

АВИАКОСМИЧЕСКАЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

AVIAKOSMICHESKAYA I EKOLOGICHESKAYA MEDITSINA

НАУЧНЫЙ ПЕРИОДИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
SCIENTIFIC PERIODIC JOURNAL

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Ушаков И.Б., д.м.н., профессор, академик РАН

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Ардашев В.Н., д.м.н., профессор
Баранов В.М., д.м.н., профессор, академик РАН
Буравкова Л.Б., д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН
Бухтияров И.В., д.м.н., профессор
Виноградова О.Л., д.м.н., профессор
Давыдов Б.И., д.м.н., профессор
Денисов С.Л., к.м.н. – заведующий издательством
Иванов И.В., д.м.н., профессор
Ильин Е.А., д.м.н., профессор – заместитель главного редактора
Котов О.В., к.м.н.
Меденков А.А., к.психол.н., д.м.н., профессор
Носков В.Б., д.м.н.
Орлов О.И., д.м.н., член-корреспондент РАН
Синяк Ю.Е., к.м.н., д.т.н., профессор
Усов В.М., д.м.н., профессор
Хоменко М.Н., д.м.н., профессор
Шипов А.А., д.б.н. – ответственный секретарь
Родионова Н.В., д.б.н., профессор (Украина)
Mukai Ch., M.D., Ph.D. (Japan)
Sutton J., M.D., Ph.D. (USA)
Suchet L.G., Ph.D. (France)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Григорьев А.И., д.м.н., профессор, академик РАН – **председатель**
Благинин А.А., д.м.н., д.психол.н., профессор
Гальченко В.Ф., д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН
Жданыко И.М., д.м.н.
Козловская И.Б., д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН
Котовская А.Р., д.м.н., профессор
Никольский Е.Е., д.м.н., профессор, академик РАН
Островский М.А., д.б.н., профессор, академик РАН
Розанов А.Ю., д.г.-м.н., профессор, академик РАН
Рубин А.Б., д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН
Залуцкий И.В., д.б.н., профессор, член-корреспондент НАНБ (Беларусь)
Крышталь О.А., д.б.н., профессор, академик НАНУ (Украина)
Макашев Е.К., д.б.н., профессор, член-корреспондент АН РК (Казахстан)
Gerzer R., M.D., Ph.D., professor (Germany)
Gharib C., Ph.D., professor (France)
Yinghui Li, M.D., Ph.D., professor (China)

2014 Т. 48 № 6

ЖУРНАЛ ОСНОВАН В 1967 ГОДУ

С 1967 по 1974 г. назывался «Космическая биология и медицина»,
с 1974 по 1991 г. – «Космическая биология и авиакосмическая медицина»

**ВХОДИТ В ПЕРЕЧЕНЬ ВЕДУЩИХ РЕЦЕНЗИРУЕМЫХ НАУЧНЫХ ЖУРНАЛОВ
ВЫСШЕЙ АТТЕСТАЦИОННОЙ КОМИССИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Государственный научный центр Российской Федерации –
Институт медико-биологических проблем
Российской академии наук»

**Журнал зарегистрирован в Государственном комитете РФ по печати 28.02.1995,
рег. № 01072, лицензия ИД № 05859 от 18.09.2001 г.**

© Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, 2014
© State Research Center RF – Institute of Biomedical Problems Russian Academy of Sciences, 2014

Все права зарегистрированы. Никакая часть журнала не может быть воспроизведена
каким-либо способом без письменного разрешения Издателя
All rights reserved. Articles and information contained in this publication may not be reproduced
in any form or translated without the written of the Editorial Board

**Метаданные статей, опубликованные в журнале, доступны в базе данных РИНЦ
(www.elibrary.ru) и на сайте журнала journal.imbp.ru**

Выпускающий редактор О.Г. Сорокин
Редакторы: С.О. Николаев, С.М. Плаксина
Корректор М.Е. Козлова
Перевод Л.М. Смирновой
Компьютерная верстка Е.В. Рзаевой

Адрес: 123007, Москва, Хорошевское шоссе, д. 76а, метро «Полежаевская»,
Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН
(редакция) тел.: 8 (499) 195-68-74, факс: 8 (499) 195-22-53, эл. почта: library@imbp.ru
(отв. секретарь) тел.: 8 (499) 195-20-93, эл. почта: shipov3838@mail.ru

Сдано в набор 09.12.2014.
Подписано в печать 22.12.2014.
Формат 60 × 84 1/8.
Гарнитура Таhoma.
Печать офсетная.
Усл. печ. л. 8,37.
Тираж 250 экз.
Заказ № 541.

Отпечатано в типографии ООО ИПЦ «Научная книга».
Адрес: 394030, г. Воронеж, Московский пр-т, д. 116.

Содержание

Contents

Экспериментальные и общетеоретические исследования

Experimental and Theoretical Investigations

Котовская А.Р., Фомина Г.А., Сальников А.В.,
Ярманова Е.Н. Разработка методологии изуче-
ния состояния вен нижних конечностей космо-
навтов в практике космической медицины

5

Kotovskaya A.R., Fomina G.A., Salnikov A.V.,
Yarmanova E.N. Developing the methodology of
examining the lower limb veins in cosmonauts for
the space medicine practice

Моруков И.Б., Рыкова М.П., Антропова Е.Н.,
Берендеева Т.А., Пономарев С.А., Моруков Б.В.
Состояние остеокластактивирующей системы у
космонавтов после длительных космических по-
летов на Международной космической станции

10

Morukov I.B., Rykova M.P., Antropova E.N.,
Berendeeva T.A., Ponomarev S.A., Morukov B.V.
Status of the osteoclast-activating system in
cosmonauts after long-duration missions to the
International Space Station

Ушаков И.Б., Симакова Т.Г., Зипа О.М.,
Черникова А.Г., Баевский Р.М. Использование
донозологического подхода при решении задач
врачебно-лётной экспертизы

16

Ushakov I.B., Simakova T.G., Zipa O.M.,
Chernikova A.G., Baevskiy R.M. Use of the preno-
sology approach for attaining the objectives of pilot
medical expertise

Огнева И.В., Бирюков Н.С., Веселова О.М.,
Ларина И.М. Содержание цитохрома с и функ-
циональная активность митохондрий в клетках
сердечной и скелетной мышц крысы в течение
3 суток гравитационной разгрузки

23

Ogneva I.V., Biruykov N.S., Veselova O.M.,
Larina I.M. Cytochrome c content and mitochon-
drial activity in rat's cardiac and skeletal muscle
cells in the course of 3-day gravitational unloading

Яснецов В.В., Мотин В.Г., Яснецов Вик.В.,
Карсанова С.К., Иванов Ю.В., Чельная Н.А. Дей-
ствие вестибулопротекторов мексидола и мелато-
нина на уровне мозжечка животных

30

Yasnetsov V.V., Motin V.G., Yasnetsov Vik.V.,
Karsanova S.K., Ivanov Yu.V., Chelnaya N.A. Effects
of vestibuloprotectors mexidol and melatonin on
animal cerebellum

Погодина М.В., Буравкова Л.Б. Устойчивость
к окислительному стрессу мультипотентных ме-
зенхимальных стромальных клеток, культивиру-
емых при разном содержании кислорода

34

Pogodina M.V., Buravkova L.B. Oxidative stress
resistance of multipotent mesenchymal stromal cells
cultivated under different oxygen tension

Салтыкова М.М. Изменение комплекса QRS
на электрокардиограмме у здоровых людей при
нагрузочных тестах

39

Saltykova M.M. Alteration of the QRS complex in
electrocardiograms of healthy people in the course
of test loading

Курданова М.Х., Бесланев И.А.,
Батырбекова Л.М., Курданов Х.А. Системный
анализ вариабельности ритма сердца, гемоди-
намики и биоэлектрической активности голов-
ного мозга человека в условиях среднегорья

47

Kurdanova M.Kh., Beslaneev I.A., Batyrbekova L.M.,
Kurdanov Kh.A. System analysis of heart rate
variability, hemodynamics and bioelectrical activity
of the human brain at moderate altitudes

Туртикова О.В., Лысенко Е.А., Немировская Т.Л., Шенкман Б.С. Влияние смеси аминокислот с разветвленной боковой цепью на восстановление атрофированных скелетных мышц крыс

53

Turtikova O.V., Lysenko E.A., Nemirovskaya T.L., Shenkman B.S. Effect of branched-chain amino acids mixture on repair of atrophied rats' skeletal muscles

Информация

Information

Ушаков И.Б., Богомолов В.В., Козловская И.Б., Ярманова Е.Н., Фомина Е.В. Последствия несоблюдения рекомендованных режимов силовых тренировок в космическом полете: уникальный случай вынужденной доработки ложементов на заключительном этапе полета

59

Ushakov I.B., Bogomolov V.V., Kozlovskaya I.B., Yarmanova E.N., Fomina E.V. Consequences of disregarding the recommended strength training regimes in space flight: a unique case of seat liner emergency modification at the final stage of a mission

Боровик А.С., Попов Д.В., Фадин В.Г., Кузьмин И.В., Шарова А.П., Виноградова О.Л. К оценке функциональных возможностей и подбора тренировочных нагрузок для мышц плечевого пояса в лыжном спорте

61

Borovik A.S., Popov D.V., Fadin V.G., Kuzmin I.V., Sharova A.P., Vinogradova O.L. On the functional potential evaluation and selection of skiing-specific training loads for shoulder girdle muscles

Указатель статей 64 Index of Articles

Авторский указатель 69 Author's Index

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И ОБЩЕТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 613.693+611.14:611.98:001.8

РАЗРАБОТКА МЕТОДОЛОГИИ ИЗУЧЕНИЯ СОСТОЯНИЯ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ КОСМОНАВТОВ В ПРАКТИКЕ КОСМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Котовская А.Р., Фомина Г.А., Сальников А.В., Ярманова Е.Н.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

E-mail: kotovskaia@imbp.ru

Статья посвящена разработке методологии изучения состояния вен нижних конечностей космонавтов в условиях невесомости. Дается обоснование выбора аппаратуры и метода окклюзионной плетизмографии для использования их в невесомости. Особое место занимает обоснование положения тела и нижних конечностей для регистрации основных показателей состояния вен космонавтов на Земле до и после космического полета – горизонтальное положение тела и расположение голени на уровне гидродинамически индифферентной точки для минимизации воздействия гравитации на венозное кровообращение. Определение типа окклюзионного теста, величин степеней окклюзии, методика обработки экспериментальных данных и определяемые показатели состояния вен нижних конечностей являются составными частями разработанной методологии.

Ключевые слова: вены, невесомость, окклюзионная плетизмография.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2014. Т. 48. № 6. С. 5–9.

