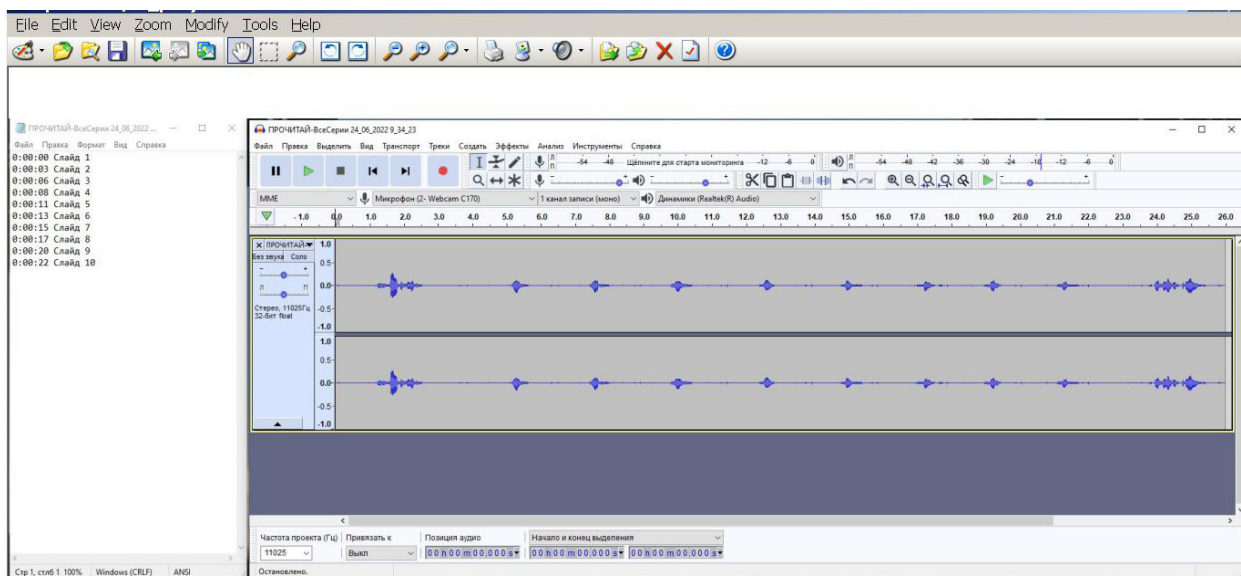


Рис. 8. Звуковая запись чтения слогов: «миш», «мэш», «мяш», «ним», «нос», «сом», «шим», «шос» (задание: «прочти эти слоги»)

Fig. 8. The recoding of a how a student is reading syllables: “mish”, “mesh”, “myash”, “nim”, “nos”, “som”, “shim”, “shos”. Task: Read these syllables

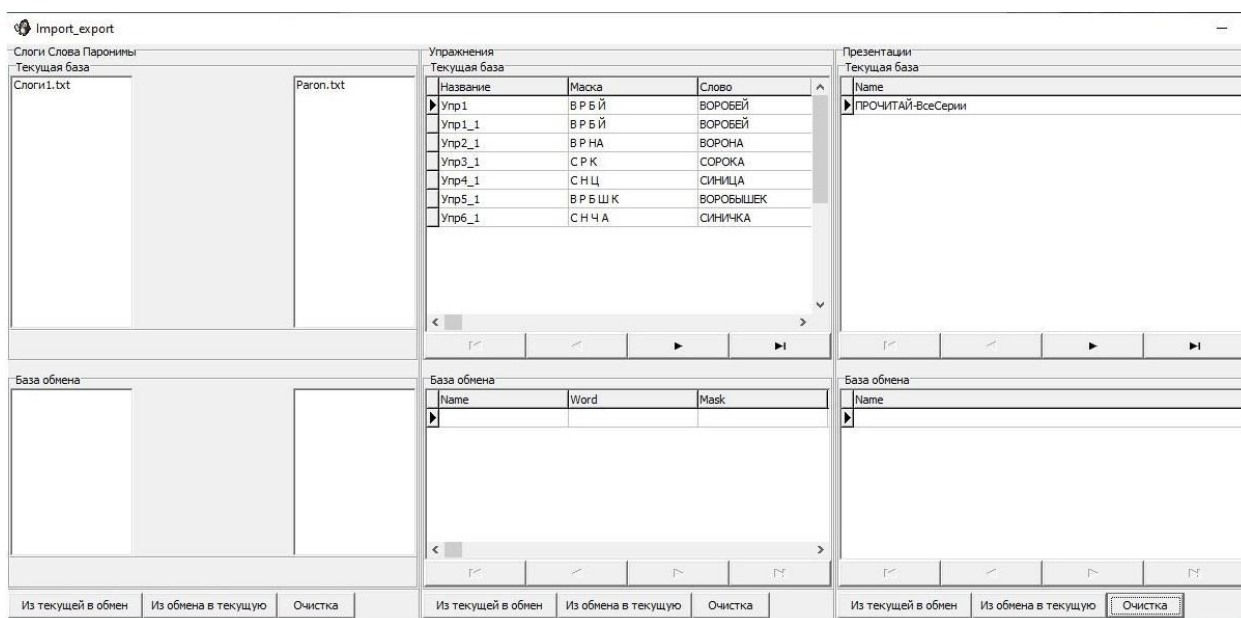


Рис. 9. Отображение окна обмена информацией при использовании опции «Импорт — Экспорт»

Fig. 9. The dialogue window for the “Import/Export” option

ективной оценки выполнения заданий, сохранению базы персонифицированных данных учеников для отслеживания освоения материала в динамике, возможность проведения занятий в онлайн и офлайн режимах.

Программы комплекса использовали в процессе учебных занятий в специализированной школе для обучения школьников 5–9 классов с нарушениями речи. Были использованы различные тестовые задания с разнообразным

дидактическим материалом. Полученные результаты выполнения учебных заданий («найди звук / букву», «найди и повтори звук / букву», «подбери слово-пароним», «прочти текст», «выполни упражнение») в виде персонифицированных excel- и wav-файлов сохранены в базе данных комплекса как опорный материал для отслеживания динамики освоения навыков в процессе лонгитюдного наблюдения за школьниками на протяжении обучения с 5 по 9 класс

(примеры excel- и wav-файлов представлены в табл. 1 и на рис. 8).

Основными направлениями практического применения программного комплекса «Помощник логопеда-дефектолога» являются специальное образование, восстановительная медицина и психофизические исследования слуха и речи в норме и при нарушениях слухоречевой функции.

Для учителей логопедов-дефектологов использование ПК при проведении обучающих и корректирующих занятий обеспечивает:

- создание и сохранение базы данных учеников, участвовавших в занятиях, с сохранением требуемой информации: общие и профильные сведения об ученике (группа / класс, возраст, отметки о состоянии здоровья), даты и время проведения уроков, показатели выполнения заданий (время выполнения задания, число ошибок, пропуски целевых стимулов, звуковая запись ответов) в формате персонифицированных excel- и wav-файлов;
- реализацию в цифровом виде набора учебных заданий с использованием методик и дидактического материала из профильной педагогической коррекционной литературы и собственных разработок;
- различные варианты при подготовке учебного материала для планируемых занятий по выбранным темам: самостоятельное формирование рабочих матриц заданий с индивидуальным материалом; выбор «подходящих» по теме рабочих матриц из числа заданий, находящихся в базе программы; обращение к сторонним пользователям программы с просьбой экспортировать интересные рабочие матрицы (используемые матрицы заданий автоматически сохраняются в базе заданий с возможностью быстрого доступа к ним в процессе проведения занятий);
- оценку педагогом результатов выполнения задания учеником в реальном времени для выбора последующих действий, в частности, использовать возможности перехода к другим заданиям без выхода из программы;
- самостоятельную работу учеников с ПК (при условии достаточных навыков обращения с компьютером), что способствует повышению интереса к занятиям, в частности, за счет быстрого ознакомления с результатами выполнения заданий;

- проведение как очных занятий, так и занятий в режиме удаленного доступа.

Для специалистов в области слуха и речи, занимающихся изучением процессов слухового восприятия и слухового анализа, навыков чтения и письма в норме и при нарушениях слухоречевой функции (тугоухость, кохлеарная имплантация, слуховая нейропатия, последствия инсультов, черепно-мозговых травм, общее недоразвитие речи у детей и др.), использование ПК предоставляет возможности быстрого тестирования состояния испытуемых, планирования и проведения различных исследований с использованием разнообразного стимульного материала, лонгитюдных наблюдений, а также подготовки индивидуальных программ для коррекции выявленных нарушений.

Для частных лиц (родители детей с задержкой речевого развития, лица пожилого возраста, любители интеллектуальных игр) освоение и индивидуальное использование ПК может способствовать совершенствованию слухоречевых и когнитивных навыков, а также профилактике их нарушений, влияющих на качество жизни человека.

В настоящее время ПК успешно используется в специализированной школе № 10 Калининского района Санкт-Петербурга и прошел апробацию в курсе занятий с детьми-инофонами по программе обучения русскому языку.

Использование программного комплекса ПДЛ предполагает, что компьютер, предназначенный для работы с ним, должен удовлетворять следующим требованиям: процессор не ниже *Intel Core i3*, оперативная память не менее 4 Гб, операционная система не ниже *Windows XP*.

Не предусмотрена работа программы под управлением других операционных систем (*Linux*) и на мобильных устройствах.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Разработанные программы и процедуры, которые предполагают участие людей разного возраста, включая школьников, соответствуют требованиям Этического комитета ИФ РАН

и Хельсинкской декларации 1964 г. с ее последующими изменениями. Использование программы происходит в условиях соблюдения этических норм, принятых при проведении коррекционных занятий логопедами-дефектологами.

Ethics Approval

The developed programs and procedures, which involve the participation of people of different age, including school students, comply with the requirements of the Ethics Committee of the Pavlov Institute of Physiology RAS and Declaration of Helsinki of 1964 and its subsequent revisions. The software package complies with the ethical standards used in remedial classes given by speech pathologists.

Вклад авторов

- а. Солнушкин Сергей Дмитриевич — разработка программного обеспечения, тестирование программы, подготовка текста «Краткие сведения о программном комплексе ПЛД» (описание работы программ в различных разделах ПЛД), оформление иллюстративных материалов для публикации;
- б. Столярова Эльвира Ивановна — разработка концепции программы ПЛД, апробация работы программ комплекса в школе, подготовка текстов «Введение», «Порядок работы с программой», «Заключение», оформление списка литературы;
- в. Чихман Валерий Николаевич — разработка концепции программы и программ-

ного обеспечения, подготовка текстов «Аннотация», «Краткие сведения о программном комплексе ПЛД», «Заключение», окончательное редактирование и оформление текста статьи.

Author Contributions

- a. Sergey D. Solnushkin — software development, program testing, preparation of the text “Brief information about the SPA software package” (manuals for different sections of the SPA), design of illustrative materials;
- b. Elvira I. Stolyarova — development of the SPA concept, testing the programs of the complex at school, writing “Introduction”, “The procedure for working with the program”, “Conclusion”, formatting the references;
- c. Valery N. Chikhman — development of the concept of the program and software; writing “Abstract”, “Brief information about the SPA software package”, “Conclusion”, final editing and formatting of the manuscript.

Благодарности

Авторы выражают благодарность логопеду-дефектологу Н. Ю. Беловой, использовавшей в своей практике ПК и высказавшей ряд ценных замечаний по поводу корректировки ряда опций программы.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to the speech pathologist N. Yu. Belova for her valuable comments about several software options that need review.

Литература

- Божедомова, Н. Ю., Яковлева, Н. Н., Архипова, Г. А., Аристова, Т. А. (2019) *Коррекция нарушений письменной речи*. СПб.: Каро, 208 с.
- Борисова, В. В., Грузинова, О. В., Налбандян, М. О. (2019) *Информационная система «Речевые технологии» — эффективный инструмент для индивидуальных и групповых логопедических занятий*. М.: Логомаг, 36 с.
- Буйко, В. И., Сыропятова, Г. А. (2013) *Предупреждение и коррекция дисграфии у младших школьников на материале слов-паронимов (авторская коррекционно-развивающая образовательная программа)*. Екатеринбург: [б. и.], 134 с.
- Ефименкова, А. Н. (2015) *Коррекция устной и письменной речи учащихся начальных классов*. М.: Национальный книжный центр, 319 с.
- Корнев, А. Н., Столярова, Э. И., Гальперина, Е. И., Гийемар, Д. М. (2014) Формирование сенсомоторных механизмов продукции слога на начальном этапе усвоения чтения. *Педиатр*, т. 5, № 4, с. 85–94.
- Королева, И. В., Огородникова, Е. А. (2018) Оценка прогресса развития процессов слухоречевого анализа у детей с нарушением слуха, использующих кохлеарные импланты и слуховые аппараты. *Вестник психофизиологии*, № 2, с. 106–112.
- Любимов, М. Л., Куминова, И. И., Мокс, А. А. (2019) Современные информационные технологии как коррекционный компонент в обучении детей с нарушениями речи. *Вестник МГПУ. Серия: Педагогика и психология*, № 3 (49), с. 121–137.

- Огородникова, Е. А., Балякова, А. А., Жилинская, Е. В. и др. (2017а) Слуховая тренировка как метод реабилитации пациентов с нарушениями слуха и речи. *Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae*, т. 23, № 1, с. 33–42.
- Огородникова, Е. А., Столярова, Э. И., Галкина, Е. В. и др. (2017б) Методики исследования восприятия речевых сигналов у детей с нарушениями слухоречевой функции. В кн.: А. А. Балякова, Н. И. Федотова, М. В. Шляхова (ред.). *Использование современных развивающих методик и технологий в образовательном процессе*. СПб.: Лема, с. 54–59.
- Столярова, Э. И., Белова, Н. Ю. (2019) Особенности слухоречевой функции у школьников 5–9-х классов с речевыми нарушениями. В кн.: Т. А. Круглякова (ред.). *Современная онтолингвистика: проблемы, методы, открытия. Материалы ежегодной международной научной конференции (24–26 июня 2019 г., Санкт-Петербург)*. Иваново: ЛИСТОС, с. 554–559.
- Столярова, Э. И., Белова, Н. Ю. (2020) Оценка развития слухоречевой функции у школьников с нарушениями речи. В кн.: Е. А. Огородникова, Н. И. Федотова, М. В. Шляхова (ред.). *Современные технологии и проблемы инклюзивного образования*. СПб.: Лема, с. 100–106.
- Столярова, Э. И., Белова, Н. Ю. (2021) Характеристики учебных диалогов со школьниками, имеющими слухоречевые нарушения. В кн.: *Современные технологии в организации ранней помощи детям и в образовательной практике*. СПб.: Лема, с. 40–47.
- Столярова, Э. И., Белова, Н. Ю., Солнушкин, С. Д., Чихман, В. Н. (2022) Программный комплекс для коррекционной работы и тестирования детей со слухоречевыми нарушениями. *Психолого-педагогические исследования*, т. 14, № 1, с. 77–94. <https://doi.org/10.17759/psyedu.2022140106>
- Столярова, Э. И., Солнушкин, С. Д., Чихман, В. Н. (2020а) Вспомогательный программный комплекс для использования в логопедической практике. *Вестник психофизиологии*, № 3, с. 207–211.
- Столярова, Э. И., Солнушкин, С. Д., Чихман, В. Н., Белова, Н. Ю. (2020б) *Аппаратно-программный комплекс для логопедической практики «Speech Assistant» (руководство пользователя и методическое пособие)*. СПб.: Лема, 110 с.
- Чихман, В. Н., Солнушкин, С. Д., Молодцов, В. О. (2022) Опыт автоматизации физиологических экспериментов. *Интегративная физиология*, т. 3, № 3, с. 318–335. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-3-318-335>

References

- Borisova, V. V., Gruzina, O. V., Nalbandyan, M. O. (2019) *Informatsionnaya sistema "Rechevye tekhnologii" — effektivnyj instrument dlya individual'nykh i gruppovykh logopedicheskikh zanyatij [Information system "Speech Technologies" is an effective tool for individual and group speech therapy classes]*. Moscow: Logomag Publ., 36 p. (In Russian)
- Bozhedomova, N. Yu., Yakovleva, N. N., Arkhipova, G. A., Aristova, T. A. (2019) *Korreksiya narushenij pis'mennoj rechi [Correction of violations of written speech]*. Saint Petersburg: Karo Publ., 208 p. (In Russian)
- Bujko, V. I., Syropyatova, G. A. (2013) *Preduprezhdenie i korrektsiya disgrafii u mladshikh shkol'nikov na materiale slov-paronimov (avtorskaya korrektsionno-razvivayushchaya obrazovatel'naya programma) [Prevention and correction of dysgraphia in younger schoolchildren on the basis of paronyms (author's correctional and developmental educational program)]*. Yekaterinburg: [s. n.], 134 p. (In Russian)
- Chikhman, V. N., Solnushkin, S. D., Molodtsov, V. O. (2022) Opyt avtomatizatsii fiziologicheskikh eksperimentov [Experiences in automating physiological experiments]. *Integrativnaya fiziologiya — Integrative Physiology*, vol. 3, no. 3, pp. 318–335. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-3-318-335> (In Russian)
- Efimenkova, L. N. (2015) *Korreksiya ustnoj i pis'mennoj rechi uchashchikhsya nachal'nykh klassov [Correction of oral and written speech of primary school students]*. Moscow: Natsional'nyj knizhnyj tsentr Publ., 319 p. (In Russian)
- Kornev, A. N., Stolyarova, E. I., Galperina, E. I., Guillemard, D. M. (2014) Formirovanie sensomotornykh mekhanizmov produktcii sloga na nachal'nom etape usvoeniya chteniya [Formation of sensorimotor mechanisms in syllable production during the initial stage of reading acquisition]. *Pediatr — Pediatrician (St. Petersburg)*, vol. 5, no. 4, pp. 85–94. (In Russian)
- Koroleva, I. V., Ogorodnikova, E. A. (2018) Otsenka progressa razvitiya protsessov slukhorechevogo analiza u detej s narusheniem slukha, ispol'zuyushchikh kokhlearnye implanty i slukhovye apparaty [Assessment of progress in auditory-speech processing in hearing impaired children with cochlear implants and hearing aids]. *Vestnik psikhofiziologii — Psychophysiology News*, no. 2, pp. 106–112. (In Russian)
- Lyubimov, M. L., Kuminova, I. I., Moks, A. A. (2019) Sovremennye informatsionnye tekhnologii kak korrektsionnyj komponent v obuchenii detej s narusheniyami rechi [Modern IT as a correctional component of education for children with speech disorders]. *Vestnik MGPU. Seriya: Pedagogika i psikhologiya — MCU Journal of Pedagogy and Psychology*, no. 3 (49), pp. 121–137. (In Russian)
- Ogorodnikova, E. A., Baliakova, A. A., Zhilinskaia, E. V. et al. (2017a) Slukhovaya trenirovka kak metod rehabilitatsii patsientov s narusheniyami slukha i rechi [Auditory training as a rehabilitation method for patients with hearing and speech impairments]. *Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae*, vol. 23, no. 1, pp. 33–42. (In Russian)

- Ogorodnikova, E. A., Stolyarova, E. I., Galkina, E. V. et al (2017b) Metodiki issledovaniya vospriyatiya rechevykh signalov u detej s narusheniyami slukhorechevoj funktsii [Methods of studying the peculiarities of the perception of speech signals in children with hearing impairments]. In: A. A. Baliakova, N. I. Fedotova, M. V. Shlyakhova (eds.). *Ispol'zovanie sovremennykh razvivayushchikh metodik i tekhnologij v obrazovatel'nom protsesse [Modern technologies and problems of inclusive education]*. Saint Petersburg: Lema Publ., pp. 54–59. (In Russian)
- Stolyarova, E. I., Belova, N. Yu. (2019) Osobennosti slukhorechevoj funktsii u shkol'nikov 5–9-kh klassov s rechevymi narusheniyami [Features of hearing-speech function in schoolchildren of 5–9th classes with speech disorders]. In: T. A. Kruglyakova (ed.). *Sovremennaya ontolingvistika: problemy, metody, otkrytiya. Materialy ezhegodnoj mezhdunarodnoj nauchnoj konferentsii (24–26 iyunya 2019 g., Sankt-Peterburg) [Modern Ontolinguistics: Problems, methods, discoveries. Materials of the Annual International Scientific Conference (June 24–26, 2019, Saint Petersburg)]*. Ivanovo: LISTOS Publ., pp. 554–559. (In Russian)
- Stolyarova, E. I., Belova, N. Yu. (2020) Otsenka razvitiya slukhorechevoj funktsii u shkol'nikov s narusheniyami rechi [Assessment of the development of hearing and speech function in schoolchildren with speech disorders]. In: E. A. Ogorodnikova, N. I. Fedotova, M. V. Shlyakhova (eds.). *Sovremennye tekhnologii i problemy inklyuzivnogo obrazovaniya [Modern technologies and problems of inclusive education]*. Saint Petersburg: Lema Publ., pp. 100–106. (In Russian)
- Stolyarova, E. I., Belova, N. Yu. (2021) Kharakteristiki uchebnykh dialogov so shkol'nikami, imeyushchimi slukhorechevye narusheniya [Characteristics of training dialogues with students with hearing impairments]. In: *Sovremennye tekhnologii v organizatsii rannej pomoshchi detyam i v obrazovatel'noj praktike [Modern technologies in the organization of early assistance to children and in educational practice]*. Saint Petersburg: Lema Publ., pp. 40–47. (In Russian)
- Stolyarova, E. I., Belova, N. Yu., Solnushkin, S. D., Chikhman, V. N. (2022) Programmnyj kompleks dlya korrektsionnoj raboty i testirovaniya detej so slukhorechevymi narusheniyami [Software package for special teaching and testing of children with hearing and speech impairments]. *Psikhologo-pedagogicheskie issledovaniya — Psychological-Educational Studies*, vol. 14, no. 1, pp. 77–94. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2022-3-3-318-335> (In Russian)
- Stolyarova, E. I., Solnushkin, S. D., Chikhman, V. N. (2020a) Vspomogatel'nyj programmnyj kompleks dlya ispol'zovaniya v logopedicheskoy praktike [Assistive software complex for logopedic practice]. *Vestnik psikhofiziologii — Psychophysiology News*, no. 3, pp. 207–210. (In Russian)
- Stolyarova, E. I., Solnushkin, S. D., Chikhman, V. N., Belova, N. Yu. (2020b) *Apparatno-programmnyj kompleks dlya logopedicheskoy praktiki "Speech Assistant" (rukovodstvo pol'zovatelya i metodicheskoe posobie) [Hardware and software complex for speech therapy practice "Speech Assistant" (user and methodological manual)]*. Saint Petersburg: Lema Publ., 110 p. (In Russian)



Check for updates

Экспериментальные статьи

УДК 612.826 + 612.884

EDN VDCPTA

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-312-323>

Дифференцированные реакции нейронов большого и дорсального ядер шва крысы на висцеральные и соматические болевые сигналы

Б. М. Сушкевич ^{✉1}, А. А. Михалкин ¹, О. А. Любашина ¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторах

Борис Михайлович Сушкевич, SPIN-код: 9154-4183, ORCID: 0000-0003-1359-439X, e-mail: bob-jn@mail.ru

Александр Александрович Михалкин, SPIN-код: 9942-9379, Scopus AuthorID: 55210047400, ORCID: 0000-0003-2342-6357, e-mail: mikhalkin@infran.ru

Ольга Анатольевна Любашина, SPIN-код: 5257-4057, Scopus AuthorID: 6505777191, ResearcherID: A-6241-2017, ORCID: 0000-0002-6296-4628, e-mail: lyubashinaoa@infran.ru

Для цитирования: Сушкевич, Б. М., Михалкин, А. А., Любашина, О. А. (2023) Дифференцированные реакции нейронов большого и дорсального ядер шва крысы на висцеральные и соматические болевые сигналы.

Интегративная физиология, т. 4, № 3, с. 312–323. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-312-323> EDN VDCPTA

Получена 5 июля 2023; прошла рецензирование 22 августа 2023; принята 23 августа 2023.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00151 (ИФ РАН).

Права: © Б. М. Сушкевич, А. А. Михалкин, О. А. Любашина (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Ключевыми структурами серотонинергической системы мозга, вовлеченными в механизмы регуляции болевой чувствительности, являются большое (БЯШ) и дорсальное (ДЯШ) ядра шва. Рядом исследований продемонстрированы отличающиеся эффекты висцеральных и соматических болевых раздражений на функциональную активность нейронов этих ядер, что указывает на возможные различия в механизмах обработки ими болевых сигналов разной природы. Однако до настоящего времени специальное исследование таких механизмов никем не проводилось, поэтому целью наших экспериментов на анестезированных самцах крыс линии Вистар являлось сравнительное изучение нейрональных реакций БЯШ и ДЯШ на висцеральное (колоректальное растяжение) и соматическое (сдавливание хвоста) болевые раздражения. Работа выполнена с использованием иммуногистохимического метода определения экспрессии c-fos белков и микроэлектродной регистрации импульсной активности нейронов. В обеих структурах не было выявлено различий в локализации c-fos-синтезирующих клеток, активируемых применяемыми раздражениями, однако реактивные к соматической стимуляции нейроны содержали более крупные клеточные ядра. По импульсным реакциям на болевые воздействия ноцицептивные нейроны БЯШ и ДЯШ были разделены на три группы: 1) отвечающие активацией только на колоректальное растяжение (висцеральные); 2) возбуждающиеся только при сдавливании хвоста (соматические); 3) реагирующие возбуждением на оба раздражения (общие). При этом ДЯШ содержало большее, чем БЯШ, количество висцеральных ноцицептивных клеток при меньшей доле соматических. Однако в обоих ядрах общие ноцицептивные нейроны проявляли более выраженные реакции на соматический стимул, чем на висцеральный, а ответы соматических клеток на сдавливание хвоста были интенсивнее, чем у висцеральных нейронов на колоректальное растяжение. Полученные данные свидетельствуют, что БЯШ и ДЯШ содержат отличающиеся по морфо-функциональным характеристикам популяции нейронов, которые могут дифференцированным образом реагировать на активацию висцерального или соматического болевых входов, способствуя специфичной для каждого вида боли активности серотонинергической системы мозга.

Ключевые слова: ядра шва, висцеральная боль, соматическая боль, экспрессия c-fos белков, нейрональная активность

Differential reactions of neurons in the rat raphe magnus and dorsal raphe nuclei to visceral and somatic pain signals

B. M. Sushkevich ¹, A. A. Mikhalkin¹, O. A. Lyubashina¹

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Authors

Boris M. Sushkevich, SPIN: 9154-4183, ORCID: 0000-0003-1359-439X, e-mail: bob-jn@mail.ru

Aleksandr A. Mikhalkin, SPIN: 9942-9379, Scopus AuthorID: 55210047400, ORCID: 0000-0003-2342-6357, e-mail: mikhalkin@infran.ru

Olga A. Lyubashina, SPIN: 5257-4057, Scopus AuthorID: 6505777191, ResearcherID: A-6241-2017, ORCID: 0000-0002-6296-4628, e-mail: lyubashinaoa@infran.ru

For citation: Sushkevich, B. M., Mikhalkin, A. A., Lyubashina, O. A. (2023) Differential reactions of neurons in the rat raphe magnus and dorsal raphe nuclei to visceral and somatic pain signals. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 312–323. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-312-323> EDN VDCPTA

Received 5 July 2023; reviewed 22 August 2023; accepted 23 August 2023.

Funding: The study was supported by the Russian Science Foundation, project No. 23-25-00151.

Copyright: © B. M. Sushkevich, A. A. Mikhalkin, O. A. Lyubashina (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The key structures of the brain serotonergic system involved in the mechanisms of pain regulation are the raphe magnus (RMg) and dorsal raphe (DR) nuclei. Some studies have demonstrated dissimilar effects of visceral and somatic pain stimuli on the neuronal activity of these nuclei. This suggests differences in the local mechanisms of visceral and somatic pain processing. However, to date, no one has specifically studied these mechanisms. The aim of our experiments on anesthetized male Wistar rats was comparative evaluation of RMg and DR neuronal responses to visceral (colorectal distension) and somatic (tail squeezing) noxious stimulations. The study was performed using c-fos immunohistochemistry and extracellular microelectrode recording of neuronal impulse activity. In both structures, the distributions of c-fos-synthesizing cells activated by different stimuli coincided, however, somatic stimulation-reactive neurons contained larger cellular nuclei. Based on response properties, RMg and DR nociceptive neurons were divided into three groups: 1) responding with activation only to colorectal distension (visceral); 2) excited only by tail squeezing (somatic); 3) activated by both stimuli (general). DR contained a larger number of visceral nociceptive cells than RMg, with smaller proportion of somatic cells. However, in both nuclei, general nociceptive neurons showed more pronounced responses to somatic stimulation than to visceral one, and somatic cell reactions to tail squeezing were more intense than colorectal distension-evoked visceral neuron responses. The obtained data indicate that RMg and DR contain morphologically and functionally distinct neuronal populations that can selectively respond to visceral or somatic pain stimuli, thus contributing to the pain type-specific activity of serotonergic system.

Keywords: raphe nuclei, visceral pain, somatic pain, c-fos expression, neuronal activity

Введение

Серотонинергическая система головного мозга, играющая важную роль в эндогенных механизмах регуляции болевой чувствительности, берет свое начало в ядрах шва. Из них ключевыми в церебральном контроле боли являются большое (БЯШ) и дорсальное (ДЯШ) ядра шва (Martins, Tavares 2017; Wang, Nakai 1994). Нисходящие проекции локализованного в ростральной вентромедиальной области продолговатого мозга БЯШ на спинальный задний рог способны опосредовать как торможение, так и облегчение в нем ноцицептивной трансмиссии (Bardoni 2019; Martins, Tavares 2017; Wei

et al. 2012). В свою очередь, восходящие пути от ДЯШ среднего мозга к гипоталамусу, таламусу, лимбическим и кортикальным структурам переднего мозга модулируют поведенческие, эмоционально-аффективные и когнитивные реакции организма на боль (Hao et al. 2023; Mercer Lindsay et al. 2021; Wang, Nakai 1994). Продемонстрированы также тормозные эффекты стимуляции ДЯШ на спинальные ноцицептивные рефлексы, которые, как полагают, реализуются через его нисходящие проекции на БЯШ (Wang, Nakai 1994).

Активация БЯШ и ДЯШ с последующей реализацией ими анти- или проноцицептивных влияний происходит при поступлении

периферических болевых сигналов, которые восходят к ним непосредственно по спиноретикулярному и спиналоаамическому трактам, либо через парабрахиальный комплекс моста (Almeida et al. 2004; 2006; Chen, Heinricher 2022). Ранее полагали, что эти ядра одинаковым образом вовлечены в контроль разных видов ноцицепции и их нейрональные реакции на болевые стимулы не зависят от происхождения последних (Fields et al. 1991). Между тем, более подробные исследования выявили различные по своему характеру ответы нейронов БЯШ на болевую стимуляцию разных частей тела (Ellrich et al. 2001). В дальнейшем в целом ряде работ были выявлены отличающиеся эффекты висцеральных и соматических болевых раздражений на *c-fos*-синтезирующую (Chen et al. 2003) и импульсную активности нейронов БЯШ и ДЯШ (Brink, Mason 2003; Brink et al. 2006; Pinto-Ribeiro et al. 2011; Sikandar, Dickenson 2011). Эти данные указывают на возможные различия в нейрональных процессах, обеспечивающих обработку этими ядрами болевой информации от внутренних органов и поверхностных тканей тела. Однако до настоящего времени специальное исследование таких нейрональных процессов никем не проводилось.

Поэтому целью проведенных нами экспериментов на крысах являлось сравнительное изучение нейрональных реакций БЯШ и ДЯШ на висцеральные и соматические болевые сигналы.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 26 взрослых самцах крыс линии Вистар (285–340 г) из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем». Животные были внутрибрюшинно анестезированы смесью уретана (Sigma-Aldrich, США; 800 мг/кг) и альфа-хлоралозы (ICN Biomedicals, США; 60 мг/кг). Висцеральная болевая стимуляция состояла в растяжении колоректальной области толстой кишки (КРР) резиновым баллоном, раздуваемым до 80 мм рт. ст. (шприцевой насос ДШ-09, Висма-Планар, Беларусь). Для соматического болевого раздражения применяли механическое сдавливание основания хвоста пинцетом алгезиметра (нагрузка 650–900 г; BIO-RP-R, Bioseb SAS, Франция).

Иммуногистохимическое исследование

Для иммуногистохимических экспериментов девять анестезированных крыс были случайным образом разделены на три равные группы:

1) контрольная (без стимуляции); 2) с висцеральным болевым раздражением; 3) с соматической болевой стимуляцией. Оба болевых раздражения осуществляли в течение 60 с каждые пять минут в течение часа. После транскардиальной перфузии животных 4% раствором параформальдегида в 0,01 М фосфатном буфере с pH 7,4 (ФБ), их мозг извлекали и выдерживали по 24 ч в 20% и 30% растворах сахарозы в 0,01 М ФБ при 4 °С. В дальнейшем на санном микротоме (Reichert, Германия) с замораживающим столиком ОЛ-ЗСО 30 (Россия) были изготовлены фронтальные серийные срезы мозга (40 мкм) через области исследуемых структур.

Срезы первой серии окрашивали по методу Ниссля крезилковым фиолетовым (Merck, Германия). Вторая серия срезов была подвергнута иммуногистохимической обработке для визуализации клеток с *c-fos*-позитивными ядрами. Для этого срезы обрабатывали по авидин-биотин-пероксидазному методу с использованием первичных поликлональных антител к белку *c-fos* (ABE457, Sigma-Aldrich, США; 1:10000) и вторичных биотинилированных антител (goat anti-rabbit IgG, PK-4001 kit, Vector Laboratories, США; 1:600). Изображения препаратов получали на микроскопе Olympus CX41 (Япония) с видеокамерой Nikon (Япония). Далее с помощью авторского программного пакета Cell Annotation Software (Nurzynska et al. 2017) на каждом из срезов в пределах БЯШ и ДЯШ определяли количество, реферированную к фону оптическую плотность и площадь *c-fos*-позитивных клеточных ядер.

Нейрофизиологическое исследование

В экспериментах использованы 17 крыс, у которых изучали импульсную активность БЯШ (девять животных) или ДЯШ (восемь крыс). Для этого голову анестезированного животного закрепляли в стереотаксическом приборе (Медикор, Венгрия) и после хирургического обеспечения доступа просверливали отверстие в зоне проекции на кости черепа исследуемого ядра по атласу мозга крысы (Paxinos, Watson 1998). Отверстие для регистрации нейронов БЯШ располагалось 9,0–12,0 мм каудальнее брегмы и 0,0–2,0 мм от средней линии, ДЯШ — 7,0–9,0 мм каудальнее брегмы и 0,2–2,0 мм от средней линии. Внеклеточную регистрацию нейрональной активности осуществляли вольфрамовыми микроэлектродами (1 мкм, 1 МОм; WPI, США), перемещаемыми при помощи микропогружателя (МП-2, Россия) с шагом в четыре мкм. У каждого животного регистрацию осуществляли в 7–15 точках внутри исследуемого ядра

на расстоянии не менее 150 мкм друг от друга. Регистрируемый сигнал после усиления (DAM 80, WPI, США) подавали на звуковую карту компьютера с визуализацией и записью в программе Audition 3 (Adobe Corp, США).

Запись нейрональных реакций на болевые раздражения производили поочередно с интервалом не менее трех минут, сначала на висцеральное и затем на соматическое. В каждом случае запись осуществляли на трехминутном интервале: 60 с до стимуляции (фоновый показатель), 30 с во время воздействия болевого стимула и 90 с после него. Согласно проведенным ранее исследованиям (Lyubashina et al. 2019), индикатором ноцицептивного характера применяемого раздражения являлось вызываемое им понижение или повышение уровня системного артериального давления, которое регистрировали при помощи датчика MLT0670 (ADInstruments, Великобритания) через канюлю в бедренной артерии. Последующую селекцию нейрональных разрядов по форме и определение их средней частоты до, во время и после болевой стимуляции выполняли в программе Spike2 (CED, Великобритания). Нейроны считали реагирующими, если частота их разрядов во время раздражения изменялась от фонового значения не менее чем на 15%. По завершении эксперимента животное подвергали эвтаназии внутривенным введением трехкратной дозы анестезирующей смеси, после чего выполняли электролитическое разрушение ткани мозга пропусканием через регистрирующий электрод постоянного тока отрицательной полярности (0,5–1,2 мА; 40 с). Мозг извлекали и фиксировали (10% раствор параформальдегида в 0,01 М ФБ). Локализацию мест регистрации производили на обработанных по методу Ниссля срезах мозга (40 мкм) с помощью атласа мозга крысы (Paxinos, Watson 1998).

Статистическую обработку, сравнение и графическое оформление полученных в разных экспериментах результатов производили с помощью программных пакетов Origin 2017 (OriginLab, США) и GraphPad InStat 3.02 (GraphPad Software, США). В связи с отклонением полученных данных от нормального распределения (тест Шапиро — Вилка), при их анализе применяли непараметрические методы для зависимых (парный тест Вилкоксона) и независимых измерений (тесты Крускала — Уоллиса и Манна — Уитни — Вилкоксона). Для сравнения количественного представительства нейронов в исследуемых ядрах шва использовали χ^2 -критерий и точный тест Фишера. Данные в зависимости от их вида были представ-

лены как абсолютное значение, среднее \pm стандартная ошибка среднего или как медиана (25-й процентиль; 75-й процентиль). Во всех случаях различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Эффекты висцерального и соматического болевых раздражений на c-fos-синтезирующую активность нейронов большого и дорсального ядер шва

При иммуногистохимическом исследовании БЯШ в нем было отмечено существенное по сравнению с контрольным уровнем ($7,1 \pm 1,1$ клеток/срез) увеличение числа c-fos-синтезирующих нейронов как после КРР ($p < 0,001$, $U = 75$, тест Манна — Уитни — Вилкоксона), так и после сдавливания хвоста ($p < 0,001$, $U = 70$) (рис. 1 А). Различий в локализации активируемых разными ноцицептивными входами клеток в пределах ядра не выявлено. Однако в целом для соматической стимуляции было характерным вовлечение значительно большего количества клеток БЯШ, чем для висцеральной ($p = 0,04$, $U = 135$) (рис. 1 А). Плотности иммуногистохимического окрашивания c-fos-синтезирующих клеточных ядер в БЯШ контрольной и подверженных разным болевым воздействиям групп не различались ($p = 0,7$, $KW = 0,59$, тест Крускала — Уоллиса). Однако анализ их площади показал, что реактивные к соматическому раздражению нейроны имели более крупные ядра, чем реагирующие на КРР ($p = 0,001$, $U = 83$, тест Манна — Уитни — Вилкоксона) (рис. 1 В). Последнее указывает на возможную нейрорхимическую и/или функциональную разнородность этих клеток.

Число c-fos-синтезирующих нейронов ДЯШ в контроле составляло $37,7 \pm 7,4$ клеток/срез. Этот показатель существенно увеличивался после КРР ($p = 0,03$, $U = 69$, тест Манна — Уитни — Вилкоксона) и сдавливания хвоста ($p = 0,002$, $U = 88$) (рис. 1 С). Не было выявлено различий в локализации и количестве ($p = 0,4$, $U = 108$) нейронов ДЯШ, активируемых разными стимулами. Однако как и в БЯШ выявленные после соматической болевой стимуляции клетки ДЯШ содержали более крупные c-fos-позитивные ядра, чем таковые после висцеральной ($p < 0,0001$, $U = 32$, тест Манна — Уитни — Вилкоксона) (рис. 1 D), свидетельствуя в пользу их принадлежности к различным нейрональным популяциям. При этом оптические плотности иммунопозитивных клеточных ядер в ДЯШ в контроле и после

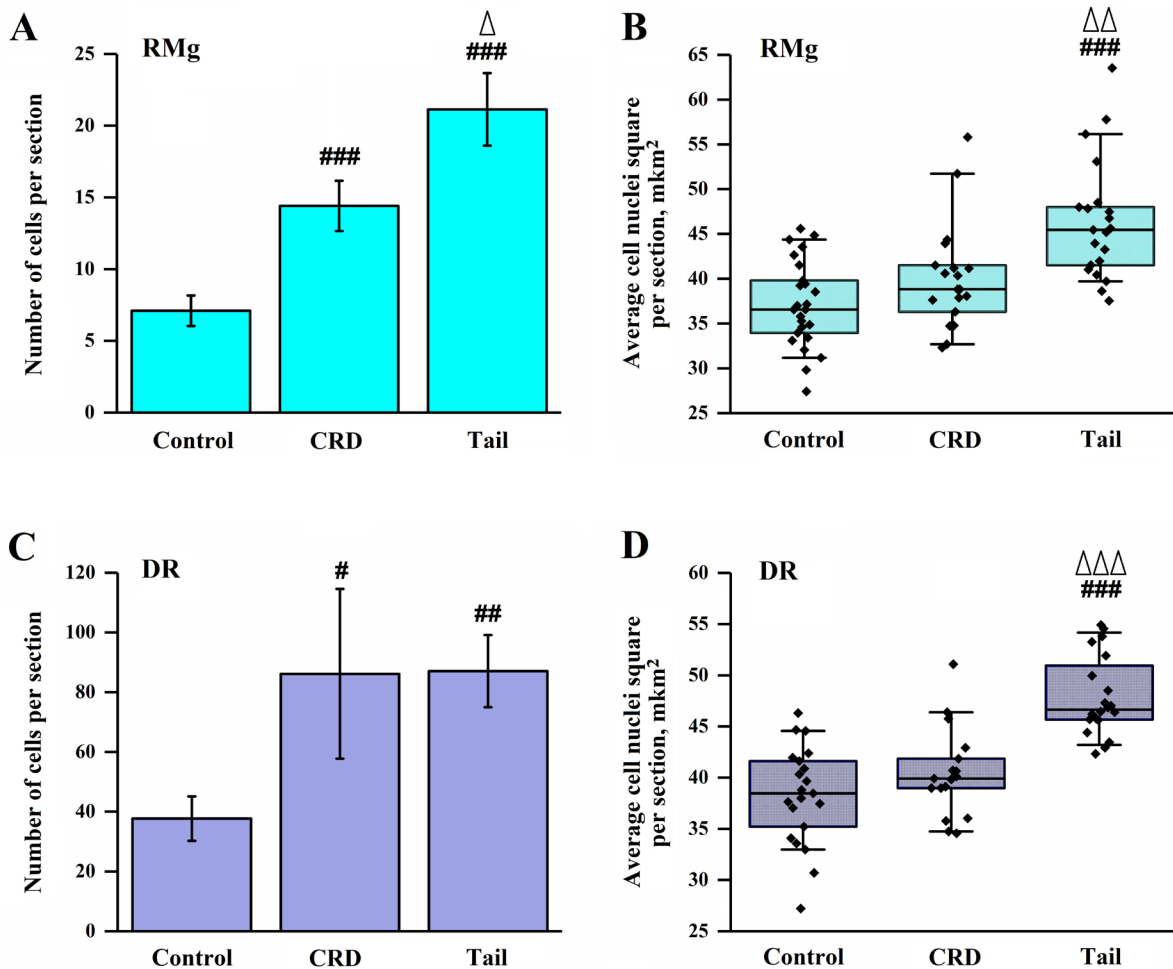


Рис. 1. Количество *c-fos*-позитивных нейронов (A, C) и средняя площадь их клеточных ядер (B, D) в большом (RMg) и дорсальном (DR) ядрах шва у крыс без стимуляции (Control), после КРП (CRD) и сдавливания хвоста (Tail). На (A, C) высота колонки — среднее значение, концы отрезков — стандартные ошибки среднего. На (B, D) верхняя и нижняя границы каждого прямоугольника — первый и третий квартили (25-й и 75-й процентиля соответственно), горизонтальная линия внутри — медиана (50-й процентиль), концы отрезков — 10-й и 90-й процентиля, ромбы — индивидуальные значения в выборке. Значимые различия (тест Манна — Уитни — Вилкоксона): # — $p < 0,05$, ## — $p < 0,01$, ### — $p < 0,001$ — по сравнению с контролем; ^ — $p < 0,05$, ^^ — $p < 0,01$ и ^^ — $p < 0,001$ — по сравнению с КРП (CRD)

Fig. 1. Numbers of *c-fos*-positive neurons (A, C) and average area of their cell nuclei (B, D) in the raphe magnus (RMg) and dorsal raphe (DR) of rats without stimulation (Control), after noxious colorectal distension (CRD) and squeezing of the tail (Tail). In (A, C), each column — the mean value, the ends of the segments — standard errors of the mean. In (B, D), the upper and lower edges of the box — the first and third quartile values (25th and 75th percentiles, respectively), horizontal line inside — the median (50th percentile), the ends of the segments — the 10th and 90th percentiles, diamonds — individual values in the sample. Significant differences (Mann — Whitney — Wilcoxon test): # — $p < 0,05$, ## — $p < 0,01$, ### — $p < 0,001$ — vs. control; ^ — $p < 0,05$, ^^ — $p < 0,01$ и ^^ — $p < 0,001$ — vs. colorectal distension (CRD)

разных видов болевой стимуляции не различались ($p = 0,5$, KW = 1,37, тест Крускала — Уоллиса).

Полученные иммуногистохимические данные позволили нам предположить, что реципиентами разных видов болевых сигналов в исследуемых ядрах шва являются отличающиеся по морфо-функциональным характеристикам популяции нейронов. Поэтому основной целью последующих нейрофизиологических экспериментов было выяснение особенностей импульс-

ных реакций нейронов в пределах этих ядер на висцеральное и соматическое болевые раздражения.

Импульсные реакций нейронов большого и дорсального ядер шва на висцеральные и соматические болевые сигналы

В ходе нейрофизиологических экспериментов была зарегистрирована активность 422 нейронов в левой части БЯШ (рис. 2 А)

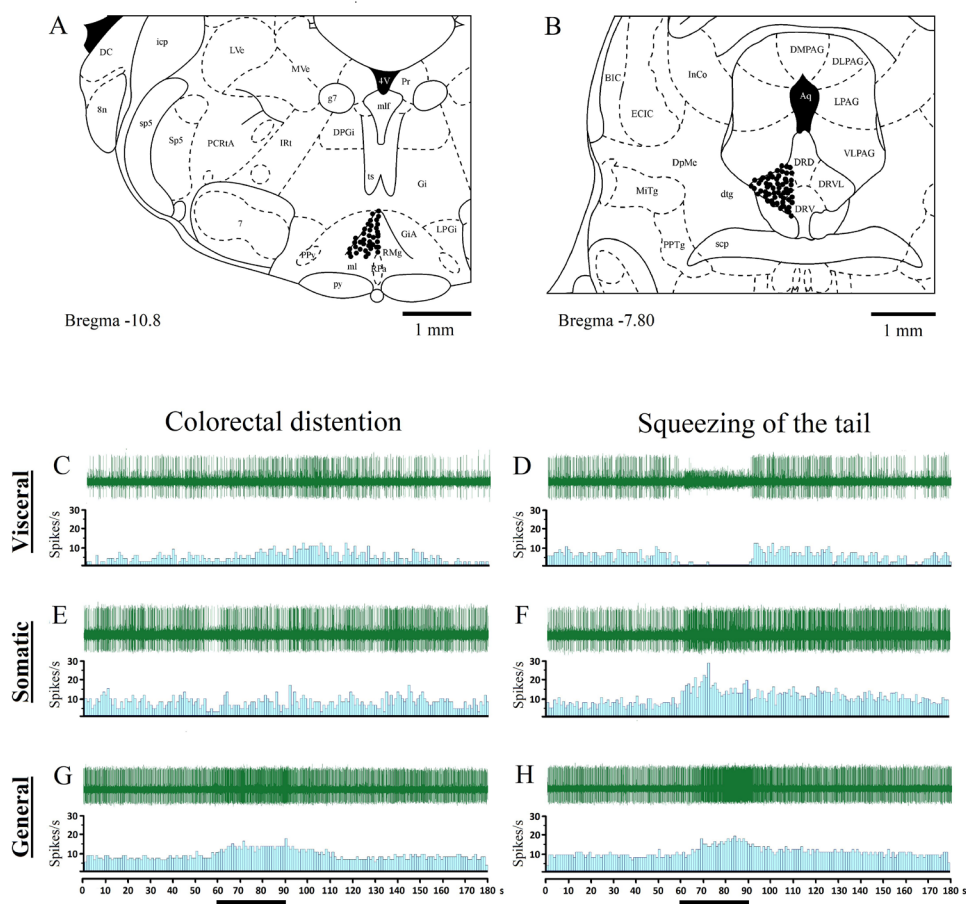


Рис. 2. Локализация мест регистрации нейронов в большом (А) и дорсальном (В) ядрах шва и примеры реакций нейронов висцерального (С, D), соматического (Е, F) и общего (G, H) типов на КРП (Colorectal distension) и сдавливание хвоста (Squeezing of the tail). На (А, В) каждый символ (черная точка) соответствует локализации нескольких зарегистрированных нейронов. Схемы срезов адаптированы из атласа мозга крысы (Paxinos, Watson 1998). Обозначения на (А): 4V — IV желудочек мозга, 7 — ядро лицевого нерва, DPGi — дорсальное парагигантоклеточное ядро, Gi — гигантоклеточное ретикулярное ядро, GiA — часть альфа гигантоклеточного ретикулярного ядра, IRt — промежуточное ретикулярное ядро, LPGi — латеральное парагигантоклеточное ядро, ml — медиальный лемниск, PPy — парапирамидное ядро, py — пирамидный тракт, RMg — большое ядро шва, RPa — бледное ядро шва. Обозначения на (В): Aq — Сильвиев водопровод, DRD — дорсальная часть дорсального ядра шва, DRV — вентральная часть дорсального ядра шва, DRVL — вентролатеральная часть дорсального ядра шва, dtg — пучок дорсального ядра покрывки, DLPAG — дорсолатеральная колонка околотоводопроводного серого вещества, DMPAG — дорсомедиальная колонка околотоводопроводного серого вещества, LPAG — латеральная колонка околотоводопроводного серого вещества, VLPAG — вентролатеральная колонка околотоводопроводного серого вещества, scp — верхняя ножка мозжечка. На (С-Н) в верхней части каждого фрагмента — нативные записи импульсной активности, в нижней — соответствующие частотные гистограммы с бином в 1 с. По оси абсцисс — время в секундах (s), по оси ординат — частота разрядов (Spikes/s). Горизонтальные отрезки — время действия раздражения

Fig. 2. Localization of neuronal recording sites in the raphe magnus (A) and dorsal raphe (B) nuclei and typical examples of responses of visceral (C, D), somatic (E, F) and general (G, H) neurons to noxious colorectal distension (C, E, G) and squeezing of the tail (D, F, H). In (A, B), each symbol (black dot) corresponds to the localization of several studied neurons. The brain section diagrams are adopted from a rat brain atlas (Paxinos, Watson 1998). Designations in (A): 4V — 4th ventricle, 7 — facial nucleus, DPGi — dorsal paragigantocellular nucleus, Gi — gigantocellular reticular nucleus, GiA — gigantocellular reticular nucleus, alpha part, IRt — intermediate reticular nucleus, LPGi — lateral paragigantocellular nucleus, ml — medial lemniscus, PPy — parapyramidal nucleus, py — pyramidal tract, RMg — raphe magnus nucleus, RPa — raphe pallidus nucleus. Designations in (B): Aq — aqueduct (Sylvius), DRD — dorsal raphe nucleus, dorsal part, DRV — dorsal raphe nucleus, ventral part, DRVL — dorsal raphe nucleus, ventrolateral part, dtg — dorsal tegmental bundle, DLPAG — dorsolateral periaqueductal gray, DMPAG — dorsomedial periaqueductal gray, LPAG — lateral periaqueductal gray, VLPAG — ventrolateral periaqueductal gray, scp — superior cerebellar peduncle. In (C-H), top — native records of impulse activity, below — corresponding rate histograms, bin is 1 s. Abscissa — time in seconds (s), ordinate — discharge rate (spikes/s). Horizontal lines — duration of the stimulations

и 764 нейронов в левой вентролатеральной части ДЯШ (рис. 2 В), которые демонстрировали существенное по сравнению с исходной фоновой активностью увеличение частоты разрядов в ответ на висцеральное и/или соматическое болевое раздражения (для разных реакций: $p < 0,001$, парный тест Вилкоксона). По особенностям реакций на разные болевые стимулы зарегистрированные нейроны обоих ядер были разделены на три группы: 1) отвечающие учащением разрядов только на висцеральный болевой стимул (рис. 2 С, D); 2) усиливающие свою активность только при соматическом болевом раздражении (рис. 2 Е, F); 3) реагирующие возбуждением на оба болевых воздействия (рис. 2 G, H). Мы обозначили такие нейроны как висцеральные ноцицептивные, соматические ноцицептивные и общие ноцицептивные соответственно. Эти нейрональные популяции не демонстрировали каких-либо различий локализации в пределах изученных ядер шва.

В обоих ядрах шва около половины зарегистрированных ноцицептивных нейронов относились к соматической группе, около трети — к общей и меньшая часть — к висцеральной (рис. 3 А). Однако χ^2 -критерием были выявлены существенные различия между БЯШ и ДЯШ в процентном соотношении нейронов этих групп ($p = 0,0001$, $\chi^2 = 17,92$). При этом в ДЯШ отмечено значительно большее содержание висцеральных ноцицептивных клеток при меньшей доле соматических, чем в БЯШ ($p < 0,0001$, точный тест Фишера) (рис. 3 А).

Средняя частота фоновых разрядов всех зарегистрированных нейронов БЯШ была выше, чем у таковых в ДЯШ ($p < 0,0001$, $U = 87326$, тест Манна — Уитни — Вилкоксона). При этом разные группы ноцицептивных нейронов в первом ядре характеризовались сходными частотами фоновой импульсной активности ($p = 0,3$, $KW = 2,28$, тест Крускала — Уоллиса), тогда как в ДЯШ они по данному показателю различались ($p < 0,0001$, $KW = 19,50$). Минимальным уровнем фоновой импульсации обладали общие ноцицептивные нейроны ДЯШ (для сравнений с висцеральными и соматическими соответственно: $p = 0,005$, $U = 18228$ и $p = 0,0003$, $U = 37175$, тест Манна — Уитни — Вилкоксона), тогда как висцеральные и соматические характеризовались сопоставимыми частотами фоновых разрядов ($p = 0,85$, $U = 27278$) (рис. 3 В).

В обоих исследуемых ядрах шва общие ноцицептивные нейроны проявляли более выраженные реакции на сдавливание хвоста, чем на КРР ($p = 0,011$ для БЯШ, $p < 0,0001$ для ДЯШ, парный тест Вилкоксона), и ответы соматических

клеток на этот же стимул были интенсивнее, чем у висцеральных нейронов на специфическое для них КРР ($p < 0,0001$, $U = 4272$ для БЯШ, $p < 0,0001$, $U = 17825$ для ДЯШ, тест Манна — Уитни — Вилкоксона). Наряду с этим были отмечены и межструктурные различия в ноцицептивной нейрональной активности. Так, БЯШ отличалось более слабыми реакциями общих ноцицептивных нейронов на оба болевых стимула, чем ДЯШ ($p = 0,03$, $U = 15821$ для висцерального, $p = 0,02$, $U = 15588$ для соматического, тест Манна — Уитни — Вилкоксона), а также соматических нейронов — на сдавливание хвоста ($p = 0,009$, $U = 33764$) (рис. 3 С, D). В свою очередь, соматические нейроны ДЯШ при неспецифическом для них КРР демонстрировали торможение импульсной активности, которое было более выражено, чем у сходной группы клеток в БЯШ ($p = 0,04$, $U = 34821$).

Обсуждение

Результаты проведенного исследования впервые продемонстрировали, что БЯШ и ДЯШ содержат совместно локализованные, но различающиеся по морфометрическим и импульсным характеристикам популяции нейронов, которые избирательно активируются в ответ на висцеральные или соматические болевые стимулы. Выявленные в иммуногистохимических экспериментах различия в размерах c-fos-позитивных ядер таких нервных клеток указывают на их принадлежность к разным нейрхимическим и/или функциональным группам. Последнее согласуется с полученными нами нейрофизиологическими данными, которые свидетельствуют о наличии в БЯШ и ДЯШ, по крайней мере, трех групп нейронов, различающихся по ноцицептивным свойствам. Помимо неселективных клеток, реагирующих возбуждением на оба болевых раздражения (общих ноцицептивных), были зарегистрированы нейроны, селективно отвечающие усилением импульсации только на висцеральное или соматическое болевое воздействие (соответственно, висцеральные и соматические ноцицептивные). Такие избирательно реагирующие на разные болевые входы нейроны могут обеспечивать дифференцированную обработку ядрами шва висцеральных и соматических ноцицептивных сигналов, способствуя специфичной для каждого вида боли активности серотонинергической системы мозга.

Ранее в области БЯШ также было продемонстрировано существование разных групп ноцицептивных нейронов, но их классификация была

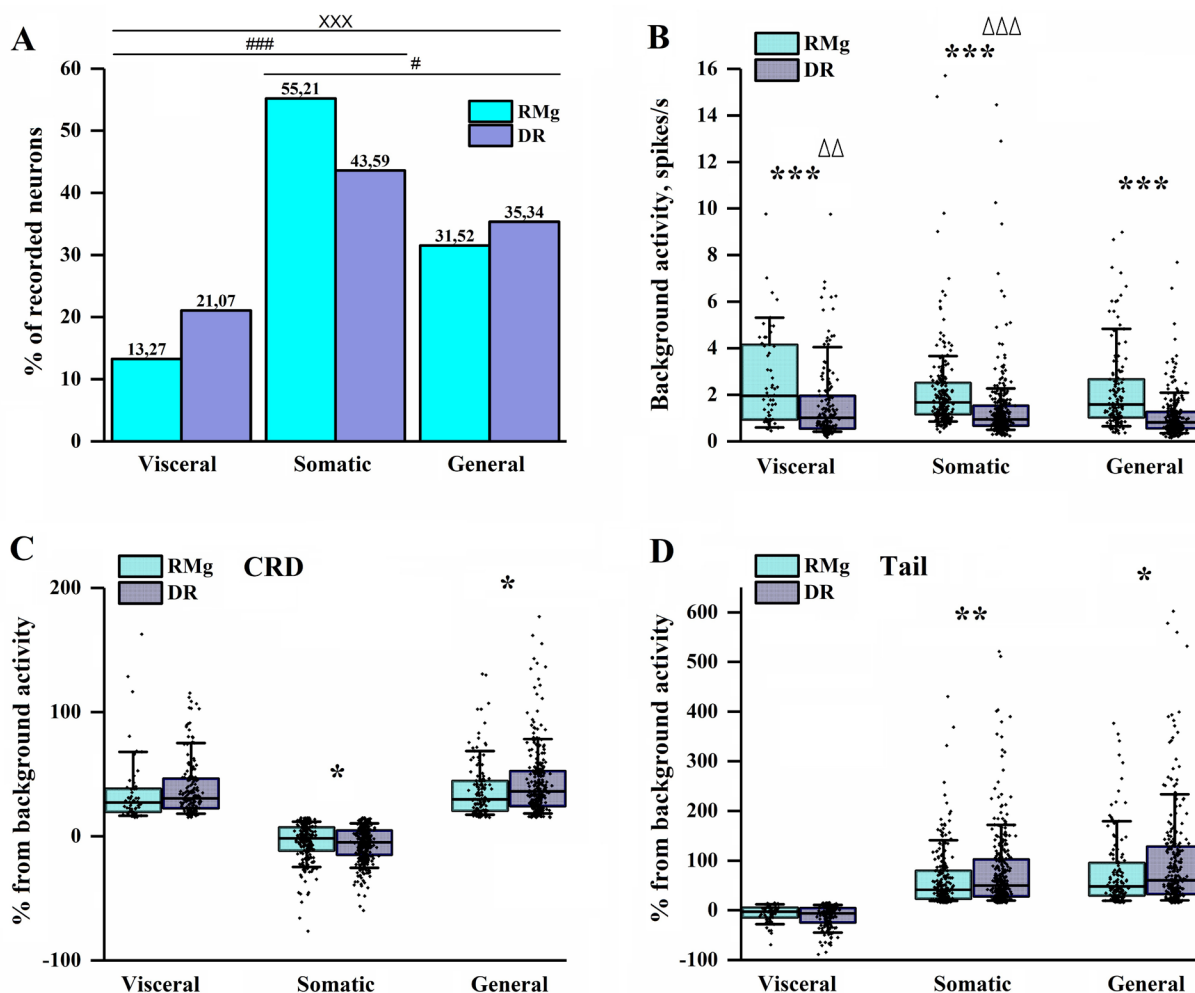


Рис. 3. Процентное представительство (A), фоновая (B) и вызванная разными болевыми стимулами (C, D) активности нейронов большого (RMg) и дорсального (DR) ядер шва, относящихся к висцеральной (Visceral), соматической (Somatic) и общей (General) ноцицептивным группам. На (A) высота колонки — процент (%) от общего количества зарегистрированных нейронов в данном ядре. Значимые различия между RMg и DR: ^{xxx} — $p < 0,001$, тест X^2 ; # — $p < 0,05$, ^{###} — $p < 0,001$, точный тест Фишера. На (B–D) точки — индивидуальные значения в выборке. Background activity — фоновая активность, CRD — KPP, Tail — сдавливание хвоста. Значимые различия (тест Манна — Уитни — Вилкоксона): * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ — между RMg и DR; $\Delta\Delta$ — $p < 0,01$, $\Delta\Delta\Delta$ — $p < 0,001$ — между общими ноцицептивными нейронами DR и его селективными нейрональными группами. Остальные обозначения см. рис. 1 B, D

Fig. 3. Percent representation (A), background (B) and different noxious stimulus-induced (C, D) activities of the raphe magnus (RMg) and dorsal raphe (DR) neurons of visceral, somatic, and general nociceptive groups. In (A), each column — % of all the recorded neurons in a given nucleus. Significant differences between RMg and DR: ^{xxx} — $p < 0.001$, X^2 test; # — $p < 0.05$, ^{###} — $p < 0.001$, Fisher's exact test. In (B–D), data points — individual values in the sample. CRD — noxious colorectal distension, Tail — squeezing of the tail. Significant differences (Mann — Whitney — Wilcoxon test): * — $p < 0.05$, ** — $p < 0.01$, *** — $p < 0.001$ — between RMg and DR; $\Delta\Delta$ — $p < 0.01$, $\Delta\Delta\Delta$ — $p < 0.001$ — between general nociceptive and selective neuronal groups in DR. Other designations as in Fig. 1 B, D

основана только на реакциях на болевую термическую стимуляцию хвоста (Fields et al. 1983). Клетки, которые при таком раздражении демонстрировали усиление импульсации, были отнесены к клеткам «включения» (ON-клеткам), а которые тормозили свою активность — к клеткам «выключения» (OFF-клеткам). Нереагирующие на указанную стимуляцию были обозначены

как нейтральные или NEUTRAL-клетки (Fields et al. 1983, 1991; Martins, Tavares 2017). Однако более подробные исследования ноцицептивных нейронов БЯШ выявили диссоциацию между их ответами на болевую термическую стимуляцию хвоста и болевое механическое раздражение других частей тела (Ellrich et al. 2001). Также было показано, что классификация

нейронов БЯШ на ON-, OFF- и NEUTRAL-клетки по реакциям на стимуляцию хвоста не предопределяет их ответы на висцеральные болевые стимулы. Так ON-клетки для соматической ноцицепции могли являться OFF- или NEUTRAL-клетками для висцеральной и наоборот, свидетельствуя о недостаточности данной классификации (Brink, Mason 2003; Brink et al. 2006; Pinto-Ribeiro et al. 2011; Sikandar, Dickenson 2011). В нашем исследовании были зарегистрированы сходные группы нейронов БЯШ, которые демонстрировали возбуждающие (ON-подобные) реакции на один вид болевой стимуляции и либо не реагировали (были NEUTRAL-клетками), либо тормозили свою активность (как OFF-клетки) при другом болевом раздражении. Однако, в отличие от предыдущих исследований, мы впервые выделили такие нейроны БЯШ в отдельные группы, висцеральную ноцицептивную и соматическую ноцицептивную, и провели анализ их импульсных активностей в сравнении между собой и с импульсной активностью общих ноцицептивных нейронов, т. е. реагирующих возбуждением как на висцеральное, так и соматическое болевые воздействия (т. е. общих ON-клеток).

Аналогичные популяции висцеральных, соматических и общих ноцицептивных нейронов были впервые показаны нами также в ДЯШ, реакции которого на разные виды болевых сигналов малоизучены. В настоящее время имеются лишь доказательства активации его c-fos-синтезирующих клеток при действии соматических и висцеральных стимулов механической, термической или химической природы (Chen et al. 2003; Dong et al. 1997; Ren et al. 2007; Vilela et al. 2021), а также сведения о возбуждающих и тормозных реакциях его нейронов на соматическое болевое раздражение (Montagne-Clavel et al. 1995; Shima et al. 1986). Однако изучение импульсных ответов нейронов ДЯШ на висцеральные болевые стимулы и выявление особенностей его нейрональной активации при разных видах боли ранее никем не проводилось.

Следует отметить, что нейроны, демонстрирующие недифференцированные и селективные реакции на висцеральное и соматическое болевые раздражения ранее были обнаружены в дорсальном роге спинного мозга (Luz et al. 2015; Qin et al. 2008), каудальной вентролатеральной ретикулярной области продолговатого мозга (Lyubashina et al. 2019; Ness et al. 1998; Pinto-Ribeiro et al. 2011), а также в переднем гипоталамусе (Snowball et al. 2000), вентральном заднелатеральном и вентромедиальном ядрах таламуса (Monconduit et al. 2003; Zhang et al.

2002; 2003). Это свидетельствует о существовании на разных уровнях ЦНС специфических нейрональных популяций, обеспечивающих селективную обработку висцеральных и соматических болевых сигналов. Мы полагаем, что продемонстрированные нами группы селективных ноцицептивных клеток БЯШ и ДЯШ являются частью таких нейрональных систем.

При этом нами выявлено различие указанных ядер шва по содержанию и свойствам ноцицептивных нейронов разного типа, которое свидетельствует не только о большей реактивности ДЯШ к разного рода болевым сигналам в целом, но и большей чувствительности его селективных ноцицептивных нейронов к висцеральным болевым стимулам по сравнению с таковыми в БЯШ. Учитывая различную роль ДЯШ и БЯШ в супраспинальных механизмах ноцицепции (Bardoni 2019; Martins, Tavares 2017; Mercer Lindsay et al. 2021; Wang, Nakai 1994), последнее обстоятельство может указывать на большее вовлечение серотонинергической системы мозга в модуляцию эмоционально-аффективных и когнитивных реакций организма на висцеральную боль, чем в нисходящую модуляцию ее спинальной трансмиссии.

Как уже было указано выше, выявленное нами отличие в размерах клеточных ядер нейронов БЯШ и ДЯШ, которые избирательно активируются висцеральным или соматическим болевыми входами, предполагает различный нейрохимический фенотип этих клеточных популяций. Однако имеющиеся к настоящему времени данные по этому вопросу отрывочны и не позволяют определить нейрохимические особенности этих групп нейронов в пределах БЯШ или ДЯШ. Согласно результатам ранее проведенных исследований, в обоих ядрах висцеральные и соматические болевые сигналы в равной степени активируют серотонин-синтезирующие клетки (Chen et al. 2003; Dong et al. 1997), и это позволяет нам предположить их принадлежность к общим ноцицептивным нейронам. Однако таковые составляют меньшую часть реагирующих на разные виды ноцицепции клеток БЯШ и ДЯШ, большинство из которых являются несеротонинергическими (Chen et al. 2003; Dong et al. 1997; Gao, Mason 2000; Gau et al. 2013; Nguyen et al. 2022). Показано, что несеротониновыми клетками БЯШ, активирующимися при поступлении соматической болевой информации, являются глутамат- и ГАМК-ергические (Radhakrishnan, Sluka 2009; Winkler et al. 2006), а также ГАМК/энкефалин-синтезирующие нейроны (Zhang et al. 2015). Однако остается неясным, какие из этих клеточных

популяций являются избирательно реактивными к соматической боли, а какие также участвуют в висцеральной болевой трансмиссии. Что касается несеротониновых нейронов ДЯШ, то лишь установлено вовлечение в механизмы висцеральной боли его нитроергических клеток (Yang et al. 2003), тогда как нейрохимические характеристики реагирующих на соматическую боль остаются неясными.

Таким образом, полученные данные впервые свидетельствуют о существовании в БЯШ и ДЯШ специальных нейрональных механизмов для селективной обработки висцеральных и соматических болевых сигналов, которые могут определять специфичный для каждого вида боли уровень активности серотонинергической системы мозга. Результаты исследования указывают на необходимость дифференцированного подхода к лечению висцеральных и соматических болевых синдромов, в частности, с использованием серотонинергических средств.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Все экспериментальные процедуры соответствовали этическим стандартам, утвержден-

ными правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии им. И. П. Павлова РАН.

Ethics Approval

All experimental procedures complied with the ethical standards approved by the Russian legislation, the principles of the Basel Declaration, and the recommendations of the Institutional Animal Care and Use Committee of the Pavlov Institute of Physiology.

Вклад авторов

- а. Сушкевич Борис Михайлович — сбор данных, обработка данных, написание и редактирование статьи;
- б. Михалкин Александр Александрович — сбор данных, обработка данных;
- в. Любашина Ольга Анатольевна — идея работы и планирование эксперимента, обработка данных, написание и редактирование статьи.

Author Contributions

- а. Boris M. Sushkevich — data collection, data processing, manuscript writing and editing;
- б. Aleksandr A. Mikhalkin — data collection, data processing;
- с. Olga A. Lyubashina — conceptualization and experimental design, data processing, manuscript writing and editing.

References

- Almeida, A., Leite-Almeida, H., Tavares, I. (2006) Medullary control of nociceptive transmission: Reciprocal dual communication with the spinal cord. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, vol. 3, no. 3, pp. 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.ddmec.2006.09.001> (In English)
- Almeida, T. F., Roizenblatt, S., Tufik, S. (2004) Afferent pain pathways: A neuroanatomical review. *Brain Research*, vol. 1000, no. 1–2, pp. 40–56. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.10.073> (In English)
- Bardoni, R. (2019) Serotonergic modulation of nociceptive circuits in spinal cord dorsal horn. *Current Neuropharmacology*, vol. 17, no. 12, pp. 1133–1145. <https://doi.org/10.2174/1570159X17666191001123900> (In English)
- Brink, T. S., Hellman, K. M., Lambert, A. M., Mason, P. (2006) Raphe magnus neurons help protect reactions to visceral pain from interruption by cutaneous pain. *Journal of Neurophysiology*, vol. 96, no. 6, pp. 3423–3432. <https://doi.org/10.1152/jn.00793.2006> (In English)
- Brink, T. S., Mason, P. (2003) Raphe magnus neurons respond to noxious colorectal distension. *Journal of Neurophysiology*, vol. 89, no. 5, pp. 2506–2515. <https://doi.org/10.1152/jn.00825.2002> (In English)
- Chen, T., Dong, Y.-X., Li, Y.-Q. (2003) Fos expression in serotonergic neurons in the rat brainstem following noxious stimuli: An immunohistochemical double-labelling study. *Journal of Anatomy*, vol. 203, no. 6, pp. 579–588. <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2003.00242.x> (In English)
- Chen, Q., Heinricher, M. M. (2022) Shifting the balance: How top-down and bottom-up input modulate pain via the rostral ventromedial medulla. *Frontiers in Pain Research*, vol. 3, article 932476. <https://doi.org/10.3389/fpain.2022.932476> (In English)

- Dong, Y.-X., Han, Z.-A., Xiong, K.-H., Rao, Z.-R. (1997) Fos expression in serotonergic midbrain neurons projecting to the paraventricular nucleus of hypothalamus after noxious stimulation of the stomach: A triple labeling study in the rat. *Neuroscience Research*, vol. 27, no. 2, pp. 155–160. [https://doi.org/10.1016/s0168-0102\(96\)01143-1](https://doi.org/10.1016/s0168-0102(96)01143-1) (In English)
- Ellrich, J., Ulucan, C., Schnell, C. (2001) Is the response pattern of on- and off-cells in the rostral ventromedial medulla to noxious stimulation independent of stimulation site? *Experimental Brain Research*, vol. 136, no. 3, pp. 394–399. <https://doi.org/10.1007/s002210000594> (In English)
- Fields, H. L., Bry, J., Hentall, I., Zorman, G. (1983) The activity of neurons in the rostral medulla of the rat during withdrawal from noxious heat. *Journal of Neuroscience*, vol. 3, no. 12, pp. 2545–2552. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.03-12-02545.1983> (In English)
- Fields, H. L., Heinricher, M. M., Mason, P. (1991) Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. *Annual Reviews of Neuroscience*, vol. 14, no. 1, pp. 219–245. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.14.030191.001251> (In English)
- Gao, K., Mason, P. (2000) Serotonergic Raphe magnus cells that respond to noxious tail heat are not ON or OFF cells. *Journal of Neurophysiology*, vol. 84, no. 4, pp. 1719–1725. <https://doi.org/10.1152/jn.2000.84.4.1719> (In English)
- Gau, R., Sévoz-Couche, C., Hamon, M., Bernard, J.-F. (2013) Noxious stimulation excites serotonergic neurons: A comparison between the lateral paragigantocellular reticular and the raphe magnus nuclei. *Pain*, vol. 154, no. 5, pp. 647–659. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.09.012> (In English)
- Hao, S., Shi, W., Liu, W. et al. (2023) Multiple modulatory roles of serotonin in chronic pain and injury-related anxiety. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, vol. 15, article 1122381. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2023.1122381> (In English)
- Luz, L. L., Fernandes, E. C., Sivado, M. et al. (2015) Monosynaptic convergence of somatic and visceral C-fiber afferents on projection and local circuit neurons in lamina I: a substrate for referred pain. *Pain*, vol. 156, no. 10, pp. 2042–2051. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000267> (In English)
- Lyubashina, O. A., Sivachenko, I. B., Sokolov, A. Y. (2019) Differential responses of neurons in the rat caudal ventrolateral medulla to visceral and somatic noxious stimuli and their alterations in colitis. *Brain Research Bulletin*, vol. 152, pp. 299–310. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2019.07.030> (In English)
- Martins, I., Tavares, I. (2017) Reticular formation and pain: The past and the future. *Frontiers in Neuroanatomy*, vol. 11, article 51. <https://doi.org/10.3389/fnana.2017.00051> (In English)
- Mercer Lindsay, N., Chen, C., Gilam, G. et al. (2021) Brain circuits for pain and its treatment. *Science Translation Medicine*, vol. 13, no. 619, article eabj7360. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abj7360> (In English)
- Monconduit, L., Bourgeois, L., Bernard, J.-F., Villanueva, L. (2003) Convergence of cutaneous, muscular and visceral noxious inputs onto ventromedial thalamic neurons in the rat. *Pain*, vol. 103, no. 1–2, pp. 83–91. [https://doi.org/10.1016/s0304-3959\(02\)00418-9](https://doi.org/10.1016/s0304-3959(02)00418-9) (In English)
- Montagne-Clavel, J., Oliveras, J.-L., Martin, G. (1995) Single-unit recordings at dorsal raphe nucleus in the awake-anesthetized rat: Spontaneous activity and responses to cutaneous innocuous and noxious stimulations. *Pain*, vol. 60, no. 3, pp. 303–310. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)00129-3](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)00129-3) (In English)
- Ness, T. J., Follett, K. A., Piper, J., Dirks, B. A. (1998) Characterization of neurons in the area of the medullary lateral reticular nucleus responsive to noxious visceral and cutaneous stimuli. *Brain Research*, vol. 802, no. 1–2, pp. 163–174. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(98\)00608-8](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(98)00608-8) (In English)
- Nguyen, E., Smith, K. M., Cramer, N. et al. (2022) Medullary kappa-opioid receptor neurons inhibit pain and itch through a descending circuit. *Brain*, vol. 145, no. 7, pp. 2586–2601. <https://doi.org/10.1093/brain/awac189> (In English)
- Nurzynska, K., Mikhalkin, A., Piorkowski, A. (2017) CAS: Cell annotation software — research on neuronal tissue has never been so transparent. *Neuroinformatics*, vol. 15, no. 4, pp. 365–382. <https://doi.org/10.1007/s12021-017-9340-2> (In English)
- Paxinos, G., Watson, C. (1998) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 4th ed. London: Academic Press, 237 p. (In English)
- Pinto-Ribeiro, F., Ansah, O. B., Almeida, A., Pertovaara, A. (2011) Response properties of nociceptive neurons in the caudal ventrolateral medulla (CVLM) in monoarthritic and healthy control rats: Modulation of responses by the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN). *Brain Research Bulletin*, vol. 86, no. 1-2, pp. 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2011.06.014> (In English)
- Qin, C., Farber, J. P., Linderth, B. et al. (2008) Neuromodulation of thoracic intraspinal visceroreceptive transmission by electrical stimulation of spinal dorsal column and somatic afferents in rats. *The Journal of Pain*, vol. 9, no. 1, pp. 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2007.08.007> (In English)
- Radhakrishnan, R., Sluka, K. A. (2009) Increased glutamate and decreased glycine release in the rostral ventromedial medulla during induction of a pre-clinical model of chronic widespread muscle pain. *Neuroscience Letters*, vol. 457, no. 3, pp. 141–145. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.03.086> (In English)
- Ren, T.-H., Wu, J., Yew, D. et al. (2007) Effects of neonatal maternal separation on neurochemical and sensory response to colonic distension in a rat model of irritable bowel syndrome. *American Journal of Physiology*

- Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 292, no. 3, pp. G849–G856. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00400.2006> (In English)
- Shima, K., Nakahama, H., Yamamoto, M. (1986) Firing properties of two types of nucleus raphe dorsalis neurons during the sleep-waking cycle and their responses to sensory stimuli. *Brain Research*, vol. 399, no. 2, pp. 317–326. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)91522-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)91522-2) (In English)
- Sikandar, S., Dickenson, A. H. (2011) Pregabalin modulation of spinal and brainstem visceral nociceptive processing. *Pain*, vol. 152, no. 10, pp. 2312–2322. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2011.06.020> (In English)
- Snowball, R. K., Semenenko, F. M., Lumb, B. M. (2000) Visceral inputs to neurons in the anterior hypothalamus including those that project to the periaqueductal gray: A functional anatomical and electrophysiological study. *Neuroscience*, vol. 99, no. 2, pp. 351–361. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(00\)00203-7](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(00)00203-7) (In English)
- Vilela, F. C., Vieira, J. S., Vitor-Vieira, F. et al. (2021) Maternal separation increases pain sensitivity by reducing the activity of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus and noradrenergic neurons in locus coeruleus. *Neuroscience Letters*, vol. 748, article 135734. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135734> (In English)
- Wang, Q.-P., Nakai, Y. (1994) The dorsal raphe: An important nucleus in pain modulation. *Brain Research Bulletin*, vol. 34, no. 6, pp. 575–585. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(94\)90143-0](https://doi.org/10.1016/0361-9230(94)90143-0) (In English)
- Wei, F., Gu, M., Chu, Y.-X. (2012) New tricks for an old slug: Descending serotonergic system in pain. *Sheng Li Xue Bao*, vol. 64, no. 5, pp. 520–530. PMID: [23090493](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23090493/) (In English)
- Winkler, C. W., Hermes, S. M., Chavkin, C. I. et al. (2006) Kappa opioid receptor (KOR) and GAD67 immunoreactivity are found in OFF and Neutral cells in the rostral ventromedial medulla. *Journal of Neurophysiology*, vol. 96, no. 6, pp. 3465–3473. <https://doi.org/10.1152/jn.00676.2006> (In English)
- Yang, B., Zhang, L.-C., Zeng, Y.-M. (2003) Zhōng féng bèi hé wēi liáng zhù shè L-N- xiāo jī jīng dàn suān jiǎ lóng yì zhì dà shǔ yǐ zhuàng jié cháng tòng [Microinjection of L-NAME into dorsal raphe nucleus inhibits nociceptive response in sigmoid pain model of rats]. *Sheng Li Xue Bao — Acta Physiologica Sinica*, vol. 55, no. 5, pp. 577–582. PMID: [14566407](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14566407/) (In Chinese)
- Zhang, H.-Q., Al-Chaer, E. D., Willis, W. D. (2002) Effect of tactile inputs on thalamic responses to noxious colorectal distension in rat. *Journal of Neurophysiology*, vol. 88, no. 3, pp. 1185–1196. <https://doi.org/10.1152/jn.2002.88.3.1185> (In English)
- Zhang, H.-Q., Rong, P.-J., Zhang, S.-P. et al. (2003) Noxious visceral inputs enhance cutaneous tactile response in rat thalamus. *Neuroscience Letters*, vol. 336, no. 2, pp. 109–112. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(02\)01243-0](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(02)01243-0) (In English)
- Zhang, Y., Zhao, S., Rodriguez, E. et al. (2015) Identifying local and descending inputs for primary sensory neurons. *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 125, no. 10, pp. 3782–3794. <https://doi.org/10.1172/JCI81156> (In English)



Check for updates

Экспериментальные статьи

УДК 577.29

EDN JHPLPY

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-324-334>

Полногеномная амплификация малых количеств ДНК для определения молекулярного кариотипа клеток

А. Ф. Сайфитдинова ^{✉1,2}, О. А. Павлова ^{2,3}, А. А. Зелинский ⁴, М. В. Рябина ⁴,
О. С. Глотов ^{5,6,7}, Д. И. Богомаз ^{3,8}, А. А. Рубель ⁴

¹ Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, 191186, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, д. 48

² Международный центр репродуктивной медицины, 197350, Россия, г. Санкт-Петербург, Комендантский пр., д. 53, к. 1, лит. А

³ ООО «Бигль», 192289, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Бухарестская, д. 152, к. 1, кв. 1–77

⁴ Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9

⁵ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства России, 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9

⁶ ООО «Сербалаб», 199106, Россия, г. Санкт-Петербург, Большой пр. В. О., д. 90, к. 2, лит. 3

⁷ Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3

⁸ Институт биомедицинских систем и биотехнологии Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, 194021, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 11

Сведения об авторах

Алсу Фаритовна Сайфитдинова, SPIN-код: 5114-4844, Scopus AuthorID: 6603195889, ResearcherID: C-1104-2011, ORCID: 0000-0002-1221-479X, e-mail: saiftdinova@mail.ru

Ольга Андреевна Павлова, ORCID: 0000-0001-9488-6903, e-mail: pavlova@biobeagle.com

Андрей Андреевич Зелинский, ORCID: 0000-0003-2068-3024, e-mail: andrew_zelinsky@mail.ru

Марина Владиславовна Рябина, ORCID: 0000-0002-5504-7362, e-mail: st070667@student.spbu.ru

Олег Сергеевич Глотов, SPIN-код: 4531-3449, Scopus AuthorID: 23988449900, ResearcherID: H-2516-2017, ORCID: 0000-0002-0091-2224, e-mail: olglotov@mail.ru

Денис Игоревич Богомаз, ORCID: 0000-0002-6536-3465, e-mail: bogomazden@mail.ru

Александр Анатольевич Рубель, SPIN-код: 3961-4690, Scopus AuthorID: 23981106300, ResearcherID: D-2903-2013, ORCID: 0000-0001-6203-2006, e-mail: arubel@mail.ru

Для цитирования: Сайфитдинова, А. Ф., Павлова, О. А., Зелинский, А. А., Рябина, М. В., Глотов, О. С., Богомаз, Д. И., Рубель, А. А. (2023) Полногеномная амплификация малых количеств ДНК для определения молекулярного кариотипа клеток. *Интегративная физиология*, т. 4, № 3, с. 324–334. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-324-334> EDN JHPLPY

Получена 4 июля 2023; прошла рецензирование 26 августа 2023; принята 1 сентября 2023.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 20-14-00148.