Разработка методологии изучения основных показателей состояния вен нижних конечностей человека в состоянии невесомости является важной задачей, так как, по мнению многих ученых [1–7], изменения венозной гемодинамики в этой области могут явиться первопричиной ухудшения ортостатической устойчивости (ОУ) космонавтов. Ухудшение ОУ зависит от множества факторов, но изучение состояния вен нижних конечностей в условиях космических полетов (КП) как одного из важных звеньев механизма ухудшения ОУ космонавта заслуживает особого внимания. А это, в свою очередь, предусматривает разработку специальной методологии при нахождении космонавта в условиях невесомости, что являлось целью данной работы.

Необходимость изучения влияния невесомости на венозную гемодинамику очевидна, но возможности исследования вен нижних конечностей во время КП ограничивались отсутствием необходимой для этого аппаратуры и тем, что методы изучения вен

в клинической практике не во всем подходили для исследований в условиях невесомости.

В задачи работы входило определить:

- аппаратуру, наиболее подходящую для ее использования в невесомости;
- положение тела и исследуемой конечности на Земле для регистрации основных показателей состояния вен нижних конечностей до КП и после его окончания;
- тип окклюзионного теста;
- величину степеней окклюзии;
- методику обработки экспериментальных данных и определяемые показатели состояния вен нижних конечностей.

Выбор аппаратуры

Методика исследования вен нижних конечностей в условиях КП должна быть достаточно простой, не требующей специальных медицинских навыков для ее выполнения. Этим требованиям отвечала окклюзионная плетизмография голени, позволяющая судить о емкости вен нижних конечностей по изменениям объема голени при дозированной окклюзии оттока крови из них.

Но и в отношении окклюзионной плетизмографии требовался выбор подходящего метода регистрации объема голени. Дело в том, что при перераспределении жидких сред организма в условиях невесомости существенно изменяется геометрия дистальных отделов нижних конечностей. Поэтому методы измерения объема голени, основанные на измерении ее размеров на 2 уровнях (как, например, при ультразвуковой плетизмографии), могли давать слишком приблизительные результаты.

Выбор был сделан в пользу окклюзионной плетизмографии с пневматической измерительной манжетой, охватывающей голень от подколенной ямки до голеностопного сустава. Во Франции был разработан комплекс бортовой аппаратуры «Кардиомед», включавший плетизмограф (рис. 1).

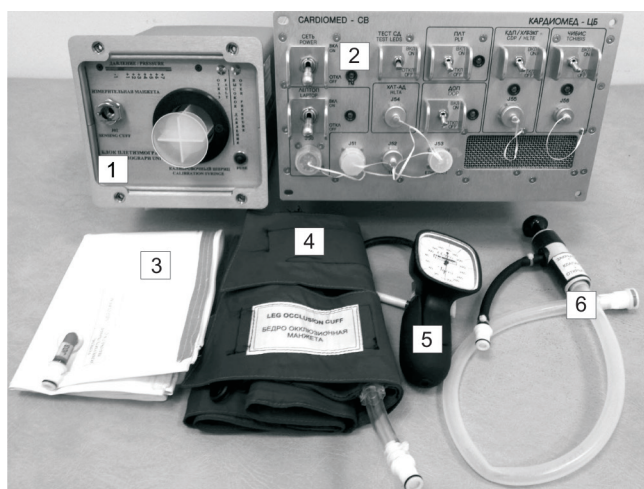


Рис. 1. Общий вид аппаратуры и принадлежностей, используемых при окклюзионной плетизмографии голени. Условные обозначения: 1 – плетизмограф; 2 – центральный блок комплекса «Кардиомед»; 3 – измерительная манжета; 4 – окклюзионная манжета; 5 – ручная помпа для создания окклюзионного давления; 6 – клапан для быстрого сброса окклюзионного давления

Положение тела обследуемого

Гравитационные воздействия оказывают значительное влияние на венозную гемодинамику и состояние периваскулярных тканей: венозное давление в дистальных венах нижних конечностей у человека в горизонтальном положении составляет 6–7 мм рт. ст., а в вертикальном положении – от 70 до 90 мм рт. ст. (в зависимости от роста человека).

При клинических исследованиях вен нижних конечностей с помощью окклюзионной плетизмографии общепринятым являлось приподнятое положение ноги на 30–35 см от горизонтального уровня, при котором отток крови из вен после снятия окклюзионного давления осуществлялся под действием гравитации. При этом по отношению к гидростатически индифферентной точке тела (ГИТ) давление в венах голени было ниже на 250–300 мм вод. ст. (на 17–22 мм рт. ст.). Поскольку в невесомости гидростатическое давление отсутствует, необходимо было изменить методику таким образом, чтобы и на Земле, и в невесомости во время исследований венозное давление в венах голени соответствовало ГИТ. Именно поэтому на Земле исследования необходимо выполнять при горизонтальном положении тела обследуемого, причем исследуемая голень должна быть расположена на уровне ГИТ.

Для обеспечения правильного положения ноги и свободного положения измерительной манжеты обследуемый укладывается на специальный пульт высотой примерно 10–12 см, заканчивающийся на уровне середины бедра, а стопа исследуемой

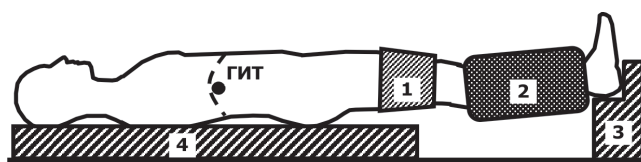


Рис. 2. Положение тела человека и расположение плетизмографических манжет при исследованиях на Земле (схема).

Условные обозначения: 1 – окклюзионная манжета на бедре, 2 – измерительная манжета на голени, 3 – подставка под стопу, 4 – пульт, ГИТ

ноги опиралась пяткой на специальную подставку. Таким образом, голень находится в расслабленном состоянии «на весу», а измерительная манжета ни к чему не прикасается. Положение обследуемого и расположение манжет показано на рис. 2.

Тип окклюзионного теста

В клинической практике применяются 2 типа окклюзионных тестов: непрерывный и дискретный. При непрерывном тесте переход на следующую ступень осуществляется через равные промежутки времени, без учета степени наполнения вен на каждой ступени. Учитывая, что степень наполнения вен при различной величине окклюзионного давления (ОД) является важной информацией, выбор был сделан в пользу дискретного теста, при котором после достижения максимального наполнения вен на каждой ступени теста производится сброс ОД. Критерием максимального наполнения вен нижних конечностей при данном типе теста является достижение равновесия между притоком и оттоком крови, что отражается на кривой изменения объема голени в виде «плато».

Необходимо было также выбрать величину и количество ступеней теста.

Величина ступеней окклюзии

За основу была взята методика теста с окклюзионной плетизмографией, принятая в клинике – тест с дискретно-возрастающими величинами ОД с шагом между ступенями в 10 мм рт. ст. Именно такой тест применялся на орбитальной станции (ОС) «Мир».

Особое внимание было обращено на методику оценки растяжимости вен голени. В клинической практике данный параметр обычно определяется по соотношению между увеличением объема голени и ОД (т.н. комплаенс вен). Поскольку по клинической методике нога находится в приподнятом положении и давление крови в венах голени становится ничтожно малым, ОД считается равным давлению в окклюзионной манжете. Однако при сравнении данных, полученных

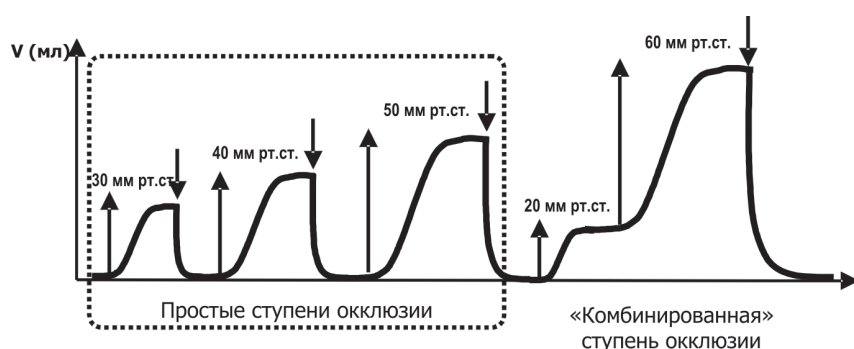


Рис. 3. Схема ступеней окклюзионного теста.

Условные обозначения:

↑ – создание окклюзионного давления; ↓ – сброс окклюзионного давления

на Земле в горизонтальном положении, и в условиях невесомости необходимо было учесть как индивидуальные различия венозного давления, так и его возможные изменения в невесомости. Эти соображения послужили основанием для разработки новой методики оценки растяжимости вен – введения «комбинированной» ступени окклюзионного теста, позволяющей оценивать растяжимость вен голени в заранее определенных границах изменений венозного давления. Для этого у обследуемого вначале необходимо создать ОД на бедре, заведомо превышающее предполагаемое венозное давление на уровне голени, но не вызывающее растяжения венозных стенок (например, 20 мм рт. ст.) и дожидаться выхода плетизмографической кривой на «плато», т.е. достижения равновесия между притоком и оттоком крови. Это состояние венозного кровообращения на уровне голени будет соответствовать венозному давлению 20 мм рт. ст. После этого ОД увеличивается до 60 мм рт. ст. В этом случае изменения объема голени в интервале ОД от 20 до 60 мм рт. ст. позволяют оценивать растяжимость вен голени в одинаковых для всех исследований условиях. «Плато» на кривой изменений объема голени при ОД = 20 мм рт. ст. и ОД = 60 мм рт. ст. «комбинированной» ступени позволяют измерить и рассчитать абсолютную и относительную емкость вен голени на этих ступенях окклюзионного теста.

Данная модификация окклюзионного теста позволяет повысить информативность и сократить время обследования, так как «комбинированная» ступень 20 → 60 мм рт. ст. имеет меньшую продолжительность, чем ранее выполнявшиеся простые ступени 20 и 60 мм рт. ст.

Схема окклюзионного теста представлена на рис. 3.

Методика обработки экспериментальных данных и определяемые параметры

Понятно, что емкость вен нижних конечностей индивидуально различна. При исследовании

корреляции этого показателя с различными антропометрическими параметрами (рост, масса, площадь поверхности тела, индекс массы тела, объем голени и др.) нами установлено, что наиболее значимо емкость вен голени коррелирует с объемом голени (ОГ), $r = 0,7$. В клинических исследованиях изменения ОГ у одного и того же пациента минимальны и ими обычно пренебрегают. Однако в условиях невесомости ОГ существенно, на 25–27 %, уменьшается из-за гипогидратации мягких тканей вследствие перераспределения жидких сред, и такими изменениями уже нельзя пренебрегать.

В наших исследованиях увеличение ОГ при окклюзионном тесте оценивалось не только по абсолютным величинам наполнения (в мл), но и в процентах к исходному ОГ до начала исследования. Данный показатель получил наименование «относительной венозной емкости».

Объем голени на Земле и в условиях полета измерялся при помощи устройства «ИЗОГ» (Измеритель Объема Голени) перед каждым исследованием вен методом окклюзионной плетизмографии. Принцип определения ОГ состоял в измерении окружностей голени на 9 фиксированных уровнях (рис. 4).