Права: © А. Ф. Сайфитдинова, О. А. Павлова, А. А. Зелинский, М. В. Рябина, О. С. Глотов, Д. И. Богомаз, А. А. Рубель (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Задача равномерного масштабирования предельно малых количеств ДНК из отдельных клеток для молекулярно-генетических исследований потребовала разработки специализированных методов. За 30 лет были предложены разные подходы, базирующиеся на использовании вырожденных праймеров. Однако ограничение методов определяется также свойствами используемых полимераз. В настоящем исследовании предложено использование двухступенчатой полногеномной амплификации для получения надежных данных о молекулярном кариотипе исходного образца на основе анализа 20 пикограммов (пг) ДНК. В протоколе на первом этапе фланкирования фрагментов ДНК и амплификации с вытеснением второй цепи была использована пара частично вырожденных праймеров: 5'-TGTGTTGGGTGTGTTTGGNNNNNNGG и 5'-TGTGTTGGGTGTGTTTGGNNNNNNNTTT,

а на втором этапе полимеразной цепной реакции ограничились использованием праймера на основе конститутивной части 5'-TGTTGGGTGTGTTTGG. В работе приведены условия реакции и сравнение использования различных полимераз, а также их сочетаний. Показана возможность применения для первого этапа комбинации полимераз Bst и Pfu в присутствии 10 мМ ионов магния, а также выявлен потенциал для использования полимеразы KlenTaq1, несущей замену D732N, для развития методов полногеномной амплификации. Продемонстрировано, что предложенный метод позволяет масштабировать исходное предельно малое количество ДНК для получения образца, пригодного для анализа методом массового параллельного секвенирования (секвенирование нового поколения, *next generation sequencing*, NGS) с применением стандартных коммерческих протоколов интерпретации данных.

Ключевые слова: вырожденные праймеры, амплификация с множественным вытеснением цепи, полимеразная цепная реакция (ПЦР), секвенирование ДНК отдельных клеток, изменение числа копий участков генома, молекулярный кариотип

Whole genome amplification of small amounts of DNA to determine the molecular karyotype of cells

A. F. Saifitdinova^{1,2}, O. A. Pavlova^{2,3}, A. A. Zelinsky⁴, M. V. Ryabinina⁴,
O. S. Glotov^{5,6,7}, D. I. Bogomaz^{3,8}, A. A. Rubel⁴

¹ Herzen State Pedagogical University of Russia, 48 Moika Emb., Saint Petersburg 191186, Russia

² International Centre for Reproductive Medicine, 53 Komendantsky Ave., Bld. 1A,
Saint Petersburg 197350, Russia

³ Beagle LTD, 152 Bukharestskaya Str., Bld. 1-77, Saint Petersburg 192289, Russia

⁴ Saint Petersburg State University, 7–9 Universitetskaya Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

⁵ Children's Scientific and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, 9 Professora Popova Str., Saint Petersburg 197022, Russia

⁶ Serbalab, 90 Bolshoy Ave. V. O., Saint Petersburg 199106, Russia

⁷ Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D. O. Ott,
3 Mendeleevskaya Line, Saint Petersburg 199034, Russia

⁸ Institute of Biomedical Systems and Biotechnology, Peter the Great Saint Petersburg Polytechnic University,
11 Khlopina Str., Saint Petersburg 194021, Russia

Authors

Alsu F. Saifitdinova, SPIN: 5114-4844, Scopus AuthorID: 6603195889, ResearcherID: C-1104-2011, ORCID: 0000-0002-1221-479X, e-mail: saifitdinova@mail.ru

Olga A. Pavlova, ORCID: 0000-0001-9488-6903, e-mail: pavlova@biobeagle.com

Andrew A. Zelinsky, ORCID: 0000-0003-2068-3024, e-mail: andrew_zelinsky@mail.ru

Marina V. Ryabinina, ORCID: 0000-0002-5504-7362, e-mail: st070667@student.spbu.ru

Oleg S. Glotov, SPIN: 4531-3449, Scopus AuthorID: 23988449900, ResearcherID: H-2516-2017, ORCID: 0000-0002-0091-2224, e-mail: olglotov@mail.ru

Denis I. Bogomaz, ORCID: 0000-0002-6536-3465, e-mail: bogomazden@mail.ru

Aleksandr A. Rubel, SPIN: 3961-4690, Scopus AuthorID: 23981106300, ResearcherID: D-2903-2013, ORCID: 0000-0001-6203-2006, e-mail: arubel@mail.ru

For citation: Saifitdinova, A. F., Pavlova, O. A., Zelinsky, A. A., Ryabinina, M. V., Glotov, O. S., Bogomaz, D. I., Rubel, A. A. (2023) Whole genome amplification of small amounts of DNA to determine the molecular karyotype of cells. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 324–334. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-324-334> EDN JHPLPY

Received 4 July 2023; reviewed 26 August 2023; accepted 1 September 2023.

Funding: This work was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 20-14-00148.

Copyright: © A. F. Saifitdinova, O. A. Pavlova, A. A. Zelinsky, M. V. Ryabinina, O. S. Glotov, D. I. Bogomaz, A. A. Rubel (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Molecular genetic studies often face the need to perform uniform scaling of extremely small amounts of DNA from single cells. This, however, requires the development of specialized methods. Over the past 30 years, various approaches based on the use of degenerate primers have been proposed. However, the methods are not devoid of limitations. These limitations, among other things, are determined by the properties of polymerases. In the present study, we propose the use of two-step whole genome amplification to obtain reliable data on the molecular karyotype of the original sample based on the analysis of 20 picograms of DNA. In the protocol, at the first stage of DNA fragment flanking and amplification with the displacement

of the second strand, a pair of partially degenerate primers was used: 5'-TGTGTTGGGTGTGTTTGGNNNNNNGG and 5'-TGTGTTGGGTGTGTTTGGNNNNNNNTTT. At the second stage of the polymerase chain reaction, the use of a primer based on the constitutive part is sufficient: 5'-TGTGTTGGGTGTGTTTGG. The article provides reaction conditions and compares the use of various polymerases and their combinations. It discusses the possibility of using a blend of Bst and Pfu polymerases in the presence of 10 mM magnesium ions for the first stage. It also shows the potential for using KlenTaq1 polymerase carrying the D732N substitution for the development of whole genome amplification methods. It has been demonstrated that the proposed method allows scaling the initial extremely small amount of DNA to obtain a sample suitable for analysis by massive parallel sequencing (next generation sequencing, NGS) using standard commercial data interpretation protocols.

Keywords: degenerate primers, multiple-strand displacement amplification (MDA), polymerase chain reaction (PCR), single cell DNA sequencing, copy number variation (CNV), molecular karyotype

Введение

Методы полногеномной амплификации ДНК (*whole genome amplification*, WGA) начали разрабатывать для использования в проектах геномных исследований с конца XX века. Они были направлены в первую очередь на получение надежного метода масштабирования малых количеств ДНК без использования трудоемких и дорогостоящих методов клонирования, которые не гарантировали точность, а также могли приводить к утрате отдельных элементов наследственной информации. Однако ограниченные возможности известных ферментов и незнание принципов организации геномов ограничивали возможности ученых.

Метод амплификации ДНК *in vitro* начал развиваться с использования описанной в 1970 году большой субъединицы ДНК-полимеразы I из *Escherichia coli* (фрагмент Кленова). Использование этого фермента для синтеза ДНК в присутствии случайных гексануклеотидных праймеров могло позволить увеличить количество ДНК вдвое за счет репликации второй цепи на каждой из последовательностей денатурированной двунитевой ДНК (Klenow, Henningsen 1970). Основанные на этом методе подходы до сих пор применяют для мечения ДНК как в протоколах ник-трансляции, так и праймерного мечения ДНК, которые используют для визуализации ДНК при проведении молекулярно-генетических исследований (Сайфитдинова 2014).

Вновь к решению проблемы полногеномной амплификации исследователи подошли после разработки метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и появления в арсенале биологов термостабильной ДНК полимеразы Taq из бактерии *Thermus aquaticus* (Saiki et al. 1988). В 1992 году для полногеномной амплификации был разработан метод на основе ПЦР с использованием вырожденных праймеров (*degenerate oligonucleotide primed*, DOP-ПЦР), который

основан на использовании праймеров, внутренняя последовательность которых состоит из шести случайных нуклеотидов: 5'-CCGACTC-GAGNNNNNNATGTGG-3' (Telenius et al. 1992). Протокол амплификации начинался циклами с низкотемпературным отжигом и плавным повышением температуры, в результате чего образовывались фрагменты ДНК, фланкированные известной последовательностью, которые можно было амплифицировать в дальнейшем с использованием стандартного протокола ПЦР. Однако выбор инвариантной последовательности 3' конца был основан на ложных представлениях о доле кодирующих последовательностей в геноме, что приводило к неравномерной амплификации с преимущественным обогащением продукта ПЦР-мобильными элементами. Дальнейшее развитие DOP-ПЦР было связано с модификацией последовательностей праймеров и подбором оптимальных условий низкотемпературных циклов. Они легли в основу целого ряда коммерческих наборов для WGA, однако ни один из них так и не смог приблизиться к реальной полноте амплификации ДНК отдельных клеток.

Очередной научный прорыв произошел после развития методов на основе полимераз с геликазной активностью, которые позволили не только амплифицировать участки, обогащенные шпильками, но и разработать подходы для проведения изотермической амплификации. Большая субъединица ДНК полимеразы I Bst из термофильной бактерии *Geobacillus stearothermophilus* (до 2001 г. вид назывался *Bacillus stearothermophilus*), в отличие от фрагмента Кленова, имеет более высокую оптимальную температуру для синтетической активности. Также, в отличие от интактной ДНК-полимеразы I из *Escherichia coli*, подобно фрагменту Кленова этот фермент не имеет 5'-3' экзонуклеазной активности, но имеет дополнительную способность вытеснять из дуплекса вторую нить и продолжать синтез (Aliotta et al. 1996). Использование

полимеразы Bst для WGA легло в основу разработки методов на основе амплификации с множественным вытеснением цепи (*multiple-strand displacement amplification*, MDA), которые позволили увеличить выход продукта в одном раунде синтеза за счет перекрывания фрагментов (Aviel-Ronen et al. 2006). Недостатком этой амплификации было ограничение длины фрагментов из-за особенностей процессивности фермента Bst, который относится к семейству А восстановительных ДНК полимераз, а также накопление ошибок. Попытки WGA на основе MDA предпринимались ранее с использованием полимеразы фага Ф29, выделенной из фага бактерии *Bacillus subtilis* и относящейся к семейству В полимераз, характеризующейся существенно более высокой скоростью работы и точностью (Blanco et al. 1989). Ее использование легло в основу коммерческих наборов, таких как REPLI-g (Qiagen, США), который нашел успешное применение для амплификации малых количеств ДНК при проведении сравнительной геномной гибридизации (Linck, Resch-Genger 2010). Однако метод не получил широкого внедрения в клиническую практику и не прошел сертификацию для применения в диагностике из-за особенностей предложенного протокола выделения ДНК на основе щелочного лизиса, который может иметь непредсказуемые последствия при анализе критически малых количеств ДНК. Использование гексануклеотидных случайных праймеров, обусловленное низким температурным оптимумом работы полимеразы фага Ф29 (30 °C), а также получение неконтролируемого ветвления продукта усложняют процедуры линейаризации ДНК и стандартизации последующего приготовления библиотек для секвенирования нового поколения (*next generation sequencing*, NGS).

Существенным прорывом в развитии методов WGA стало объединение протоколов MDA и DOP-ПЦР, а также разработка протокола MALBAC (Zong et al. 2012); его модификация была стандартизирована компанией Rubicon Biotechnology (в последующем реализуется компанией Takara Bio, США) и по лицензии используется в составе наборов SurePLEX DNA Amplification System (Illumina, США). Особенностью коммерческих наборов для WGA предельно малых количеств ДНК из отдельных клеток стало использование инвариантной части праймеров на основе сочетания двух нуклеотидов G и T и включение шести вариативных (случайных) нуклеотидов в последовательность. Первый этап выполняется с использованием полимера-

зы с геликазной активностью, а на втором этапе используется ПЦР.

С момента разработки упомянутых протоколов стали доступны новые ферменты, выделенные из термофильных штаммов бактерий рода *Geobacillus* (Oscorbin et al. 2015), такие как большая субъединица полимеразы Gth из *Geobacillus thermoleovorans* G3 (Auron ArtScience, США), которая не обладает 5'–3' и 3'–5' экзонуклеазной активностью. Так же, как и полимеразы Bst, этот фермент обладает способностью к вытеснению второй цепи ДНК и может применяться для изотермической амплификации ДНК. При этом оптимальная температура элонгации для этого фермента выше, что позволяет использовать достаточно длинные праймеры, а более высокая резистентность к высоким температурам позволяет использовать его в циклах с кратковременной денатурацией ДНК.

Еще большие перспективы для развития методов полногеномной амплификации для получения надежных данных о молекулярном кариотипе исходных клеток и определения вариаций количества копий (*copy number variation*, CNV) отдельных фрагментов ДНК дают описанные недавно мутации в гене полимеразы Taq, в частности Klentaq1 с дополнительной заменой D732N (Barnes et al. 2021). Лишенный экзонуклеазной активности, но обладающий способностью к вытеснению второй цепи ДНК, этот фермент сохраняет все преимущества полимеразы Taq, которые позволяют использовать его в протоколах с множественными циклами высокотемпературной денатурации ДНК.

В настоящей работе мы разработали протокол на основе использования частично вырожденных праймеров и сочетания методов MDA и DOP-ПЦР с последующей ПЦР для надежной полногеномной амплификации предельно малых количеств ДНК. Мы показали возможность применения для его реализации различных полимераз, как отдельно взятых, так и в виде смеси ферментов, а также впервые показали возможность применения для WGA полимеразы Klentaq1 с мутацией D732N. Это открывает дальнейшие перспективы при разработке новых протоколов для решения различных задач. Описанный в этой статье метод позволяет получить ампликат, пригодный для дальнейшего анализа с использованием метода массового параллельного секвенирования NGS и получения данных о молекулярном кариотипе исходных отдельных клеток.

Материалы и методы

Для отработки метода амплификации использована стандартная мужская ДНК (Human Reference DNA, Male), поставляемая производителем в концентрации 0,2 мкг/мкл (Agilent Technologies Inc, США), разведенная водой для применения в одной реакции 20 пг ДНК, что соответствует ожидаемому количеству ДНК из нескольких клеток человека. Синтез олигонуклеотидов осуществляли фосфоамидным методом с использованием прибора ASM-800 (Биоссет, Новосибирск) с последующей очисткой в полиакриламидном геле. Для апробации метода были использованы коммерчески доступные ферменты, а также клонированные и полученные в лабораторных условиях белки на основе описаний в открытой научной литературе. Для выделения и очистки белков использована хроматографическая система NGC Discover 10 (Bio-Rad, США). Концентрацию ДНК в образцах после проведения WGA измеряли на флуориметре Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США) с использованием интеркалирующего красителя Pico488 (Lumiprobe, Москва). Для сравнения результатов амплификации применяли коммерческие наборы реактивов для амплификации ДНК из отдельных клеток SurePLEX DNA Amplification System (Illumina, США). Приготовление библиотек проводили при помощи наборов VeriSeq PGS с последующим секвенированием (NGS) на аппарате MiSeq System (Illumina, США). Анализ на качество определения молекулярного кариотипа исходного образца выполняли с использованием программного обеспечения BluFuse Multi v4.3 (Illumina, США).

Результаты

В настоящей работе мы разработали протокол на основе использования частично вырожденных праймеров и сочетания методов MDA и DOP-ПЦР с последующей ПЦР для полногеномной амплификации малых количеств ДНК. Для обеспечения совместимости метода с существующими коммерческими наборами реактивов и автоматизированного анализа в качестве фиксированной части праймеров использовалась олигонуклеотидная последовательность, состоящая из комбинации 18 оснований G и T (рис. 1, черные прямоугольники). На первом этапе для праймирования фрагментов в состав олигонуклеотидов мы включили вырожденный участок из шести оснований, который обеспечивает достаточно равномерную посадку праймеров на высокомолекулярной геномной ДНК вне зависимости от последовательности. Для сокращения потенциала к димеризации на 3' конце были дополнительно введены нуклеотиды G и T (рис. 1, белые прямоугольники). На первом этапе исследования наиболее равномерную амплификацию ДНК человека с получением фрагментов оптимальной для последующего секвенирования методом NGS показало использование пары праймеров: 5'-TGTGTTGGGTGTGTTTGGNNNNNNNGG и 5'-TGTGTTGGGTGTGTTTGGNNNNNNNTTT. На втором этапе для осуществления амплификации предварительно праймированных фрагментов использовался укороченный праймер 5'-TGTGTTGGGTGTGTTTGG (рис. 1), который в этом случае служил в качестве как прямого, так и обратного праймера, т. к. первый этап обеспечил присутствие на концах праймиро-

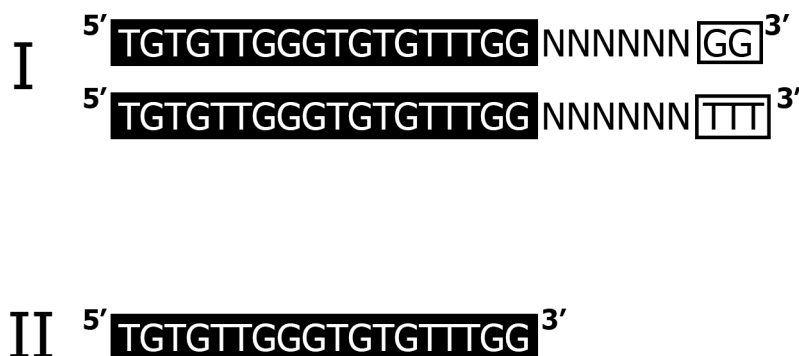


Рис. 1. Последовательности олигонуклеотидов, использованные в качестве праймеров на первом и втором этапах WGA

Fig. 1. Oligonucleotide sequences used as primers in the first and second WGA steps

ванных фрагментов ДНК соответствующих идентичных последовательностей.

Для проведения второго этапа, представляющего из себя ПЦР с температурой отжига праймеров 60 °С, была использована полимеразы Taq (ООО «Бигль», Санкт-Петербург) в стандартном аммонийном буфере (рН 8,8) с 2,5 мМ MgCl₂. Это позволило минимизировать влияние особенностей второго этапа на результат WGA и провести сравнение использования разных методов MDA. Контрольный образец амплифицировали с использованием набора реактивов SurePLEX (Illumina, США) согласно протоколу производителя. После проведения второго этапа WGA проводили измерение концентрации ДНК и электрофорез в агарозном геле с маркером молекулярного веса ДНК Step 100 Long (Биолабмикс, Новосибирск).

Для отработки оптимальных условий проведения первого этапа использовали различные ферменты и их комбинации. Исследование было направлено на поиск оптимальных условий фланкирования последовательностей с использованием выродженных праймеров и амплификации перекрывающихся фрагментов ДНК, чтобы достичь более равномерного покрытия и в то же время избежать преимущественной

амплификации повторяющихся элементов генома.

Для проведения первого этапа амплификации с выродженными праймерами использовали коммерчески доступные полимеразы, а также ферменты, полученные на основе опубликованных протоколов как по отдельности, так и в различных сочетаниях (рис. 2). В частности, использовали полимеразы: Taq (Бигль, Санкт-Петербург); Bst, клонированная из штамма *Geobacillus stearothermophilus* (Aliotta et al. 1996); Gth (Auron ArtScience, США), Pfu, представляющая собой ДНК полимеразу семейства В полимераз, обладающих 3'-5' экзонуклеазной активностью, из *Pyrococcus furiosus* (Lundberg et al. 1991); Fusion, представляющая собой полимеразу Pfu, слитая с ДНК связывающим доменом *Nanoarchaeum equitans* (Olszewski et al. 2017); Klentaq1 с заменой D732N, полученная в результате направленного мутагенеза экспрессионного вектора, несущего полимеразу Taq (Barnes et al. 2021). Смесь ферментов Gth + Pfu использовали в соотношении 1:1, Bst + Pfu — 2:1, Bst + Fusion — 4:1, Pfu + Fusion — Pfu + Fusion и Gth + Fusion — 2:1.

Первый этап амплификации проводили в объеме 15 мкл. Для полимераз Taq и Klentaq1

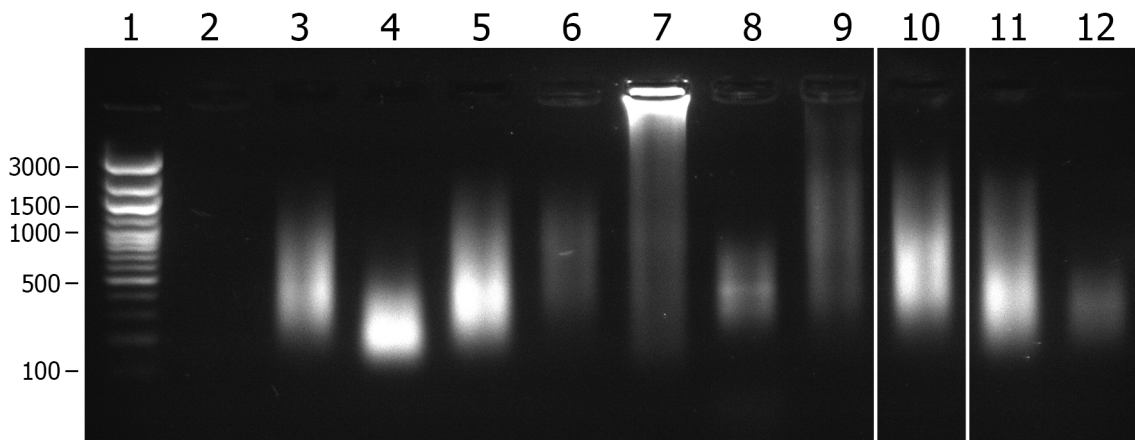


Рис. 2. Результат электрофореза ДНК в 1,8% агарозе. 1 — ДНК маркера, размеры длин в числе пар оснований отмечены слева. 2–12 — результаты WGA 20 пг ДНК человека по одинаковому протоколу с использованием на первом этапе различных полимераз: 2–9 — буфер, адаптированный для полимеразы Bst, 10 — коммерческие буферные растворы набора SurePLEX, 11, 12 — буфер для полимеразы Taq, идентичный по составу буферу для второго этапа амплификации. На первом этапе использованы полимеразы: 2 — Bst, 3 — Gth + Pfu, 4 — Gth, 5 — Bst + Pfu, 6 — Fusion, 7 — Bst + Fusion, 8 — Pfu + Fusion, 9 — Gth + Fusion, 10 — Preamp enzyme коммерческого набора SurePLEX, 11 — Klentaq1 D732N, 12 — Taq

Fig. 2. The result of DNA electrophoresis in 1.8% agarose. 1 — marker DNA, lengths in the number of base pairs are marked on the left. 2–12 — WGA results of 20 picograms of human DNA according to the same protocol using different polymerases at the first stage. 2–9 — the use of a buffer adapted for Bst polymerase. 10 — the use of commercial buffer solutions of the SurePLEX kit. 11–12 — the use of a buffer for Taq polymerase. Its composition is identical to the buffer used in the second stage of amplification. The following polymerases were used at the first stage: 2 — Bst, 3 — Gth + Pfu, 4 — Gth, 5 — Bst + Pfu, 6 — Fusion, 7 — Bst + Fusion, 8 — Pfu + Fusion, 9 — Gth + Fusion, 10 — Preamp enzyme commercial kit SurePLEX, 11 — Klentaq1 D732N, 12 — Taq

D732N использован стандартный аммонийный буфер (pH 8,8) с 2,5 мМ MgCl₂. Для остальных ферментов и их комбинаций использован адаптированный буфер с высоким содержанием магния следующего состава: 20 мМ Tris-Трис-HCl (pH 8,8), 10 мМ KCl, 10 мМ (NH₄)₂SO₄, 2 мМ MgSO₄, 0,1% Tween 20, 8 мМ MgCl₂. Концентрация каждого из нуклеотидов в реакционной смеси составила 1,33 мМ, а каждый из пары вырожденных праймеров добавляли до конечной концентрации 0,8 мкМ. Реакцию проводили в термоциклере T100 (Bio-Rad, США) по следующему протоколу: предварительная денатурация 2 мин при 95 °С; внесение соответствующей полимеразы на льду; далее 12 циклов: 95 °С 15 сек, 15 °С 50 сек, 25 °С 40 сек, 35 °С 30 сек, 65 °С 40 сек, 75 °С 40 сек; охлаждение реакционной смеси до 4 °С.

Полученные результаты показали эффективность фланкирования фрагментов ДНК с применением разработанных вырожденных праймеров в цикле с низкотемпературными этапами отжига, с медленным поднятием температуры до оптимальной для элонгации. Различия в эффективности по результатам двух этапов амплификации определяются стабильностью конкретных ферментов при высоких температурах, а также их процессивностью. Потенциально все ферменты, обладающие вытесняющей активностью самостоятельно или в смеси, показали удовлетворительный результат, за исключением полимеразы Bst, которая неустойчива к высоким температурам и не смогла обеспечить достаточный синтез фланкированных фрагментов. При использовании полимераз без вытесняющей активности также наблюдается эффективное фланкирование, однако общее количество продукта меньше, а также в некоторых случаях отчетливо видны более яркие полосы (бэнды) на фоне шмеров, что свидетельствует об избирательной амплификации отдельных районов и может привести к перекосу в сторону более интенсивной амплификации повторяющихся элементов генома. Самый близкий по выходу полученной ДНК (около 50 нг в микролитре в финальном объеме 75 мкл) и разбросу длин фрагментов был получен при использовании на первом этапе смеси полимераз Bst + Pfu в соотношении 2:1. Также достаточно многообещающим выглядит использование модифицированной полимеразы KlenTaq1 D732N, которая может быть перспективной для разработки протокола WGA с большим числом высокотемпературных этапов цикла.

Для анализа применимости полученных амплификатов с целью определения количества копий отдельных сегментов генома или целых хромосом с использованием коммерческих алгоритмов, были протестированы различные варианты протоколов двухступенчатой амплификации для сочетания полимераз Bst + Pfu на первом этапе и ПЦР на втором (рис. 3). Мы сравнили варианты соотношения числа циклов первого и второго этапов, приводящие к получению приблизительно одинакового количества ДНК, секвенировали образцы и проанализировали с использованием программного обеспечения BluFuse Multi v4.3, разработанного для анализа молекулярного кариотипа на основе данных NGS с использованием реактивов SurePLEX DNA Amplification System на секвенаторе MiSeq System. В образце, полученном в результате амплификации 20 пг референсной ДНК здорового мужчины (Agilent Technologies Inc., США) с 17 циклами фланкирования в процессе амплификации с вытеснением второй цепи и последующими 10 циклами ПЦР (рис. 3А), система определила снижение покрытия в области центромеры хромосомы 7 и обоих плеч хромосомы 19, тогда как протокол с 12 циклами на первом этапе и 16 циклами ПЦР позволил получить амплификат, интерпретированный как не имеющий изменения числа копий (рис. 3Б). Сравнение сырых прочтений секвенирования не выявило значительных отличий в структуре полученных данных, за исключением разницы в представленности некоторых повторяющихся последовательностей, в частности, рассеянных повторов Alu, представляющих собой короткие интерсперсные мобильные элементы, относящиеся к семейству SINE, а также некоторых сателлитов. Увеличение их копийности в образце, подвергнутому большему числу циклов ПЦР, может свидетельствовать о некотором насыщении амплификата повторяющимися элементами генома, однако результат анализа с использованием коммерческого программного обеспечения свидетельствует о наличии в нем корректирующих алгоритмов. Таким образом, варьируя число циклов первого и второго этапа, можно добиться полной совместимости предложенного метода WGA с существующими методами анализа и интерпретации данных, а при необходимости смещение в сторону увеличения числа циклов первого этапа может позволить сократить степень смещения представленности повторяющихся элементов генома в образцах, подвергающихся WGA.

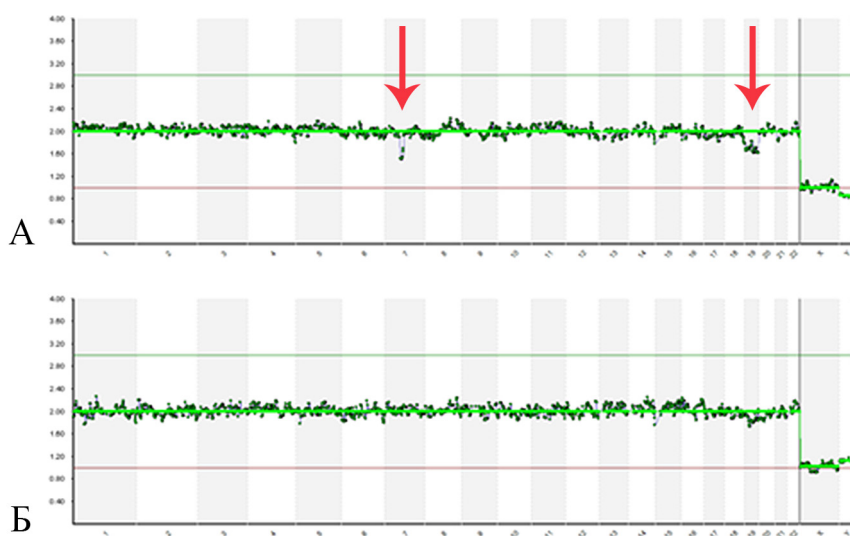


Рис. 3. Визуализация молекулярного кариотипа по данным секвенирования NGS 20 пг контрольной мужской ДНК с определением относительного числа хромосомных локусов на основе анализа покрытия. А — результат анализа образца после 17 циклов MDA и 10 циклов ПЦР. Б — результат анализа образца после 12 циклов MDA и 16 циклов ПЦР. Красными стрелками отмечены участки генома, распознанные как недостаточно представленные в исходном образце

Fig. 3. Molecular karyotype from NGS sequencing data of 20 picograms of control male DNA with determination of the relative number of chromosomal loci based on coverage analysis. A — result of the sample analysis after 17 MDA cycles and 10 PCR cycles, B — result of the sample analysis after 12 MDA cycles and 16 PCR cycles. Red arrows denote genome regions recognized as underrepresented in the original sample

Обсуждение

Комбинированный метод амплификации ДНК, сочетающий использование частично вырожденных праймеров, изотермическую амплификацию с вытеснением второй цепи и двухступенчатый протокол амплификации, показал возможность использования такого продукта для надежного определения молекулярного кариотипа нескольких клеток на основе последующего секвенирования NGS. Использование относящихся к различным семействам полимераз, обладающих от природы или в результате введенных в них модификаций способностью к вытеснению второй цепи, существенно расширяет перспективы развития методов исследования отдельных клеток.

В результате проведенного исследования показана возможность эффективного использования смеси ферментов Pfu и Bst в присутствии 10 мМ ионов магния для осуществления циклической реакции MDA с фланкированием фрагментов вырожденными праймерами, несущими константный адаптер, несмотря на то, что индивидуальная полимеразная активность Bst не сохраняется в условиях периодического нагревания до температуры денатурации. Наибольшую практическую перспективу, на наш взгляд, имеет использование модифицирован-

ного фермента KlenTaq1, несущего мутацию D732N (Barnes et al. 2021). При описании свойства этого фермента авторы показали потенциал его использования для протоколов петлевой изотермической амплификации (*Loop-mediated isothermal amplification*, LAMP), однако в исследовании не дана оценка возможности применения KlenTaq1 D732N в протоколах на основе MDA, в частности для проведения WGA. Этот фермент представляет собой укороченный вариант полимеразы Taq, лишенный экзонуклеазного домена, что может иметь значение для предотвращения имеющей место постепенной деградации амплификата при длительном хранении под действием остаточной активности ферментов в образцах. В то же время KlenTaq1 D732N обладает сходной с Taq термостабильностью и работает с одинаковой эффективностью в стандартных буферах для Taq полимеразы (содержащих $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ или KCl) в широком диапазоне концентрации ионов магния (от 1 до 4 мМ). Это открывает потенциал для создания на ее основе протокола WGA с однократным добавлением всех компонентов в пробирку, что является важным для сокращения рисков контаминации образца и уменьшает риски влияния человеческого фактора при обработке большого числа однотипных образцов.

Введение мутации D732N в аминокислотную последовательность фермента KlenTaq1 не только увеличило его процессивность и добавило способность к вытеснению второй цепи ДНК из дуплекса, по сравнению с исходной версией KlenTaq1, но и дополнительно снабдило фермент новой активностью — ревертазой (Barnes et al. 2021). Комбинация РНК-зависимой ДНК полимеразы с перечисленными выше свойствами фермента позволяет задуматься о потенциале его использования для разработки протоколов для транскриптомного анализа отдельных клеток.

Важно отметить, что использование ПЦР для WGA неизбежно приводит к экспоненциальному росту в образцах повторяющихся последовательностей, что необходимо учитывать при потребности поддержания исходного образца в коллекциях, а также избегать множественных циклов ПЦР, отдавая предпочтение амплификации на основе MDA. При использовании различного числа циклов на первом и втором этапах амплификации можно варьировать степень обогащения конечного продукта повторяющимися элементами генома. Используемые при исследовании протоколы позволили подобрать условия для получения амплификата, результаты секвенирования которого могут быть проанализированы с применением распространенных коммерческих алгоритмов и программного обеспечения для выявления численных хромосомных аномалий. Этот метод может быть реализован в подготовке материала для анализа молекулярного кариотипа отдельных клеток, в том числе для преимплантационного генетического тестирования эмбрионов человека и исследования опухолевых клеток, а также может оказаться полезным в областях биомедицины и судебно-медицинских исследований, где востребована равномерная амплификация предельно малых количеств ДНК. При необходимости он может быть адаптирован для амплификации образцов, полученных в результате микродиссекции как отдельных клеток, так и сегментов хромосом. Получаемые таким образом образцы ДНК, в отличие от получаемых из клеток и отдельных хромосом, отсортированных методом проточной цитометрии, часто фрагментированы, поэтому плохо поддаются изотермической MDA с гексануклеотидными праймерами с формированием конкатомеров. В случае применения циклической MDA с фланкированием предложенными нами праймерами фрагментированные образцы можно будет успешно амплифицировать, увеличив число циклов первого этапа.