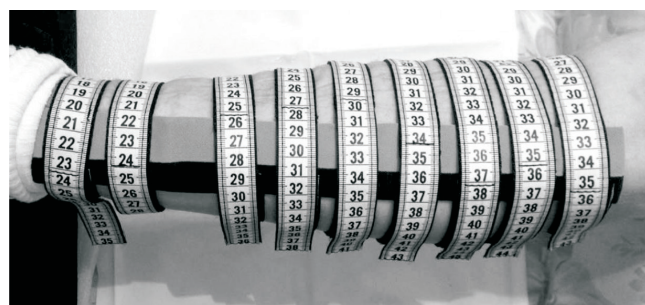


Рис. 4. Измерение объема голени с помощью устройства «ИЗОГ»

Для каждой окружности вычислялся радиус: $R = \text{длина окружности} / 2 \pi$. По этим окружностям голень условно делилась на 8 поперечных сегментов. Объем каждого сегмента рассчитывался по формуле вычисления объема усеченного конуса:

$$V = 1/3 \cdot \pi \cdot h \cdot (R^2 + Rr + r^2),$$

где R и r – радиусы 2 соседних (верхней и нижней) окружностей голени, ограничивающих данный сегмент.

Полный ОГ рассчитывался как сумма объемов всех 8 сегментов.

Таким образом, в программу компьютерной обработки данных PhysioPost, разработанную во Франции, было заложено определение 3 типов показателей:

1. Венозная емкость:
 - абсолютная венозная емкость, V_a – изменения ОГ на каждой ступени окклюзионного теста (30, 40, 50, 20, 20 → 60 мм рт. ст.) – ΔОГ в мл;
 - относительная венозная емкость, V_r – изменения ОГ на каждой ступени теста в % к исходному ОГ – ΔОГ в %.
2. Растяжимость вен:
 - комплаенс вен (C_v) – отношение относительной венозной емкости к величине ОД на каждой ступени теста – ΔОГ / ОД – в % / мм рт. ст.;
 - индекс венозной растяжимости – отношение относительной венозной емкости на ступени 20 → 60 мм рт. ст. к ΔОД (40 мм рт. ст.) – в % / мм рт.ст.
3. Скорость наполнения вен при окклюзии:
 - скорость венозного наполнения до 90 % венозной емкости, $IVF = 90 \% V_a / T$, где T – время наполнения вен на 90 % от максимальной емкости на каждой ступени теста, в мл/мин;
 - скорость артериального притока – скорость увеличения ОГ в первые 20 с от момента создания окклюзии, D_a на каждой ступени теста, в мл/мин.

Таким образом, разработка методологии изучения состояния вен нижних конечностей космонавтов применительно к пребыванию человека в невесомости проходила поэтапно, несколько раз корректировалась по мере накопления опыта и экспериментальных данных и заняла довольно продолжительное время.

Начало этой разработки было связано с поставкой французского плетизмографа на борт ОС «Мир» (1996) для изучения состояния вен. Использование этой аппаратуры было весьма успешным и продолжалось вплоть до конца существования ОС «Мир» (1999). Естественно, это потребовало от нас разработки различных методик: работы с плетизмографом, положения человека при обследовании, регистрации, обработки и анализа данных. На этом этапе основное внимание было сосредоточено на изменениях венозной емкости и растяжимости вен голени космонавтов.

Исследования состояния вен нижних конечностей в условиях невесомости успешно продолжают на российском сегменте Международной космической станции с помощью французского плетизмографа нового поколения. К определению венозной емкости и растяжимости вен по традиционной методике добавлена разработанная нами методика оценки растяжимости вен, а также изучение скорости наполнения вен при окклюзии в условиях земной гравитации и в невесомости.

Выводы

1. Разработана методология исследования состояния вен нижних конечностей человека в условиях невесомости. Обосновано использование в невесомости аппаратуры и метода окклюзионной плетизмографии.
2. Впервые обосновано положение тела и обследуемой конечности космонавта на Земле для регистрации основных показателей состояния вен до и после КП – горизонтальное положение тела и голени на уровне ГИТ.
3. Определены и экспериментально обоснованы тип окклюзионного теста, величины ступеней окклюзии, методика обработки научных данных, а также основные показатели состояния вен космонавтов: венозная емкость, растяжимость и скорость наполнения вен.

Список литературы

1. Егоров А.Д. Механизмы снижения ортостатической устойчивости в условиях длительных космических полетов // *Авиакосм. и экол. мед.* 2001. Т. 35. № 6. С. 3–12.
2. Egorov A.D. Reducing mechanisms of orthostatic stability of human in long-duration space flight // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2001. V. 35. № 6. P. 3–12.
3. Пестов И.Д., Гератеволь З.Дж. Невесомость. Основы космической биологии и медицины. Совм. изд. США/СССР. 1975. М., Т. 2. Кн. 1. С. 324–369.
4. Pestov I.D., Geratevol S.J. Weightlessness. Foundation of space biology and medicine. Joint USA/USSR Publication. 1975. Moscow, V. 2. B. 1. P. 305–354.
5. Фомина Г.А., Котовская А.Р. Изменения венозной гемодинамики человека в длительных космических полетах // *Авиакосм. и экол. мед.* 2005. Т. 39. № 4. С. 25–30.
6. Fomina G.A., Kotovskaya A.R. Shifts in human venous hemodynamics in long-term space flight // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2005. V. 39. № 4. P. 25–30.
7. Шик Л.Л., Сергеева К.А., Моисеев В.А. Изучение причин ортостатической неустойчивости // *Проблемы космической биологии*. Под ред. В.Н. Черниговского. М., 1975. Т. 31. С. 157–164.
8. Shik L.L., Sergeeva K.A., Moiseev V.A. Investigation of reasons of orthostatic instability // *Problems of space biology*. Moscow, 1975. V. 31. P. 157–164.
9. Buckley J.C., Lane L.D., Levine B.D. et al. Orthostatic intolerance after spaceflight // *J. Appl. Physiol.* 1996. V. 81. № 1. P. 7–18.
10. Grandpierre R., Collet M., Hauttement J.L. et al. Intérêt et moyens d'étude de la circulation sanguine périphérique en apesanteur // *Человек в космосе: Труды IV Междунар. симп. по основным проблемам жизни человека в косм. пространстве*. М., 1974. С. 125–141.
11. Grandpierre R., Collet M., Hauttement J.L. et al. Intérêt et moyens d'étude de la circulation sanguine périphérique en

apesanteur // Proceedings of IV Intern. Symp. «Human in space». Moscow, 1974. P. 125–141.

7. Tyberg J.V., Hamilton V.R. Orthostatic hypotension and the role of changes in venous capacitance // Med. Sci. Sport Exerc. 1996. V. 28. P. 29–32.

Поступила 29.09.14

DEVELOPING THE METHODOLOGY OF EXAMINING THE LOWER LIMB VEINS IN COSMONAUTS FOR THE SPACE MEDICINE PRACTICE

Kotovskaya A.R., Fomina G.A., Salnikov A.V., Yarmanova E.N.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2014. V. 48. № 6. P. 5–9

The article centres on development of a methodology for evaluating the function of lower limb veins of cosmonauts in microgravity. The whys and wherefores of the choice of occlusive plethysmography equipment and procedure are explained. Much place is given to arguments for the requisite body and limb positioning during venous plethysmography pre launch and on return from space flight. To minimize the gravity effect on venous blood flow, the body should be in the level position and the calf aligned with the hydrodynamically indifferent point. Determining the type of test occlusion, occlusion adjustments, venous parameters of interest, and data processing procedure constitute the methodology.

Key words: veins, microgravity, occlusion plethysmography.

УДК 612.753

СОСТОЯНИЕ ОСТЕОКЛАСТАКТИВИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ У КОСМОНАВТОВ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ КОСМИЧЕСКИХ ПОЛЕТОВ НА МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ

Моруков И.Б., Рыкова М.П., Антропова Е.Н., Берендеева Т.А., Пономарев С.А., Моруков Б.В.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

E-mail: rykovamarina@yandex.ru

Представлены результаты изучения системы остеопротегерин/лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа-В (OPG/RANKL) у 22 российских космонавтов, принимавших участие в длительных (124–199 сут) экспедициях на Международной космической станции. Показано, что в ранний период реадaptации к земным условиям наблюдаются изменения содержания OPG и RANKL в сыворотке крови, а также OPG- и RANKL-продуцирующей способности нестимулированных и стимулированных ФГА мононуклеарных клеток периферической крови в системе in vitro. Отмечена индивидуальная вариабельность этих изменений. Полученные результаты указывают на участие цитокиновой OPG/RANKL-системы в процессах костного ремоделирования у космонавтов после длительных космических полетов.

Ключевые слова: OPG, RANKL, космические полеты.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2014. Т. 48. № 6. С. 10–15.

Многолетние исследования костной системы у членов экипажей длительных экспедиций на орбитальной станции (ОС) «Мир» и Международной космической станции (МКС) выявили изменения костной массы разных сегментов скелета, выраженность которых во многом зависит от расположения кости по отношению к вектору гравитации [1–5]. В целом события, происходящие в костной системе в длительном космическом полете (КП), описываются феноменом быстро развивающейся, но обратимой остеопении и рассматриваются как проявление функциональной адаптации костной ткани к меняющейся механической нагрузке на скелет [3–5]. Теоретически оправданно считать, что одним из механизмов, лежащих в основе локальной потери костной массы в условиях микрогравитации, является изменение баланса процессов ремоделирования костной ткани, которые во многом зависят от функционального состояния остеогенных клеток. Предположение, что активация и регуляция ремоделирования костной ткани являются следствием взаимодействия остеобластов и остеокластов, получило подтверждение в многочисленных исследовательских работах [6, 7]. Значительный

прогресс в понимании процессов костного ремоделирования был достигнут с открытием цитокиновой системы RANKL-RANK-OPG [8], играющей ключевую роль в формировании, дифференцировке и активности остеокластов. Открытие этой системы стало краеугольным камнем для понимания патогенеза остеопороза, остеокластогенеза и регуляции костной резорбции, а также других процессов, вовлеченных в локальное ремоделирование кости [8]. Регуляция остеокластогенеза осуществляется в основном при помощи 2 цитокинов: лиганда рецептора – активатора ядерного фактора каппа-В (RANKL) и остеопротегерина (OPG). RANKL – относится к лигандам семейства ФНО α и продуцируется клетками остеобластного ряда и активированными Т-лимфоцитами [9, 10]. Взаимодействие RANKL с RANK-рецептором, экспрессированным на предшественниках остеокластов, запускает каскад реакций, приводящих к угнетению апоптоза остеокластов, стимулированию их созревания, дифференцировки и активности [11–13]. OPG – «ложный» растворимый рецептор для RANKL, синтезируемый и высвобождаемый остеобластными клетками, а также клетками стромы и иммунокомпетентными клетками, напротив, ингибирует остеокластогенез, блокируя связывание RANKL с RANK [14–16]. Полагают, что характер ремоделирования костной ткани во многом определяется балансом между продукцией RANKL и OPG. Так, повышенное соотношение OPG/RANKL связывают со способностью поддерживать формирование и активацию остеокластов [15, 16].