Блочная структура праймеров позволяет вносить в них модификации для адаптации метода к имеющемуся оборудованию, программному обеспечению, используемому для анализа данных, а также применять для приготовления библиотек штрихкодирования методом ПЦР за счет внесения дополнительных участков в последовательность праймера, используемого на втором этапе WGA.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Вклад авторов

- а. Сайфитдинова Алсу Фаритовна — планирование исследования, отработка методов, анализ результатов, написание текста, подготовка иллюстраций;
- б. Павлова Ольга Андреевна — синтез олигонуклеотидов, отработка условий амплификации;
- в. Зелинский Андрей Андреевич — клонирование генов ферментов, направленный мутагенез рекомбинантных генно-инженерных конструкций, выделение и очистка белков в препаративных количествах;
- г. Рябинина Марина Владиславовна — осуществление биотехнологических этапов исследования;
- д. Глов Олег Сергеевич — подготовка библиотек ДНК и секвенирование образцов методом NGS;
- е. Богомаз Денис Игоревич — оптимизация условий амплификации ДНК и синтез олигонуклеотидов;
- ж. Рубель Александр Анатольевич — реализация биотехнологического этапа исследования.

Author Contributions

- а. Alsu F. Saifitdinova — planning the study, development of methods, analysis of the results, writing the text, preparation of illustrations, formatting the manuscript;
- б. Olga A. Pavlova — the synthesis of oligonucleotides, the development of amplification conditions;

- c. Andrew A. Zelinsky — cloning of enzyme genes, directed mutagenesis of recombinant genetically engineered constructs, isolation and purification of proteins in preparative quantities;
- d. Marina V. Ryabinina — biotechnological phases of the research;
- e. Oleg S. Glotov — DNA libraries preparation and sample sequencing by NGS;
- f. Denis I. Bogomaz — optimization of DNA amplification conditions and synthesis of oligonucleotides;
- g. Aleksandr A. Rubel — biotechnological phase of the research.

Благодарности

Авторы благодарны Марии Сергеевне Рубель за предоставление штамма *Geobacillus stearothermophilus*.

Acknowledgements

The authors are grateful to Maria S. Rubel for providing the strain of *Geobacillus stearothermophilus*.

Литература

- Сайфитдинова, А. Ф. (2014) *Двумерная флуоресцентная микроскопия для анализа биологических образцов*. 3-е изд. СПб.: Свое издательство, 110 с.
- Aliotta, J. M., Pelletier, J. J., Ware, J. L. et al. (1996) Thermostable *Bst* DNA polymerase I lacks a 3'→5' proofreading exonuclease activity. *Genetic Analysis: Biomolecular Engineering*, vol. 12, no. 5–6, pp. 185–195. [https://doi.org/10.1016/S1050-3862\(96\)80005-2](https://doi.org/10.1016/S1050-3862(96)80005-2)
- Aviel-Ronen, S., Qi Zhu, C., Coe, B. P. et al. (2006) Large fragment *Bst* DNA polymerase for whole genome amplification of DNA from formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *BMC Genomics*, vol. 7, no. 1, article 312. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-312>
- Barnes, W. M., Zhang, Z., Kermekchiev, M. B. (2021) A single amino acid change to *Taq* DNA polymerase enables faster PCR, reverse transcription and strand-displacement. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 8, article 553474. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.553474>
- Blanco, L., Bernad, A., Lázaro, J. M. et al (1989) Highly efficient DNA synthesis by the phage φ29 DNA polymerase: Symmetrical mode of DNA replication. *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 264, no. 15, pp. 8935–8940. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)81883-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)81883-X)
- Klenow, H., Henningsen, I. (1970) Selective elimination of the exonuclease activity of the deoxyribonucleic acid polymerase from *Escherichia coli* B by limited proteolysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 65, no. 1, pp. 168–175. <https://doi.org/10.1073/pnas.65.1.168>
- Linck, L., Resch-Genger, U. (2010) Identification of efficient fluorophores for the direct labeling of DNA via rolling circle amplification (RCA) polymerase φ29. *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 45, no. 12, pp. 5561–5566. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.09.005>
- Lundberg, K. S., Shoemaker, D. D., Adams, M. W. W. et al. (1991) High-fidelity amplification using a thermostable DNA polymerase isolated from *Pyrococcus furiosus*. *Gene*, vol. 108, no. 1, pp. 1–6. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(91\)90480-Y](https://doi.org/10.1016/0378-1119(91)90480-Y)
- Olszewski, M., Śpibida, M., Bilek, M., Krawczyk, B. (2017) Fusion of *Taq* DNA polymerase with single-stranded DNA binding-like protein of *Nanoarchaeum equitans* — Expression and characterization. *PLoS ONE*, vol. 12, no. 9, article e0184162. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0184162>
- Oscorbin, I. P., Boyarskikh, U. A., Filipenko, M. L. (2015) Large fragment of DNA polymerase I from *Geobacillus* sp. 777: Cloning and comparison with DNA polymerases I in practical applications. *Molecular Biotechnology*, vol. 57, no. 10, pp. 947–959. <https://doi.org/10.1007/s12033-015-9886-x>
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S. et al. (1988) Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, vol. 239, no. 4839, pp. 487–491. <https://doi.org/10.1126/science.2448875>
- Telenius, H., Carter, N. P., Bebb, C. E. et al. (1992) Degenerate oligonucleotide-primed PCR: General amplification of target DNA by a single degenerate primer. *Genomics*, vol. 13, no. 3, pp. 718–725. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(92\)90147-K](https://doi.org/10.1016/0888-7543(92)90147-K)
- Zong, C., Lu, S., Chapman, A. R., Xie, X. S. (2012) Genome-wide detection of single-nucleotide and copy-number variations of a single human cell. *Science*, vol. 338, no. 6114, pp. 1622–1626. <https://doi.org/10.1126/science.1229164>

References

- Aliotta, J. M., Pelletier, J. J., Ware, J. L. et al. (1996) Thermostable *Bst* DNA polymerase I lacks a 3'→5' proofreading exonuclease activity. *Genetic Analysis: Biomolecular Engineering*, vol. 12, no. 5–6, pp. 185–195. [https://doi.org/10.1016/S1050-3862\(96\)80005-2](https://doi.org/10.1016/S1050-3862(96)80005-2) (In English)

- Aviel-Ronen, S., Qi Zhu, C., Coe, B. P. et al. (2006) Large fragment *Bst* DNA polymerase for whole genome amplification of DNA from formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *BMC Genomics*, vol. 7, no. 1, article 312. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-312> (In English)
- Barnes, W. M., Zhang, Z., Kermekchiev, M. B. (2021) A single amino acid change to Taq DNA polymerase enables faster PCR, reverse transcription and strand-displacement. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 8, article 553474. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.553474> (In English)
- Blanco, L., Bernad, A., Lázaro, J. M. et al (1989) Highly efficient DNA synthesis by the phage ϕ 29 DNA polymerase: Symmetrical mode of DNA replication. *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 264, no. 15, pp. 8935–8940. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)81883-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)81883-X) (In English)
- Klenow, H., Henningsen, I. (1970) Selective elimination of the exonuclease activity of the deoxyribonucleic acid polymerase from *Escherichia coli* B by limited proteolysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 65, no. 1, pp. 168–175. <https://doi.org/10.1073/pnas.65.1.168> (In English)
- Linck, L., Resch-Genger, U. (2010) Identification of efficient fluorophores for the direct labeling of DNA via rolling circle amplification (RCA) polymerase ϕ 29. *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 45, no. 12, pp. 5561–5566. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.09.005> (In English)
- Lundberg, K. S., Shoemaker, D. D., Adams, M. W. W. et al. (1991) High-fidelity amplification using a thermostable DNA polymerase isolated from *Pyrococcus furiosus*. *Gene*, vol. 108, no. 1, pp. 1–6. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(91\)90480-Y](https://doi.org/10.1016/0378-1119(91)90480-Y) (In English)
- Olszewski, M., Śpibida, M., Bilek, M., Krawczyk, B. (2017) Fusion of *Taq* DNA polymerase with single-stranded DNA binding-like protein of *Nanoarchaeum equitans* — Expression and characterization. *PLoS ONE*, vol. 12, no. 9, article e0184162. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0184162> (In English)
- Oscorbin, I. P., Boyarskikh, U. A., Filipenko, M. L. (2015) Large fragment of DNA polymerase I from *Geobacillus* sp. 777: Cloning and comparison with DNA polymerases I in practical applications. *Molecular Biotechnology*, vol. 57, no. 10, pp. 947–959. <https://doi.org/10.1007/s12033-015-9886-x> (In English)
- Saifitdinova, A. F. (2014) *Dvumernaya fluorestsentnaya mikroskopiya dlya analiza biologicheskikh obraztsov [Two-dimensional fluorescence microscopy for the analysis of biological samples]*. 3rd ed. Saint Petersburg: Svoe izdatel'stvo Publ., 110 p. (In Russian)
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S. et al. (1988) Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, vol. 239, no. 4839, pp. 487–491. <https://doi.org/10.1126/science.2448875> (In English)
- Telenius, H., Carter, N. P., Bebb, C. E. et al. (1992) Degenerate oligonucleotide-primed PCR: General amplification of target DNA by a single degenerate primer. *Genomics*, vol. 13, no. 3, pp. 718–725. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(92\)90147-K](https://doi.org/10.1016/0888-7543(92)90147-K) (In English)
- Zong, C., Lu, S., Chapman, A. R., Xie, X. S. (2012) Genome-wide detection of single-nucleotide and copy-number variations of a single human cell. *Science*, vol. 338, no. 6114, pp. 1622–1626. <https://doi.org/10.1126/science.1229164> (In English)



УДК 612.8

EDN MRBRCR

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-335-345>

Эффективность космических средств профилактики для предотвращения развития гиперрефлексии

И. Н. Носикова¹, А. М. Рябова^{✉1}, В. В. Китов¹, Е. С. Томиловская¹

¹Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Россия, г. Москва, Хорошевское шоссе, д. 76А

Сведения об авторах

Инна Николаевна Носикова, SPIN-код: 8485-7799, Scopus AuthorID: 57204438766, ResearcherID: V-5672-2017, ORCID: 0000-0001-6447-9610, e-mail: nosikovainna@mail.ru

Александра Михайловна Рябова, SPIN-код: 2526-8820, ResearcherID: AAO-7839-2020, e-mail: aleksriabova@yandex.ru

Владимир Валерьевич Китов, SPIN-код: 2353-2914, Scopus AuthorID: 56295210600, e-mail: arctg@yandex.ru

Елена Сергеевна Томиловская, SPIN-код: 4286-2182, Scopus AuthorID: 9249104300, ResearcherID: L-5998-2017, ORCID: 0000-0002-9030-6876, e-mail: finegold@yandex.ru

Для цитирования: Носикова, И. Н., Рябова, А. М., Китов, В. В., Томиловская, Е. С. (2023) Эффективность космических средств профилактики для предотвращения развития гиперрефлексии. *Интегративная физиология*, т. 4, № 3, с. 335–345. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-335-345> EDN MRBRCR

Получена 14 июля 2023; прошла рецензирование 3 октября 2023; принята 7 октября 2023.

Финансирование: Работа поддержана Российской академией наук (№ 63.1).

Права: © И. Н. Носикова, А. М. Рябова, В. В. Китов, Е. С. Томиловская (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Вследствие адаптации к факторам космического полета изменяется функционирование сенсомоторной системы человека, что сопровождается развитием симптомокомплекса гипогравитационного двигательного синдрома. В частности, в ответ на отсутствие опорной нагрузки закономерно развивается гипогравитационная гиперрефлексия. Показано, что комплекс средств российской системы профилактики, применяемый на борту Международной космической станции, смягчает негативные эффекты гипогравитации. Многообразие профилактических мер не позволяет оценить эффективность каждой из них в рамках космического полета. В то же время наземные модели физиологических эффектов космического полета позволяют детально изучить механизмы и эффекты различных профилактических подходов. Целью данной работы являлась оценка эффективности применения таких средств профилактики, как низкочастотная электромиостимуляция и костюм аксиальной нагрузки «Пингвин», для предотвращения развития гиперрефлексии в условиях пятисуточной опорной разгрузки с участием 24 здоровых добровольцев. О возбудимости нервных структур судили по величинам порогов и максимальных амплитуд моторных ответов мышц голени, вызываемых транскраниальной и транспинальной магнитными стимуляциями. Исследование характеристик моторных ответов камбаловидной и латеральной икроножной мышц проводили дважды до воздействия, в первые часы и на вторые сутки после его окончания. Полученные результаты демонстрируют больший профилактический эффект при использовании электростимуляционного подхода для предотвращения спинальной гиперрефлексии по сравнению с эффектом компенсации осевой нагрузки и проприоцептивной стимуляции. Интересно, что использование костюма «Пингвин» приводило к значимому увеличению амплитуд вызванных моторных ответов на транскраниальную магнитную стимуляцию.

Ключевые слова: опорная разгрузка, гиперрефлексия, камбаловидная мышца, транспинальная магнитная стимуляция, транскраниальная магнитная стимуляция, «сухая» иммерсия, электромиостимуляция, костюм аксиальной нагрузки «Пингвин»

Effectiveness of space countermeasures to prevent hyperreflexia

I. N. Nosikova¹, A. M. Riabova^{✉1}, V. V. Kitov¹, E. S. Tomilovskaya¹

¹ Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences,
76A Khoroshevskoe Highway, Moscow 123007, Russia

Authors

Inna N. Nosikova, SPIN: 8485-7799, Scopus AuthorID: 57204438766, ResearcherID: V-5672-2017, ORCID: 0000-0001-6447-9610, e-mail: nosikovainna@mail.ru

Alexandra M. Riabova, SPIN: 2526-8820, ResearcherID: AAO-7839-2020, e-mail: aleksriabova@yandex.ru

Vladimir V. Kitov, SPIN: 2353-2914, Scopus AuthorID: 56295210600, e-mail: arctg@yandex.ru

Elena S. Tomilovskaya, SPIN: 4286-2182, Scopus AuthorID: 9249104300, ResearcherID: L-5998-2017, ORCID: 0000-0002-9030-6876, e-mail: finegold@yandex.ru

For citation: Nosikova, I. N., Riabova, A. M., Kitov, V. V., Tomilovskaya, E. S. (2023) Effectiveness of space countermeasures to prevent hyperreflexia. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 335–345. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-335-345> EDN MRBRCR

Received 14 July 2023; reviewed 3 October 2023; accepted 7 October 2023.

Funding: The study was supported by the Russian Academy of Sciences (No. 63.1).

Copyright: © I. N. Nosikova, A. M. Riabova, V. V. Kitov, E. S. Tomilovskaya (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Due to the adaptation to a spaceflight, the functioning of the sensorimotor system changes, which is followed by the development of hypogravitational motor syndrome. Specifically, hypogravitational hyperreflexia develops as a natural response to the absence of ground force reaction. Russian scholars developed a set of countermeasures that are used on board the International Space Station. It has been shown to effectively reduce the negative effects of microgravity. The countermeasures are numerous which makes it impossible to estimate the effectiveness of each particular one in the conditions of spaceflight. In contrast, ground-based models of physiological effects of spaceflight make it possible to study mechanisms and effects of different preventative approaches. The aim of the reported research was to assess the potential of such measures as low-frequency electromyostimulation and the Penguin axial loading suit in preventing the development of hyperreflexia under the conditions of five-day Dry Immersion of 24 healthy subjects. Excitability of nervous structures was determined through thresholds and maximal amplitudes of shin muscle motor responses evoked with transcranial and trans-spinal magnetic stimulation. The study of motor responses in soleus and gastrocnemius lateralis muscles was conducted twice before the immersion, in the first hours and on the second day after its completion. The obtained results demonstrate a greater effect of electrostimulation in preventing spinal hyperreflexia compared to the effect of axial load compensation and proprioceptive stimulation. Interestingly, the use of the Penguin suit led to a significant increase in the amplitudes of evoked motor responses to transcranial magnetic stimulation.

Keywords: support withdrawal, hyperreflexia, soleus muscle, trans-spinal magnetic stimulation, transcranial magnetic stimulation, dry immersion, electromyostimulation, Penguin axial loading suit

Введение

Изменения сенсомоторных функций являются постоянным и закономерным спутником космических полетов (Kozlovskaya et al. 1988). Эти изменения, адаптивные по своей сущности, обуславливают развитие ряда неблагоприятных симптомов, составляющих в совокупности картины космической болезни движения и синдрома гипогравитационной атаксии, снижающие двигательные возможности космонавтов (Grigor'ev, Ushakov 2013). При кратковременных воздействиях реальной или моделируемой гипогравитации происходит развитие измене-

ний в структурах двигательного регулирования, таких как снижение мышечного тонуса (Amirova et al. 2021; Miroshnichenko et al. 2018; Shenkman et al. 2021), нарушение координации движений (Koppelmans et al. 2017; Kozlovskaya et al. 1988; Wood et al. 2015), а также гипогравитационная гиперрефлексия, выраженная в снижении порогов и увеличении амплитуд вызванных мышечных ответов (Badran et al. 2020; Davey et al. 2004; Zakirova et al. 2015).

На Международной космической станции в российскую систему профилактики негативных эффектов гипогравитации входит целый комплекс мероприятий: обязательные активные

физические тренировки (ходьба и бег в различных режимах, силовые тренировки, велоэргометрия и т. д.) и рекомендуемые, к которым относят средства пассивной профилактики, такие как костюм аксиального весового нагружения «Пингвин», электромиостимуляция (ЭМС), окклюзионные манжеты, профилактический вакуумный комплект «Чибис» (Kozlovskaya et al. 2007; Yarmanova et al. 2015; Zakirova et al. 2015). Костюм «Пингвин» позволяет избирательно нагружать отдельные группы мышц, тем самым предотвращая развитие симптомов, обусловленных аксиальной весовой разгрузкой в условиях безопорности. Основная цель костюма — коррекция деятельности функциональной системы антигравитации за счет создания осевой нагрузки и компенсации проприоцептивной афферентации (Galanov et al. 2010). Для нивелирования ряда негативных последствий безопорности: мышечной атрофии (Shenkman et al. 2000), снижения мышечного тонуса (Amirova et al. 2021) и скоростно-силовых свойств мышц (Koryak 2002) — на борту Международной космической станции наряду с костюмом «Пингвин» используют ЭМС двух различных режимов. По данным исследований, после полета физический статус и показатели эргометрических тестов у космонавтов, использовавших низкочастотную ЭМС в дополнение к основной программе, были выше, чем у тех, кто использовал в полете только стандартную систему тренировок (Kozlovskaya et al. 2015; Yarmanova et al. 2015).

Поскольку перечисленные средства на борту применяются комплексно, в условиях полета оценить эффективность отдельно взятого средства профилактики не представляется возможным. Однако проведение экспериментов в рамках наземных моделей физиологических эффектов космического полета позволяет использовать каждое из средств в отдельности и оценивать его эффективность.

В настоящее время одной из широко используемых моделей, воспроизводящих физиологические эффекты гипогравитации, является «сухая» иммерсия (СИ) продолжительностью от нескольких часов до нескольких суток (Tomilovskaya et al. 2019). Суть данной модели заключается в том, что испытуемого в водонепроницаемой пленке, площадь которой значительно превышает площадь поверхности воды, погружают по шею в глубокую ванну. Таким образом, создаются условия, близкие к безопорности. СИ воспроизводит три эффекта гипогравитации: снижение физической активности, безопорность и устранение вертикального сосудистого градиента.

Так как в модельных условиях инвазивное изучение спинного и головного мозга сопряжено с высокими рисками для здоровья, возникает необходимость использования неинвазивных методов. Один из них, транскраниальная и транспинальная магнитная стимуляция, в настоящее время применяется в области космической медицины и биологии (Badran et al. 2020; Davey et al. 2004; Nosikova et al. 2021b; Roberts et al. 2007; 2010; Romanella et al. 2020; Rossini et al. 2015). Предыдущие исследования демонстрируют валидность данного подхода для исследования возбудимости корковых и спинальных нейронов, интенсивности мышечных ответов на стимуляцию, кортикоспинальной проводимости (Badran et al. 2020; Davey et al. 2004; Nosikova et al. 2021b; Roberts et al. 2010).

Учитывая вышесказанное, представляется целесообразным исследование эффективности таких средств профилактики, как костюм аксиального весового нагружения «Пингвин» и низкочастотная низкоинтенсивная ЭМС, с целью предотвращения развития признаков гипогравитационной гиперрефлексии в условиях пятисуточной «сухой» иммерсии у здоровых добровольцев.

Методы

В исследовании приняли участие 24 мужчины-добровольца в возрасте $29,9 \pm 6,9$ лет, не имеющие в анамнезе двигательных нарушений и неврологических заболеваний и получившие допуск врачебной экспертной комиссии ГНЦ РФ — ИМБП РАН. В соответствии с Хельсинкской декларацией и нормами международного права все испытуемые были заблаговременно проинформированы о характере и возможных неблагоприятных последствиях экспериментальных воздействий и дали письменное информированное согласие на участие в эксперименте. Программа исследования была одобрена Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ — ИМБП РАН (протоколы № 370 от 15.09.2014; № 401 от 15.07.2015).

В качестве модели физиологических влияний гипогравитации, в частности, модели развития гипогравитационной гиперрефлексии использовали СИ (Shul'zhenko, Will-Williams 1976; Tomilovskaya et al. 2019) (рис. 1 А). Длительность воздействия составляла пять суток. Испытуемых поднимали из иммерсионной ванны для проведения гигиенических процедур не более чем на 15 минут в сутки.

Дизайн исследования включал три экспериментальные группы. Контрольная группа

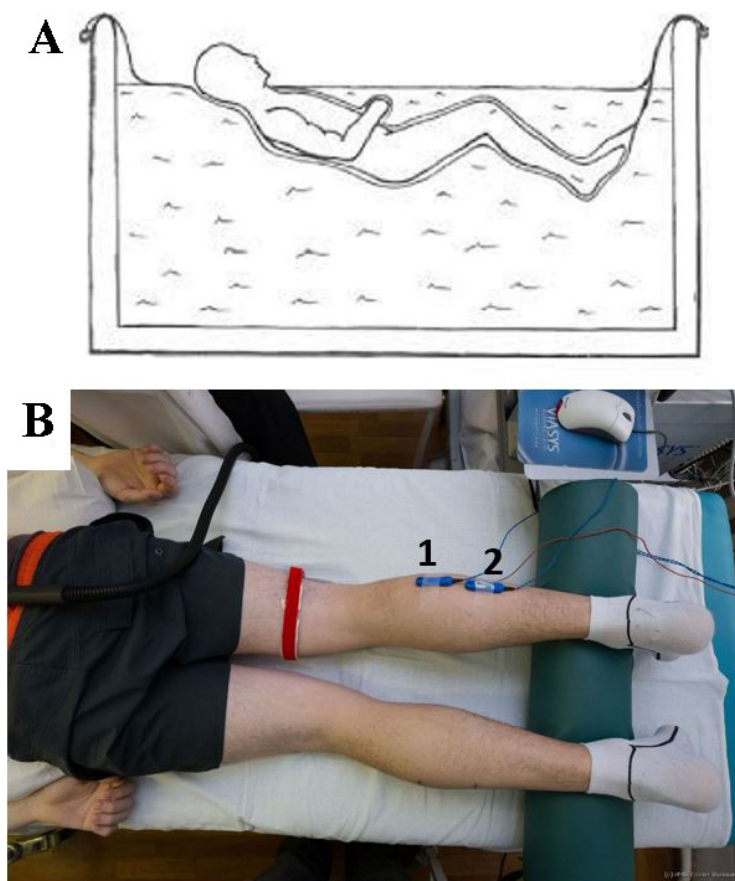


Рис. 1. А. «Сухая» иммерсия (адаптировано из (Shul'zhenko, Will-Williams 1976)).
В. Места наложения электродов при регистрации вызванных моторных ответов:
1 — латеральной икроножной мышцы; 2 — камбаловидной мышцы

Fig. 1. (A) Dry immersion (adapted from (Shul'zhenko, Will-Williams 1976)). (B) Location of electrodes during the registration of evoked motor responses: 1 — gastrocnemius lateralis muscle, 2 — soleus muscle

состояла из 10 человек — участников пятисуточной СИ без применения средств профилактики. Восемь человек вошли в группу «ЭМС» и во время СИ в качестве дополнительного воздействия получали низкочастотную низкоинтенсивную ЭМС мышц голени и бедра — флексоров и экстензоров одновременно. ЭМС выполнялась на протяжении пяти суток иммерсии по три часа в день (одна сек стимуляции, две сек отдыха). Для стимуляции использовали шестиканальный стимулятор «СТИМУЛ-01 НЧ» (СКТБ Биофизприбор, Россия), генерирующий двухполярные симметричные прямоугольные электрические импульсы длительностью 1 мс, частотой 25 Гц и амплитудой от 0 до 45 В. Амплитуду стимуляции подбирали индивидуально, основываясь на максимально переносимой испытуемым силе стимуляции. Средняя амплитуда стимуляции составляла для мышц бедра — $18,4 \pm 7,8$ В, для голени — $14,6 \pm 6,5$ В. Шесть человек вошли в группу «Костюм», в которой в качестве дополнительного воздействия использовали на-

грузочный костюм «Пингвин». Действующим фактором костюма является аксиальная нагрузка на различные сегменты тела, создаваемая с помощью резиновых тяжей. Костюм обеспечивал осевую нагрузку на тело от плеч до щиколоток в диапазоне от 16 до 18 кг ежедневно в ходе СИ по четыре часа в день. Для минимизации всплывания одетого в костюм испытуемого из иммерсионной ванны на каждую ногу устанавливали утяжелитель массой один кг.

Эффективность средств профилактики оценивали по характеристикам моторных ответов мышц голени, вызванных магнитной стимуляцией (МС). Сессии МС проводили дважды до начала иммерсии (фоновые исследования), в день ее завершения — в первые часы после окончания СИ (R + 0), а также на вторые сутки периода восстановления (R + 2). Накануне каждой сессии исследования испытуемых просили воздержаться от употребления алкогольных и тонизирующих напитков и исключить интенсивные физические тренировки. Испытуемые в ходе исследования

лежали на медицинской кушетке лицом вниз в расслабленном состоянии с открытыми глазами. Под обе ноги в области голеностопного сустава для наилучшего расслабления мышц был подложен валик (рис. 1 В).

Мышечные ответы вызывали с помощью транскраниальной и трансспинальной МС. Вызванные моторные ответы (ВМО) регистрировали с латеральной икроножной (*m. gastrocnemius lateralis*) и камбаловидной (*m. soleus*) мышц голени правой ноги.

Дискретную транскраниальную МС проекций обеих мышц правой нижней конечности в контралатеральной моторной коре головного мозга проводили с использованием восьмиобразной катушки-«бабочки» (DB-80 Butterfly) магнитного стимулятора MagPro X100 фирмы Medtronic (Дания). Катушку располагали на один-два см левее точки пересечения вертекса и линии, соединяющей наружные слуховые проходы, постепенно определяя такое ее положение, при котором вызванные моторные ответы икроножной и камбаловидной мышц имели наибольшую амплитуду и постоянную форму. Трансспинальную МС осуществляли с помощью плоской круглой катушки с внешним диаметром 114 мм, которую располагали на уровне L5-S1 сегментов поясничного отдела позвоночника. При правильном выборе зоны стимуляции амплитуда сегментарных ответов была, как правило, стабильна. Вызванные ответы регистрировали с помощью биполярных накожных хлорсеребряных электродов с межэлектродным расстоянием 20 мм, которые располагали в центре проекции брюшка исследуемой мышцы (рис. 1 В). Электромиографические сигналы регистрировали с использованием четырехканального миографа Viking Quest фирмы Viasys (США) с полосой пропускания от 2 Гц до 10 кГц. Полоса чувствительности прибора составляла от 0,1 мкВ до 10 мВ, шумы на входе не превышали 40 мкВ.

После определения такого положения катушки, которое обеспечивало моторные ответы стабильной амплитуды, находили пороги ВМО — наименьшую силу стимуляции, вызывавшую ответы амплитудой не менее 20 мкВ в 50 и более процентах случаев (Nikitin, Kurenkov 2003). Далее увеличивали силу стимуляции с шагом 5–10% от максимальной мощности прибора до тех пор, пока не достигали наибольшей амплитуды ВМО или 100% максимальной мощности стимуляции. На каждом шаге регистрировали не менее трех ВМО. Вызванные ответы на транскраниальную стимуляцию далее обозначены как кВМО, на трансспинальную стимуляцию — сВМО.

Статистический анализ данных проводили в программе GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc., США). Анализировали средние значения порогов и максимальных амплитуд ВМО. В соответствии с малым объемом выборки экспериментальных групп использовали непараметрические статистические критерии. Сравнение средних величин порогов и амплитуд ВМО внутри групп, т. е. между экспериментальными днями, осуществляли с помощью критерия Фридмана. Сравнение результатов между группами проводили с помощью критерия Краскела — Уоллиса. В обоих случаях использовали апостериорный критерий множественных сравнений Дьюнна. Разницу считали статистически значимой при $p < 0,05$. Данные двух сессий, проведенных до начала воздействия, не различались между собой и были усреднены.

В целях демонстрации средние значения характеристик ВМО на R + 0 и R + 2 представлены в виде процентных изменений от фоновых значений, принятых за ноль.

Результаты

Трансспинальная магнитная стимуляция

Во всех трех группах после завершения СИ (R+0) пороги сВМО снижались относительно фоновых значений как в камбаловидной, так и в латеральной икроножной мышцах. В контрольной группе данное снижение составило $17,82 \pm 4,849\%$ ($p = 0,037$) и $25,46 \pm 4,37\%$ ($p = 0,0036$) соответственно; в группе «ЭМС» — $20,76 \pm 5,50\%$ ($p = 0,0054$) и $21,06 \pm 4,78\%$ ($p = 0,0009$); в группе «Костюм» — $18,68 \pm 4,09\%$ и $19,21 \pm 3,74\%$ (рис. 2 А, В). Через двое суток после завершения воздействия (R + 2) во всех группах наблюдалась тенденция к восстановлению порогов до фоновых значений.

В контрольной группе наблюдалось значимое повышение максимальных амплитуд сВМО: на $152,9 \pm 48,7\%$ ($p = 0,037$) в камбаловидной мышце и на $141,4 \pm 26,1\%$ ($p = 0,0016$) в латеральной икроножной. На вторые сутки после завершения воздействия данный параметр практически полностью восстанавливался до исходных значений. В группе «Костюм» увеличение амплитуд после СИ было не столь значительным и не достигло уровня значимости, тогда как в группе «ЭМС» наблюдалось достоверное снижение максимальных амплитуд относительно фоновых значений — на $27,76 \pm 4,99\%$ ($p = 0,0004$) в камбаловидной мышце и на $36,64 \pm 10,27\%$ ($p = 0,048$) в латеральной икроножной. Стоит отметить, что значения амплитуд в точке R+0 достоверно отличались между группами

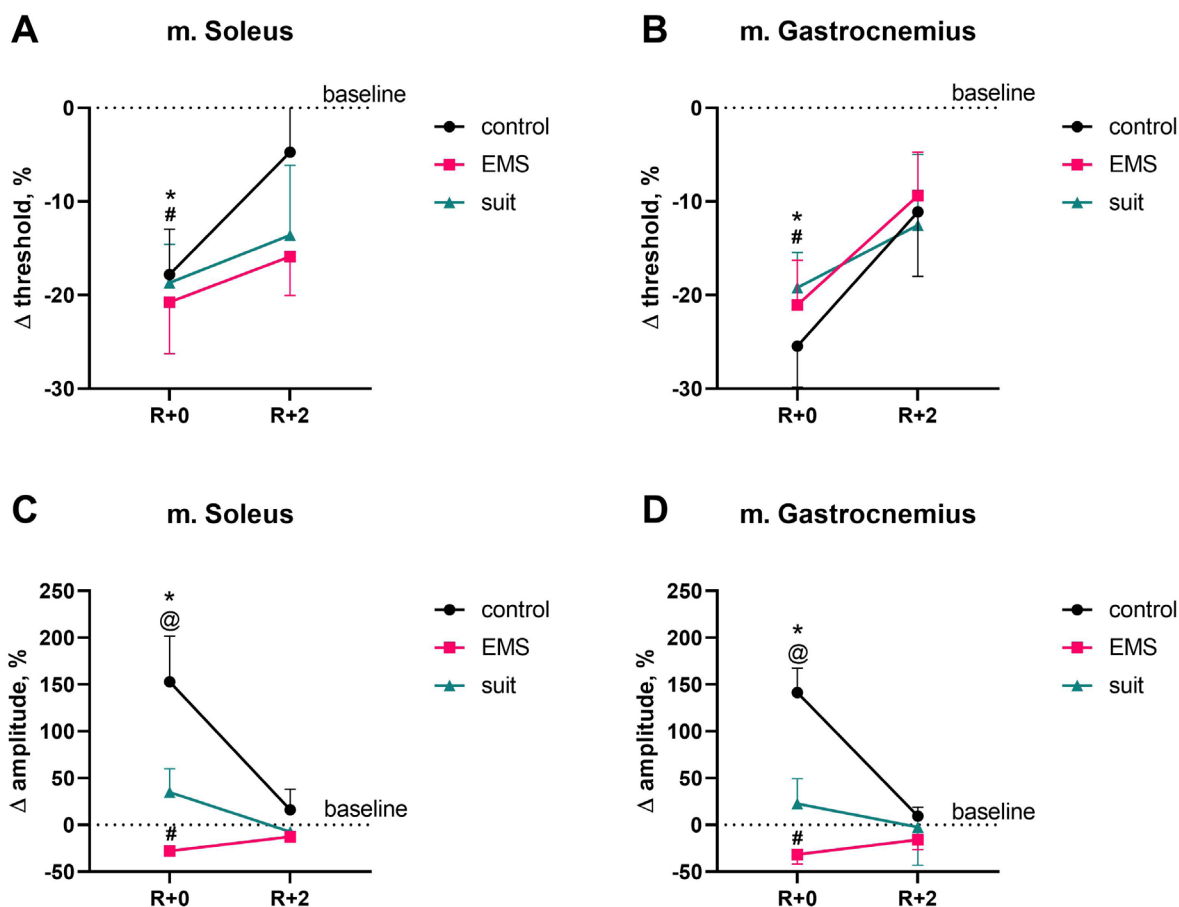


Рис. 2. Пороги (A, B) и максимальные амплитуды (C, D) сВМО в камбаловидной (A, C) и латеральной икроножной (B, D) мышцах после пятисуточного иммерсионного воздействия. Данные представлены в процентах изменения относительно фоновых значений. Специальными символами обозначены статистически значимые различия: * — в контрольной группе по сравнению с фоновыми значениями, # — в группе «ЭМС» по сравнению с фоновыми значениями, @ — между группами контроля и «ЭМС»

Fig. 2. Thresholds (A, B) and maximal amplitudes (C, D) of MEPs to trans-spinal stimulation in soleus (A, C) and gastrocnemius lateralis (B, D) muscles after a five-day immersion exposure. The data are presented as percent changes from baseline values. Special symbols mark statistically significant differences:

* — in the control group when compared with baseline values, # — in the EMS group when compared with baseline values, @ — control vs. EMS

контроля и «ЭМС» ($p = 0,0004$ и $p = 0,0003$ в камбаловидной и икроножной мышцах соответственно). В группах «ЭМС» и «Костюм» значения амплитуд, как и в контрольной группе, восстанавливались ко вторым суткам после завершения СИ (рис. 2 C, D).

Транскраниальная магнитная стимуляция

Динамика изменений ВМО на транскраниальную МС была неоднозначной. В контрольной группе пороги и максимальные амплитуды кВМО практически не изменялись на протяжении всего эксперимента (рис. 3).

В группе «Костюм» пороги кВМО были снижены относительно исходных значений по завершении воздействия, оставаясь сни-

женными на вторые сутки восстановления (рис. 3 A, B), однако это снижение не достигло уровня статистической значимости. В группе «ЭМС», напротив, наблюдалось увеличение порогов кВМО в обеих мышцах после завершения СИ, но эти изменения также были недостоверны. Значимых различий между группами по показателю порогов кВМО обнаружено не было.

После СИ максимальные амплитуды кВМО в группе «ЭМС» были незначительно снижены относительно исходных значений в обеих исследуемых мышцах. Ко вторым суткам периода восстановления значения максимальных амплитуд кВМО возвращались к фоновым только в латеральной икроножной мышце (рис. 3 C, D).

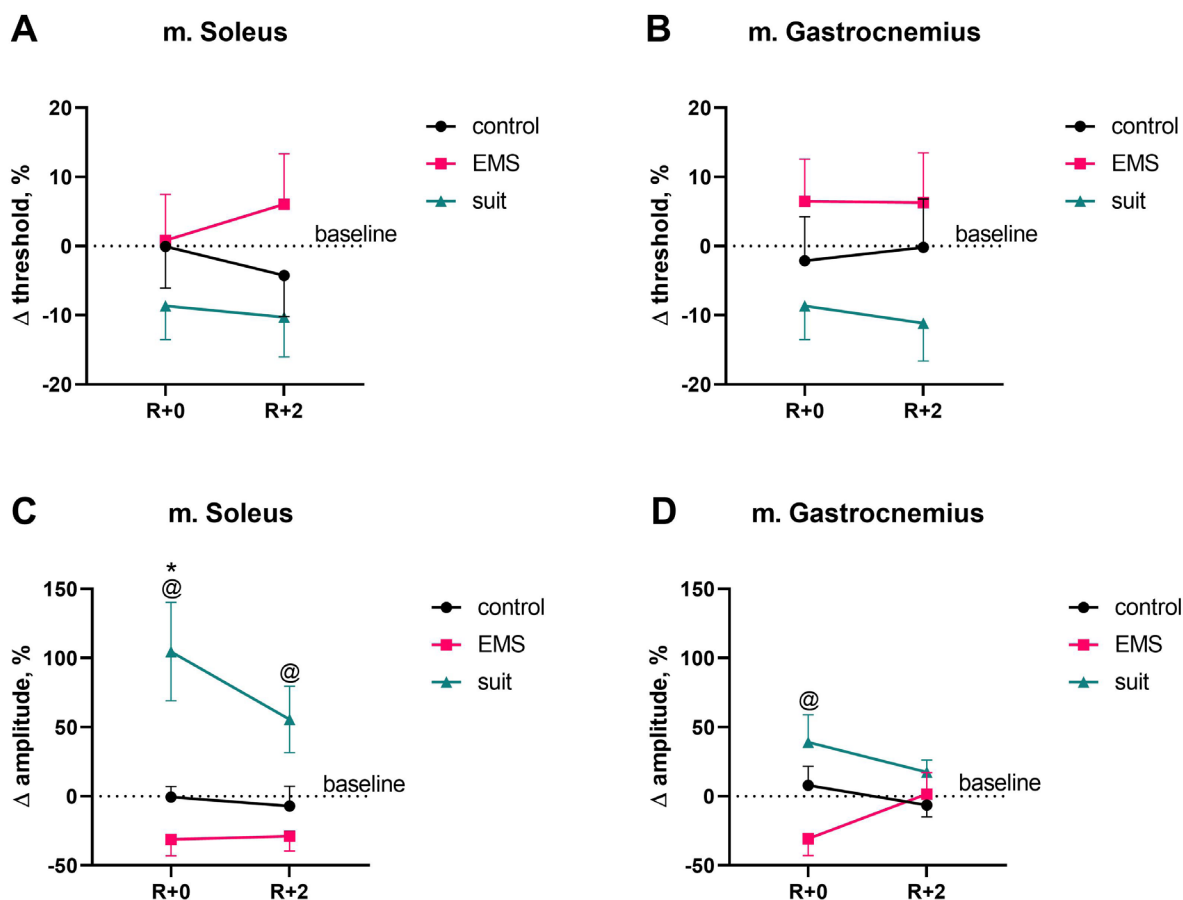


Рис. 3. Пороги (А, В) и максимальные амплитуды (С, D) кВМО в камбаловидной (А, С) и латеральной икроножной (В, D) мышцах после пятисуточного иммерсионного воздействия. Данные представлены в процентах изменения относительно фоновых значений. Специальными символами обозначены статистически значимые различия в группе «Костюм»: * — по сравнению с фоновыми значениями, @ — по сравнению с группой «ЭМС»

Fig. 3. Thresholds (A, B) and maximal amplitudes (C, D) of MEPs to transcranial stimulation in soleus (A, C) and gastrocnemius lateralis (B, D) muscles after a five-day immersion exposure. The data are presented as percent changes from baseline values. Special symbols mark statistically significant differences in the 'Suit' group: * — compared with baseline values, @ — compared with the EMS group

В группе «Костюм» наблюдалось повышение данного показателя в камбаловидной мышце непосредственно после завершения СИ (на $104,6 \pm 35,6\%$), достигшее уровня статистической значимости ($p = 0,022$). При этом в латеральной икроножной мышце также наблюдалось незначительное увеличение амплитуд кВМО. На вторые сутки после СИ в группе «Костюм» не наблюдалось полного восстановления данного показателя. Кроме того, в группе «Костюм» по сравнению с группой «ЭМС» амплитуды кВМО были достоверно выше в день завершения СИ на $135,95 \pm 37,48\%$ ($p = 0,001$) в камбаловидной мышце и на $69,85 \pm 23,18\%$ ($p = 0,0265$) в икроножной мышце, а также на вторые сутки после СИ на $84,45 \pm 26,31\%$ ($p = 0,009$) в камбаловидной мышце.

Обсуждение

Полученные результаты показывают, что в контрольной группе после СИ происходило достоверное снижение порогов сВМО и достоверное повышение их максимальных амплитуд (рис. 2), что соотносится с данными, полученными ранее в аналогичном иммерсионном эксперименте (Nosikova et al. 2021b). Повышение возбудимости периферических рефлексов после иммерсионного воздействия, как было показано другими исследователями, выражается также в увеличении амплитуды Н-ответа, причем увеличение наблюдается как после нескольких суток, проведенных в СИ (Zakirova et al. 2015), так и спустя несколько минут воздействия безопорности (Cronin et al. 2016). Одностороннее

вывешивание нижней конечности также приводит к увеличению спинальной возбудимости (Clark et al. 2006). Таким образом, снижение порогов вызванных моторных ответов и увеличение их амплитуд, вероятно, отражают явление гипогравитационной гиперрефлексии, которая развивается вследствие сенсорной депривации, вызванной безопорностью (Kozlovskaya et al. 1988).

В проведенном эксперименте у контрольной группы не наблюдалось ожидаемого изменения характеристик кВМО после СИ (рис. 3), однако по данным литературы, в других моделях физиологических эффектов гипогравитации моторные ответы на транскраниальную магнитную стимуляцию имеют сходную со спинальными ответами динамику. Например, в параболическом полете в периоды нулевой гравитации вызванные транскраниальной магнитной стимуляцией мышечные ответы увеличиваются (Davey et al. 2004), а их пороги, наоборот, снижаются (Badran et al. 2020). В то же время воздействие параболического полета различно с воздействием СИ — периоды безопорности имеют кратковременный характер и сочетаются с более длительными периодами гипергравитации. Повышение кортикоспинальной возбудимости также наблюдается при односторонней иммобилизации нижней конечности (Roberts et al. 2007). Стоит отметить, что аналогичного настоящему исследованию изучения характеристик кВМО в условиях СИ с участием мужчин ранее не проводилось. Недавнее исследование эффектов трехсуточной СИ с участием шести женщин также не позволяет сформировать окончательного представления о влиянии СИ на кортикоспинальную возбудимость (Nosikova et al. 2021a). Таким образом, отсутствие изменений кВМО в нашей работе свидетельствует о необходимости дальнейших исследований в данном направлении.

При применении низкочастотной ЭМС пороги и амплитуды сВМО достоверно снижались после завершения СИ (рис. 2). Амплитуды кВМО тоже снижались, но эти изменения не достигали уровня статистической значимости, а пороги, наоборот, имели тенденцию к повышению (рис. 3). В целом при применении ЭМС как дополнительного воздействия в ходе СИ классическая картина повышенной возбудимости вызванных моторных ответов не наблюдалась. Ранее показано, что низкочастотная ЭМС (25 Гц) предотвращала снижение тонуса камбаловидной мышцы в ходе пятисуточной СИ (Amirova et al. 2020). В экспериментах на крысах показано, что в модели вывешивания задних

конечностей, которая также воспроизводит опорную разгрузку, низкочастотная ЭМС уменьшала атрофию мышц и потерю мышечной силы, а также частично предотвращала трансформацию медленных мышечных волокон в быстрые (Adams 2018; Canton et al. 1995; Leterme, Falempin 1994). Кроме того, ЭМС-терапия приводила к меньшему снижению мышечной силы и более скорому восстановлению нормальных паттернов ходьбы у иммобилизованных пациентов (Dehail et al. 2008). Интересно отметить, что применение высокочастотной ЭМС в ходе СИ предотвращало исчезновение иллюзии Мюллера — Лайера, происходившее в условиях СИ без применения средств профилактики (Shoshina et al. 2021). Исходя из того, что в моделях гипогравитации, как и при иммобилизации, снижается двигательная активность и возникает частичная сенсорная депривация, можно заключить, что ЭМС способствует устранению сенсорного и двигательного дефицита, тем самым уменьшая негативные эффекты опорной разгрузки и гипокинезии, в частности, снижая проявление гиперрефлексии.

При применении аксиальной весовой нагрузки амплитуды сВМО в день завершения СИ были близки к фоновым значениям и достоверно от них не отличались (рис. 2 С, D). Пороги кВМО и сВМО имели тенденцию к снижению после иммерсионного воздействия (рис. 2 А, В; рис. 3 А, В), тогда как амплитуды кВМО после СИ возрастали, причем в камбаловидной мышце это возрастание достигло уровня значимости (рис. 3 С). То есть в случае транскраниальной ЭМС наблюдалась тенденция к развитию классической картины гиперрефлексии, а при транскраниальной ЭМС изменения выражались только в незначительном снижении порогов вызванных ответов. Можно предположить, что феномен увеличения амплитуд кВМО в группе «Костюм» после завершения СИ ассоциирован с влиянием данного метода компенсации осевой нагрузки и проприоцептивных афферентных сигналов на супраспинальный контроль моторных ответов исследуемых мышц. В настоящее время в клинической практике применяется модификация костюма «Пингвин», использованного в данном исследовании, — костюм «Регент», разработанный для реабилитации двигательных нарушений после инсульта или черепно-мозговой травмы (Galanov et al. 2010). Было показано, что применение костюма «Регент» приводит к улучшению функционального состояния центральных проводящих путей у больных с инсультом и к нормализации функционального состояния нейромоторного аппарата у пациентов

с болезнью Паркинсона (Galanov et al. 2010). Также терапия с костюмом «Регент» способствовала снижению моторных нарушений у пациентов с очаговыми поражениями центральной нервной системы, однако улучшения, хоть и менее выраженные, наблюдались и в группе контроля, получавшей только стандартную терапию (Motanova et al. 2022). В целом как костюм «Регент», так и костюм «Пингвин» способствуют устранению сенсорного дефицита и создают осевую нагрузку. Полученные результаты указывают на наличие профилактического эффекта данного подхода, однако они также свидетельствуют о принципиальных различиях профилактических механизмов ЭМС и аксиальной нагрузки.

Таким образом, из представленных данных следует, что: 1) опорная разгрузка длительностью пять суток сопровождается повышением спинальной возбудимости, проявляющейся в достоверном снижении порогов и повышении амплитуд моторных ответов мышц голени на трансспинальную магнитную стимуляцию; 2) низкочастотная электромиостимуляция обладает большим потенциалом к устранению гипогравитационной гиперрефлексии, чем костюм аксиального весового нагружения.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Все исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сфор-

мулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях, и одобрены Комиссией по биомедицинской этике Института медико-биологических проблем РАН (протоколы № 370 от 15.09.2014, № 401 от 15.07.2015).

Ethics Approval

The study complied with the principles of biomedical ethics stated in the Declaration of Helsinki of 1964 and its subsequent revisions, and was approved by the Bioethical Commission of the Institute of Biomedical Problems of the RAS (protocols No. 370 dated 15 September 2014 and No. 401 dated 15 July 2015).

Вклад авторов

- a. Носикова Инна Николаевна — сбор, обработка данных и подготовка материалов статьи;
- б. Рябова Александра Михайловна — сбор, обработка данных и подготовка материалов статьи;
- в. Китов Владимир Валерьевич — техническая поддержка эксперимента;
- г. Томиловская Елена Сергеевна — научное руководство экспериментом и редактирование текста статьи.

Author Contributions

- a. Inna N. Nosikova — data collection and processing, preparation of article materials;
- b. Alexandra M. Riabova — data collection and processing, preparation of article materials;
- c. Vladimir V. Kitov — technical support of the experiment;
- d. Elena S. Tomilovskaya — scientific supervision of the experiment, editing of the manuscript.

References

- Adams, V. (2018) Electromyostimulation to fight atrophy and to build muscle: Facts and numbers. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, vol. 9, no. 4, pp. 631–634. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12332> (In English)
- Amirova, L. E., Osetskiy, N. Yu., Shishkin, N. V. et al. (2020) Comparative study of the lower limb muscle tone under the conditions of five-day support unloading coupled with different regimens of electromyostimulation. *Human Physiology*, vol. 46, no. 4, pp. 391–400. <https://doi.org/10.1134/S0362119720040027> (In English)
- Amirova, L. E., Plehuna, A., Rukavishnikov, I. V. et al. (2021) Sharp changes in muscle tone in humans under simulated microgravity. *Frontiers in Physiology*, vol. 12, article 661922. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.661922> (In English)
- Badran, B. W., Caulfield, K. A., Cox, C. et al. (2020) Brain stimulation in zero gravity: Transcranial magnetic stimulation (TMS) motor threshold decreases during zero gravity induced by parabolic flight. *npj Microgravity*, vol. 6, no. 1, article 26. <https://doi.org/10.1038/s41526-020-00116-6> (In English)

- Canton, F., Bigard, A. X., Merino, D. et al. (1995) Effects of chronic low frequency stimulation on structural and metabolic properties of hindlimb suspended rat soleus muscle. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, vol. 70, no. 6, pp. 528–535. <https://doi.org/10.1007/BF00634382> (In English)
- Clark, B. C., Manini, T. M., Bolanowski, S. J., Ploutz-Snyder, L. L. (2006) Adaptations in human neuromuscular function following prolonged unweighting: II. Neurological properties and motor imagery efficacy. *Journal of Applied Physiology*, vol. 101, no. 1, pp. 264–272. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01404.2005> (In English)
- Cronin, N. J., Valtonen, A. M., Waller, B. et al. (2016) Effects of short term water immersion on peripheral reflex excitability in hemiplegic and healthy individuals: A preliminary study. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, vol. 16, no. 1, pp. 58–62. PMID: 26944824 (In English)
- Davey, N. J., Rawlinson, S. R., Nowicky, A. V. et al. (2004) Human corticospinal excitability in microgravity and hypergravity during parabolic flight. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, vol. 75, no. 4, pp. 359–363. PMID: 15086127 (In English)
- Dehail, P., Duclos, C., Barat, M. (2008) Electrical stimulation and muscle strengthening. *Annales de Réadaptation et de Médecine Physique*, vol. 51, no. 6, pp. 441–451. <https://doi.org/10.1016/j.annrmp.2008.05.001> (In English)
- Galanov, D. V., Kozlovskaya, I. B., Gekht, A. B. et al. (2010) Primenenie lechebnykh kostyumov aksial'nogo nagruzheniya v nejroreabilitatsii [The treatment costume of axial loading in the neurorehabilitation]. *Zhurnal nevrologii i psikhiiatrii imeni S. S. Korsakova*, vol. 110, no. 8, pp. 55–59. (In Russian)
- Grigor'ev, A. I., Ushakov, I. B. (eds.). (2013) *Kosmicheskaya meditsina i biologiya [Space medicine and Biology]*. Voronezh: Nauchnaya kniga Publ., 683 p. (In Russian)
- Koppelmans, V., Bloomberg, J. J., De Dios, Y. E. et al. (2017) Brain plasticity and sensorimotor deterioration as a function of 70 days head down tilt bed rest. *PLoS ONE*, vol. 12, no. 8, article e0182236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182236> (In English)
- Koryak, Yu. (2002) “DRY” immersion induces neural and contractile adaptations in the human triceps surae muscle. *Environmental Medicine*, vol. 46, no. 1-2, pp. 17–27. PMID: 12666668 (In English)
- Kozlovskaya, I. B., Sayenko, I. V., Miller, T. F. et al. (2007) Erratum to: New approaches to countermeasures of the negative effects of microgravity in long-term space flights [Acta Astronautica 59 (2006) 13–19]. *Acta Astronautica*, vol. 60, no. 8–9, pp. 783–789. <https://doi.org/10.1016/j.actastro.2006.09.038> (In English)
- Kozlovskaya, I. B., Yarmanova, E. N., Yegorov, A. D. et al. (2015) Russian countermeasure systems for adverse effects of microgravity on long-duration ISS flights. *Aerospace Medicine and Human Performance*, vol. 86, no. 12. Supplement, pp. A24–A31. <https://doi.org/10.3357/AMHP.EC04.2015> (In English)
- Kozlovskaya, I., Dmitrieva, I., Grigorieva, L. et al. (1988) Gravitational mechanisms in the motor system. Studies in real and simulated weightlessness. In: V. S. Gurfinkel, M. E. Ioffe, J. Massion, J. P. Roll (eds.). *Stance and Motion: Facts and Concepts*. New York: Springer Publ., pp. 37–48. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-0821-6_4 (In English)
- Leterme, D., Falempin, M. (1994) Compensatory effects of chronic electrostimulation on unweighted rat soleus muscle. *Pflügers Archiv — European Journal of Physiology*, vol. 426, no. 1–2, pp. 155–160. <https://doi.org/10.1007/BF00374683> (In English)
- Miroshnichenko, G. G., Meigal, A. Yu., Saenko, I. V. et al. (2018) Parameters of surface electromyogram suggest that dry immersion relieves motor symptoms in patients with Parkinsonism. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 12, article 667. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00667> (In English)
- Motanova, E., Bekreneva, M., Rukavishnikov, I. et al. (2022) Application of space technologies aimed at proprioceptive correction in terrestrial medicine in Russia. *Frontiers in Physiology*, vol. 13, article 921862. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.921862> (In English)
- Nikitin, S. S., Kurenkov, A. L. (2003) *Magnitnaya stimulyatsiya v diagnostike i lechenii boleznej nervnoj sistemy: Rukovodstvo dlya vrachej [Magnetic stimulation in the diagnosis and treatment of diseases of the nervous system: A guide for doctors]*. Moscow: Sashko Publ., 374 p. (In Russian)
- Nosikova, I., Riabova, A., Amirova, L. et al. (2021a) NAIAD-2020: Characteristics of motor evoked potentials after 3-day exposure to dry immersion in women. *Frontiers in Human Neuroscience*, vol. 15, article 753259. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2021.753259> (In English)
- Nosikova, I. N., Ryabova, A. M., Dmitrieva, L. E. et al. (2021b) Specific features of the motor potentials of the leg muscles induced by magnetic stimulation under the conditions of a five-day “dry” immersion in healthy volunteers. *Human Physiology*, vol. 47, no. 3, pp. 282–288. <https://doi.org/10.1134/S0362119721030130> (In English)
- Roberts, D. R., Ramsey, D., Johnson, K. et al. (2010) Cerebral cortex plasticity after 90 days of bed rest: Data from TMS and fMRI. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, vol. 81, no. 1, pp. 30–40. <https://doi.org/10.3357/ASEM.2532.2009> (In English)
- Roberts, D. R., Ricci, R., Funke, F. W. et al. (2007) Lower limb immobilization is associated with increased corticospinal excitability. *Experimental Brain Research*, vol. 181, no. 2, pp. 213–220. <https://doi.org/10.1007/s00221-007-0920-5> (In English)
- Romanella, S. M., Sprugnoli, G., Ruffini, G. et al. (2020) Noninvasive brain stimulation & space exploration: Opportunities and challenges. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 119, pp. 294–319. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.09.005> (In English)

- Rossini, P. M., Burke, D., Chen, R. et al. (2015) Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: Basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an I.F.C.N. Committee. *Clinical Neurophysiology*, vol. 126, no. 6, pp. 1071–1107. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.02.001> (In English)
- Shenkman, B. S., Belozeroва, I. N., Nemirovskaya, T. L. et al. (2000) Dinamika atrofii myshechnykh volokon cheloveka v usloviyakh dlitel'noj antiortostaticheskoy gipokinezii [Dynamics of the atrophy of human muscular fibers during long-term head-down hypokinesia]. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina — Aerospace and Environmental Medicine*, vol. 34, no. 4, pp. 18–23. (In Russian)
- Shenkman, B. S., Tsururyan, A. K., Vikhlyantsev, I. M. et al. (2021) Molecular mechanisms of muscle tone impairment under conditions of real and simulated space flight. *Acta Naturae*, vol. 13, no. 2 (49), pp. 85–97. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.10953> (In English)
- Shoshina, I., Zelenskaya, I., Karpinskaia, V. et al. (2021) Sensitivity of visual system in 5-day “dry” immersion with high-frequency electromyostimulation. *Frontiers in Neural Circuits*, vol. 15, article 702792. <https://doi.org/10.3389/fncir.2021.702792> (In English)
- Shul'zhenko, E. B., Will-Williams, I. F. (1976) Vozmozhnost' provedeniya dlitel'noj vodnoj immersii metodom “sukhogo” pogruzheniya [Possibility of long term water immersion performance by the method of “dry” immersion]. *Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina*, vol. 10, no. 2, pp. 82–84. (In Russian)
- Tomilovskaya, E., Shigueva, T., Sayenko, D. et al. (2019) Dry immersion as a ground-based model of microgravity physiological effects. *Frontiers in Physiology*, vol. 10, article 284. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00284> (In English)
- Wood, S. J., Paloski, W. H., Clark, J. B. (2015) Assessing sensorimotor function following ISS with computerized dynamic posturography. *Aerospace Medicine and Human Performance*, vol. 86, no. 12. Supplement, pp. A45–A53. <https://doi.org/10.3357/AMHP.EC07.2015> (In English)
- Yarmanova, E. N., Kozlovskaya, I. B., Khimoroda, N. N., Fomina, E. V. (2015) Evolution of Russian microgravity countermeasures. *Aerospace Medicine and Human Performance*, vol. 86, no. 12. Supplement, pp. A32–A37. <https://doi.org/10.3357/AMHP.EC05.2015> (In English)
- Zakirova, A. Z., Shigueva, T. A., Tomilovskaya, E. S., Kozlovskaya, I. B. (2015) Effects of mechanical stimulation of sole support zones on the H-reflex characteristics under conditions of support unloading. *Human Physiology*, vol. 41, no. 2, pp. 150–155. <https://doi.org/10.1134/S0362119715020176> (In English)



УДК 612.82; 612.817; 616

EDN EGSVZL

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-346-355>

Действие агониста TAAR1 RO 5263397 на дискинезию, вызываемую инъекцией α -NETA

Н. В. Полякова¹, А. Ю. Александров¹, В. М. Князева^{✉1}, Е. П. Виноградова¹,
Е. С. Дмитриева¹, Л. Н. Станкевич¹, А. А. Александров¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет,
199034, Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9

Сведения об авторах

Надежда Владимировна Полякова, SPIN-код: 6261-8153, Scopus AuthorID: 8237678000, ResearcherID: G-3085-2015, ORCID: 0000-0002-2660-5898, e-mail: nadezhda.polyakova@spbu.ru

Антон Юрьевич Александров, SPIN-код: 9138-3240, Scopus AuthorID: 57189225865, ResearcherID: J-5335-2014, ORCID: 0000-0001-5398-5526, e-mail: a.alexandrov@spbu.ru

Вероника Михайловна Князева, SPIN-код: 6785-3681, Scopus AuthorID: 55339321700, ResearcherID: J-8222-2013, ORCID: 0000-0002-8587-0712, e-mail: v.m.knyazeva@spbu.ru

Екатерина Павловна Виноградова, SPIN-код: 4899-1537, Scopus AuthorID: 7007105677, ResearcherID: F-6877-2015, ORCID: 0000-0003-2275-4084, e-mail: e.vinogradova@spbu.ru

Елена Сергеевна Дмитриева, SPIN-код: 7102-0491, Scopus AuthorID: 56668899500, ResearcherID: J-8180-2013, ORCID: 0000-0001-9416-2139, e-mail: e.s.dmitrieva@spbu.ru

Людмила Николаевна Станкевич, SPIN-код: 8282-2550, Scopus AuthorID: 6701338372, ResearcherID: J-5822-2012, ORCID: 0000-0002-6197-3266, e-mail: l.stankevich@spbu.ru

Александр Алексеевич Александров, SPIN-код: 3616-6364, Scopus AuthorID: 7201397873, ResearcherID: M-8465-2019, ORCID: 0000-0002-0129-9038, e-mail: a.alexandrov@spbu.ru

Для цитирования: Полякова, Н. В., Александров, А. Ю., Князева, В. М., Виноградова, Е. П., Дмитриева, Е. С., Станкевич, Л. Н., Александров, А. А. (2023) Действие агониста TAAR1 RO 5263397 на дискинезию, вызываемую инъекцией α -NETA. *Интегративная физиология*, т. 4, № 3, с. 346–355. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-346-355> EDN EGSVZL

Получена 2 октября 2023; прошла рецензирование 26 ноября 2023; принята 27 ноября 2023.

Финансирование: Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда, проект № 22-25-00006.

Права: © Н. В. Полякова, А. Ю. Александров, В. М. Князева, Е. П. Виноградова, Е. С. Дмитриева, Л. Н. Станкевич, А. А. Александров (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. В настоящее время собрано достаточно данных о роли следовых аминов (СА) как нейромодуляторов в центральной нервной системе млекопитающих. СА имеют структурное сходство с классическими биогенными аминами, а изменения их концентрации связаны с различными психическими расстройствами. В центральной нервной системе человека широко экспрессируются два представителя семейства рецепторов СА — TAAR1 и TAAR5. В первой части исследования изучены поведенческие эффекты инъекции α -NETA (2-(alpha-naphthoyl) ethyltrimethylammonium iodide, 10 мг/кг, внутривенно) на мышей с нокаутом TAAR5 (KO TAAR5) и на мышей дикого типа (WT). Во второй части исследовано влияние агониста TAAR1, RO 5263397, на дискинезию, вызванную инъекцией α -NETA, у мышей-самцов C57BL/6. Было установлено, что инъекция α -NETA (10 мг/кг) вызывает дискинезию как у мышей дикого типа, так и у мышей KO TAAR5, что позволяет предположить отсутствие связи между дискинезией, индуцированной α -NETA, и рецепторами TAAR5. Во второй части исследования было установлено, что предварительное введение высокой дозы (1 мг/кг) агониста TAAR1 ингибирует дискинезию, индуцированную α -NETA, через 90 минут после инъекции. Кроме того, предварительное введение агониста TAAR1 существенно снижает возникновение длительных тонических спазмов. Таким образом полученные данные позволяют предположить, что агонисты TAAR1 перспективны для лечения определенных форм дискинезии.

Ключевые слова: следовые амины, рецепторы следовых аминов, TAAR1, TAAR5, α -NETA, дискинезия, нокаутные мыши, агонист TAAR1 RO5263397

TAAR1 agonist reduces α -NETA induced dyskinesia

N. V. Polyakova¹, A. Yu. Aleksandrov¹, V. M. Knyazeva^{✉1}, E. P. Vinogradova¹,
E. S. Dmitrieva¹, L. N. Stankevich¹, A. A. Aleksandrov¹

¹ Saint Petersburg State University, 7–9 Universitetskaya Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Authors

Nadezhda V. Polyakova, SPIN: 6261-8153, Scopus AuthorID: 8237678000, ResearcherID: G-3085-2015, ORCID: 0000-0002-2660-5898, e-mail: nadezhda.polyakova@spbu.ru

Anton Yu. Aleksandrov, SPIN: 9138-3240, Scopus AuthorID: 57189225865, ResearcherID: J-5335-2014, ORCID: 0000-0001-5398-5526, e-mail: a.aleksandrov@spbu.ru

Veronika M. Knyazeva, SPIN: 6785-3681, Scopus AuthorID: 55339321700, ResearcherID: J-8222-2013, ORCID: 0000-0002-8587-0712, e-mail: v.m.knyazeva@spbu.ru

Ekaterina P. Vinogradova, SPIN: 4899-1537, Scopus AuthorID: 7007105677, ResearcherID: F-6877-2015, ORCID: 0000-0003-2275-4084, e-mail: e.vinogradova@spbu.ru

Elena S. Dmitrieva, SPIN: 7102-0491, Scopus AuthorID: 56668899500, ResearcherID: J-8180-2013, ORCID: 0000-0001-9416-2139, e-mail: e.s.dmitrieva@spbu.ru

Ludmila N. Stankevich, SPIN: 8282-2550, Scopus AuthorID: 6701338372, ResearcherID: J-5822-2012, ORCID: 0000-0002-6197-3266, e-mail: l.stankevich@spbu.ru

Aleksandr A. Aleksandrov, SPIN: 3616-6364, Scopus AuthorID: 7201397873, ResearcherID: M-8465-2019, ORCID: 0000-0002-0129-9038, e-mail: a.aleksandrov@spbu.ru

For citation: Polyakova, N. V., Aleksandrov, A. Yu., Knyazeva, V. M., Vinogradova, E. P., Dmitrieva, E. S., Stankevich, L. N., Aleksandrov, A. A. (2023) TAAR1 agonist reduces α -NETA induced dyskinesia. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 346–355. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-346-355> EDN EGSVZL

Received 2 October 2023; reviewed 26 November 2023; accepted 27 November 2023.

Funding: This research was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 22-25-00006.

Copyright: © N. V. Polyakova, A. Yu. Aleksandrov, V. M. Knyazeva, E. P. Vinogradova, E. S. Dmitrieva, L. N. Stankevich, A. A. Aleksandrov (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. As of today, sufficient evidence has been collected regarding the role of trace amines (TAs) as neuromodulators in the mammalian central nervous system. TAs share structural similarities with classical biogenic amines, while the changes in their concentration have been linked to various mental disorders. Two widely expressed members of the TAs receptor family in the human central nervous system are TAAR1 and TAAR5 receptors. The first part of this research investigates the behavioral effects of α -NETA injection (2-(α -naphthoyl) ethyltrimethylammonium iodide, 10 mg/kg, IP) on both TAAR5 knockout (KO TAAR5) and wild-type (WT) mice. The second part examines the impact of the TAAR1 agonist, RO 5263397, on dyskinesia induced by α -NETA injection in C57BL/6 male mice. The α -NETA (10 mg/kg) injection causes dyskinesia both in wild-type and KO TAAR5 mice, suggesting that α -NETA-induced dyskinesia is unrelated to the effects on TAAR5 receptors. The second part of the study found that preliminary administration of a high dose (1 mg/kg) of a TAAR1 agonist inhibited α -NETA-induced dyskinesia 90 min after injection. In addition, the number of expanded dyskinesias was significantly reduced in groups pre-injected with TAAR1 agonist. These findings suggest that TAAR1 agonists hold promise for the treatment of certain forms of dyskinesia.

Keywords: trace amines, trace amine-associated receptors, TAAR1, TAAR5, α -NETA, dyskinesia, knockout mice, TAAR1 agonist RO5263397

Введение

Следовые амины (СА), действие которых опосредуется через систему рецепторов, связанных со СА (*trace amine associated receptors*, TAARs), представляют собой эндогенные аминные соединения, присутствующие в низких концентрациях в центральной нервной системе позвоночных (Gainetdinov et al. 2018). Предполагается, что изменения в регуляции СА связа-

ны с многочисленными неврологическими расстройствами, включая депрессию, мигрень, болезнь Альцгеймера, синдром дефицита внимания и гиперактивности, шизофрению и болезнь Паркинсона (Boulton 1980; Branchek, Blackburn 2003; Pei et al. 2016). Членами семейства рецепторов СА, гены которых экспрессируются в центральной нервной системе человека, являются рецепторы TAAR1, TAAR5, TAAR6 и TAAR8 (Gainetdinov et al. 2018).

Несколько исследований показали сильную нейромодуляторную активность TAAR1 в отношении дофаминергической, серотонинергической и глутаматергической систем (Lindemann et al. 2008; Revel et al. 2011). TAAR1 является важным отрицательным моноаминергическим и положительным глутаматергическим модулятором нейромодуляторных систем, что делает его потенциальной полезной мишенью для фармакотерапии психоневрологических расстройств, включая шизофрению. В настоящее время описано несколько специфичных агонистов TAAR1, которые, как было установлено, имеют значительное сходство со многими психотропными препаратами (Simmler et al. 2016), а перспективный препарат для лечения шизофрении, основанный на TAAR1 в качестве терапевтической мишени, находится на стадии клинических испытаний (Berry et al. 2017).

Недавно полученные результаты показали, что еще один представитель семейства следовых аминов TAAR5 совместно с TAAR1 локализован в миндалевидном теле, аркуатном ядре и вентромедиальном гипоталамусе (Dinter et al. 2015). При изучении действия предполагаемого агониста TAAR5 — 2-(alpha-naphthoyl) ethyltrimethylammonium iodide (α -NETA), были обнаружены специфические нарушения моторного поведения, сходные с проявлениями поздней дискинезии у человека (Aleksandrov et al. 2019d).

Таким образом, целью настоящего исследования было выяснить: во-первых, действительно ли можно связать эффекты α -NETA (дискинезия) с его предполагаемым воздействием на рецепторы TAAR5; во-вторых, учитывая выраженные эффекты агониста TAAR1, проверить, какое действие на дискинезию, вызываемую α -NETA, оказывает агонист RO 5263397.

Материалы и методы

Опыты были проведены в соответствии с международными нормами по обращению с животными в эксперименте (European Convention... 1986). Протокол эксперимента одобрен Этическим комитетом биологического факультета СПбГУ (№ 131–03–2 от 17 февраля 2022 г.).

Объект исследования

В первой части эксперимента было исследовано влияние инъекции α -NETA на поведение мышей нокауты по TAAR5 (KO TAAR5) и мышей дикого типа (wild type, WT). В каждой группе по 4 самца, средний вес $27,5 \pm 0,6$ г и $28,5 \pm 1$ г, соответственно. Возраст животных от трех до четырех месяцев.

Вторую часть исследования проводили на самцах мышей линии C57BL/6 ($n = 15$). Возраст животных от двух до трех месяцев, средний вес в период проведения экспериментов составлял $29,3 \pm 2,05$ г.

Животные были получены из вивария Научного парка СПбГУ. Мышей содержали в стандартных условиях при свободном доступе к пище и воде.

Аппаратура и методы

В первой части работы исследовали влияние α -NETA (химическая формула: 2-(alpha-naphthoyl) ethyltrimethylammonium iodide, производство фирмы ABCAM (UK), дозировка 10 мг/кг) на поведение мышей. Регистрировали поведение каждого животного в течение 15 минут до введения препарата и в течение одного часа после введения.

Во второй части работы исследовали действие агониста TAAR1 RO 5263397 на дискинезию, вызываемую инъекцией α -NETA. Были использованы следующие препараты: агонист TAAR1 (название: RO 5263397, был синтезирован Orion Pharma (Финляндия), химическая формула: $C_{10}H_{13}Cl_2FN_2O$, дозировка 1 мг/кг или 0,5 мг/кг), α -NETA (производство фирмы ABCAM (UK), дозировка 10 мг/кг) и, в контроле, физиологический раствор (0,9% NaCl). Выбор указанной дозировки RO 5263397 и α -NETA был основан на данных, полученных при изучении влияния этих препаратов на вызванные потенциалы мозга мышей (Aleksandrov et al. 2019a; 2019b; 2019c), а также на поведение животных (Aleksandrov et al. 2019d; Vinogradova et al. 2020).

В данной части исследования были сформированы три группы мышей по пять животных. В первой группе мышам производили предварительную инъекцию агониста TAAR1 в дозировке 1 мг/кг («высокая доза»), животным второй группы производили предварительную инъекцию агониста TAAR1 в дозировке 0,5 мг/кг («низкая доза»). Третьей («контрольной») группе животных производили предварительную инъекцию физиологического раствора объемом от 0,08 до 0,15 мл в соответствии с весом животного. Затем через 15 минут всем животным производили введение α -NETA в дозировке 10 мг/кг. Все инъекции производили внутривентриально.

Регистрацию поведения животного начинали за 15 минут до введения предварительной инъекции и продолжали в течении пяти часов после введения α -NETA, а также через 24 часа после введения препаратов в течение одного часа.

Для наблюдения за поведением мышь помещали в индивидуальный пластмассовый бокс размером 31 × 20 × 18 см. Регистрацию поведения производили с помощью цифровой видеокамеры JVC GZ-MG57E, закрепленной на штативе непосредственно над боксом, в котором находилось животное.

В данной работе изучали специфическое нарушение моторного поведения в форме дискинезии, формирующееся под влиянием системного введения препарата α -NETA.

Ранее нами было обнаружено, что α -NETA (дозировка 10 мг/кг) вызывает нарушение движения (дискинезию) в виде продолжительных тонических спазмов (Aleksandrov et al. 2019d). Длительные спазмы в развернутой форме обычно начинались с появления характерной брюшной перетяжки. Затем наблюдалось вытягивание тела с искривлением в правую или левую сторону в поясничном отделе (продолжительностью от 1 до 17 с), либо происходило прогибание спины в позе гиперлордоза (продолжительностью от 30 с до 1 мин). Кроме того, было выявлено, что часть продолжительных приступов в развернутой форме завершается выраженной экстензией задних конечностей с выворачиванием стопы подошвой вверх (около 20% всех приступов).

В данном исследовании при анализе видеозаписи фиксировали время появления каждого приступа дискинезии и затем оценивали количество приступов в каждом временном интервале. Нами было выделено два типа приступов дискинезии: 1) продолжительный тонический спазм с удлинением и искривлением тела в поясничном отделе — приступ дискинезии; 2) продолжительный тонический спазм с удлинением и искривлением тела в поясничном отделе, завершающийся выраженной экстензией задних конечностей с выворачиванием стопы подошвой вверх — приступ дискинезии в развернутой форме с экстензией.

Подсчет количества всех приступов дискинезии проводили в следующих временных интервалах: первые 30 минут записи после введения α -NETA были поделены на интервалы по пять минут, оставшееся время, начиная с 31-й минуты записи, было поделено на интервалы по 30 минут. Дополнительно, во время анализа фиксировали поведение (груминг, стойки, перебежки) и состояние животного (бодрствование/сон)

Статистический анализ данных

Адекватные размеры выборки были определены с использованием уравнения ресурсов (Charan, Kantharia 2013). Учитывая когорту

животных, подвергшихся воздействию α -NETA, как описано в предыдущей публикации (Aleksandrov et al. 2019d), значение «E» нашей выборки для первой части эксперимента попадало в необходимый диапазон от 10 до 20. Статистическое оценивание достоверности различий осуществляли с использованием перестановочной статистики против нулевой гипотезы отсутствия сдвига. Реализованный вычислительный алгоритм аналогичен стандартным вариантам, подробное изложение которых можно найти, например, в работе (DasGupta 2008). В качестве референтной реализации использовали процедуру в среде R-studio, представленную Шитиковым и Розенбергом (Shitikov, Rosenberg 2013). Для оценки среднего выборочных распределений вычисляли медиану попарных средних значений по Уэлшу (Fried, Dealing 2011). По каждой паре сравнений во всех рассматриваемых временных интервалах вычисляли достигаемый уровень значимости различий, на основе значений которого делали вывод о достоверности наблюдаемых изменений.

Результаты

До введения препаратов в течение 15 минут у всех мышей наблюдалась обычная двигательная и исследовательская активность: перебежки по боксу, стойки, груминг головы и спины, что соответствует классическому поведению животного в новой среде.

Введение α -NETA (в дозе 10 мг/кг) значительно изменяло поведение мышей как в первой, так и во второй части исследования. Первые 30 минут двигательная активность практически отсутствовала, животное замирало, прижавшись к стенке бокса, время от времени перемещалось по боксу в поисках более удобного положения и иногда, вытянувшись, прижималось брюшной областью к поверхности пола бокса. Также, в отличие от обычных мышечных вздрагиваний, характерных для мышей в спокойном состоянии, в течение всей записи наблюдались кратковременные спастические сокращения в брюшной области в форме толчков в росто-каудальном направлении со смещением животного назад или толчков в вентро-дорсальном направлении.

Наряду с этим у животных наблюдались продолжительные тонические спазмы — приступы дискинезии. Инициация приступов дискинезии (длительных спастических сокращений) вызывала беспокойство у животных, непродолжительный груминг брюшной области; многие животные, выполняя один-два оборота, крутились на месте, иногда перемещались по боксу.

Первая часть исследования

При сравнении действия α -NETA на поведение мышей дикого типа и нокаутов по TAAR5 было обнаружено, что приступы дискинезии наблюдались в обеих группах у всех животных без исключения. Появление первых приступов дискинезии у мышей в исследуемых группах происходит в интервале 6–10 минут (рис. 1).

Достоверные различия между группами KO TAAR5 и WT отсутствуют как по латентному периоду появления первых приступов дискинезии, так и по количеству приступов на протяжении всего исследуемого периода ($p \geq 0,05$). Развернутые приступы дискинезии с экстензией задних конечностей наблюдаются примерно в 16% случаев в группе KO TAAR5 и примерно в 25% случаев в группе WT (различия не достоверны).