Целью данного исследования является характеристика цитокинов OPG/RANKL-системы у космонавтов до и после завершения длительных орбитальных полетов на МКС.

Методика

Материалом исследований являлась венозная кровь, взятая за 60 сут до старта и на 1–7-е сутки после приземления у 22 российских космонавтов, принимавших участие в длительных (124–199 сут) экспедициях на МКС.

Таблица 1

Показатели метаболизма костной ткани в сыворотке периферической крови космонавтов до и после длительных КП на МКС (М ± m)

Показатели	До полета	После полета	
		1-е сутки	7-е сутки
КФтарт, Ед/л	2,32 ± 0,144	3,25 ± 0,242*	2,64 ± 0,285
Остеокальцин, пмоль/л	21,81 ± 1,717	23,79 ± 2,145	29,00 ± 2,932*
OPG, пг/мл	24,2 ± 12,174	20,18 ± 2,405*	21,11 ± 2,624
RANKL, пмоль/л	0,39 ± 0,03	0,33 ± 0,018	0,3 ± 0,025*
OPG/ RANKL	72,01 ± 10,457	64,31 ± 7,596	82,06 ± 14,231

Примечание. * – здесь и в табл. 2 достоверное различие с фоном (p < 0,05).

Способность иммуноцитов секретировать OPG и RANKL в системе *in vitro* изучали в 48-часовых нестимулированных и стимулированных фитогемагглютинином-П из *Phaseolus vulgaris* (ФГА-П, «ПанЭко», Россия) в концентрации 20 мкг/мл культурах моноклеарных клеток (МНК) периферической крови. Культуры МНК периферической крови инкубировали в CO₂-инкубаторе Binder (Binder GmbH, Германия) при температуре 37 °C в атмосфере с 5 % CO₂. После окончания культивирования клетки осаждали центрифугированием при 400 g в течение 15 мин. Полученные супернатанты хранили при температуре -80 °C.

Концентрации OPG и RANKL в сыворотке крови и в супернатантах клеточных культур определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартных наборов реактивов фирмы eBioscience (Австрия) на автоматическом анализаторе MINILYSER (Австрия).

Концентрации остеокальцина и тартрат-резистентной кислой фосфатазы (КФтарт) в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартных наборов реактивов фирмы Immunodiagnostic Systems (Великобритания) на автоматическом анализаторе MINILYSER (Австрия).

Результаты исследований были обработаны с использованием пакета прикладных программ Statistica for Windows 6.0. Достоверность различий оценивали методом парного сравнения средних по критерию Вилкоксона.

Результаты и обсуждение

В настоящее время для оценки метаболических процессов в костной ткани все более широко используется исследование биохимических маркеров костного метаболизма. Эти маркеры являются производными деятельности остеобластов и остеокластов, а их уровень в крови и моче дает представление об интенсивности костного обмена [17].

Исследования маркеров метаболизма костной ткани после КП начали проводить относительно недавно, но накопленные к настоящему времени пока еще немногочисленные данные показали, что изучение их динамики позволяет получить ценную информацию о балансе процессов резорбции и новообразования кости во время и после продолжительного пребывания космонавтов в условиях КП [18–23].

К наиболее часто используемым маркерам костеобразования относятся КФтарт и остеокальцин. КФтарт является специфичным маркером костной резорбции. Активность этого костного изофермента кислой фосфатазы, секретлируемого остеокластами [24], увеличивается при росте скорости костного ремоделирования, в том числе и при первичном остеопорозе [25]. Остеокальцин является маркером остеосинтеза, его концентрация в крови отражает метаболическую активность остеобластов костной ткани. Он также может быть прогностическим индикатором при заболевании костей [26].

Исследование содержания КФтарт и остеокальцина в сыворотке крови у 22 космонавтов после космических экспедиций продолжительностью 124–199 сут показало, что в ранний период реадaptации наблюдалось существенное повышение этих маркеров (табл. 1). Данные, обработанные в абсолютных значениях, подтверждает анализ изменений этих биохимических маркеров костного метаболизма в процентном отношении к предполетному уровню. В послеполетный период концентрация КФтарт по усредненным данным составляла на 1-е сутки 129,6 ± 11,15 %, а на 7-е сутки – 125,3 ± 13,71 % от фоновых значений. Среднегрупповое значение концентрации остеокальцина на 1-е и 7-е сутки после возвращения на Землю составило 118 ± 12,22 % и 141,7 ± 12,95 % соответственно от предполетного уровня. Результаты проведенных исследований не противоречат опубликованным ранее данным, что в острый период реадaptации после завершения длительных КП наблюдается активизация как процесса резорбции костной ткани, так и образования костной ткани *de novo* [23].

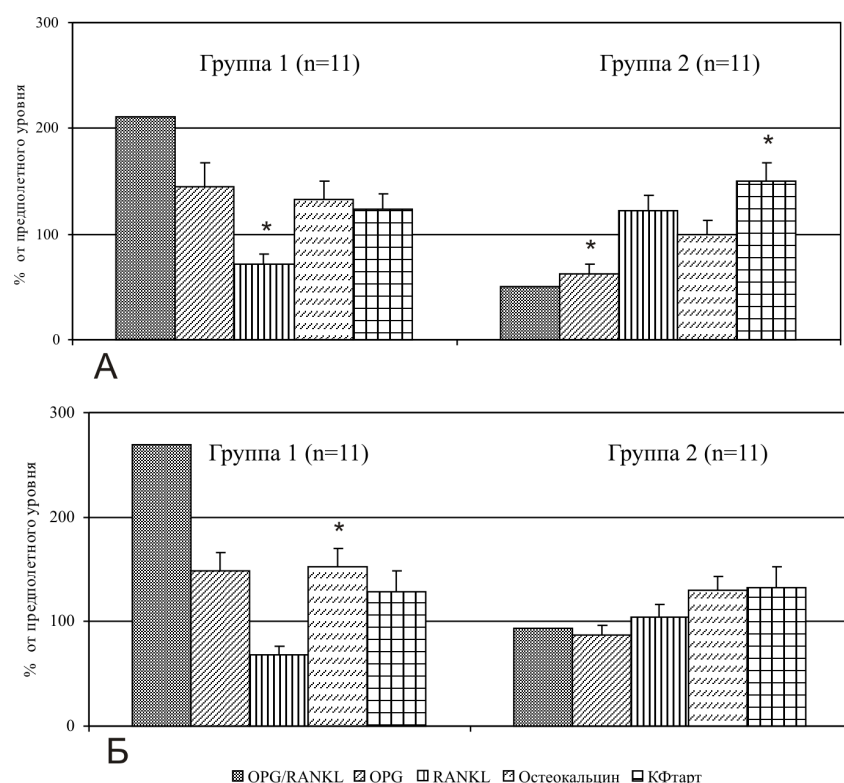


Рис. 1. Показатели системы OPG/RANKL и биохимических маркеров метаболизма костной ткани в сыворотке крови космонавтов до и после длительных КП на МКС (% от предполетного уровня, $M \pm m$): А – 1-е сутки после полета; Б – 7-е сутки после полета; * – достоверное различие с фоном, $p < 0,05$

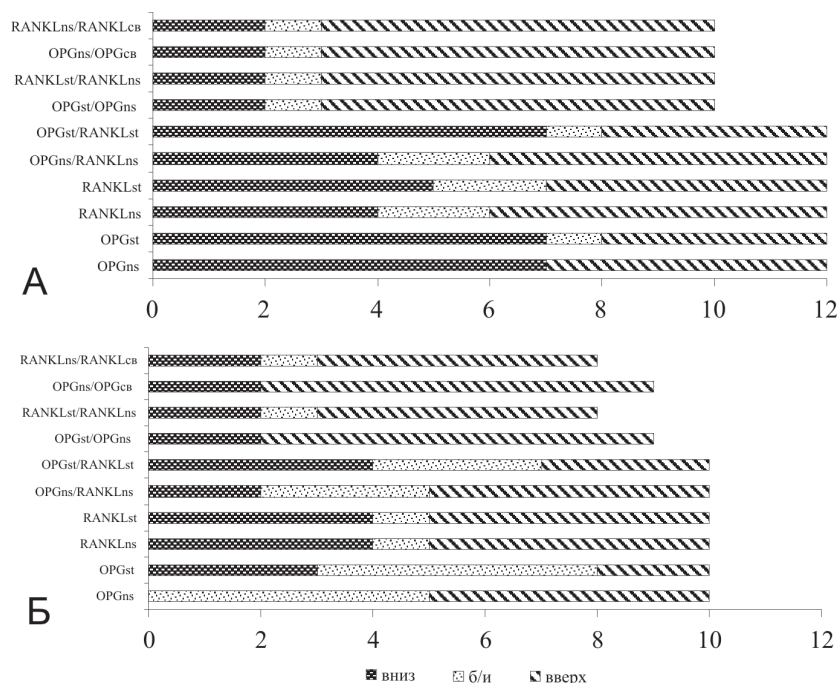


Рис. 2. Частота встречаемости отклонений от предполетного уровня продукции OPG и RANKL мононуклеарными клетками периферической крови космонавтов в нестимулированных (ns) и стимулированных ФГА (st) 48-часовых культурах клеток (индивидуальные данные): А – 1-е сутки после полета; Б – 7-е сутки после полета

Результаты исследования уровня OPG и RANKL в сыворотке крови космонавтов показали, что по усредненным данным как на 1-е, так и на 7-е сутки после возвращения на Землю наблюдалось снижение содержания этих ключевых регуляторных белков, контролирующих активность остеобластов и остеокластов (см. табл. 1). В эти сроки обследования соотношение RANKL/OPG существенно не отличалось от предполетного уровня. Однако при рассмотрении индивидуальных данных отмечена высокая вариабельность и разнонаправленная динамика этого показателя (рис. 1). Так, у 11 космонавтов на 1-е сутки после возвращения на Землю было отмечено повышение соотношения OPG/RANKL (см. рис. 1, группа 1). В то же время у других 11 космонавтов в ранний период реадaptации, напротив, наблюдалось снижение этого соотношения (см. рис. 1, группа 2). Как видно из представленных результатов, на 1-е сутки после приземления повышение соотношения содержания в сыворотке крови OPG и RANKL было обусловлено существенным снижением содержания RANKL в сыворотке крови, а снижение соотношения OPG и RANKL – снижением содержания OPG. Анализ полученных результатов также позволил отметить зависимость между соотношением OPG/RANKL и концентрацией биохимических маркеров обмена костной ткани. Так, в группе обследованных космонавтов, у которых после полета было выявлено существенное снижение этого интегрального показателя на 1-е сутки после возвращения на Землю, наблюдалось не только значительное снижение уровня OPG, но и значительное увеличение уровня КФтарт в сыворотке крови, указывающее на преобладание процессов резорбции над образованием новой костной ткани. При этом в группе обследованных космонавтов, у которых после полета было выявлено существенное повышение соотношения OPG/RANKL, отмечали снижение концентрации RANKL и увеличение содержания