Вторая часть исследования

Во второй части исследования изучали влияние агониста TAAR1 RO 5263397 на дискинезию, вызванную инъекцией α -NETA. В зависимости от группы животных, наблюдалось различное изменение моторного поведения у мышей (рис. 2). Введение предварительной инъекции RO 5263397 мышам линии C57BL/6 отражалось в той или иной мере на времени появления первых приступов дискинезии, выраженности проявления и количестве продолжительных тонических спазмов, возникающих в ответ на введение α -NETA.

В контрольной группе (физиологический раствор и α -NETA в дозе 10 мг/кг) наблюдается типичное изменение поведения в ответ на введение α -NETA. Первые приступы дискинезии появляются уже начиная с шестой минуты, чуть позже возникают развернутые приступы дискинезии с экстензией задних конечностей. В целом, картина приступов дискинезии аналогична описанной в первой части исследования и в более ранней работе (Aleksandrov et al. 2019d).

В группе «высокая доза» (RO 5263397 в дозе 1 мг/кг и α -NETA в дозе 10 мг/кг) введение предварительной инъекции агониста TAAR1 приводит к полному отсутствию приступов дискинезии в ответ на введение α -NETA в течение первых полутора часов. Появление первых приступов дискинезии у животных в этой группе происходит в интервале 78–114 минут. Первые приступы дискинезии в полной форме с выраженной экстензией задних конечностей появляются позднее, в интервале 97–176 минут.

При сравнении групп животных по латентному периоду первых приступов дискинезии и первых приступов дискинезии в развернутой форме было выявлено статистически значимое отличие группы «высокая доза» от групп «низкая доза» и «контроль» ($p \leq 0,05$).

По результатам статистического анализа при сравнении групп животных по количеству приступов дискинезии были получены достоверные отличия между контрольной группой и группой «высокая доза» в первых пяти 30-минутных

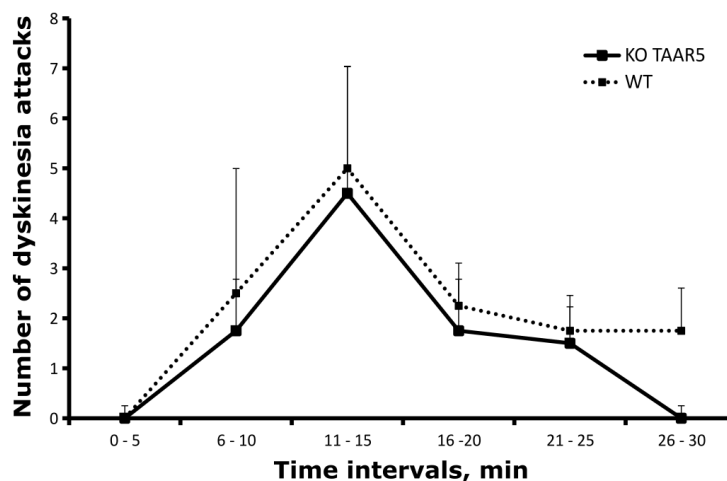


Рис. 1. Приступы дискинезии у мышей группы KO TAAR5 (сплошная линия) и группы WT (пунктирная линия) первые 30 минут анализируемого периода (разделен на интервалы по 5 мин). Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего. По оси абсцисс указаны интервалы времени, по оси ординат — количество приступов дискинезии

Fig. 1. Dyskinesia attacks in KO TAAR5 (solid line) and WT mice (dashed line) during the first 30 minutes of the analyzed period (divided into 5 min intervals). The data are presented as an average \pm SEM. The abscissa shows the time intervals, the ordinate shows the number of dyskinesia attacks

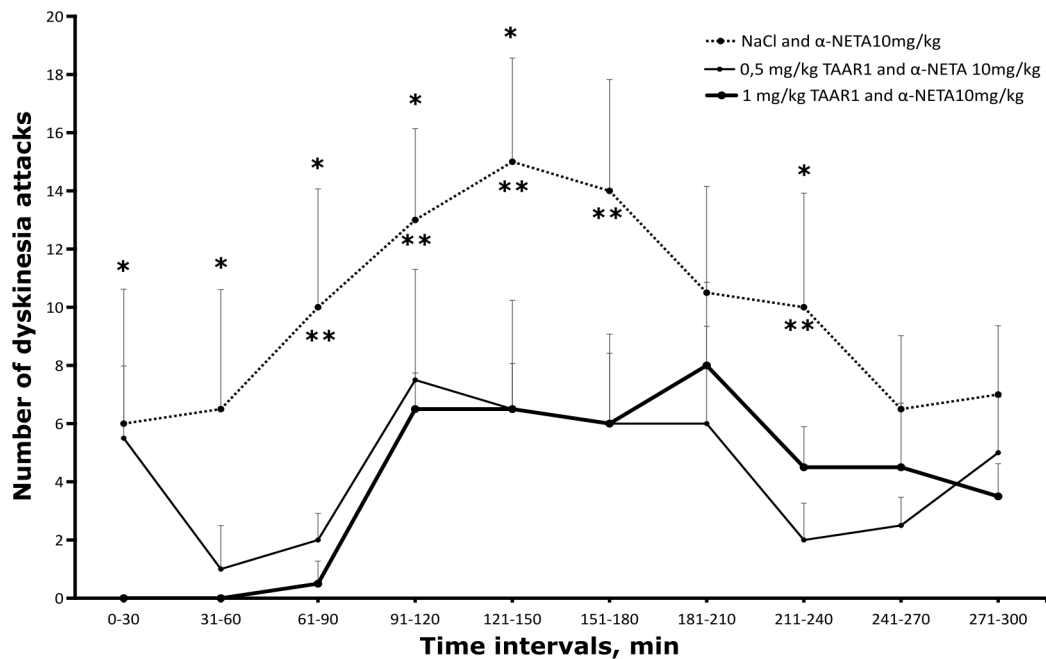


Рис. 2. Приступы дискинезии у мышей линии C57BL/6 в течении всего анализируемого периода (разделен на интервалы по 30 мин). Первая группа — толстая сплошная линия, вторая — тонкая сплошная линия, третья — пунктирная линия. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего. По оси абсцисс указаны интервалы времени, по оси ординат — количество приступов дискинезии. * — достоверные отличия ($p \leq 0,05$) между первой и третьей группами, ** — достоверные отличия ($p \leq 0,05$) между второй и третьей группами

Fig. 2. Number of dyskinesia attacks in C57BL/6 mice during the entire analyzed period (divided into 30 min intervals). The thick solid line denotes the high-dose group, the thin solid line the low-dose group, the dashed line the control group. The data are presented as an average \pm SEM. The abscissa shows time intervals, the ordinate shows the number of dyskinesia attacks. * — significant differences ($p \leq 0.05$) between the high-dose and control groups, ** — significant differences ($p \leq 0.05$) between the low-dose and control groups

временных интервалах от начала анализируемого периода, а также в интервале 211–240 минут ($p \leq 0,05$).

В группе «низкая доза» (RO 5263397 в дозе 0,5 мг/кг и α -NETA в дозе 10 мг/кг) первые приступы дискинезии появляются в интервале 8–19 минут. Первые приступы дискинезии в полной форме появляются в интервале 11–90 минут. Можно отметить, что введение предварительной инъекции RO 5263397 в дозе 0,5 мг/кг отразилось на поведении животных и в этой группе. Хотя латентный период появления первых приступов дискинезии не отличается от контрольной группы (различия недостоверны), однако количество приступов дискинезии для группы «низкая доза» на протяжении всего исследования занимает либо промежуточное положение между группами «контроль» и «высокая доза», либо близко по значениям с данными группы «высокая доза».

Для группы «низкая доза» были найдены достоверные отличия от контрольной группы по количеству приступов дискинезии в четырех

30-минутных интервалах, начиная с 61-й минуты анализируемого периода и в интервале 211–240 минут ($p \leq 0,05$).

Также были найдены достоверные отличия ($p \leq 0,05$) по количеству приступов дискинезии между первой и второй группами в первых двух 30-минутных временных интервалах и в интервале 91–120 минут.

При сравнении групп между собой по количеству приступов дискинезии в развернутой форме с экстензией задних конечностей этот показатель также различался между группами. В контрольной группе процент приступов дискинезии с экстензией задних конечностей составляет в среднем 36% и достоверно отличается ($p \leq 0,001$) по данному параметру от группы «высокая доза» (17% приступов) и от группы «низкая доза» (22% приступов).

Поскольку регистрацию поведения выполняли в течение пяти часов, периоды активности животного чередовались с периодами дремоты или глубокого сна, что могло сказываться на числе приступов дискинезии во время записи.

Через сутки были обнаружены лишь единичные приступы дискинезии у двух животных в контрольной группе.

Обсуждение

При изучении эффекта α -NETA на поведение мышей нокаутов по TAAR5 (КО TAAR5) и мышей дикого типа (WT) было показано, что абсолютно у всех животных из группы нокаутов по TAAR5 инъекции α -NETA вызывают точно такую же дискинезию, как и у животных контрольной группы (дикого типа). Отсутствуют какие бы то ни было различия как по временному течению, так и по интенсивности и характеру приступов. Поэтому, несмотря на небольшое количество исследуемых животных в группах, можно сделать вывод, что дискинезия, вызываемая α -NETA, не связана с воздействием на TAAR5 рецепторы. Возможно возникновение дискинезии связано с воздействием α -NETA на холинэргическую систему — показано его подавляющее действие на активность холинацетилтрансферазы (Kumar et al. 2017).

Предварительная инъекция агониста TAAR1 RO 5263397 (1 мг/кг) животным в группе «высокая доза» полностью блокирует в течение полутора часов какие бы то ни было проявления дискинезии после введения α -NETA. В дальнейшем дискинезия начинает проявляться в значительно ослабленном виде, и интенсивность приступов достоверно снижена на протяжении четырех часов.

Несмотря на небольшие размеры контрольной группы, приступы дискинезии наблюдались у всех мышей, и уровня статистической значимости достигали отличия по количеству приступов, интенсивности и латентному периоду первых приступов дискинезии у контрольной группы в сравнении с данными показателями у групп «высокая доза» и «низкая доза».

В группе «низкая доза» при инъекции половинной дозы RO 5263397 (0,5 мг/кг) подавление дискинезии значительно меньше, и все показатели занимают промежуточное положение между контролем и группой «высокая доза». Напомним, что доза 1 мг/кг была выбрана на основании изучения влияния RO 5263397 на такие компоненты ВП, как сенсорный гейтинг и аналог негативности рассогласования (Aleksandrov et al. 2019a; 2019b; 2019c).

Такое действие TAAR1 можно объяснить его сильной нейромодулирующей активностью в дофаминергической, серотонинергической

и глутаматергической системах (Lindemann et al. 2008; Revel et al. 2011). Экспрессия мРНК TAAR1 преимущественно происходит в различных областях лимбической и моноаминергических систем, включая черную субстанцию, голубое пятно, дорсальное ядро шва, вентральную область покрышки, полосатое тело и базальные ганглии (Lindemann et al. 2008; Panas et al. 2010). Было показано, что TAAR1 снижает частоту возбуждения дофаминовых (DA) и 5-гидрокси-триптаминовых нейронов в лимбических и моноаминергических системах, таких как дорсальное ядро шва и вентральная область покрышки (Espinoza et al. 2011; Revel et al. 2011), а также ингибирует поведенческие и электрофизиологические эффекты психостимуляторов, тем самым предотвращая гипердофаминергическую и гипоглутаматергическую активность (Revel et al. 2011; 2013).

Исследования с использованием мышей с двойным мутантным нокаутом транспортера DA/TAAR1 продемонстрировали повышенный уровень спонтанной двигательной активности по сравнению с мышами, нокаутными по родительскому транспортеру DA, что указывает на то, что TAAR1 может играть ингибирующую роль в регуляции DA-зависимой локомоторной гиперактивности (Sotnikova et al. 2008). Это предположение было дополнительно подтверждено недавними исследованиями, которые выявили усиление моторной дисрегуляции и повышенное фосфорилирование полосатых глутаматергических рецепторов у мышей с нокаутом TAAR1 после субхронического лечения L-ДОФА. И наоборот, введение агониста TAAR1 RO5166017 уменьшало количество индуцированных L-ДОФА ротаций и дискинезии, а также ослабляло фосфорилирование глутаматергических рецепторов (Alvarsson et al. 2015). Кроме того, было обнаружено, что хроническое лечение L-ДОФА повышает уровни 3-метокситирамина (внеклеточного метаболита дофамина и агониста TAAR1), это позволяет предположить, что его взаимодействие с TAAR1 может способствовать двигательным нарушениям (Espinoza et al. 2012). Было показано, что некоторые следовые амины, наряду с производными L-ДОФА, действуют как ложные нейротрансмиттеры и потенциально способствуют дискинезии, индуцированной L-ДОФА (Chagraoui et al. 2020).

В совокупности эти результаты подчеркивают важную роль TAAR1 как нейромодулятора, который противодействует дофаминергической гиперактивности. Следовательно, он может играть решающую роль в поведенческих

расстройствах, связанных с нарушением метаболизма дофамина, таких как болезнь Паркинсона и дискинезии, вызванные L-ДОФА.

Результаты исследования показывают, что агонисты TAAR1 могут оказаться перспективными для лечения некоторых форм дискинезии, а дискинезия, вызываемая введением α -NETA, может быть использована в качестве экспериментальной модели при поиске эффективных лекарственных средств.

Заключение

Введение агониста TAAR5 α -NETA в дозе 10 мг/кг вызывает двигательные нарушения, напоминающие нейролептик-индуцированную дискинезию, как у мышей дикого типа, так и у мышей с нокаутом TAAR5. Это позволяет предположить, что дискинезия, вызванная α -NETA, не связана с его влиянием на TAAR5. Дискинезия проявляется сразу после однократного введения α -NETA и характеризуется удлинением тела, искривлением в поясничной области и разгибанием задних конечностей.

Напротив, предварительное введение высокой дозы (1 мг/кг, внутривенно) агониста TAAR1 (RO 5263397) ингибирует дискинезию, индуцированную α -NETA, через 90 минут после инъекции по сравнению с контролем (физраствор) и низкой дозой агониста TAAR1 (0,5 мг/кг, внутривенно). Кроме того, предварительное введение агониста TAAR1 существенно снижает возникновение длительных тонических спазмов, характеризующихся выраженным разгибанием задних конечностей. Эти данные позволяют предположить, что агонисты TAAR1 перспективны для лечения определенных форм дискинезии.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Все проводимые процедуры соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации, международными нормами по проведению медико-биологических исследований

с использованием животных и рекомендациям этического комитета биологического факультета СПбГУ.

Ethics Approval

The research complied with all the ethical standards approved by the legal acts of the Russian Federation, the principles of the Basel Declaration, international standards for conducting biomedical research using animals and the recommendations of the ethical committee of the Faculty of Biology of St. Petersburg State University.

Вклад авторов

- a. Полякова Надежда Владимировна — идея работы и разработка дизайна исследования, сбор данных, анализ и интерпретация данных, написание и редактирование манускрипта;
- б. Александров Антон Юрьевич — анализ и интерпретация данных, статистическая обработка комплекса данных;
- в. Князева Вероника Михайловна — сбор данных, написание и редактирование манускрипта;
- г. Виноградова Екатерина Павловна — сбор данных, анализ и интерпретация данных;
- д. Дмитриева Елена Сергеевна — сбор данных, написание и редактирование манускрипта;
- е. Станкевич Людмила Николаевна — сбор данных, написание и редактирование манускрипта;
- ж. Александров Александр Алексеевич — идея работы и разработка дизайна исследования, написание и редактирование манускрипта.

Author Contributions

- a. Nadezhda V. Polyakova — conceptualization and development of the study design, data collection, data analysis and interpretation, writing and editing the manuscript;
- b. Anton Yu. Aleksandrov — data analysis and interpretation, statistical analysis;
- c. Veronika M. Knyazeva — data collection, writing and editing the manuscript;
- d. Ekaterina P. Vinogradova — data collection, analysis and interpretation;
- e. Elena S. Dmitrieva — data collection, writing and editing the manuscript;
- f. Ludmila N. Stankevich — data collection, writing and editing the manuscript;

- g. Alersander A. Aleksandrov — conceptualization and development of the study design, writing and editing the manuscript. ставление генетически модифицированных мышей.

Благодарности

Выражаем благодарность Виварию Ресурсного центра Научного парка СПбГУ за предо-

Acknowledgements

We thank the staff of the Vivarium of the Resource Center of the Science Park of Saint Petersburg State University for providing knockout animals.

References

- Aleksandrov, A. A., Dmitrieva, E. S., Volnova, A. B. et al. (2019a) Effect of alpha-NETA on auditory event related potentials in sensory gating study paradigm in mice. *Neuroscience Letters*, vol. 712, no. 2, article 134470. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134470> (In English)
- Aleksandrov, A. A., Dmitrieva, E. S., Volnova, A. B. et al. (2019b) Effect of trace amine-associated receptor 1 agonist RO5263397 on sensory gating in mice. *NeuroReport*, vol. 30, no. 15, pp. 1004–1007. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001313> (In English)
- Aleksandrov, A. A., Knyazeva, V. M., Volnova, A. B. et al. (2019c) Trace amine-associated receptor 1 agonist modulates mismatch negativity-like responses in mice. *Frontiers in Pharmacology*, vol. 10, article 470. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00470> (In English)
- Aleksandrov, A. A., Polyakova, N. V., Vinogradova, E. P. et al. (2019d) The TAAR5 agonist α -NETA causes dyskinesia in mice. *Neuroscience Letters*, vol. 704, pp. 208–211. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.04.028> (In English)
- Alvarsson, A., Zhang, X., Stan, T. L. et al. (2015) Modulation by trace amine-associated receptor 1 of experimental parkinsonism, L-DOPA responsiveness, and glutamatergic neurotransmission. *Journal of Neuroscience*, vol. 35, no. 41, pp. 14057–14069. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1312-15.2015> (In English)
- Berry, M. D., Gainetdinov, R. R., Hoener, M. C., Shahid, M. (2017) Pharmacology of human trace amine-associated receptors: Therapeutic opportunities and challenges. *Pharmacology & Therapeutics*, vol. 180, pp. 161–180. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.07.002> (In English)
- Boulton, A. A. (1980) The properties and potential function of some brain trace amines. *Progress in Clinical and Biological Research*, vol. 39, pp. 291–303. PMID: 6105673 (In English)
- Brancheck, T. A., Blackburn, T. P. (2003) Trace amine receptors as targets for novel therapeutics: Legend, myth and fact. *Current Opinion in Pharmacology*, vol. 3, no. 1, pp. 90–97. [https://doi.org/10.1016/s1471-4892\(02\)00028-0](https://doi.org/10.1016/s1471-4892(02)00028-0) (In English)
- Chagraoui, A., Boulain, M., Juvin, L. et al. (2020) L-DOPA in Parkinson's disease: Looking at the “false” neurotransmitters and their meaning. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 21, no. 1, article 294. <https://doi.org/10.3390/ijms21010294> (In English)
- Charan, J., Kantharia, N. D. (2013) How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, vol. 4, no. 4, pp. 303–306. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.119726> (In English)
- DasGupta, A. (2008) *Asymptotic theory of statistics and probability*. New York: Springer Publ., 722 p. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-75971-5> (In English)
- Dinter, J., Mühlhaus, J., Wienchol, C. L. et al. (2015) Inverse agonistic action of 3-iodothyronamine at the human trace amine-associated receptor 5. *PLoS One*, vol. 10, no. 2, article e0117774. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117774> (In English)
- Espinoza, S., Manago, F., Leo, D. et al. (2012) Role of catechol-O-methyltransferase (COMT)-dependent processes in Parkinson's disease and L-DOPA treatment. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets*, vol. 11, no. 3, pp. 251–263. <https://doi.org/10.2174/187152712800672436> (In English)
- Espinoza, S., Salahpour, A., Masri, B. et al. (2011) Functional interaction between trace amine-associated receptor 1 and dopamine D2 receptor. *Molecular Pharmacology*, vol. 80, no. 3, pp. 416–425. <https://doi.org/10.1124/mol.111.073304> (In English)
- European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. (1986) Strasbourg: [s. n.], 11 p. (In English)
- Fried, R., Dehling, H. (2011) Robust nonparametric tests for the two-sample location problem. *Statistical Methods & Applications*, vol. 20, no. 4, pp. 409–422. <https://doi.org/10.1007/s10260-011-0164-1> (In English)
- Gainetdinov, R. R., Hoener, M. C., Berry, M. D. (2018) Trace amines and their receptors. *Pharmacological Reviews*, vol. 70, no. 3, pp. 549–620. <https://doi.org/10.1124/pr.117.015305> (In English)
- Kumar, R., Kumar, A., Långström, B., Darreh-Shori, T. (2017) Discovery of novel choline acetyltransferase inhibitors using structure-based virtual screening. *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, article 16287. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16033-w> (In English)

- Lindemann, L., Meyer, C. A., Jeanneau, K. et al. (2008) Trace amine-associated receptor 1 modulates dopaminergic activity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 324, no. 3, pp. 948–956. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.132647> (In English)
- Panas, H. N., Lynch, L. J., Vallender, E. J. et al. (2010) Normal thermoregulatory responses to 3-iodothyronamine, trace amines and amphetamine-like psychostimulants in trace amine associated receptor 1 knockout mice. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 88, no. 9, pp. 1962–1969. <https://doi.org/10.1002/jnr.22367> (In English)
- Pei, Y., Asif-Malik, A., Canales, J. J. (2016) Trace amines and the trace amine-associated receptor 1: Pharmacology, neurochemistry, and clinical implications. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 10, article 148. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00148> (In English)
- Revel, F. G., Moreau, J.-L., Gainetdinov, R. R. et al. (2011) TAAR1 activation modulates monoaminergic neurotransmission, preventing hyperdopaminergic and hypoglutamatergic activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 108, no. 20, pp. 8485–8490. <https://doi.org/10.1073/pnas.1103029108> (In English)
- Revel, F. G., Moreau, J. L., Pouzet, B. et al. (2013) A new perspective for schizophrenia: TAAR1 agonists reveal antipsychotic-and antidepressant-like activity, improve cognition and control body weight. *Molecular Psychiatry*, vol. 18, no. 5, pp. 543–556. <https://doi.org/10.1038/mp.2012.57> (In English)
- Shitikov, V. K., Rosenberg, G. S. (2013) *Randomizatsiya i butstrep: statisticheskij analiz v biologii i ekologii s ispol'zovaniem R [Randomization and bootstrap: Statistical analysis in biology and ecology using R]*. Tolyatti: Kassandra Publ., 314 p. (In Russian)
- Simmler, L. D., Buchy, D., Chaboz, S. et al. (2016) In vitro characterization of psychoactive substances at rat, mouse, and human trace amine-associated receptor 1. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 357, no. 1, pp. 134–144. <https://doi.org/10.1124/jpet.115.229765> (In English)
- Sotnikova, T. D., Zorina, O. I., Ghisi, V. et al. (2008) Trace amine associated receptor 1 and movement control. *Parkinsonism & Related Disorders*, vol. 14, no. 2. Supplement, pp. S99–S102. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2008.04.006> (In English)
- Vinogradova, E. P., Polyakova, N. V., Stankevich, L. N., Aleksandrov, A. A. (2020) Vliyanie agonista TAAR5 α -NETA na povedenie myshej linii C57Bl/6 [Effects of TAAR5 α -NETA agonist on behavior in C57Bl/6 mice]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti imeni I. P. Pavlova — I. P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*, vol. 70, no. 1, pp. 62–70. <https://doi.org/10.31857/S0044467719060133> (In Russian)



Check for updates

Экспериментальные статьи

УДК 612.766; 616.831-009.11; 616.74-071.5

EDN DVIYSO

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-356-366>

Локомоторный профиль сократительного ресурса мышц у больных ДЦП и здоровых сверстников

Д. В. Долганов¹, А. О. Трофимов¹, Т. И. Долганова^{✉1}

¹Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г. А. Илизарова, 640014, Россия, г. Курган, ул. М. Ульяновой, д. 6

Сведения об авторах

Дмитрий Владимирович Долганов, SPIN-код: 6714-6049, Scopus AuthorID: 6504378027, ResearcherID: B-9578-2018, ORCID: 0000-0002-8708-1303, e-mail: paradigma-dv@rambler.ru

Анатолий Олегович Трофимов, SPIN-код: 1386-6678, ResearcherID: IYT-4172-2023, ORCID: 0000-0003-3455-4530, e-mail: a4texa@yandex.ru

Тамара Игоревна Долганова, SPIN-код: 9221-3900, Scopus AuthorID: 7801649495, ResearcherID: B-8897-2018, ORCID: 0000-0002-0117-3451, e-mail: rjik532007@rambler.ru

Для цитирования: Долганов, Д. В., Трофимов, А. О., Долганова, Т. И. (2023) Локомоторный профиль сократительного ресурса мышц у больных ДЦП и здоровых сверстников. *Интегративная физиология*, т. 4, № 3, с. 356–366. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-356-366> EDN DVIYSO

Получена 20 августа 2023; прошла рецензирование 8 октября 2023; принята 10 октября 2023.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственного задания на осуществление научных исследований и разработок ФГБУ «НМИЦ ТО имени академика Г. А. Илизарова «Использование компьютерного анализа движений в обосновании алгоритма ортопедического хирургического лечения пациентов с ДЦП».

Права: © Д. В. Долганов, А. О. Трофимов, Т. И. Долганова (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Актуальность исследования обусловлена разработкой оценочных критериев локомоторного профиля сократительного ресурса мышц у больных с ДЦП, касающихся перспектив последующей функциональной реабилитации. Обследованы здоровые подростки (12 человек) и пациенты с ДЦП (14 человек). Методики исследования: динамометрия мышц бедра и голени, 3D-видеоанализ походки. Анализ материала показал, что в синергетических системах функциональную мышечную активность в двигательных стереотипах правомерно оценивать не по отдельным группам или профилям групп, а по их обобщенной активности — локомоторному сократительному ресурсу (ЛСР). Количественный показатель ЛСР для оценки конечного приспособительного результата в виде локомоции адекватно отслеживает степень компенсаторного привлечения функциональных ресурсов мышечной активности. Его величина в выборочных совокупностях компенсаторно возрастает с увеличением степени нарушений локомоторной функции пациентов (паттерна походки). У здоровых и у больных с легкой степенью нарушения локомоторной функции гипотеза нормальности распределения показателя ЛСР не отклонялась по 13 одномерным критериям. У пациентов с более тяжелыми нарушениями локомоторной функции и при более высоких значениях показателя ЛСР гипотеза нормальности распределения отклонялась по девяти критериям. Изменение функции распределения показателя ЛСР с его ростом в выборочных совокупностях свидетельствует о том, что его прирост осуществляется не только за счет перераспределения активности тестируемых групп мышц, но и за счет дополнительного включения активности неочевидных мышечных комплексов. Как по выборочным совокупностям, так и персональным данным обобщенный по восьми группам мышц нижних конечностей количественный показатель ЛСР имеет высокий статус информативности и достаточно полно характеризует объем сократительного ресурса, необходимого для функционального обеспечения конечного приспособительного результата в виде локомоции.

Ключевые слова: здоровые дети, детский церебральный паралич (ДЦП), локомоция, сократительный ресурс мышц, видеоанализ походки, динамометрия

Locomotor profile of muscle contractile potential in patients with cerebral palsy and healthy peers

D. V. Dolganov¹, A. O. Trofimov¹, T. I. Dolganova^{✉1}

¹ National Medical Research Center for Traumatology and Orthopedics Named After Academician G. A. Ilizarov of Russian Ministry of Health, 6 M. Ulianovoy Str., Kurgan 640014, Russia

Authors

Dmitry V. Dolganov, SPIN: 6714-6049, Scopus AuthorID: 6504378027, ResearcherID: B-9578-2018, ORCID: 0000-0002-8708-1303, e-mail: paradigma-dv@rambler.ru

Anatoly O. Trofimov, SPIN: 1386-6678, ResearcherID: IYT-4172-2023, ORCID: 0000-0003-3455-4530, e-mail: a4texa@yandex.ru

Tamara I. Dolganova, SPIN: 9221-3900, Scopus AuthorID: 7801649495, ResearcherID: B-8897-2018, ORCID: 0000-0002-0117-3451, e-mail: rjik532007@rambler.ru

For citation: Dolganov, D. V., Trofimov, A. O., Dolganova, T. I. (2023) Locomotor profile of muscle contractile potential in patients with cerebral palsy and healthy peers. *Integrative Physiology*, vol. 4, no.3, pp. 356–366. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-356-366> EDN DVIYSO

Received 20 August 2023; reviewed 8 October 2023; accepted 10 October 2023.

Funding: The study was carried out as part of the state-commissioned assignment for research and development — Computer Analysis of Movement to Support the Algorithm of Orthopedic Surgical Treatment of Patients with Cerebral Palsy — to the National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Orthopaedics of the Russian Ministry of Health.

Copyright: © D. V. Dolganov, A. O. Trofimov, T. I. Dolganova (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Abstract. The study aimed to develop evaluation criteria for the locomotor profile of muscle contractile potential in patients with cerebral palsy. It involved healthy adolescents (12 people) and patients with cerebral palsy (14 people). The research methods included dynamometry and 3D video analysis of gait. In synergistic systems, it is more reasonable to evaluate functional muscle activity in motor stereotypes through their generalized activity — locomotor contractile potential (LCP). LCP adequately monitors the compensatory use of functional muscle potential. The more serious the violations of the locomotor function are, the higher the compensatory value is. Healthy subjects and patients with mild locomotor disorders showed a normal LCP distribution and the hypothesis was not rejected on any of the 13 one-dimensional criteria. In patients with more severe disorders, the hypothesis of normal distribution was rejected on 9 criteria. The change in the LCP distribution function and its growth is due to the redistribution of activity of the tested muscle groups and the inclusion of additional muscle complexes whose activity was not evaluated. According to the sample sets and personal data, the LCP quantitative indicator generalized for eight groups of muscles of the lower extremities is highly informative and quite effectively describes the amount of contractile potential necessary for the functional implementation of adaptation in the form of locomotion.

Keywords: healthy children, cerebral palsy, locomotion, muscle contraction resource, video analysis of gait, dynamometry

Введение

Наличие мышечной слабости и важность поддержания мышечной силы у детей с детским церебральным параличом (ДЦП) хорошо известны, при этом для измерения изометрической силы тестируемых групп мышц использовали, как правило, ручную динамометрию в изометрическом режиме. Результаты обследований с применением динамометрии показали, что силовые характеристики тестируемых мышечных групп во всех возрастных категориях у здоровых детей 7–16 лет по сравнению со сверстниками с ДЦП значительно выше ($p < 0,001$). (Darras et al. 2021; Moll et al. 2022). Однако кон-

центрические двигательные стереотипы (Самсонова 2007), использующиеся для оценки изометрической силы, существенно отличаются от эксцентрических стереотипов при ходьбе и не содержат информации о максимальных моментах силы, индуцируемых в мышцах при различных темпах походки и угловых положениях в суставах, наблюдаемых во время локомоторной активности. Фосанг и Бейкер для определения «мышечного (сократительного) резерва» отдельных групп мышц предложили метод сопоставления результатов изометрического измерения максимальной мышечной силы с моментами силы, регистрируемыми в суставах при ходьбе (Fosang, Baker 2006). Для правомерного

сопоставления величин значения изометрической силы выражали в тех же единицах, что и суставные моменты силы из анализа 3D-походки ($N \cdot m/kg$) с учетом длины рычага. Клиническая актуальность в использовании оценок «сократительного резерва» обусловлена приближенным установлением «функционального порога», за пределами которого последующий реабилитационный прогресс не выражен или не возможен (Valadão et al. 2021).

Результаты сопоставительных оценок у здоровых детей показали, что изометрическая мышечная сила в уступательном режиме большинства групп мышц в два-пять раз превышала прилагаемый момент силы при ходьбе. Исключение составляла сила мышц подошвенных сгибателей стопы, которая в отличие от остальных мышечных групп более чем на 14% превышала изометрический максимум (Dallmeijer et al. 2011).

Упомянутым методом подобные тенденции в результатах исследования мышечной силы получены и при обследовании подростков с идиопатическим сколиозом. Так, если снижение локомоторного «мышечного резерва» при скорости ходьбы $3,7 \div 4,3$ км/ч составило для разгибателей мышц бедра 40% и для разгибателей мышц голени 70%, то в отношении мышц подошвенных сгибателей стопы кинетические величины моментов силы также превышали изометрические максимумы, но уже на 30–40% и статистически значимо (Долганова и др. 2023). Поскольку для подошвенных сгибателей стопы кинетические величины моментов силы превышают изометрические максимумы, в значительной степени зависят от скорости ходьбы (Долганова и др. 2022) и не отражают предельные силовые величины сократительной функции, то рассматриваемый метод не может однозначно и безоговорочно использоваться не только для расчета «сократительного резерва» этой группы мышц, но и для оценки сократительного резерва всего локомоторного профиля мышц.

Следовательно, для оценки перспектив, касающихся последующей функциональной реабилитации обследуемых пациентов, локомоторный профиль тестируемых групп мышц следует рассматривать не как сократительный резерв или потенциал, а только как наблюдаемый при конкретной скорости ходьбы сократительный мышечный ресурс двигательного стереотипа, зависящий от тяжести двигательной патологии и степени компенсаторной мобилизации участвующих в обеспечении походки мышц.

Цель исследования — определить информативность оценок локомоторного профиля со-

кратительного ресурса мышц у больных с ДЦП при паттернах походки *Equines* и *Jump* в сравнении со здоровыми сверстниками.

Материалы и методы исследования

В исследовании приняли участие 26 подростков.

Критерий включения:

- Здоровые подростки без ортопедической патологии в возрасте 9–15 лет.
- Пациенты в возрасте 9–15 лет с билатеральными спастическими формами церебрального паралича, интеллектуально сохраненные, ранее не лечившиеся оперативными методами, при ходьбе не использовали дополнительные средства опоры, двигательные нарушения уровня GMFCS II, симметричный паттерн походки типа *Jump* и истинный *Equines*. Данная выборка была сформирована на протяжении двух лет (2021–2022 гг.).

Критерий исключения:

- другой возрастной диапазон, сниженный интеллектуальный уровень, использование при ходьбе дополнительных средств опоры, ранее оперированные, другой паттерн походки, другие уровни GMFCS.

Обследуемые были разделены на три группы, статистически близкие по возрастным и скоростным характеристикам:

I группа — 12 человек (24 конечности), здоровые подростки (4 мальчика, 8 девочек) в возрасте от 9,5 до 13,5 лет — 11,5 ($9,7 \div 13,5$). Медианные значения скорости ходьбы — 1,01 ($0,95 \div 1,11$) м/с.

II группа — 6 человек (12 конечностей), подростки с ДЦП, паттерн походки истинный *Equines* (2 мальчика, 4 девочки) в возрасте от 9 до 15 лет — 11 ($9 \div 15$). Медианные значения скорости ходьбы — 0,97 ($0,94 \div 1,06$) м/с.

III группа — 8 человек (16 конечностей), подростки с ДЦП, паттерн походки *Jump* (3 мальчика, 5 девочек) в возрасте от 9,5 до 13,5 лет — 11 ($9,5 \div 13,5$). Медианные значения скорости ходьбы — 1,0 ($0,87 \div 1,11$) м/с.

Методики исследования: динамометрия — специализированные динамометрические стенды для тестирования мышц бедра и голени, разработанные в Центре Илизарова (Щуров и др. 2014; 2016), 3D-видеоанализ походки.

Объект исследования: мышцы сгибатели / разгибатели бедра, приведение / отведение бедра, сгибатели / разгибатели голени, сгибатели / разгибатели стопы.

Анализ данных

Подобранные для исследования группы были близки по возрастным и ростовым характеристикам, но у пациентов с ДЦП вес тела был существенно (на 25–40%) меньше. Поэтому для более адекватного метрического сопоставления выборочных совокупностей в процессе исследования оценку максимального момента силы тестируемой группы мышц всегда относили к весу тела обследуемого (H^*m/kg). Сократительное тестирование подошвенных и тыльных сгибателей стопы в изометрическом режиме производили в положении сидя при угле в коленном суставе 90° и при угле в голеностопном суставе 90° ; тестирование разгибателей голени — в положении сидя при угле в коленном суставе 90° .

Нормированные относительно веса тела кинетические данные регистрировали на шести динамометрических платформах KISTLER (Швейцария) в процессе видеоанализа походки с технологией видеозахвата пассивных маркеров (восемь оптических камер Qualisys 7+). Анализ кинетики с данных динамометрических платформ проводили в программах QTM (Qualisys) и Visual3D (C-Motion) с автоматизированным расчетом значений (Аксенов, Клишкова 2020). Рассчитывали мощность работы суставов (тазобедренный, коленный, голеностопный), их обобщенную пиковую мощность как сумму абсолютных величин генерации и релаксации всех суставов и эффективность работы суставов как процентную долю генерации в обобщенной пиковой мощности (Долганова и др. 2022).

Реализуемую сократительную функцию тестируемой группы мышц в двигательном стереотипе при ходьбе (сократительный ресурс) оценивали как отношение модуля расчетной кинетической величины суставного момента силы мышц к их изометрическому максимуму при произвольном сокращении, выраженное в процентах, а «сократительный мышечный резерв или потенциал» — как остаточный процент от реально используемой сократительной функции, регистрируемой при ходьбе. Сократительный ресурс локомоторного стереотипа или локомоторный сократительный ресурс (ЛСР) оценивали как среднее значение сократительных ресурсов по всем восьми тестируемым группам мышц.

Статистическую обработку исходных данных производили с помощью пакета анализа данных Microsoft Excel-2016 и AtteStat. Учитывая выборочные совокупности (в группах по 6–12 человек) и число наблюдений, равное числу

конечностей ($n = 12-24$), была использована непараметрическая статистика. Количественные характеристики показателей в выборочных совокупностях представляли в таблицах в виде $Me (25 \div 75\%)$, а статистическую значимость различий определяли с использованием непарного двухвыборочного критерия Вилкоксона для независимых переменных. Уровень статистической значимости указывали по критерию «р» при $p < 0,05$. Статистическая обработка дополнительного обобщающего расчетного показателя (усредненный по восьми группам мышц компенсаторный сократительный ресурс для локомоторных стереотипов) включала проверку на нормальность распределения по 13 одномерным критериям. В перечень списка критериев входили такие, как модифицированный критерий Колмогорова, модифицированный критерий Смирнова, критерии асимметрии и эксцесса, критерий хи-квадрат Фишера, а также критерии Жарка — Бера, Крамера — Мизеса, Шапиро — Уилка, Андерсона — Дарлинга, Д'Агостино, Гири, Эпса — Палли и Шапиро — Франсиса.

Результаты исследований

Анализ результатов исследования показал (табл. 1), что у пациентов с ДЦП при паттерне походки типа *Equines* относительный момент силы при произвольном максимальном усилии в изометрическом режиме для разгибателей / сгибателей бедра, приводящих / отводящих бедро, разгибателей / сгибателей голени был снижен на 7–30%, но его отличие от значений здоровых сверстников было статистически незначимо. Наоборот, дефицит силы в изометрическом режиме от значений здоровых сверстников отличался только в дистальных мышечных группах: для тыльных сгибателей на 55%, для подошвенных сгибателей стопы на 44%.

У пациентов с ДЦП при паттерне походки типа *Jump* относительный момент силы при произвольном максимальном усилии в изометрическом режиме был статистически значимо снижен уже для большинства групп мышц: разгибателей бедра — на 59%; сгибателей бедра на — 51%; приводящих бедро — на 42%; отводящих бедро — на 61%; разгибателей голени — на 29%; сгибателей голени — на 43%; тыльных сгибателей стопы — на 63%; подошвенных сгибателей стопы — на 44%.

По сравнению с контрольной группой (здоровые) силовая кинетика при паттерне походки типа *Equines* статистически значимо снижена только у приводящих мышц бедра на 14% и тыльных сгибателей стопы на 20% (табл. 2).

Табл. 1. Максимальные относительные моменты силы мышц нижних конечностей (Н*м/кг) при произвольном максимальном усилии в изометрическом режиме Ме (25 ÷ 75)

Группы мышц	Группа I (n = 24)	Группа II (n = 12)	Группа III (n = 16)
Рост, м	1,58 (1,41 ÷ 1,65)	1,46 (1,37 ÷ 1,64)	1,40 (1,33 ÷ 1,49)
Вес, кг	52,0 (31,8 ÷ 61,1)	31,6 (30,0 ÷ 41,7)	38,4 (26,0 ÷ 41,2)
Разгибатели бедра	1,72 (1,51 ÷ 2,52)	1,66 (1,26 ÷ 1,95)	0,72 (0,61 ÷ 1,02) p ^w = 2,87E-06
Сгибатели бедра	1,59 (1,2 ÷ 2,14)	1,18 (0,98 ÷ 1,42)	0,78 (0,53 ÷ 0,93) p ^w = 1,76E-05
Приведение бедра	1,18 (0,98 ÷ 1,39)	1,03 (0,55 ÷ 1,10)	0,69 (0,48 ÷ 0,87) p ^w = 5,24E-05
Отведение бедра	1,38 (1,07 ÷ 1,65)	0,99 (0,85 ÷ 1,16)	0,55 (0,47 ÷ 0,72) p ^w = 8,30E-07
Разгибатели голени	1,30 (1,14 ÷ 1,78)	1,26 (1,03 ÷ 1,51)	1,03 (0,89 ÷ 1,13) p ^w = 0,00079
Сгибатели голени	1,01 (0,89 ÷ 1,14)	1,04 (0,88 ÷ 1,29)	0,58 (0,46 ÷ 0,84) p ^w = 0,00012
Тыльные сгибатели стопы	0,59 (0,54 ÷ 0,66)	0,27 (0,17 ÷ 0,39) p ^w = 1,9E-05	0,22 (0,11 ÷ 0,29) p ^w = 1,95E-07
Подошвенные сгибатели стопы	1,25 (0,86 ÷ 1,54)	0,39 (0,27 ÷ 0,66) p ^w = 1,21E-05	0,54 (0,30 ÷ 0,85) p ^w = 0,00051

Примечание: показана статистическая значимость различий относительно группы I (здоровые), p^w — непарный двухвыборочный критерий Вилкоксона.

Table 1. Maximum relative moments of force of the muscles of the lower extremities (N*m/kg) at an arbitrary maximum effort in the isometric mode, Me (25 ÷ 75)

Muscle groups	Group I (n = 24)	Group II (n = 12)	Group III (n = 16)
Height, m	1.58 (1.41 ÷ 1.65)	1.46 (1.37 ÷ 1.64)	1.40 (1.33 ÷ 1.49)
Weight, kg	52.0 (31.8 ÷ 61.1)	31.6 (30.0 ÷ 41.7)	38.4 (26.0 ÷ 41.2)
Hip extensors	1.72 (1.51 ÷ 2.52)	1.66 (1.26 ÷ 1.95)	0.72 (0.61 ÷ 1.02) p ^w = 2.87E-06
Hip flexors	1.59 (1.2 ÷ 2.14)	1.18 (0.98 ÷ 1.42)	0.78 (0.53 ÷ 0.93) p ^w = 1.76E-05
Hip adduction	1.18 (0.98 ÷ 1.39)	1.03 (0.55 ÷ 1.10)	0.69 (0.48 ÷ 0.87) p ^w = 5.24E-05
Hip abduction	1.38 (1.07 ÷ 1.65)	0.99 (0.85 ÷ 1.16)	0.55 (0.47 ÷ 0.72) p ^w = 8.30E-07
Extensors of the lower leg	1.30 (1.14 ÷ 1.78)	1.26 (1.03 ÷ 1.51)	1.03 (0.89 ÷ 1.13) p ^w = 0.00079
Flexors of the lower leg	1.01 (0.89 ÷ 1.14)	1.04 (0.88 ÷ 1.29)	0.58 (0.46 ÷ 0.84) p ^w = 0.00012
Dorsal flexors	0.59 (0.54 ÷ 0.66)	0.27 (0.17 ÷ 0.39) p ^w = 1.9E-05	0.22 (0.11 ÷ 0.29) p ^w = 1.95E-07
Plantar flexors	1.25 (0.86 ÷ 1.54)	0.39 (0.27 ÷ 0.66) p ^w = 1.21E-05	0.54 (0.30 ÷ 0.85) p ^w = 0.00051

Note: shows the statistical significance of differences relative to group I (healthy), p^w — unpaired two-samples Wilcoxon test.

Табл. 2. Кинетика моментов силы мышц (Н*м/кг) при ходьбе в привычном темпе, Ме (25 ÷ 75)

Группы мышц	Группа I (n = 24)	Группа II (n = 12)	Группа III (n = 16)
Скорость ходьбы, м/с	1,01 (0,95 ÷ 1,11)	0,97 (0,94 ÷ 1,06)	1,00 (0,87 ÷ 1,11)
Разгибатели бедра	0,73 (0,64 ÷ 0,86)	0,59 (0,54 ÷ 0,81)	0,80 (0,66 ÷ 1,00)
Сгибатели бедра	-0,55 (-0,70 ÷ -0,41)	-0,62(-0,73 ÷ -0,41)	0,58(-0,85 ÷ -0,54)
Приведение бедра	0,86 (0,79 ÷ 0,96)	0,74 (0,61 ÷ 0,82) p ^w = 0,00802	0,77 (0,67 ÷ 0,85) p ^w = 0,028
Отведение бедра	-0,06(-0,13 ÷ -0,04)	-0,06(-0,13 ÷ -0,02)	-0,17(-0,18 ÷ -0,09) p ^w = 0,049
Разгибатели голени	0,49 (0,29 ÷ 0,61)	0,52 (0,11 ÷ 0,63)	0,64 (0,54 ÷ 0,74) p ^w = 0,011
Сгибатели голени	-0,28 (-0,39 ÷ -0,08)	-0,05(-0,27 ÷ -0,01)	-0,16(-0,42 ÷ -0,06)
Тыльные сгибатели стопы	-0,11 (-0,15 ÷ -0,09)	-0,09(-0,10 ÷ -0,009) p ^w = 0,01025	-0,02(-0,09 ÷ -0,004) p ^w = 0,00011
Подошвенные сгибатели стопы	1,23 (1,15 ÷ 1,41)	1,14 (1,07 ÷ 1,31)	1,11 (0,99 ÷ 1,13) p ^w = 0,00037

Примечание: показана статистическая значимость различий относительно группы I (здоровые), p^w — непарный двухвыборочный критерий Вилкоксона.

Table 2 Kinetic moments of muscle strength (N*m/kg) when walking at usual pace, Me (25 ÷ 75)

Muscle groups	Group I (n = 24)	Group II (n = 12)	Group III (n = 16)
Walking speed, m/s	1.01 (0.95 ÷ 1.11)	0.97 (0.94 ÷ 1.06)	1.00 (0.87 ÷ 1.11)
Hip extensors	0.73 (0.64 ÷ 0.86)	0.59 (0.54 ÷ 0.81)	0.80 (0.66 ÷ 1.00)
Hip flexors	-0.55 (-0.70 ÷ -0.41)	-0.62(-0.73 ÷ -0.41)	-0.58(-0.85 ÷ -0.54)
Hip adduction	0.86 (0.79 ÷ 0.96)	0.74 (0.61 ÷ 0.82) p ^w = 0.00802	0.77 (0.67 ÷ 0.85) p ^w = 0.028
Hip abduction	-0.06(-0.13 ÷ -0.04)	-0.06(-0.13 ÷ -0.02)	-0.17(-0.18 ÷ -0.09) p ^w = 0.049
Extensors of the lower leg	0.49 (0.29 ÷ 0.61)	0.52 (0.11 ÷ 0.63)	0.64 (0.54 ÷ 0.74) p ^w = 0.011
Flexors of the lower leg	-0.28 (-0.39 ÷ -0.08)	-0.05 (-0.27 ÷ -0.01)	-0.16 (-0.42 ÷ -0.06)
Dorsal flexors	-0.11 (-0.15 ÷ -0.09)	-0.09 (-0.10 ÷ -0.009) p ^w = 0.01025	-0.02 (-0.09 ÷ -0.004) p ^w = 0.00011
Plantar flexors	1.23 (1.15 ÷ 1.41)	1.14 (1.07 ÷ 1.31)	1.11 (0.99 ÷ 1.13) p ^w = 0.00037

Note: shows the statistical significance of differences relative to group I (healthy), p^w — unpaired two-samples Wilcoxon test.

При этом значимо (P^w = 0,01025) низкая кинетика силы тыльных сгибателей стопы не подтвердила своего статистического влияния в пиковой мощности опорного толчка, но все же проявилась в умеренном снижении центральной тенденции этого показателя (табл. 3).

При более тяжелой степени поражения локомоторной функции (паттерн типа *Jump*) снижение кинетических показателей выявлено уже для целого ряда мышечных групп: мышц, приводящих и отводящих бедро, мышц разгибателей голени, мышц тыльных и подошвенных сгибателей стопы. При этом скоростные

Табл. 3. Пиковая мощность работы суставов (Вт/кг) Ме (25 ÷ 75)

Суставы	Группа I (n = 24)	Группа II (n = 12)	Группа III (n = 16)
Тазобедренный сустав	1,23 (0,97 ÷ 1,49)	1,21 (1,00 ÷ 1,48)	1,90 (1,35 ÷ 2,36) p ^w = 0,0033
Коленный сустав	1,65 (1,26 ÷ 2,11)	1,75 (1,41 ÷ 2,02)	2,18 (1,67 ÷ 2,89) p ^w = 0,0227
Голеностопный сустав (опорный толчок)	2,83 (2,54 ÷ 3,28)	2,67 (2,03 ÷ 3,04)	2,52 (2,14 ÷ 3,47)
Суммарная мощность работы суставов	5,81 (4,91 ÷ 6,84)	5,51 (4,39 ÷ 6,58)	6,51 (5,16 ÷ 8,47)

Примечание: показана статистическая значимость различий относительно группы I (здоровые), p^w — непарный двухвыборочный критерий Вилкоксона.

Table 3. Peak power of joints (W/kg), Me (25 ÷ 75)

Joints	Group I (n = 24)	Group II (n = 12)	Group III (n = 16)
Hip sagittal power	1.23 (0.97 ÷ 1.49)	1.21 (1.00 ÷ 1.48)	1.90 (1.35 ÷ 2.36) p ^w = 0.0033
Knee sagittal power	1.65 (1.26 ÷ 2.11)	1.75 (1.41 ÷ 2.02)	2.18 (1.67 ÷ 2.89) p ^w = 0.0227
Ankle sagittal power	2.83 (2.54 ÷ 3.28)	2.67 (2.03 ÷ 3.04)	2.52 (2.14 ÷ 3.47)
The total power of joints	5.81 (4.91 ÷ 6.84)	5.51 (4.39 ÷ 6.58)	6.51 (5.16 ÷ 8.47)

Note: shows the statistical significance of differences relative to group I (healthy), p^w — unpaired two-samples Wilcoxon test.

характеристики самостоятельной ходьбы при низких значениях кинетики компенсировались за счет увеличения мощности работы тазобедренного и коленного суставов ≈ на 50% и 30% соответственно.

Во всяком случае, величины опорного толчка и суммарная мощность работы суставов статистически значимо не отличались от значений нормы (табл. 3), но их эффективность оказалась значимо снижена почти на 11% (P^w = 0,0458) для второй группы и на 12% (P^w = 0,00189) для третьей группы.

У пациентов с ДЦП при паттерне походки типа *Equines* использование силового сократительного ресурса для основных групп мышц при ходьбе увеличивалось, но статистически значимый прирост по сравнению с нормой обнаруживался только для подошвенных сгибателей стопы и в обобщенном ресурсе восьми групп мышц всего стереотипа (табл. 4). У пациентов с ДЦП при паттерне походки типа *Jump* компенсаторное использование мышечного сократительного ресурса оказалось еще более выраженным и статистически значимым, как для большего числа мышц, так и в обобщенном ресурсе всего стереотипа.

Обсуждение результатов

Судя по представленным мышечным группам, обобщенные изометрические максимумы силы в выборочных совокупностях (табл. 1) достаточно адекватно и последовательно отслеживают функциональную тяжесть локомоторных нарушений по характеру двигательного паттерна. Однако в виду того, что в эксцентрических локомоторных стереотипах совсем иная природа организации и другие принципы синергического взаимодействия, такая тенденция полностью нарушается в кинетических показателях силы и мощности (табл. 2–3). Как показали ранее проведенные исследования (Долганова и др. 2022; 2023), в локомоторных стереотипах конечный приспособительный результат успешно достигается функциональным перераспределением активности между различными группами мышц, либо их дополнительной мобилизацией. Поэтому и в представленном исследовании статистически незначимые различия в суммарной мощности локомоций (табл. 2–3) достигаются существенно различающимися профилями силовой и мощностной сократительной активностью тестируемых мышц.

Табл. 4. Показатели использования сократительного ресурса отдельных групп мышц нижней конечности (%)

Группы мышц	Группа I (n = 24)	Группа II (n = 12)	Группа III (n = 16)
Разгибатели бедра	36,6 (26,5 ÷ 43,9)	44,0 (30,9 ÷ 53,3)	97,5 (69,4 ÷ 171,8) p ^w = 3,51E-07
Сгибатели бедра	37,0 (19,2 ÷ 59,4)	46,3 (34,1 ÷ 66,7)	84,9 (67,6 ÷ 105,9) p ^w = 1,76E-05
Приведение бедра	83,4 (46,5 ÷ 94,5)	74,3 (58,5 ÷ 110,6)	97,5 (89,3 ÷ 162,7) p ^w = 0,0115
Отведение бедра	4,58 (2,85 ÷ 9,87)	4,27 (2,42 ÷ 14,0)	23,8 (14,6 ÷ 36,2) p ^w = 0,000879
Разгибатели голени	32,0 (15,9 ÷ 49,7)	36,0 (11,5 ÷ 51,8)	66,7 (57,0 ÷ 74,4) p ^w = 0,000147
Сгибатели голени	26,5 (7,87 ÷ 38,9)	4,25 (1,18 ÷ 19,1)	19,3 (8,7 ÷ 69,2)
Тыльные сгибатели стопы	16,9 (14,0 ÷ 27,3)	17,7 (7,05 ÷ 24,8)	9,59 (2,55 ÷ 28,7)
Подшвенные сгибатели стопы	102,2 (83,3 ÷ 149,8)	252,6(128,8 ÷ 420,8) p ^w = 0,00267	261,9 (163,1 ÷ 394,2) p ^w = 0,00015
Сократительный ресурс локомоторного стереотипа	46,8 (37,1 ÷ 59,3)	68,2 (56,9 ÷ 87,1) p ^w = 0,007634	95,1 (86,2 ÷ 110,1) p ^w = 2,26E-07

Примечание: показана статистическая значимость различий относительно группы I (здоровые), p^w — непарный двухвыборочный критерий Вилкоксона.

Table 4. Indicators of the contractile potential of individual muscle groups of the lower limb (%)

Muscle groups	Group I (n = 24)	Group II (n = 12)	Group III (n = 16)
Hip extensors	36.6 (26.5 ÷ 43.9)	44.0 (30.9 ÷ 53.3)	97.5 (69.4 ÷ 171.8) p ^w = 3.51E-07
Hip flexors	37.0 (19.2 ÷ 59.4)	46.3 (34.1 ÷ 66.7)	84.9 (67.6 ÷ 105.9) p ^w = 1.76E-05
Hip adduction	83.4 (46.5 ÷ 94.5)	74.3 (58.5 ÷ 110.6)	97.5 (89.3 ÷ 162.7) p ^w = 0.0115
Hip abduction	4.58 (2.85 ÷ 9.87)	4.27 (2.42 ÷ 14.0)	23.8 (14.6 ÷ 36.2) p ^w = 0.000879
Extensors of the lower leg	32.0 (15.9 ÷ 49.7)	36.0 (11.5 ÷ 51.8)	66.7 (57.0 ÷ 74.4) p ^w = 0.000147
Flexors of the lower leg	26.5 (7.87 ÷ 38.9)	4.25 (1.18 ÷ 19.1)	19.3 (8.7 ÷ 69.2)
Dorsal flexors	16.9 (14.0 ÷ 27.3)	17.7 (7.05 ÷ 24.8)	9.59 (2.55 ÷ 28.7)
Plantar flexors	102.2 (83.3 ÷ 149.8)	252.6 (128.8 ÷ 420.8) p ^w = 0.00267	261.9 (163.1 ÷ 394.2) p ^w = 0.00015
Contractile potential of the locomotor stereotype	46.8 (37.1 ÷ 59.3)	68.2 (56.9 ÷ 87.1) p ^w = 0.007634	95.1 (86.2 ÷ 110.1) p ^w = 2.26E-07

Note: shows the statistical significance of differences relative to group I (healthy), p^w — unpaired two-samples Wilcoxon test.

По-видимому, в опорно-двигательных системах любые проблемы в локомоторной дееспособности, связанные с двигательной патологией, компенсируются функциональным перераспределением нагрузок или путем привлечения дополнительных мышечных ресурсов. Следуя

телеологической логике природы целевого приспособительного поведения в системах синергетического взаимодействия, функциональную мышечную активность в двигательных стереотипах правомернее оценивать не по отдельным группам, а по их суммарной усредненной

активности в тестируемом двигательном стереотипе (табл. 4 — сократительный ресурс локомоторного стереотипа), как в конечном приспособительном результате. В проведенном нами исследовании как по выборочным, так и персональным характеристикам в локомоторных стереотипах усредненный по восьми группам мышц локомоторный сократительный ресурс (АСР) адекватнее всего характеризует конечный приспособительный результат опорно-двигательной системы обследованного контингента. Поскольку расчетный показатель АСР количественно отслеживает конечный приспособительный результат в виде локомоции, то параметры его распределения, как и постратуральные характеристики в ортостатических стереотипах, являющиеся конечным приспособительным результатом (Долганов и др. 2018), могут соответствовать функции нормального распределения. При дополнительном статистическом анализе сделанное предположение полностью подтвердилось даже на небольших выборочных совокупностях. Так, если в контрольной группе здоровых сверстников ($n = 24$) гипотеза на нормальность с уровнем значимости 0,1 не отклонялась по 12 одномерным критериям, во второй группе ($n = 12$) — по всем 13 и наконец, в третьей с более тяжелыми нарушениями локомоторной функции ($n = 16$) — только по четырем критериям. Это значит, что в норме и при слабых нарушениях локомоторной функции рассчитанный по восьми мышечным группам сократительный локомоторный ресурс полностью количественно отслеживает конечный приспособительный результат, а его варьирование зависит только от влияния случайных факторов (Петри, Сэбин 2021). Изменение же функции распределения показателя у больных третьей группы с большей степенью локомоторных нарушений, видимо, было обусловлено тем, что сократительный ресурс локомоторного стереотипа отслеживал только частичную его компенсацию и не отражал влияния дополнительной приспособительной активности со стороны мышечных групп, регулирующих движения рук, головы, шеи и других частей туловища.

Выводы

Профили силовых сократительных ресурсов для двигательных стереотипов со смешанными мышечными режимами сокращений существенно отличаются. Если по характеру локомоторного паттерна обобщенные в выборочных совокупностях изометрические максимумы

мышечных групп достаточно последовательно и однонаправленно отслеживают функциональную степень двигательных нарушений, то при статистически незначимых различиях в суммарной мощности локомоций конечный приспособительный двигательный результат достигается существенно различающимися кинетическими профилями силовой и мощностной сократительной активности тестируемых мышц. То есть, регистрируемый кинетический сократительный ресурс, обеспечивающий локомоторный стереотип, формируется синергетическим комбинированием и перераспределением сократительной активности как тестируемых мышечных групп, так и, возможно, дополнительной мобилизацией новых.

Как по выборочным совокупностям, так и по персональным данным обобщенный по восьми группам мышц нижних конечностей количественный показатель сократительного ресурса локомоторного стереотипа имеет высокий статус информативности и достаточно полно характеризует объем сократительного ресурса, необходимого для функционального обеспечения конечного приспособительного результата в виде локомоции.

У подростков с ДЦП при паттерне походки типа *Equines* более высокие по сравнению с контролем величины показателя АСР по всем 13 критериям соответствуют функции нормального распределения, а потому количественно оценивают локомоцию как функционально необходимое и достаточное синергетическое мышечное взаимодействие для реализации конечного приспособительного результата.

У подростков с ДЦП при паттерне походки типа *Jump* с еще большим ростом значений локомоторного сократительного ресурса нормальное распределение его величин нарушается. При этом сам факт такого нарушения указывает на то, что прирост величин показателя осуществляется не только за счет перераспределения активности тестируемых групп мышц, но и за счет дополнительного включения усилий со стороны неотслеживаемых в представленном обследовании мышечных групп, движения рук, головы, шеи и других частей туловища, участвующих в регуляции компенсаторно-измененного двигательного стереотипа.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Исследование проведено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы медицинских исследований с участием человека в качестве испытуемого».

Ethics Approval

The study was conducted in accordance with the World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects.

Вклад авторов

- а. Долганов Дмитрий Владимирович — анализ результатов, подготовка публикации;
- б. Трофимов Анатолий Олегович — проведение процесса исследования, сбор данных;
- в. Долганова Тамара Игоревна — постановка целей и задач исследования.

Author Contributions

- a. Dmitry V. Dolganov — analysis of the results, drafting the manuscript;
- b. Anatoly O. Trofimov — conducting the research, collecting data;
- c. Tamara I. Dolganova — setting goals and objectives of the study.

Литература

- Аксенов, А. Ю., Клишковская, Т. А. (2020) Программа формирования отчета биомеханики ходьбы человека. Патент RU2020665238. Дата регистрации 24.11.2020.
- Долганов, Д. В., Долганова, Т. И., Самылов, В. В. (2018) Оценка нарушений постуральной функции позвоночника в ортостатических стереотипах. *Гений ортопедии*, т. 24, № 3, с. 357–364. <https://doi.org/10.18019/1028-4427-2018-24-3-357-364>
- Долганова, Т. И., Попков, Д. А., Долганов, Д. В., Чибиров, Г. М. (2022) Показатели кинетики локомоторных стереотипов у здоровых детей в различных скоростных диапазонах передвижения. *Гений ортопедии*, т. 28, № 3, с. 417–424. <https://doi.org/10.18019/1028-4427-2022-28-3-417-424>
- Долганова, Т. И., Щурова, Е. Н., Долганов, Д. В. и др. (2023) Локомоторная кинетика мышц нижних конечностей в норме и при идиопатическом сколиозе. *Вестник уральской медицинской академической науки*, т. 20, № 1-2, с. 5–16. <https://doi.org/10.22138/2500-0918-2023-20-1-5-16>
- Петри, А., Сэбин, К. (2021) *Наглядная медицинская статистика*. 4-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 232 с.
- Самсонова, А. В. (2007) *Моторная и сенсорная функция мышц в биомеханике локомоций*. СПб.: НГУ им. П. Ф. Лесгафта, 152 с.
- Щуров, В. А., Долганова, Т. И., Долганов, Д. В. (2014) Установка для измерения силы мышц бедра. *Медицинская техника*, № 1 (283), с. 27–30.
- Щуров, В. А., Долганова, Т. И., Долганов, Д. В. (2016) Установка для измерения силы мышц голени. *Медицинская техника*, № 2 (296), с. 37–39.
- Dallmeijer, A. J., Baker, R., Dodd, K. J., Taylor, N. F. (2011) Association between isometric muscle strength and gait joint kinetics in adolescents and young adults with cerebral palsy. *Gait & Posture*, vol. 33, no. 3, pp. 326–332. <https://doi.org/10.1016/j.gaitpost.2010.10.092>
- Darras, N., Nikaina, E., Tziomaki, M. et al. (2021) Development of lower extremity strength in ambulatory children with bilateral spastic cerebral palsy in comparison with typically developing controls using absolute and normalized to body weight force values. *Frontiers in Neurology*, vol. 12, article 617971. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.617971>
- Fosang, A., Baker, R. (2006) A method for comparing manual muscle strength measurements with joint moments during walking. *Gait & Posture*, vol. 24, no. 4, pp. 406–411. <https://doi.org/10.1016/j.gaitpost.2005.09.015>
- Moll, I., Essers, J. M. N., Marcellis, R. G. J. et al. (2022) Lower limb muscle fatigue after uphill walking in children with unilateral spastic cerebral palsy. *PLoS ONE*, vol. 17, no. 12, article e0278657. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278657>
- Valadão, P., Piitulainen, H., Haapala, E. A. et al. (2021) Exercise intervention protocol in children and young adults with cerebral palsy: The effects of strength, flexibility and gait training on physical performance, neuromuscular mechanisms and cardiometabolic risk factors (EXECP). *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation*, vol. 13, no. 1, article 17. <https://doi.org/10.1186/s13102-021-00242-y>

References

- Aksenov, A. Yu., Klishkovskaya, T. A. (2020) *Programma formirovaniya otcheta biomekhaniki khod'by cheloveka. Patent RU2020665238 [Program for the formation of a human walking biomechanics report. Patent RU2020665238].* Register date 24.11.2020. (In Russian)
- Dallmeijer, A. J., Baker, R., Dodd, K. J., Taylor, N. F. (2011) Association between isometric muscle strength and gait joint kinetics in adolescents and young adults with cerebral palsy. *Gait & Posture*, vol. 33, no. 3, pp. 326–332. <https://doi.org/10.1016/j.gaitpost.2010.10.092> (In English)
- Darras, N., Nikaina, E., Tziomaki, M. et al. (2021) Development of lower extremity strength in ambulatory children with bilateral spastic cerebral palsy in comparison with typically developing controls using absolute and normalized to body weight force values. *Frontiers in Neurology*, vol. 12, article 617971. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.617971> (In English)
- Dolganov, D. V., Dolganova, T. I., Samylov, V. V. (2018) Otsenka narushenij postural'noj funktsii pozvonochnika v ortostaticheskikh stereotipakh [Evaluation of postural function disorders of the spine in orthostatic stereotypes]. *Genij ortopedii*, vol. 24, no. 3, pp. 357–364. <https://doi.org/10.18019/1028-4427-2018-24-3-357-364> (In Russian)
- Dolganova, T. I., Popkov, D. A., Dolganov, D. V., Chibirov, G. M. (2022) Pokazateli kinetiki lokomotornykh stereotipov u zdorovykh detej v razlichnykh skorostnykh diapazonakh peredvizheniya [Indicators of the kinetics of locomotor stereotypes in healthy children in different speed ranges of movement]. *Genij ortopedii*, vol. 28, no. 3, pp. 417–424. <https://doi.org/10.18019/1028-4427-2022-28-3-417-424> (In Russian)
- Dolganova, T. I., Shchurova, E. N., Dolganov, D. V. et al. (2023) Lokomotornaya kinetika myshts nizhnikh konechnostej v norme i pri idiopatcheskom skolioze [Locomotor kinetics of the lower extremities in healthy individuals and idiopathic scoliosis]. *Vestnik Ural'skoj meditsinskoj akademicheskoy nauki — Journal of Ural Medical Academic Science*, vol. 20, no. 1-2, pp. 5–16. <https://doi.org/10.22138/2500-0918-2023-20-1-5-16> (In Russian)
- Fosang, A., Baker, R. (2006) A method for comparing manual muscle strength measurements with joint moments during walking. *Gait & Posture*, vol. 24, no. 4, pp. 406–411. <https://doi.org/10.1016/j.gaitpost.2005.09.015> (In English)
- Moll, I., Essers, J. M. N., Marcellis, R. G. J. et al. (2022) Lower limb muscle fatigue after uphill walking in children with unilateral spastic cerebral palsy. *PLoS ONE*, vol. 17, no. 12, article e0278657. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278657> (In English)
- Petri, A., Sebin, K. (2021) *Naglyadnaya meditsinskaya statistika [Medical statistics at a glance].* 4th ed. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 232 p. (In Russian)
- Samsonova, A. V. (2007) *Motornaya i sensornaya funktsiya myshts v biomekhanike lokomotsij [Motor and sensory function of muscles in the biomechanics of locomotion].* Saint Petersburg: The Lesgaft National State University of Physical Education, Sport and Health Publ., 152 p. (In Russian)
- Shchurov, V. A., Dolganova, T. I., Dolganov, D. V. (2014) Ustanovka dlya izmereniya sily myshts bedra [A femoral muscle dynamometer]. *Meditsinskaya tekhnika*, no. 1 (283), pp. 27–30. (In Russian)
- Shchurov, V. A., Dolganova, T. I., Dolganov, D. V. (2016) Ustanovka dlya izmereniya sily myshts goleni [Device for measuring lower leg muscle strength]. *Meditsinskaya tekhnika*, no. 2 (296), pp. 37–39. (In Russian)
- Valadão, P., Piitulainen, H., Haapala, E. A. et al. (2021) Exercise intervention protocol in children and young adults with cerebral palsy: The effects of strength, flexibility and gait training on physical performance, neuromuscular mechanisms and cardiometabolic risk factors (EXECF). *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation*, vol. 13, no. 1, article 17. <https://doi.org/10.1186/s13102-021-00242-y> (In English)



Check for updates

Экспериментальные статьи

УДК 57.04

EDN АМЕККЕ

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-367-372>

Распределение супероксиддисмутазы-1 в мозге медоносной пчелы при действии электромагнитного излучения 2,4 ГГц

Т. Г. Зачепило ^{✉1}, А. К. Прибышина ¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторах

Татьяна Геннадьевна Зачепило, SPIN-код: [7746-2208](https://orcid.org/0000-0001-6350-7050), Scopus AuthorID: [6506211770](https://orcid.org/6506211770), ORCID: [0000-0001-6350-7050](https://orcid.org/0000-0001-6350-7050), e-mail: polosataya2@mail.ru

Алиса Кирилловна Прибышина, e-mail: alisa_pribyshina@mail.ru

Для цитирования: Зачепило, Т. Г., Прибышина, А. К. (2023) Распределение супероксиддисмутазы-1 в мозге медоносной пчелы при действии электромагнитного излучения 2,4 ГГц. *Интегративная физиология*, т. 4, № 3, с. 367–372. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-367-372> EDN АМЕККЕ

Получена 19 июля 2023; прошла рецензирование 22 сентября 2023; принята 16 октября 2023.

Финансирование: Исследование было выполнено в рамках государственного задания Института физиологии им. И. П. Павлова РАН при поддержке Государственной программы РФ 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030) (тема 0134-2019-0004) с привлечением ресурсов ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем» и «Конфокальная микроскопия».

Права: © Т. Г. Зачепило, А. К. Прибышина (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Аннотация. Одним из возможных путей негативного влияния высокочастотных электромагнитных излучений может быть окислительный стресс. В данной статье рассматривается влияние электромагнитного излучения Wi-Fi роутера 2,4 ГГц на цитоплазматический антиоксидантный фермент супероксиддисмутазу-1 в головном мозге медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.). Пчела — основной опылитель сельскохозяйственных культур — особо чувствительна к действию электромагнитных излучений в связи с необходимостью их использования в естественной среде обитания в процессе жизнедеятельности. Облучение проводили в течение одного часа. Контролем служили пчелы, не подвергавшиеся облучению. Далее мозг извлекали и с помощью иммуногистохимического окрашивания и флуоресцентной микроскопии оценивали распределение и содержание супероксиддисмутазы-1 на срезах мозга пчелы в области грибовидных тел — структуры, отвечающей за обучение и память. Обнаружено, что после одночасового воздействия происходит снижение содержания супероксиддисмутазы-1 по сравнению с контрольной группой. Полученные результаты указывают на возможное нарушение антиоксидантной защиты в нервной ткани пчел при воздействии высокочастотного электромагнитного излучения частотой 2,4 ГГц. Для более полного понимания механизмов влияния электромагнитных излучений на ЦНС пчелы необходимы дальнейшие исследования.

Ключевые слова: медоносная пчела, электромагнитное излучение, мозг, окислительный стресс, супероксиддисмутазы-1

Distribution of superoxide dismutase 1 in the honeybee brain under the action of electromagnetic radiation of 2.4 GHz

T. G. Zachepilo ¹, A. K. Pribyshina¹

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Authors

Tatiana G. Zachepilo, SPIN: [7746-2208](#), Scopus AuthorID: [6506211770](#), ORCID: [0000-0001-6350-7050](#), e-mail: polosataya2@mail.ru

Alisa K. Pribyshina, e-mail: alisa_pribyshina@mail.ru

For citation: Zachepilo, T. G., Pribyshina, A. K. (2023) Distribution of superoxide dismutase 1 in the honeybee brain under the action of electromagnetic radiation of 2.4 GHz. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 367–372. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-367-372> EDN [AMEKKE](#)

Received 19 July 2023; reviewed 22 September 2023; accepted 16 October 2023.

Funding: The study was carried out as part of the state-commissioned assignment of the Pavlov Institute of Physiology RAS. It was supported by Government Program of the Russian Federation 47 GP Scientific and Technological Development of the Russian Federation (2019-2030) (theme 0134-2019-0004). The research team made use of the resources of the centers for collective use “Biocollection of the IF RAS for the Study of Integrative Mechanisms of Nervous and Visceral Systems” and “Confocal Microscopy”.

Copyright: © T. G. Zachepilo, A. K. Pribyshina (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](#).

Abstract. Oxidative stress is one of the possible negative effects of high frequency electromagnetic fields. The reported study, in particular, investigates the effect of 2.4 GHz Wi-Fi router electromagnetic radiation on the cytoplasmic antioxidant enzyme superoxide dismutase 1 in the brain of the honeybee (*Apis mellifera* L.). The honeybee, the main pollinator of agricultural crops, is especially sensitive to electromagnetic fields due to the need to use it in its natural conditions in the process of life. The honeybees were exposed to radiation for 1 hour. The control honeybees were not exposed to radiation. Next, the brain was removed and, using immunohistochemical staining and fluorescence microscopy, the distribution and content of superoxide dismutase 1 were assessed on sections of the honeybee brain in the region of mushroom bodies — a structures responsible for learning and memory. It was found that after 1 hour exposure there is a decrease in the content of superoxide dismutase-1 level compared to the control group.

The obtained results point at a possible disturbance of antioxidant protection in the nervous tissue of bees under the influence of 2.4 GHz high-frequency electromagnetic radiation. For a more complete understanding of the mechanisms of the influence of electromagnetic radiation on the honeybee central nervous system, further research is needed.

Keywords: honeybee, electromagnetic radiation, brain, oxidative stress, superoxide dismutase 1

Введение

По мере развития и расширения разнообразных беспроводных средств коммуникации изменяется электромагнитный фон в окружающей среде. Ряд исследований продемонстрировал негативные эффекты действия высокочастотных электромагнитных излучений (ЭМИ) на представителей животного и растительного мира (Valmori 2021; Cucurachi et al. 2013; Saliev et al. 2018). Одним из таких организмов является медоносная пчела *Apis mellifera* L. — важнейший опылитель сельскохозяйственных культур. Ранее показано, что низко- и высокочастотные ЭМИ ухудшают репродукцию в пчелиных семьях и влияют на поведение (Favre 2011; Halabi et al. 2013; Kumar et al. 2011). В частности, показано негативное влияние ЭМИ 2,4 ГГц на пищевую возбудимость и кратко-

временную память медоносной пчелы (Lorantina et al. 2019). Однако до сих пор неизвестно, какие изменения на клеточном уровне приводят к таким последствиям.

Возможным последствием воздействия ЭМИ на организм может быть окислительный стресс. ЭМИ может вызывать генерацию свободных радикалов, изменяя окислительно-восстановительное состояние компонентов клетки (например, активность митохондрий и некоторых ферментов) и/или формирование ион-радикальных пар в белках-криптохромах; или опосредованно через потенциал-чувствительные каналы, кальций-зависимые белки и др. Окислительные стрессовые эффекты ЭМИ рассмотрены в обзоре (Schuermann, Mevissen 2021). Защиту от него обеспечивают антиоксидантные системы: ферментативные (супероксиддисмутаза, пероксидаза, каталаза, глутатионредуктаза,

глутатионпероксидаза) и неферментативные (глутатион, витамины С и Е, тиолы и др.). Основным механизмом антиоксидантной защиты в нормальных условиях являются ферменты супероксиддисмутазы (СОД), катализирующие реакцию дисмутации супероксидных анион-радикалов.

У медоносных пчел показано наличие генов для различных антиоксидантных систем, в том числе цитоплазматической супероксиддисмутазы-1 (*sod1*) и митохондриальной супероксиддисмутазы-2 (*sod2*) (Corona, Robinson 2006). Активность и экспрессия СОД различается в нормальных условиях в зависимости от возраста и касты пчелиной особи. В семье пчел уровень пероксидов-ионов и перекиси водорода выше у часто летающих особей вследствие увеличения потребления кислорода и усиления метаболизма при полете, хотя уровень супероксиддисмутазы не различается (Margotta et al. 2018). Кроме того, наблюдается относительно высокая экспрессия цитоплазматической супероксиддисмутазы *sod1* у рабочих пчел по сравнению с матками (Kramer et al. 2021). При действии внешних неблагоприятных факторов разнонаправленно изменяется активность антиоксидантных систем в ЦНС пчел. Так, обнаружено понижение уровня супероксиддисмутазы-1 и других антиоксидантных ферментов в протеоме головы пчел в ответ на действие пестицидов, что свидетельствует о протекающем окислительном стрессе (Zaluski et al. 2020). Выявлено дозозависимое повышение активности СОД в гомогенате мозга пчел в ответ на облучение гамма-лучами (Gagnaire et al. 2019).

Целью нашего исследования было изучение распределения и содержания фермента супероксиддисмутазы-1 в мозге пчел после однократного воздействия ЭМИ 2,4 ГГц.

Материал и методы

Материал

10–30-суточные рабочие особи медоносной пчелы краинской расы *Apis mellifera carnica* Pollm (отряд перепончатокрылые *Hymenoptera*). Источник — пасека Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем»).

Условия содержания

Пчел содержали в наблюдательном улье, состоявшем по величине $\frac{1}{4}$ часть нормального

улья, в условиях свободного доступа к пище и воде, при постоянной температуре 30 °С. Использовали стандартный световой режим (12 ч:12 ч), независимо от времени года.

Группы пчел

В экспериментах изучены две группы: контрольная (пчелы, не подвергавшиеся облучению) и опытная (пчелы, находившиеся 1 час под излучающим роутером с частотой ЭМИ 2,4 ГГц).