Таблица 2

Содержание OPG и RANKL в надосадочных жидкостях нестимулированных (ns) и стимулированных ФГА (st) 48-часовых культур мононуклеарных клеток периферической крови космонавтов до и после длительных КП на МКС ($M \pm m$)

Показатели	До полета	После полета	
		1-е сутки	7-е сутки
Содержание OPGns, пг/мл	5,74 ± 0,97	6,97 ± 1,017	8,95 ± 1,157*
Содержание OPGst, пг/мл	15,42 ± 5,286	9,72 ± 1,461	11,27 ± 1,043
Соотношение OPGst и OPGns	3,55 ± 1,331	3,68 ± 1,432	1,11 ± 0,08
Содержание RANKLns, пмоль/л	0,19 ± 0,039	0,37 ± 0,169	0,23 ± 0,066
Содержание RANKLst	0,34 ± 0,066	0,48 ± 0,161	0,4 ± 0,08
Соотношение содержания RANKLst и RANKLns	3,78 ± 0,991	2,73 ± 1,117	3,23 ± 1,183
Соотношение содержания OPGns и RANKLns	51,02 ± 16,824	32,82 ± 5,892	60,11 ± 12,882
Соотношение содержания OPGst и RANKLst	108,90 ± 63,925	46,31 ± 11,748	39,38 ± 8,267
Соотношение содержания OPGns и содержания OPG в сыворотке крови	0,37 ± 0,127	0,66 ± 0,191	0,52 ± 0,079
Соотношение содержания RANKLns и содержания RANKL в сыворотке крови	0,48 ± 0,138	0,60 ± 0,084	0,64 ± 0,161

остеокальцина, указывающие на преобладание процессов синтеза костной ткани.

Таким образом, сопоставление результатов исследования содержания биохимических маркеров обмена костной ткани, OPG и RANKL в сыворотке крови свидетельствует об участии цитокиновой OPG/RANKL-системы в процессах костного ремоделирования у космонавтов после длительных КП.

Исследования способности МНК периферической крови членов экипажей длительных экспедиций на МКС продуцировать факторы контроля остеогенеза на уровне остеокласто-остеобластогенеза в системе *in vitro* не выявили статистически достоверных изменений способности иммунокомпетентных клеток синтезировать OPG и RANKL на 1-е сутки послепополетного периода (табл. 2). Вместе с тем анализ динамики индивидуальных показателей позволил отметить, что у 7 из 12 человек в этот период наблюдалось снижение синтеза OPG на 15–57 % от исходного уровня в 48-часовых культурах МНК в отсутствие стимуляции (рис. 2). Однако уже на 7-е сутки после возвращения на Землю у этих космонавтов содержание OPG в супернатантах нестимулированных клеточных культур не отличалось от предполетных значений. Напротив, у 5 из обследованных космонавтов наблюдался обратный эффект – повышение продукции этого регуляторного белка иммунокомпетентными клетками не только на 1-е, но и на 7-е сутки реабилитационного периода (на 16–217 и 63–142 % от предполетного уровня соответственно). Обращает на себя внимание тот факт, что в ранний послепополетный период направленность изменений концентрации RANKL в 48-часовых культурах МНК в отсутствие стимуляции, была в целом аналогична направленности изменений OPG: уровень продукции RANKL составлял 25–568 и

30–385 % от фоновых значений соответственно на 1-е и 7-е сутки после приземления. Только у 3 из обследованных космонавтов изменения способности МНК периферической крови синтезировать OPG и RANKL в нестимулированных культурах клеток имели разнонаправленный характер: у 2 из обследованных – снижение продукции OPG и повышение продукции RANKL, а у 1, напротив, – повышение продукции OPG и снижение продукции RANKL. Складывается впечатление, что комплексное воздействие факторов КП вызывало определенное напряжение системы иммунитета, о чем свидетельствует повышение способности иммунокомпетентных клеток к продукции факторов контроля остеогенеза. Такой характер сдвигов свидетельствует о том, что произошел переход функциональной активности иммунокомпетентных клеток на новый уровень, соответствующий условиям длительной космической экспедиции. Учитывая, что процесс ремоделирования костной ткани во многом определяется балансом между продукцией OPG и RANKL, представлялось целесообразным также оценить соотношение содержания OPG и RANKL в культурах нестимулированных иммунокомпетентных клеток. Анализ полученных результатов показал, что у некоторых из обследованных космонавтов в ранний послепополетный период наблюдались изменения, ассоциированные с повышением способности поддерживать формирование и активацию остеокластов, – снижение соотношения OPG/RANKL (см. рис. 2).

Для определения резервных возможностей иммунокомпетентных клеток продуцировать OPG и RANKL использовали нагрузочный тест *in vitro*. Результаты показали, что у значительной части обследованных космонавтов в ранний послепополетный период наблюдалось снижение способности

лимфоцитов продуцировать в ответ на стимуляцию ФГА эти молекулы цитокиновой системы (см. рис. 2). В супернатантах культур мононуклеарных клеток периферической крови космонавтов, стимулированных ФГА, у значительной части обследованных космонавтов выявлено снижение способности лимфоцитов продуцировать OPG и RANKL. При этом соотношение уровней индуцированного и спонтанного синтеза как OPG, так и RANKL в культурах клеток было ниже по сравнению с аналогичными показателями перед полетом. Подобные изменения указывают на истощение OPG- и RANKL-синтезирующей способности лимфоцитов, причем диапазон функциональных резервов иммунокомпетентных клеток в условиях длительного КП у разных индивидуумов неодинаков.

Следует отметить, что соотношение содержания в супернатантах нестимулированных культур МНК периферической крови *in vitro* и в сыворотках крови OPG и RANKL после полета по сравнению с фоном увеличивалось (см. табл. 2): OPG на $178,9 \pm 81,61$ и $153,7 \pm 32,11$ % на 1-е и 7-е сутки соответственно, а RANKL – на $114,8 \pm 38,1$ и $105,3 \pm 38,5$ %. Несмотря на то, что из-за значительного индивидуального разброса выявленные изменения этих показателей статистически не достоверны (см. рис. 2), они могут рассматриваться как один из аргументов для подтверждения гипотезы о важной роли мобилизационной активности клеток иммунной системы в достижении баланса между процессами резорбции и формирования костной ткани при длительном пребывании человека в условиях микрогравитации.

Выводы

1. Пребывание в условиях длительных КП на МКС оказывает влияние на систему остеопротекторин/лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа-В (OPG/RANKL) у космонавтов.

2. Анализ OPG- и RANKL-продуцирующей способности мононуклеарных клеток периферической крови свидетельствует о роли иммунокомпетентных клеток в качестве продуцентов цитокинов, участвующих в механизмах адаптации костной ткани к изменениям гравитационной среды.

3. Обнаруженные межиндивидуальные различия изменений в системе OPG/RANKL, контролирующей активность остеобластов и остеокластов, не только показывают, что усредненные данные не дают полного представления о динамике процессов ремоделирования костной ткани в реадаптационный период, но и указывают на необходимость учета этих различий при проведении профилактических и корригирующих мероприятий.

Список литературы

1. Григорьев А.И., Воложин А.И., Ступаков Г.П. Минеральный обмен у человека в условиях измененной гравитации // Пробл. косм. биол. 1994. Т. 74.
2. Grigoriev A.I., Volozhin A.I., Stupakov G.P. Mineral metabolism in man under altered gravitation // Problemy kosmicheskoy biologii. 1994. V. 74.
3. Газенко О.Г., Григорьев А.И., Егоров А.Д. Физиологические эффекты действия невесомости на человека в условиях космического полета // Физиология человека. 1997. Т. 23. № 2. С. 138–146.
4. Gazenko O.G., Grigoriev A.I., Egorov A.D. Physiological effects of weightlessness on humans under space flight conditions // Fiziologiya cheloveka. 1997. V. 23. № 2. P. 138–146.
5. Оганов В.С. Костная система, невесомость и остеопороз. М., 2003.
6. Oganov V. S. The skeletal system, weightlessness, and osteoporosis. Moscow, 2003.
7. Оганов В.С., Богомолов В.В. Костная система человека в условиях невесомости. Обзор результатов исследований, гипотезы и возможность прогноза состояния в длительных (межпланетных) экспедициях // Авиакосм. и экол. мед. 2009. Т. 43. № 1. С. 3–11.
8. Oganov V.S., Bogomolov V.V. Human bone system in microgravity: review of research data, hypotheses and predictability of [the bone system] state in extended (exploration) missions // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2009. V.43. № 1. P. 3–11.
9. Оганов В.С., Григорьев А.И. О механизмах остеопении и особенностях метаболизма костной ткани человека в условиях невесомости // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2012. Т. 98. № 3. С. 91–105.
10. Oganov V.S., Grigoriev A.I. On mechanisms of osteopenia and specific features of metabolism of human bony tissue under conditions of weightlessness // Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal imeni I.M. Sechenova. 2012. V. 98. № 3. P. 91–105.
11. Raggatt L.J., Partridge N.C. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling // J. Biol. Chem. 2010. V. 285. № 33. P. 25103–25108.
12. Umland E.M. An update on osteoporosis epidemiology and bone physiology // Univer. Tennessee Adv. Stud. Pharm. 2008. V. 5. № 7. P. 210–214.
13. Sagalovsky S., Schonert M. RANKL-RANK-OPG system and bone remodeling: a new approach on the treatment of osteoporosis // Clin. Exptl. Pathol. 2011. V. 10. № 2. P. 146–153.
14. Hsu H., Lacey D.L., Dunstan C.R. et al. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. № 7. P. 3540–3545.
15. Schneeweis L.A., Willard D., Milla M.E. Functional dissociation of osteoprotegerin and its interaction with receptor activator of NF- κ B ligand // J. Biol. Chem. 2005. V. 280. № 41. P. 155–164.