Экспозиция ЭМИ

Источник излучения — Wi-Fi роутер Linksys E1200EE (частота — 2,4 ГГц, мощность — 16,5 dBm, две внутренние антенны, коэффициент усиления — dBi: 4 dBi, стандарт Wi-Fi — 802,11 b/g/n). Излучение этой модели роутера, аналогично другим бытовым Wi-Fi устройствам, может распространяться на десятки метров за пределы здания. Роутер размещали на фанерной полке в клетке Фарадея. Пробирку с пчелами — под полкой с роутером на расстоянии 30 см. Напряженность электромагнитного поля (ЭМП) в месте размещения пробирок с пчелами составляла 20 мВ/м. Облучение проводили в течение часа.

Приготовление парафиновых срезов

Насекомых подвергали холодовому наркозу. Охлажденным пчелам вскрывали головную капсулу и выделяли мозг. Далее фиксировали в 4% формалине 3 часа при комнатной температуре. После фиксации препарат промывали в фосфатном буфере (PBS, pH = 7,5) в течение 1 часа. Проводили через серию спиртов (по 30 мин в каждом из спиртов) возрастающей концентрации (40% — 70% — 96%). Промывали препарат в абсолютном спирте 2 раза по 15 минут. Переносили препарат в ксилол и оставляли на ночь при комнатной температуре. Переносили препарат в смесь ксилола и парафина (50:50) и инкубировали в течение 1 часа при 65 °С. Инкубировали препарат в парафине-1 и парафине-2 в течение 1 часа и 2 часов соответственно при 65 °С. Заливали в парафиновые блоки. Далее готовили парафиновые срезы по стандартной методике на желатинизированном стекле. Количество срезов на каждом стекле — не менее 15. Толщина срезов — 7 мкм.

Иммуногистохимическое окрашивание срезов

Депарафинизировали срезы в ксилоле (2 раза по 15 мин) и в спиртах с убывающей концентрацией (96% — 70% — 40% по 10 мин). Депарафинизированные срезы промывали дистиллированной

водой. Производили вскрытие антигенов в течение 10 минут в 0,03 М цитратном буфере (рН = 6) в микроволновой печи (450 Вт). Промывали дистиллированной водой, а затем буфером РВТ (PBS + 0,1% Triton). Производили блокировку срезов в нормальной блокировочной сыворотке (*Normal blocking serum*, Vector) во влажной камере в течение 2 часов при 25 °С. Инкубировали срезы с первичными антителами к SOD1 (Abcam) во влажной камере в течение ночи при +4 °С (разведение 1:200). Промывали РВТ. Инкубировали срезы с вторичными антителами, конъюгированными с ФИТЦ (Santa Cruz) 2 часа во влажной камере при +4 °С (разведение 1:500). После промывания в PBS инкубировали с DAPI 30 минут при комнатной температуре. Промывали PBS. Заключили препараты в глицерин. Полученные постоянные препараты анализировали с помощью флуоресцентной микроскопии (LSM 710, Carl Zeiss, ЦКП «Конфокальная микроскопия»). Учитывали распределение окраски в грибовидных телах: в нейропиле (каликсах) и внутренних клетках Кеньона (нейроны грибовидных тел, расположенные внутри каликсов).

Обработка данных

Оптическую плотность на микрофотографиях измеряли с помощью программы ImageJ (NCBI). Далее сравнивали оптическую плотность каликсов и нейронов в контрольной и опытной группах. Статистическую обработ-

ку данных проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни в программе Past 4.10.

Результаты и обсуждение

Изучали распределение и содержание супероксиддисмутазы-1 в мозге медоносной пчелы, в частности, в области грибовидных тел — структур, обеспечивающих обучение и формирование памяти у насекомых. Как в контроле, так и в эксперименте наблюдалась флуоресценция по всему срезу. В области грибовидных тел фермент был распределен как в каликсах, так и во внутренних и наружных клетках Кеньона (нейронах, окружающих каликсы грибовидных тел снаружи). Сходная картина распределения фермента наблюдалась в контрольной и опытной группах. Не было обнаружено выраженных различий по содержанию СОД между каликсами и нейронами. Однако после одночасового действия ЭМИ содержание СОД снижалось по сравнению с контрольной группой ($p = 0,0157$). Сходная картина наблюдалась и при сравнении окрашивания во внутренних клетках Кеньона ($p = 0,0404$) (рис. 1).

Увеличение количества свободных радикалов / активных форм кислорода приводит к активации систем антиоксидантной защиты, а также к синтезу их компонентов. Супероксиддисмутазы относятся к ферментам первой линии антиоксидантной защиты. В ходе дисмутации суперок-

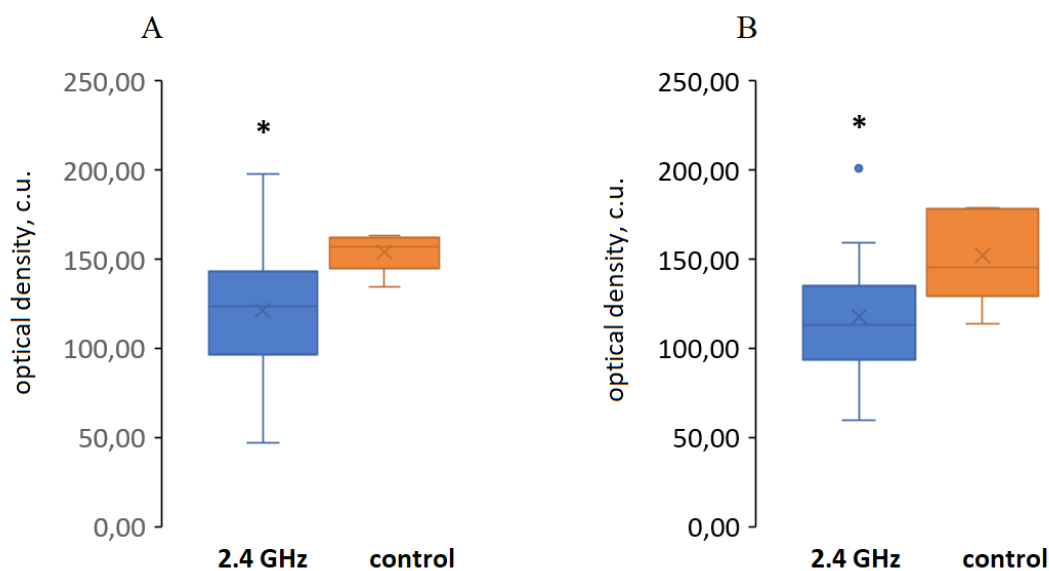


Рис. 1. Влияние ЭМИ 2,4 ГГц на содержание супероксиддисмутазы-1 в каликсах (А) и внутренних клетках Кеньона (В) грибовидных тел. * — $p \leq 0,05$

Fig. 1. Effect of 2.4 GHz EMR on the superoxide dismutase 1 level in calyxes (A) and internal Kenyon cells (B) of mushroom bodies. * — $p \leq 0,05$

сидного радикала спонтанно образуются кислород и пероксид водорода. Повышение содержания пероксида водорода в среде приводит к ингибированию СОД и далее к ее деградации (Halliwell, Gutteridge 2015). Таким образом, на ранних стадиях оксидативного стресса возможно снижение количества СОД, что мы и наблюдаем после одночасового воздействия. Также возможно, что защита от окислительного стресса в этот период может осуществляться другими антиоксидантами (митохондриальной супероксиддисмутазой-2, пероксидазами, каталазами, глутатионом и др.). Однако в литературе отсутствуют сведения о динамике антиоксидантной защиты у медоносных пчел, что не позволяет однозначно объяснить полученные результаты и сделать вывод о протекании окислительного стресса после одночасового облучения. Согласно источникам, использованный диапазон ЭМИ может влиять на уровень активных форм кислорода. Так, при облучении пчел низкочастотным ЭМП 50 Гц в гемолимфе рабочих пчел уже через 1 час наблюдается повышение активности супероксиддисмутазы и каталазы. По мнению авторов, низкочастотные ЭМИ могут нарушать регуляцию энергетического метаболизма в митохондриях, подобно акарицидам, и усиливать процессы, связанные с перехватом активных форм кислорода и связыванием ионов (Migdał et al. 2020).

На личинках медоносных пчел было изучено влияние радиочастотного диапазона ЭМИ (900 МГц, напряженность 10, 23, 41 и 120 В/м⁻¹ в течение 2 часов) (Vilić et al. 2017). Активность каталазы и уровень перекисного окисления липидов значительно снизились у личинок медоносных пчел, подвергшихся воздействию немодулированного поля при 10 В/м⁻¹, по сравнению с контролем. Активность супероксиддисмутазы и глутатион-S-трансферазы у личинок медоносных пчел, подвергшихся воздействию немодулированных полей, статистически не различалась по сравнению с контролем. Повреждение ДНК значительно увеличилось у личинок медоносных пчел, подвергшихся воздействию модулированного поля при 23 В/м⁻¹ по сравнению с контролем. При этом повышение напряженности поля не вызвало линейной за-

висимости «доза — реакция» ни по одному из измеренных параметров. Модулированное электромагнитное поле вызывало больше отрицательных эффектов, чем немодулированное.

Активация различных систем антиоксидантной защиты при действии ЭМИ с разными параметрами указывает на различные механизмы антиоксидантной защиты и различные повреждающие эффекты. Также ЭМИ с разной частотой имеют различную проникающую способность, что было исследовано у пчел (Thielens et al. 2020).

Таким образом, реакция нервной ткани пчелы на действие электромагнитных излучений может зависеть от параметров ЭМИ и длительности облучения и требует дальнейшего исследования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Вклад авторов

Авторы участвовали в подготовке статьи в равной степени.

Author Contributions

The authors participated in the preparation of the article equally.

Благодарности

Авторы крайне признательны Б. Ф. Щеголеву, С. В. Сурме и В. А. Муровцу за предоставленное оборудование.

Acknowledgements

The authors are very grateful to B. F. Shchegolev, S. V. Surma and V. A. Murovets for the provided equipment.

References

- Balmori, A. (2021) Electromagnetic radiation as an emerging driver factor for the decline of insects. *Science of The Total Environment*, vol. 767, article 144913. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144913> (In English)
- Corona, M., Robinson, G. E. (2006) Genes of the antioxidant system of the honey bee: Annotation and phylogeny. *Insect Molecular Biology*, vol. 15, no. 5, pp. 687–701. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2006.00695.x> (In English)

- Cucurachi, S., Tamis, W. L., Vijver, M. G. et al. (2013) A review of the ecological effects of radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF). *Environment International*, vol. 51, pp. 116–140. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.10.009> (In English)
- Favre, D. (2011) Mobile phone-induced honeybee worker piping. *Apidologie*, vol. 42, no. 3, pp. 270–279. <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0016-x> (In English)
- Gagnaire, B., Bonnet, M., Tchamitchian, S. et al. (2019) Physiological effects of gamma irradiation in the honeybee, *Apis mellifera*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 174, pp. 153–163. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.031> (In English)
- Halabi, N. E., Achkar, R., Haidar, G. A. (2013) The effect of cell phone radiations on the life cycle of honeybees. In: *2013 IEEE Eurocon conference (1–4 July 2013): In 3 vols. Vol. 1*. Zagreb: IEEE Publ., pp. 529–536. <https://doi.org/10.1109/EUROCON.2013.6625032> (In English)
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (2015) *Free radicals in biology and medicine*. 5th ed. [S. l.]: Oxford University Press. [Online]. Available at: <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001> (accessed 15.10.2023). (In English)
- Kramer, B. H., Nehring, V., Buttstedt, A. et al. (2021) Oxidative stress and senescence in social insects: A significant but inconsistent link? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 376, no. 1823, article 20190732. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0732> (In English)
- Kumar, N. R., Sangwan, S., Badotra, P. (2011) Exposure to cell phone radiations produces biochemical changes in worker honey bees. *Toxicology International*, vol. 18, no. 1, pp. 70–72. (In English)
- Lopatina, N. G., Zachepilo, T. G., Kamyshev, N. G. et al. (2019) Vliyanie neioniziruyushchego elektromagnitnogo izlucheniya na povedenie medonosnoj pchely *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) [Effect of non-ionizing electromagnetic radiation on the honeybee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) behaviour]. *Entomologicheskoe obozrenie*, vol. 98, no. 1, pp. 35–43. <https://doi.org/10.1134/S0367144519010039> (In Russian)
- Margotta, J. W., Roberts, S. P., Elekonich, M. M. (2018) Effects of flight activity and age on oxidative damage in the honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Experimental Biology*, vol. 221, no. 14, article jeb183228. <https://doi.org/10.1242/jeb.183228> (In English)
- Migdał, P., Roman, A., Strachecka, A. et al. (2020) Changes of selected biochemical parameters of the honeybee under the influence of an electric field at 50 Hz and variable intensities. *Apidologie*, vol. 51, pp. 956–967. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00774-1> (In English)
- Saliev, T., Begimbetova, D., Masoud, A.-R., Matkarimov, B. (2018) Biological effects of non-ionizing electromagnetic fields: Two sides of a coin. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, vol. 141, pp. 25–36. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2018.07.009> (In English)
- Schuermann, D., Mevissen, M. (2021) Manmade electromagnetic fields and oxidative stress — biological effects and consequences for health. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 7, article 3772. <https://doi.org/10.3390/ijms22073772> (In English)
- Thielens, A., Greco, M. K., Verloock, L. et al. (2020) Radio-frequency electromagnetic field exposure of western honey bees. *Scientific Reports*, vol. 10, article 461. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56948-0> (In English)
- Vilić, M., Tlak, G. I., Tucak, P. et al. (2017) Effects of short-term exposure to mobile phone radiofrequency (900 MHz) on the oxidative response and genotoxicity in honey bee larvae. *Journal of Apicultural Research*, vol. 56, no. 4, pp. 430–438. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1329798> (In English)
- Zaluski, R., Bittarello, A. C., Vieira, J. C. S. et al. (2020) Modification of the head proteome of nurse honeybees (*Apis mellifera*) exposed to field-relevant doses of pesticides. *Scientific Reports*, vol. 10, article 2190. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59070-8> (In English)



УДК 57.022

EDN BAYBPG

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-373-378>

Сравнение жидкой и сухой сахарозной диеты в развитии модели метаболического синдрома у крыс

Ю. А. Филиппов¹, А. В. Степанов¹, О. Ю. Карнишкина¹,
А. А. Панов¹, О. В. Чистякова¹, М. Г. Добрецов^{✉1}

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН,
194223, Россия, г. Санкт-Петербург, пр. Тореца, д. 44

Сведения об авторах

Юрий Алексеевич Филиппов, SPIN-код: [2478-1646](#), ResearcherID: [IKI-1629-2023](#), ORCID: [0009-0005-9028-4477](#), e-mail: yuraf2@yandex.ru

Андрей Валентинович Степанов, SPIN-код: [2112-1988](#), Scopus AuthorID: [57200341668](#), ResearcherID: [ABA-7207-2020](#), ORCID: [0000-0001-8788-1258](#), e-mail: botanik2407@gmail.com

Ольга Юрьевна Карнишкина, SPIN-код: [7738-1600](#), ORCID: [0000-0002-2242-4141](#), e-mail: ol.23-karnishkina-98@mail.ru

Александр Александрович Панов, Scopus AuthorID: [57195074834](#), e-mail: iaphb.lab35@gmail.com

Оксана Викторовна Чистякова, SPIN-код: [7399-4496](#), Scopus AuthorID: [15755360800](#), ResearcherID: [AAA-9028-2020](#), ORCID: [0000-0002-2866-1017](#), e-mail: chiosana@yandex.ru

Максим Георгиевич Добрецов, SPIN-код: [1606-2408](#), Scopus AuthorID: [7004894923](#), ResearcherID: [U-9770-2018](#), ORCID: [0000-0001-6007-9775](#), e-mail: dobretsovmaxim@gmail.com

Для цитирования: Филиппов, Ю. А., Степанов, А. В., Карнишкина, О. Ю., Панов, А. А., Чистякова, О. В., Добрецов, М. Г. (2023) Сравнение жидкой и сухой сахарозной диеты в развитии модели метаболического синдрома у крыс. *Интегративная физиология*, т. 4, № 3, с. 373–378. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-373-378>
EDN BAYBPG

Получена 24 октября 2023; прошла рецензирование 16 ноября 2023; принята 19 ноября 2023.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке гранта Российского Научного Фонда, проект № 23-25-00260.

Права: © Ю. А. Филиппов, А. В. Степанов, О. Ю. Карнишкина, А. А. Панов, О. В. Чистякова, М. Г. Добрецов (2023). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Для моделирования метаболического синдрома (МС) у крыс широко используется сахарозная модель, в которой сахароза добавляется в рацион животных в составе питьевой воды. Однако раствор сахарозы является благоприятной средой для развития микроорганизмов и плесени. Целью работы была проверка предположения, что моделирование МС у животных путем сахарозной диеты с добавлением к корму кускового сахара может служить удобной альтернативой растворению сахара в питьевой воде. Исследовали самцов крыс *Wistar* массой 275–350 г. Крысы контрольной группы (К, n = 4) в течение эксперимента (14 недель) получали стандартный сухой корм и питьевую воду. Крысы одной опытной группы («жидкий сахар», ЖС, n = 4) имели свободный выбор между питьевой водой или водой, подслащенной сахаром (30% сахара); крысы другой опытной группы («твердый сахар», ТС, n = 4) имели свободный выбор между сухим кормом и кусковым сахаром (~30% от массы корма). Выявлено, что крысы группы ЖС потребляли больше сахара и калорий, чем крысы группы ТС, а также быстрее развивали толерантность к глюкозе и инсулинорезистентность. Сделан вывод, что сахарозная диета с использованием кускового сахара, хотя и более удобна в исполнении, чем диета с использованием раствора сахара, но менее эффективна для развития МС у крыс.

Ключевые слова: метаболический синдром, сахарозная диета, животные модели, крыса, инсулиновая резистентность

Comparison of liquid and dry sucrose diets in the development of a model of metabolic syndrome in rats

Yu. A. Filippov¹, A. V. Stepanov¹, O. Yu. Karnishkina¹,
A. A. Panov¹, O. V. Chistyakova¹, M. G. Dobretsov¹ ✉

¹ Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences,
44 Thorez Ave., Saint Petersburg 194223, Russia

Authors

Yuri A. Filippov, SPIN-код: 2478-1646, ResearcherID: JKI-1629-2023, ORCID: 0009-0005-9028-4477, e-mail: yuraf2@yandex.ru

Andrei V. Stepanov, SPIN: 2112-1988, Scopus AuthorID: 57200341668, ResearcherID: ABA-7207-2020, ORCID: 0000-0001-8788-1258, e-mail: botanik2407@gmail.com

Olga Yu. Karnishkina, SPIN: 7738-1600, ORCID: 0000-0002-2242-4141, e-mail: ol.23-karnishkina-98@mail.ru

Alexander A. Panov, Scopus AuthorID: 57195074834, e-mail: iephb.lab35@gmail.com

Oksana V. Chistyakova, SPIN: 7399-4496, Scopus AuthorID: 15755360800, ResearcherID: AAA-9028-2020, ORCID: 0000-0002-2866-1017, e-mail: chiosana@yandex.ru

Maxim G. Dobretsov, SPIN: 1606-2408, Scopus AuthorID: 7004894923, ResearcherID: U-9770-2018, ORCID: 0000-0001-6007-9775, e-mail: dobretsovmaxim@gmail.com

For citation: Filippov, Yu. A., Stepanov, A. V., Karnishkina, O. Yu., Panov, A. A., Chistyakova, O. V., Dobretsov, M. G. (2023) Comparison of liquid and dry sucrose diets in the development of a model of metabolic syndrome in rats. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 373–378. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-373-378> EDN BAYBPG

Received 24 October 2023; reviewed 16 November 2023; accepted 19 November 2023.

Funding: The work was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 23-25-00260.

Copyright: © Yu. A. Filippov, A. V. Stepanov, O. Yu. Karnishkina, A. A. Panov, O. V. Chistyakova, M. G. Dobretsov (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The sucrose model, when sucrose is added to the animal's diet as a part of drinking water, is widely used to model metabolic syndrome (MS) in rats. However, a sucrose solution is a favorable environment for the development of microorganisms and mold. The purpose of the reported study was to test the assumption that modeling MS in animals using a sucrose diet with the addition of lump sugar to the feed can serve as a simple and convenient alternative to dissolving sugar in drinking water. Male Wistar rats weighing 275–350 g were studied. During the experiment (14 weeks), the rats of the control group (C, n = 4) received standard dry food and drinking water. The rats of one experimental group ("liquid sugar", LS, n = 4) had a free choice between drinking water or water sweetened with sugar (30% sugar); the rats of the other experimental group ("solid sugar", SS, n = 4) had a free choice between dry food and lump sugar (~30% of the total weight of food). It was revealed that the rats of the LS group consumed more sugar and calories than the rats of the SS group. Besides, the former developed glucose tolerance and insulin resistance faster. It is concluded that the sucrose diet using lump sugar, although more convenient to implement than the diet using sugar solution, is less effective in the development of MS in rats.

Keywords: metabolic syndrome, sucrose diet, animal models, rat, insulin resistance

Введение

Метаболический синдром (МС) — патологическое состояние, характеризующееся ожирением, нарушением липидного обмена, гипертензией и наличием признаков резистентности к инсулину (Rodríguez-Correa et al. 2020). Модели МС, вызванного высококалорийной диетой у грызунов, наиболее доступны и относительно хорошо воспроизводят МС человека (Байрашева и др. 2019; Rodríguez-Correa et al. 2020). Среди них наиболее просты модели, в которых крысам вместо или наряду с питьевой водой предоставлена вода, подслащенная

сахарозой (20–30% коммерческого сахара). Хотя животные, имеющие доступ к воде с сахарозой, значительно не увеличивают массу, уже в первые 10 недель эксперимента они развивают основные признаки раннего МС — нарушения толерантности к глюкозе и резистентность к инсулину (Rodríguez-Correa et al. 2020). Основная трудность, связанная с моделью, — регулярное обновление сахарозной воды и тщательное мытье поилок для предотвращения образования плесени. Добавление кускового сахара к корму могло бы решить эту проблему. Проверка этого предположения составляла задачу данного исследования.

Материалы и методы

Минимизация количества используемых самцов крыс *Wistar* — 12 голов — достигалась за счет стандартизации условий эксперимента и исключения факторов, увеличивающих разброс экспериментальных данных. Методом рандомизации (Altman, Bland 1999) животных распределяли на три группы по четыре в каждой. На начало эксперимента средняя масса животных (возраст 2–3 мес.) в группах не различалась и составляла 285–305 граммов (табл. 1). Крыс содержали в виварии ИЭФБ РАН в индивидуальных клетках. Крысы контрольной группы (К, $n = 4$) имели на протяжении всего эксперимента (14 недель) свободный доступ к обычной воде и сухому корму (ЛБК-120, Тосненский комбикормовый завод, Россия; 2,7 ккал/г). Крысам группы «жидкий сахар» (ЖС, $n = 4$) предоставляли выбор между обычной питьевой водой (поилка 1) или водой, подслащенной коммерческим сахаром (30% сахара; 3,7 ккал/г сахара, поилка 2). Крысам группы «твердый сахар» (ТС, $n = 4$) был предоставлен выбор между потреблением сухого корма и кускового сахара (~30% от общего веса корма), добавленных в одну кормушку. Потребление воды, корма, а также массу тела измеряли с интервалом в 2–3 дня. На 5-й, 8-й и 10-й неделях эксперимента проводили тест на толерантность к пищевой нагрузке (ТТПН), а на 14-й неделе проводили инсулин-глюкозотолерантный тест (ИГТТ). Тесты проводили после ~17 часов

голодания и измерения глюкозы натощак. В ТТПН каждой крысе предоставляли кусочек сухого корма из расчета 4,6 г/кг массы тела животного и давали 10 минут на его потребление (Romanovsky et al. 2008). В ИГТТ глюкозу в дозе 2 г/кг вводили внутривенно (в/в), инсулин (Humalog, США) в дозе 0,8 МЕ/кг — подкожно (Derkach et al. 2015). В каждом тесте измеряли уровень глюкозы в крови, взятой из хвостовой вены, на 0, 15, 30, 60 и 120 минутах теста (глюкометр «One Touch Ultra», США). Результаты тестов анализировали, рассчитывая площади под кривыми ТТПН и ИГТТ. Различия между средними величинами сравнивали между группами с использованием одно- или двухфакторного дисперсионного анализа с последующим сравнением групповых средних с помощью критерия Тьюки. Различия между средними считали значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены как среднее значение \pm SEM.

Результаты и их обсуждение

В начале исследования потребление воды и сухого корма в экспериментальных группах не различалось (табл. 1). Однако с первого дня получения доступа к подслащенной воде или к кусковому сахару крысы снижали потребление сухого корма. На протяжении всего эксперимента ЖС и ТС группы потребляли примерно в два раза меньше сухого корма, чем К группа (рис. 1 А). Общее потребление воды в группах

Табл. 1. Масса тела, потребление корма и воды в начале эксперимента и уровень тощачевой глюкозы (ТГ) и площадь под кривыми в ТТПН и ИГТТ тестах на разных сроках эксперимента (среднее \pm SEM)

Параметр (неделя эксперимента)	Контроль, $n = 4$	ЖС, $n = 4$	ТС, $n = 4$
Масса крысы, г (0 нед)	305 \pm 15	305 \pm 15	285 \pm 15
Потребление корма, г/день/100 г массы тела (0 нед)	9,2 \pm 0,1	9,6 \pm 0,7	12,8 \pm 0,4
Потребление воды, г/день/100 г массы тела (0 нед)	14,6 \pm 1,3	10,0 \pm 0,7	13,0 \pm 0,7
Глюкоза натощак			
ТГ, мМ (5 нед)	4,8 \pm 0,2	4,7 \pm 0,2	4,7 \pm 0,1
ТГ, мМ (8 нед)	5,0 \pm 0,2	5,2 \pm 0,4	4,7 \pm 0,1
ТГ, мМ (10 нед)	4,6 \pm 0,3	5,0 \pm 0,3	5,5 \pm 0,1
ТГ, мМ (14 нед)	4,8 \pm 0,3	5,5 \pm 0,1	5,0 \pm 0,4
Площадь под кривой в ТТПН и ИГТТ тестах			
ТТПН, мМ*мин (5 нед)	729 \pm 23	784 \pm 20	760 \pm 32
ТТПН, мМ*мин (8 нед)	817 \pm 26	903 \pm 25*	765 \pm 35
ТТПН, мМ*мин (10 нед)	774 \pm 15	941 \pm 55#	871 \pm 21
ИГТТ, мМ*мин (14 нед)	804 \pm 15	1002 \pm 130	716 \pm 147

Примечание: # — достоверное отличие от контроля, * — достоверное отличие от ТС группы.

Table 1. Body weight, food and water consumption at the beginning of the experiment, the level of fasting glucose (FG) and area under the curves in the food tolerance test (FTT) and insulin-glucose tolerance test (IGTT) at different periods of the experiment (mean \pm SEM)

Parameter (week of experiment)	Control, n = 4	LS, n = 4	SS, n = 4
Entry rat weight, g	305 \pm 15	305 \pm 15	285 \pm 15
Entry food intake, g/day/100 g bwt	9.2 \pm 0.1	9.6 \pm 0.7	12.8 \pm 0.4
Entry water intake, g/day/100 g bwt	14.6 \pm 1.3	10.0 \pm 0.7	13.0 \pm 0.7
Fasting glucose			
FG, mM (5 weeks)	4.8 \pm 0.2	4.7 \pm 0.2	4.7 \pm 0.1
FG, mM (8 weeks)	5.0 \pm 0.2	5.2 \pm 0.4	4.7 \pm 0.1
FG, mM (10 weeks)	4.6 \pm 0.3	5.0 \pm 0.3	5.5 \pm 0.1
FG, mM (14 weeks)	4.8 \pm 0.3	5.5 \pm 0.1	5.0 \pm 0.4
Area under curve in FTT and IGTT tests			
FTT, mM*min (5 weeks)	729 \pm 23	784 \pm 20	760 \pm 32
FTT, mM*min (8 weeks)	817 \pm 26	903 \pm 25*	765 \pm 35
FTT, mM*min (10 weeks)	774 \pm 15	941 \pm 55 [#]	871 \pm 21
IGTT, mM*min (14 weeks)	804 \pm 15	1002 \pm 130	716 \pm 147

Note: # — indicates statistically significant difference from the control group mean, * — indicates statistically significant difference from the SS group mean.

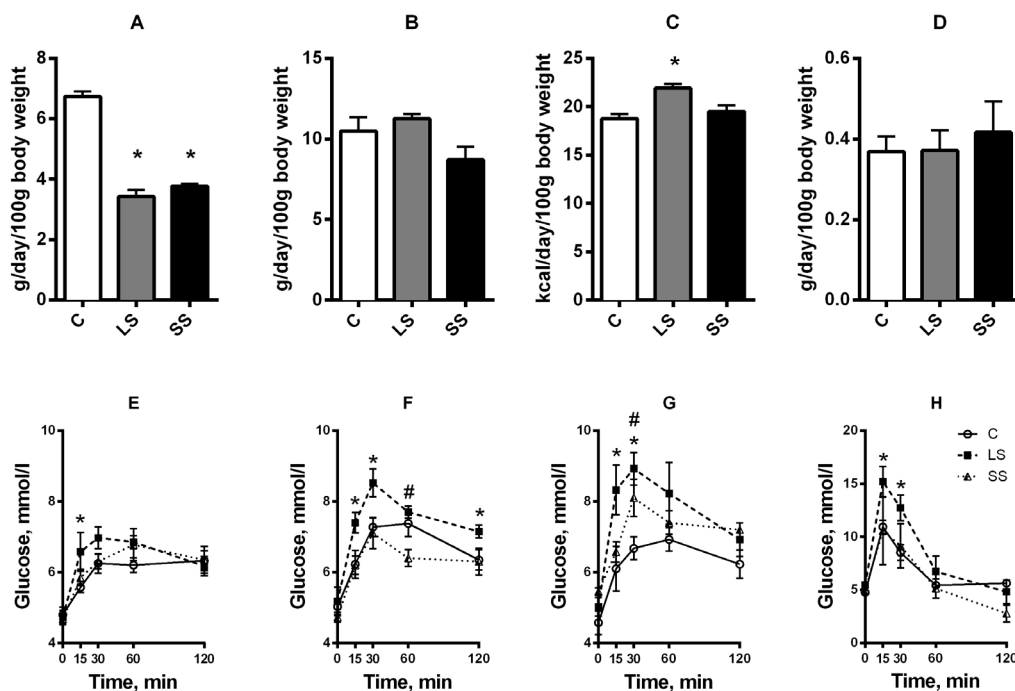


Рис. 1. Среднее потребление корма (A), воды (B), калорий (C), прирост массы тела (D) в течение всей длительности диеты; ТТПН, проведенный на 5-й (E), 8-й (F) и 10-й (G) неделях опыта; ИГТТ (H), проведенный в конце эксперимента (14 недель). * — различия между контролем (C) и ЖС (LS) животными; # — отличия между контролем и ТС (SS) животными; $p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ (панели A–D) и двухфакторный дисперсионный анализ (панели E–H) с последующим сравнением групповых средних с помощью критерия Тьюки

Fig. 1. Average consumption of feed (A), water (B), calories (C), body weight gain (D) during the entire period of the diet; TTPN performed on the 5th (E), 8th (F) and 10th (G) weeks of the experiment; IGTT (H) performed at the end of the experiment (14 weeks). * — differences between control (C) and LS (LS) animals; # — differences between control and TS (SS) animals; $p < 0.05$; one-way ANOVA (panels A–D) and two-way ANOVA (panels E–H), followed by the comparison of group means using Tukey's test

не различалось (рис. 1 В). Снижение потребления сухого корма ЖС и ТС крысами соответствует данным литературы (Cruz et al. 2020; la Fleur et al. 2011), что является попыткой компенсировать избыток энергии, поступающей с высококалорийной диетой. Действительно, общее потребление энергии К, ЖС и ТС крысами различалось существенно меньше, чем потребление корма (рис. 1 С). Однако у ЖС, но не у ТС крыс, оно было статистически значимо выше, чем у К крыс. На ранних (до трех месяцев) сроках сахарозной модели МС различие потребления энергии не ведет ни к разнице прироста массы тела животных (рис. 1D), ни к различию уровней глюкозы натошак, измеренным на 5-й, 8-й, 10-й и 14-й неделях диеты (табл. 1). Однако у ЖС крыс нарушалась толерантность к глюкозе уже с 5-й недели эксперимента (рис. 1E-G). На 10-й неделе эксперимента площадь под кривой ТТПН у ЖС группы была статистически значимо больше, чем у К группы (95% CI различий средних значений: 28 — 306 мМ*мин). Также у ЖС группы уровни глюкозы, измеренные на 15-й и 30-й минутах ИГТТ теста, были значимо выше, чем у К группы (рис. 1 H). У ТС группы результаты ГТТ и ИГТТ не имели статистически значимых отличий от К группы (рис. 1 E–H).

Заключение

Полученные данные позволили заключить, что моделирование МС у самцов крыс *Wistar* проходит успешно при содержании животных на диете с повышенным содержанием сахарозы, получаемой с питьевой водой, но не с сухим кормом (в данной работе — добавление к корму кускового сахара).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Эксперименты проводили в соответствии с правилами и требованиями, предусмотренными директивой 1986 г. Европейского парламента изложенными в «Руководстве по уходу и использованию лабораторных животных» (2010)

и протоколом по биоэтике ИЭФБ РАН № 1-23/2023 от 26.01.2023.

Ethics Approval

The experiments were carried out in accordance with the rules and requirements stipulated by the 1986 Directive of the European Parliament set out in the “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” (2010) and the IEPHВ RAS bioethics protocol No. 1-23 /2023 dated 26 January 2023.

Вклад авторов

- a. Филиппов Юрий Алексеевич — сбор и анализ данных, проведение экспериментальных манипуляций, статистическая обработка данных, оформление статьи;
- б. Степанов Андрей Валентинович — проведение экспериментальных манипуляций, сбор и систематизация данных научной литературы;
- в. Карнишкина Ольга Юрьевна — сбор и анализ данных, проведение экспериментальных манипуляций;
- г. Панов Александр Александрович — измерение массы животных, оценка потребления корма, воды и сахара;
- д. Чистякова Оксана Викторовна — проведение экспериментальных манипуляций;
- е. Добрецов Максим Георгиевич — идея и планирование экспериментов, оформление статьи, обобщение результатов исследования, статистическая обработка данных.

Author Contributions

- a. Yuri A. Filippov — data collection and analysis, experimental manipulations, drafting the article, statistical data analysis;
- b. Andrei V. Stepanov — experimental manipulations, collecting and systematizing scientific literature data;
- c. Olga Yu. Karnishkina — data collection and analysis, experimental manipulations;
- d. Alexander A. Panov — measuring the weight of animals, assessing the consumption of feed, water and sugar;
- e. Oksana V. Chistyakova — experimental manipulations;
- f. Maxim G. Dobretsov — conceptualizing and planning experiments, formatting the article, generalization of research results, statistical data analysis.

Литература

- Байрашева, В. К., Пчелин, И. Ю., Егорова, А. Э. и др. (2019) Экспериментальные модели алиментарного ожирения у крыс. *Juvenis Scientia*, № 9-10, с. 8–13. <https://doi.org/10.32415/jscientia.2019.09-10.02>
- Altman, D. G., Bland, J. M. (1999) How to randomise. *British Medical Journal*, vol. 319, no. 7211, pp. 703–704. <https://doi.org/10.1136/bmj.319.7211.703>
- Cruz, E. M. S., de Moraes, J. M. B., da Rosa, C. V. D. et al. (2020) Long-term sucrose solution consumption causes metabolic alterations and affects hepatic oxidative stress in Wistar rats. *Biology Open*, vol. 9, no. 3, article bio047282. <https://doi.org/10.1242/bio.047282>
- Derkach, K. V., Bondareva, V. M., Chistyakova, O. V. et al. (2015) The effect of long-term intranasal serotonin treatment on metabolic parameters and hormonal signaling in rats with high-fat diet/low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetes. *International Journal of Endocrinology*, vol. 2015, no. 6, article 245459. <https://doi.org/10.1155/2015/245459>
- la Fleur, S. E., Luijendijk, M. C. M., van Rozen, A. J. et al. (2011) A free-choice high-fat high-sugar diet induces glucose intolerance and insulin unresponsiveness to a glucose load not explained by obesity. *International Journal of Obesity*, vol. 35, no. 4, pp. 595–604. <https://doi.org/10.1038/ijo.2010.164>
- Rodríguez-Correa, E., González-Pérez, I., Clavel-Pérez, P. I. et al. (2020) Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: What is the best choice? *Nutrition & Diabetes*, vol. 10, no. 1, article 24. <https://doi.org/10.1038/s41387-020-0127-4>
- Romanovsky, D., Walker, J. C., Dobretsov, M. (2008) Pressure pain precedes development of type 2 disease in Zucker rat model of diabetes. *Neuroscience Letters*, vol. 445, no. 3, pp. 220–223. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.08.087>

References

- Altman, D. G., Bland, J. M. (1999) How to randomise. *British Medical Journal*, vol. 319, no. 7211, pp. 703–704. <https://doi.org/10.1136/bmj.319.7211.703> (In English)
- Bayrasheva, V. K., Pchelin, I. Yu., Egorova, A. E. et al. (2019) Eksperimental'nye modeli alimentarnogo ozhireniya u krys [Experimental models of alimentary obesity in rats]. *Juvenis Scientia*, no. 9-10, pp. 8–13. <https://doi.org/10.32415/jscientia.2019.09-10.02> (In Russian)
- Cruz, E. M. S., de Moraes, J. M. B., da Rosa, C. V. D. et al. (2020) Long-term sucrose solution consumption causes metabolic alterations and affects hepatic oxidative stress in Wistar rats. *Biology Open*, vol. 9, no. 3, article bio047282. <https://doi.org/10.1242/bio.047282> (In English)
- Derkach, K. V., Bondareva, V. M., Chistyakova, O. V. et al. (2015) The effect of long-term intranasal serotonin treatment on metabolic parameters and hormonal signaling in rats with high-fat diet/low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetes. *International Journal of Endocrinology*, vol. 2015, no. 6, article 245459. <https://doi.org/10.1155/2015/245459> (In English)
- la Fleur, S. E., Luijendijk, M. C. M., van Rozen, A. J. et al. (2011) A free-choice high-fat high-sugar diet induces glucose intolerance and insulin unresponsiveness to a glucose load not explained by obesity. *International Journal of Obesity*, vol. 35, no. 4, pp. 595–604. <https://doi.org/10.1038/ijo.2010.164> (In English)
- Rodríguez-Correa, E., González-Pérez, I., Clavel-Pérez, P. I. et al. (2020) Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: What is the best choice? *Nutrition & Diabetes*, vol. 10, no. 1, article 24. <https://doi.org/10.1038/s41387-020-0127-4> (In English)
- Romanovsky, D., Walker, J. C., Dobretsov, M. (2008) Pressure pain precedes development of type 2 disease in Zucker rat model of diabetes. *Neuroscience Letters*, vol. 445, no. 3, pp. 220–223. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.08.087> (In English)