11. Lacey D.L., Tanims E., Tan H.L. et al. Osteoprotegerin ligand is cytokine that regulated osteoclast differentiation and activation // *Cell*. 1998. V. 93. P. 165–176.
12. Leibbrandt A., Penninger J.M. RANK/RANKL: regulators of immune responses and bone physiology // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2008. V. 1143. P. 123–150.
13. Anandarajah A.P. Role of RANKL in bone diseases // *Trends Endocrinol. Metab.* 2009. V. 20. № 2. P. 88–94.
14. Kearns A.E., Khosla S., Kostenuik P.J. Receptor activator of nuclear factor κ B ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease // *Endocrine Reviews*. 2008. V. 29. № 2. P. 155–192.
15. Vega D., Maalouf N.M., Sakhaee K. The role of receptor activator of nuclear factor κ B (RANK) RANK-ligand/osteoprotegerin: clinical implications // *J. Clin. Endocrinol. and Metabolism*. 2007. V. 92. № 12. P. 4514–4521.
16. Boyce B.F., Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin // *Arthritis Research & Therapy*. 2007. V. 9 (Suppl. 1). S. 1.
17. Miki T., Naka H. Metabolic markers of bone-postguideline // *Nippon Rinsho*. 2006. V. 64. № 9. P. 1625–1631.
18. Caillot-Augusseau A., Lafage-Proust M.H., Soler C. et al. Bone formation and resorption biological markers in cosmonauts during and after a 180-day space flight (Euromir 95) // *Clin. Chemistry*. 1998. V. 44. № 3. P. 578–585.
19. Smith S.M., Nillen J.L., Leblanc A. et al. Collagen cross-link excretion during space flight and bed rest // *J. Clin. Endocrinol. and Metabolism*. 1998. V. 83. № 10. P. 3584–3591.
20. Caillot-Augusseau A., Vico L., Heer M. et al. Space flight is associated with rapid decreases of undercarboxylated osteocalcin and increases of markers of bone resorption without changes in their circadian variation: Observations in two cosmonauts // *Ibid*. 2000. V. 46. № 8. P. 1136–1143.
21. Smith S.M., Wastney M.E., Morukov B.V. et al. Calcium metabolism before, during, and after a 3-mo spaceflight: kinetic and biochemical changes // *Am. J. Physiol.* 1999. V. 277. № 1. R1–R10.
22. Smith S.M., Wastney M.E., O'Brien K.O. et al. Bone markers, calcium metabolism, and calcium kinetics during extended-duration space flight on the Mir space station // *J. Bone Miner. Res.* 2005. V. 20. № 2. P. 208–218.
23. Моруков Б.В., Ничипорук И.А., Третьяков В.С., Ларина И.М. Биохимические маркеры обмена костной ткани у космонавтов после продолжительного космического полета // *Физиология человека*. 2005. Т. 31. № 6. С. 1–6.
24. Morukov B.V., Nichiporuk I.A., Tretiyakov V.S., Larina I.M. Biochemical markers of bone tissue metabolism in cosmonauts after a prolonged spaceflight // *Fiziologiya cheloveka*. 2005. V. 31. № 6. P. 1–6.
25. Долгов В.В., Ермакова И.П. Лабораторная диагностика обмена минералов и заболеваний костей // *Остеопороз и остеопатии*. 2000. № 3. С. 41–48.
26. Долгов В.В., Ермакова И.П. Laboratory diagnostics of the exchange of minerals and bone disease // *Osteoporoz i osteopatii*. 2000. № 3. P. 41–48.
27. Коровина Н.А., Свинцицкая В.И. Варианты остеопений при тубулоинтерстициальных заболеваниях почек у детей // *Педиатрия*. 2010. № 6. С. 12–16.
28. Korovina N.A., Svintsitskaya V.I. Osteopenia options in tubulointerstitial kidney diseases in children // *Pediatrics*. 2010. № 6. P. 12–16.

Поступила 01.08.14

STATUS OF THE OSTEOCLAST-ACTIVATING SYSTEM IN COSMONAUTS AFTER LONG-DURATION MISSIONS TO THE INTERNATIONAL SPACE STATION

Morukov I.B., Rykova M.P., Antropova E.N., Berendeeva T.A., Ponomarev S.A., Morukov B.V.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2014. V. 48. № 6. P. 10–15

The results of studying the system of osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (OPG/RANKL) in 22 cosmonauts after long-duration (124 to 199 days) ISS missions are presented. Immediately on return to 1 g, changes were observed in OPG and RANKL serum levels and the ability to produce unstimulated and stimulated PGA of peripheral blood mononuclear cells in vitro. Individual variability of these changes was noticed. Our findings suggest that the cytokine OPG/RANKL-system is involved in bone remodeling in members of long-duration space missions.

Key words: OPG, RANKL, space flight.

УДК 613.693+612.017.2

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДОНОЗОЛОГИЧЕСКОГО ПОДХОДА ПРИ РЕШЕНИИ ЗАДАЧ ВРАЧЕБНО-ЛЕТНОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ

Ушаков И.Б.¹, Симакова Т.Г.², Зипа О.М.³, Черникова А.Г.¹, Баевский Р.М.¹

¹Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

²Центр биотической стоматологии, Москва

³ЦКБ гражданской авиации, Москва

E-mail: anna.imbp@mail.ru

Ранняя диагностика у пилотов старшего возраста заболеваний и состояний, неблагоприятных для безопасности авиационных полетов, тесно связана с оценкой рисков их развития. Донозологическая диагностика изучает пограничные состояния, которые являются переходными как от здоровья к болезни (донозологические и преморбидные состояния), так и от болезни к выздоровлению (постнозологические состояния). Донозологическая диагностика ориентирована не столько на вероятное развитие болезни, сколько на способность организма адаптироваться к условиям окружающей среды, а здоровье рассматривается как необходимый резерв адаптации и может косвенно оцениваться по величине этого резерва. Стойкое снижение адаптационных резервов может стать одной из причин повышения рисков различных заболеваний. Одним из методов донозологической диагностики является анализ вариабельности сердечного ритма. В данной работе рассмотрено применение разработанного в космической медицине вероятностного подхода к оценке адаптационных рисков во врачебно-летной экспертизе лиц летного состава гражданской авиации. Результаты 2 серий исследований показали, что пилоты, признанные негодными к дальнейшей летной работе, отличаются более высоким адаптационным риском и сниженными функциональными резервами.

Ключевые слова: донозологическая диагностика, адаптационный риск, врачебно-летная экспертиза, вариабельность сердечного ритма.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2014. Т. 48. № 6. С. 16–22.

На современном этапе развития авиации одной из серьезнейших проблем является человеческий фактор [1–4]. Непрерывное совершенствование летательных аппаратов подразумевает постоянный пересмотр стандартов для медицинского освидетельствования летного состава, внедрение более информативных методов функционального исследования различных систем организма. Несмотря на широкое использование в авиационной медицине современных методов обследования, наряду с совершенствованием профессионального

медицинского отбора, наиболее актуальной остается проблема ранней диагностики и оценка рисков возникновения заболеваний и состояний, неблагоприятных для безопасности авиационных полетов.

Согласно существующему законодательству, все пилоты в возрасте старше 55 лет подлежат стационарному обследованию для допуска к дальнейшей летной работе. В этом возрасте у людей обычно уже имеются возрастные изменения многих систем, в частности, сердечно-сосудистой системы. Кроме наличия заболеваний, решение о допуске к летной работе принимается на основе анализа многих дополнительных факторов, таких как функциональные изменения, их выраженность, степень компенсации, стойкость, влияние на возможность продолжения профессиональной деятельности и многие другие. Для дальнейшего совершенствования методов обследования пилотов необходимо применение новых подходов. Одним из них является донозологическая диагностика [5], которая изучает функциональные состояния организма на грани нормы и патологии. Развитие учения о донозологических состояниях связано с космической медициной, когда начиная с первых полетов медицинский контроль за состоянием здоровья космонавтов ориентировался не столько на вероятное развитие болезней, сколько на способность организма адаптироваться к новым необычным условиям окружающей среды. Прогнозирование возможных изменений функционального состояния в космическом полете основывалось на оценке степени напряжения регуляторных систем организма. Развитие донозологической диагностики сделало возможным выделение среди практически здоровых людей обширных групп лиц с высоким и очень высоким напряжением регуляторных систем, с повышенным риском срыва адаптации и появления патологических отклонений и заболеваний. Целью данной работы является исследование возможности использования донозологического подхода на основе метода анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР) в практике врачебно-летной экспертизы летного состава старшей возрастной группы.

Методика

Обследованы 111 пилотов, мужчины в возрасте 39–64 лет, которые находились на обследовании в отделении врачебно-лётной экспертизы ЦКБ гражданской авиации. Экспертная оценка была осуществлена в Центральной врачебно-лётной экспертной комиссии гражданской авиации на основании результатов клинических обследований. К числу лиц, признанных негодными к лётной работе, были отнесены пациенты с гипертонической болезнью 1–2-й стадии, с атеросклерозом аорты или сосудов головного мозга, с признаками ишемической болезни сердца, а также с язвенной болезнью и другими видами патологии. Были сформированы 2 группы пилотов: 1) признанные годными к дальнейшему выполнению лётной работы (77 человек, средний возраст 49,5 года); 2) признанные негодными к дальнейшей лётной работе (34 человека, средний возраст 51,8 года).

Было проведено 2 серии исследований. В 1-й серии (46 человек, признанных годными, и 16 человек, признанных негодными к дальнейшей лётной работе) протокол исследований включал 5-минутную регистрацию ЭКГ в условиях покоя в положении сидя после предшествующего 10-минутного отдыха, при проведении 5-минутных тестов с фиксированным темпом дыхания 10 дыханий в минуту (ФТД10) и 6 дыханий в минуту (ФТД6), при проведении активной ортостатической пробы с переходом из положения лежа (10 мин) в положение стоя (10 мин). Во 2-й серии исследований (31 человек, признанный годным и 18 человек, признанных негодными к дальнейшей лётной работе) тест ФТД6 был заменен на пробы Штанге (задержка дыхания на вдохе) и Генча (задержка дыхания на выдохе), в протокол исследований были включены также этап восстановления после дозированной физической нагрузки (5 мин) и регистрация ЭКГ во время выполнения психофизиологического тестирования (простая и сложная зрительно-моторная реакция).

Для оценки функционального состояния и выявления лиц с повышенным риском развития патологии был использован анализ ВСР, который широко используется в клинической практике и прикладной физиологии [6, 7]. В 1-й серии исследований использовался аппаратно-программный комплекс «Варикард», рекомендованный Минздравом РФ к применению в клинических исследованиях. Вычислялись общепринятые временные и частотные показатели ВСР. По этим показателям определялся ряд параметров, характеризующих функциональное состояние организма и используемых в донозологической диагностике. Во 2-й серии исследований использовался прибор «Пневмокард», созданный для изучения системы кровообращения в условиях космического полета (КП) [8].

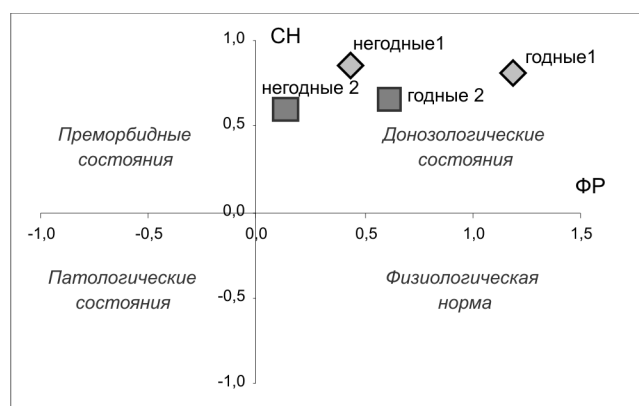


Рис. 1. Фазовое пространство функциональных состояний с координатами СН (степень напряжения регуляторных систем) и ФР (функциональные резервы) и расположение в нем обследованных групп пилотов (для состояния покоя)

Применялись также новые подходы к анализу ВСР, разработанные применительно к задачам космической медицины. Они основаны на принципах донозологической диагностики и математической модели функциональных состояний [9, 10], с помощью которой строится фазовое пространство функциональных состояний с координатами СН (степень напряжения регуляторных систем) и ФР (функциональные резервы) (рис. 1). В фазовом пространстве функциональных состояний выделяются 4 зоны, соответствующие состояниям «Физиологическая норма», «Донозологические состояния», «Преморбидные состояния», «Патологические состояния». По значениям СН и ФР вычисляется вероятность каждого из вышеуказанных четырех функциональных состояний. Функциональное состояние каждого человека не является однозначным и несет в себе признаки всех вероятных состояний. Чем больше признаков донозологического и преморбидного состояния, тем выше риск развития патологии и дезадаптации. На основе вероятностного подхода предложена концепция адаптационного риска [10] и выделены 10 условных категорий риска развития патологии, установленные применительно к воздействию на организм стрессорных условий КП. В категориях 1 и 2 преобладает вероятность состояния «физиологическая норма», в категориях 3–6 – вероятности донозологических состояний; в категориях 7–8 – вероятности преморбидных состояний, и только 9-я и 10-я категории соответствуют преобладанию вероятности патологических состояний. Этот методологический подход был использован при оценке состояния всех обследованных пилотов независимо от отнесения их к группе годных или негодных к дальнейшей лётной работе.

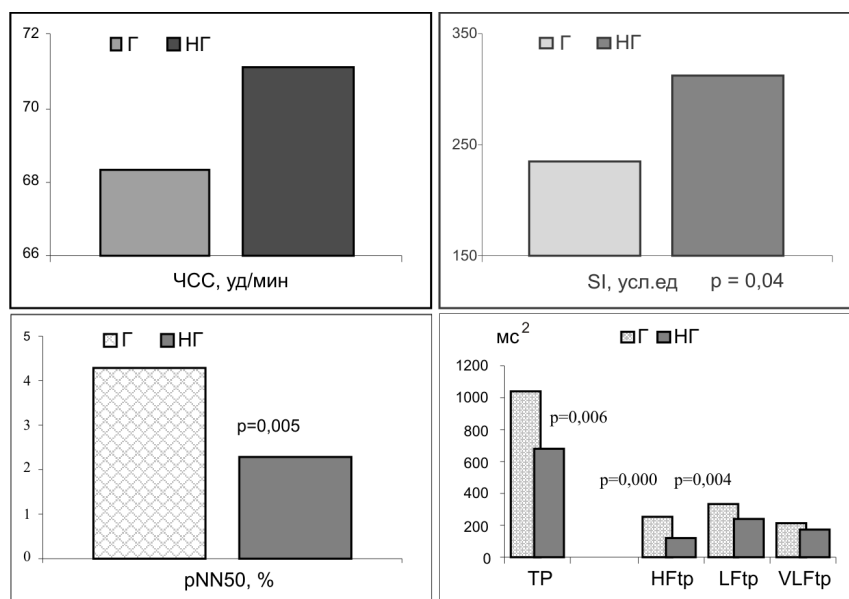


Рис. 2. Среднегрупповые значения ЧСС и некоторых показателей ВСП в группах пилотов, признанных годными (Г) и негодными (НГ) к дальнейшей летной работе

Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью программы Statistica 6. При сравнении групп пилотов использовались непараметрические тесты Манна – Уитни и Колмогорова – Смирнова для независимых выборок, при оценке реакций на функциональные пробы применялся критерий Вилкоксона для повторных измерений, использовался также 2-факторный ANOVA для проверки отличий в реакциях на функциональные тесты в выделенных группах.

Результаты и обсуждение

Сравнение данных анализа ВСП в состоянии покоя не выявило значимых отличий между 2 сериями исследований. Поэтому материалы этих исследований для состояния покоя анализировались совместно. На рис. 2 представлены усредненные по 2 сериям значения частоты сердечного ритма (ЧСС) и некоторых показателей ВСП в группах пилотов, признанных годными и негодными к дальнейшей летной работе.

Как видно из представленных данных, группа негодных пилотов отличается более высокой средней частотой пульса и выраженным смещением вегетативного гомеостаза в сторону преобладания активности симпатического звена регуляции (достоверно более высокий уровень стресс-индекса SI и сниженное значение показателя pNN50). В этой группе достоверно снижена суммарная мощность спектра ВСП (показатель TP – Total Power), что указывает на уменьшение резерва регуляторных механизмов.

Особенно выражено достоверное снижение суммарной мощности спектра в диапазоне высоких частот (HF), что характерно для роста симпатической активности.

Следует отметить, что абсолютные значения стресс-индекса в обеих группах пилотов выше обычной нормы в 100–150 усл. ед. (среднегрупповые значения составляют 312 ± 46 усл. ед. у негодных и 235 ± 23 усл. ед. у годных, соответственно). Это означает, что пилоты обеих групп в силу возрастных изменений характеризуются высоким уровнем функционального напряжения. Однако годные пилоты отличаются от негодных более низкими значениями индекса напряжения регуляторных систем (стресс-индекс) и более высокими функциональными возможностями.

Сравнение состояния системы вегетативной регуляции по данным ВСП во время выполнения функциональных нагрузок в 1-й серии исследований показало, что реакции на функциональные тесты являются сходными в группах пилотов, признанных годными и негодными к дальнейшей летной работе (рис. 3). Наблюдавшиеся достоверные отличия этих групп связаны, скорее всего, с различным исходным состоянием.

Отчасти именно этой схожестью реакций и было вызвано расширение набора проводимых функциональных проб во 2-й серии исследований. Среднее время задержки дыхания на выдохе в этих группах почти не отличается (32,2 с в группе годных и 30,1 с в группе негодных), в то время как в группе пилотов, признанных негодными к продолжению летной работы достоверно увеличивается показатель pNN50 (с 2,3 % в покое до 7,5 %), а в группе пилотов, признанных годными этот показатель снижается (с 4,3 до 1,8 %). Достоверно более высокий прирост ВСП наблюдался и во время психофизиологического тестирования, что может быть связано со сниженными резервами и нестабильностью состояния во время выполнения тестов.

Применение математической модели функциональных состояний подтвердило и позволило наглядно представить выявленные в состоянии покоя по показателям ВСП отличия. На рис. 1 показаны положения групп пилотов признанных годными и негодными к дальнейшей летной работе в 2 сериях исследований.

Состояние каждого пилота (или выделенной группы лиц) отображается точкой на фазовой плоскости. Как следует из представленных данных, все

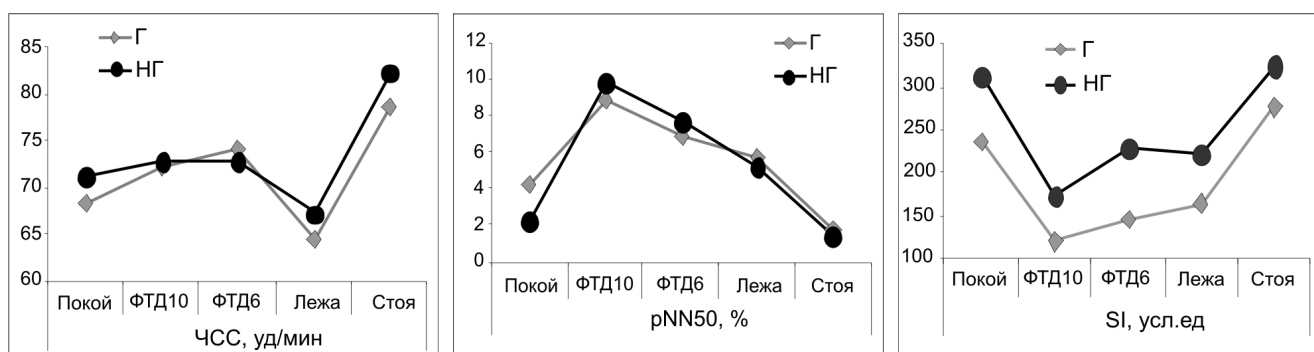


Рис. 3. Анализ реакций системы вегетативной регуляции на функциональные пробы (исходное состояние – покой в положении сидя) по данным анализа ВСП в группах пилотов старшего возраста, признанных годными (Г) и негодными (НГ) к лётной работе

4 группы находятся в зоне донозологических состояний. Но группа годных по каждой серии исследований имеет достоверно ($p = 0,038$) более высокие значения ФР в покое (+1,18 по сравнению с +0,43 в 1-й серии, +0,61 по сравнению с +0,14 во 2-й серии). Это означает, что пилоты, признанные негодными к дальнейшей лётной работе, отличаются более низкими функциональными резервами и их состояние смещено к зоне преморбидных состояний.

Вероятностные характеристики функциональных состояний в покое, представленные на рис. 4, показывают, что годные пилоты отличаются более высокой вероятностью состояний нормы (48 % по сравнению с 39 %) и более низкой вероятностью донозологического состояния (43 % по сравнению с 46 %). Важно отметить, что группа негодных пилотов имеет достоверно ($p = 0,048$) более высокие признаки преморбидного состояния (вероятность 12 % по сравнению с 5,9 %). Таким образом, риск развития патологических состояний и дезадаптации в группе негодных существенно выше.

Представляет практический интерес сравнительная оценка значений различных показателей ВСП в зависимости от категории риска. В таблице приводятся средние данные по основным показателям временного и частотного анализа ВСП у пилотов старшего возраста при различных категориях риска.

Как следует из таблицы, только при категориях риска выше 4-й изменения ЧСС достоверно превышали нормальные колебания в пределах 64–72 уд/мин. При этом суммарная вариабельность ритма по среднеквадратичному отклонению (SDNN) показала четкую тенденцию к постепенному снижению от 50 мс в норме до 16 мс в 8-й категории риска при

преморбидных состояниях и 12 мс в 10-й категории риска при патологических состояниях. Еще более выраженными являются изменения показателей SI и рNN50, соответственно характеризующих активность симпатического и парасимпатического звеньев регуляции. Рост значений SI был почти 10-кратным при переходе от 1-й категории риска к 8-й и 18-кратным – в 10-й категории риска. Показатель рNN50 уменьшался от 18,48 % в норме до 2,23 % при 3-й категории риска и до 0 – в 6-10-й категориях. Весьма демонстративным является постепенное снижение суммарной мощности спектра ВСП, которая, как было указано выше, характеризует резервные возможности регуляторного механизма.

Соответственно снижаются мощности колебаний во всех диапазонах, особенно значимым является снижение высокочастотных колебаний (HF), связанных с активностью парасимпатического звена регуляции.

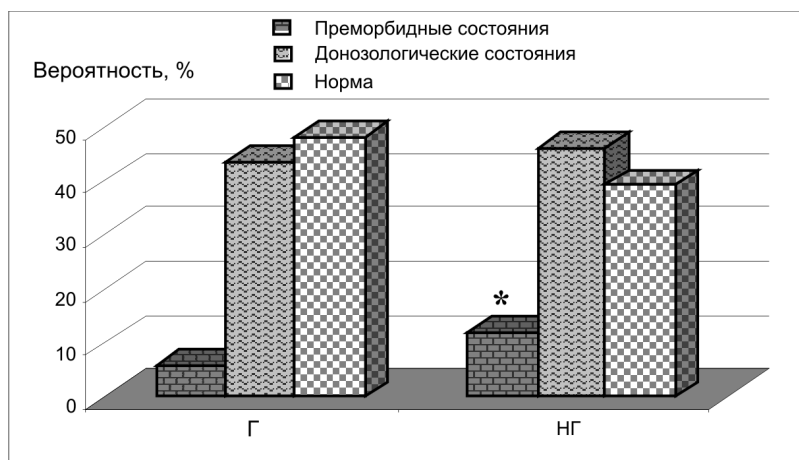


Рис. 4. Вероятностные характеристики состояний групп годных (Г) и негодных пилотов (НГ)

Таблица

**Средние значения показателей ВСП у пилотов старшего возраста
при разных категориях адаптационного риска**

Показатели ВСП	Категории риска, баллы								
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я	6-я	7-я	8-я	10-я
ЧСС, уд/мин	64,12 ± 1,37*	68,1 ± 1,17*	65,43 ± 1,93*	68,31 ± 1,45*	74,15 ± 2,52	75,85 ± 3,45	72,42 ± 2,56	87,31 ± 9,36	83,47 ± 0,98
pNN50, %	15,77 ± 2,95	2,27 ± 0,43	3,40 ± 1,13	0,76 ± 0,38	0,58 ± 0,31	0,00 ± 0,01	0,23 ± 0,23	0,00 ± 0,01	0,17 ± 0,17
SDNN, мс	50,15 ± 3,56	36,04 ± 1,63	30,80 ± 1,75	23,97 ± 0,89	22,77 ± 1,17	20,14 ± 1,14	16,04 ± 1,56	15,85 ± 1,2	12,57 ± 0,8
SI, у.е.	74,50 ± 6,69	137,25 ± 8,50	189,57 ± 13,76	250,39 ± 10,20	299,43 ± 28,01	463,33 ± 17,81	600,94 ± 31,66	703,15 ± 21,4	1223,9 ± 109,31
TP, мс ²	2490,5 ± 324,98	925,32 ± 95,6	1063,1 ± 358,53	435,91 ± 51,29	383,38 ± 56,85	396,76 ± 57,3	234,37 ± 72,98	216,43 ± 9,32	125,89 ± 17,71
HFtp, мс ²	595,12 ± 138,29	130,39 ± 20,66	341,24 ± 181,38	87,21 ± 16,45	116,03 ± 24,21	54,36 ± 11,35	43,66 ± 9,72	14,11 ± 4,73	23,29 ± 6,87
LFtp, мс ²	837,84 ± 136,11	368,81 ± 55,06	303,84 ± 103,49	112,47 ± 22,23	103,65 ± 14,26	119,79 ± 44,10	53,61 ± 16,75	85,66 ± 36,10	45,19 ± 15,24
VLFTp, мс ²	553,98 ± 154,34	221,16 ± 29,55	202,10 ± 59,37	90,98 ± 13,12	66,54 ± 11,83	97,13 ± 21,91	71,36 ± 29,70	42,18 ± 6,83	36,17 ± 9,5
IC, б/р	6,17 ± 1,88*	6,23 ± 1,07*	4,15 ± 0,71*	2,75 ± 0,28*	2,79 ± 0,73*	6,68 ± 3,37*	3,52 ± 0,98*	11,36 ± 6,85*	4,76 ± 2,37*
ПАРС, баллы	3,44 ± 0,32*	3,46 ± 0,27*	3,71 ± 0,33*	3,47 ± 0,29*	3,79 ± 0,32*	3,8 ± 0,73*	4,29 ± 0,29*	6,00 ± 0,0	6,67 ± 0,88
N, чел.	16	26	21	17	14	5	7	2	3

Примечание. * – значения показателей, недостоверно отличающиеся от значений в 1-й категории риска.

Несмотря на то что описанные выше изменения показателей ВСП являются достоверными уже при переходе от 1-й ко 2-й категории риска (кроме ЧСС), колебания интегральных показателей – индекса централизации (IC) и показателя активности регуляторных систем (ПАРС) – оказались не так однозначны. ПАРС достоверно увеличивается только начиная с 8-й категории, а индекс централизации меняется нелинейно и растет (а затем снижается) только при переходах в следующее функциональное состояние. Так, если вернуться к данным, представленным на рис. 2 и 5, 6-я категория риска является переходной между донозологическими и преморбидными состояниями, а 8-я категория риска – между преморбидными и патологическими состояниями. Поскольку эти изменения IC не являются статистически достоверными, такая динамика IC в связи с повышением категории риска нуждается в дальнейшем изучении.

Использование новой методологии оценки риска развития патологии в виде определения категории риска показало, что в целом группа обследованных пилотов полностью соответствует критериям риска, установленным для космонавтов [10]. Первая категория риска отмечалась только у пилотов с высокой вероятностью состояния физиологической нормы. Группы пилотов со 2–5-й категориями риска проецируются в зоне донозологических состояний, 6–8-я категории риска находятся в зоне преморбидных состояний. По мере увеличения категории риска развития патологии в зоне донозологических состояний растет величина СН и уменьшается величина ФР. Дальнейшее снижение ФР при одновременном уменьшении величины СН характерно для пилотов с 6–8-й категориями риска.

Полученные данные имеют важное значение для интерпретации показателей ВСП у практически здоровых людей. Динамика показателей, как это

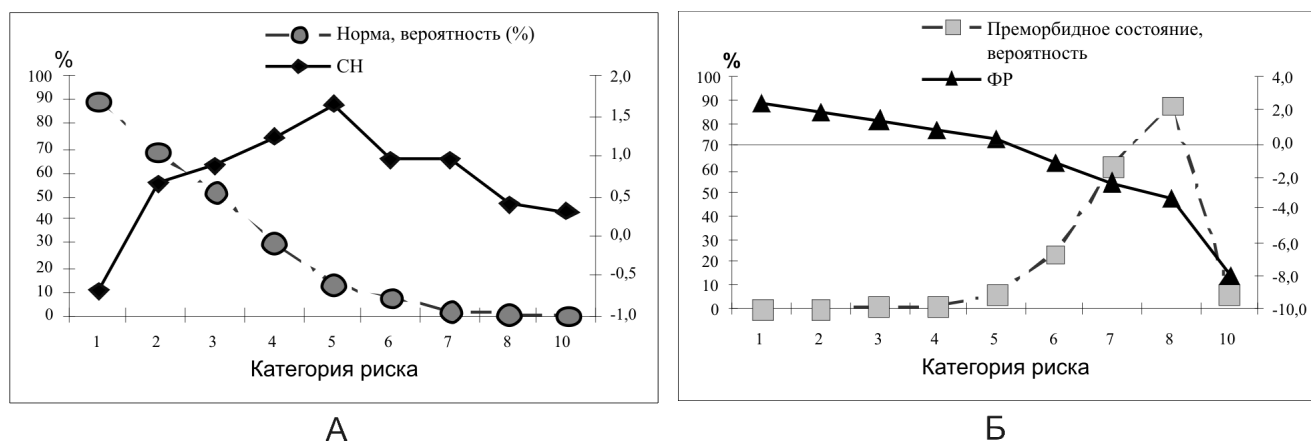


Рис. 5. Связь показателя СН с вероятностью состояния «физиологическая норма» (А) и показателя ФР с вероятностью преморбидных состояний (Б) при изменении категории риска

следует из вышеизложенного, тесно связана с изменением категории риска. Рост категории риска отражается как на значениях отдельных показателей ВСР, так и на интегральных показателях СН и ФР. На рис. 5, А и 5, Б показана связь значений СН и ФР со снижением вероятности физиологической нормы и с ростом вероятности преморбидного состояния.

Быстрый рост СН наблюдается при переходе от 1-й категории риска ко 2-й. Затем СН медленно растет до 5-й категории риска и снижается, начиная с 6-й, что обусловлено начинающимся истощением регуляторных механизмов. Это связано с развитием перенапряжения и истощения систем вегетативной регуляции.

Представленная на рис. 5, Б связь изменений ФР с ростом категории риска подтверждает это положение, демонстрируя в 6, 7 и 8-й категориях риска резкое увеличение признаков преморбидного состояния и выраженное снижение величины ФР. В 10-й категории риска показатель ФР снижается еще сильнее, а вероятность преморбидного состояния также очень мала (6 %), так как здесь вероятность патологического состояния уже выше 90 %.

Таким образом, необходимо рассматривать функциональное состояние не только как результат, но и как фон, на котором будут протекать будущие адаптационные реакции. Это соответствует индивидуальным особенностям адаптационных реакций организма, установленным в экспериментальных и клинко-физиологических исследованиях лиц опасных профессий в экстремальных условиях профессиональной деятельности [11–13]. Оценка всех вероятных состояний, особенно изменение вероятности преморбидного состояния по данным анализа ВСР позволит лучше оценить функциональное состояние пилотов, которые проходят врачебно-лётную экспертизу при оценке годности к дальнейшей лётной работе.

Выводы

Использование донозологического подхода на основе метода анализа ВСР во время прохождения врачебно-лётной экспертизы лицами лётного состава гражданской авиации старшего возраста показало возможность выделения группы пилотов, отличающихся повышенным напряжением регуляторных систем и низким функциональным резервом. Эти пилоты, как правило, признаются непригодными к дальнейшей лётной работе. Функциональное состояние таких пилотов относится к группе донозологических с достоверным усилением признаков преморбидности, что свидетельствует об увеличении риска развития патологии.

Определение категории риска у пилотов, допущенных к дальнейшей лётной работе после прохождения врачебно-лётной экспертизы, может быть весьма ценной для руководства полетами характеристикой работоспособности конкретных пилотов. Пилоты с высокой категорией адаптационного риска нуждаются в дополнительном динамическом наблюдении, эта информация может оказаться чрезвычайно важной для обеспечения безопасности полетов.

Донотологический подход к решению сложных задач врачебно-лётной экспертизы является особенно ценным в «пограничных» случаях, когда возникают трудности с принятием окончательного решения по результатам клинического обследования и традиционным данным функциональной диагностики.

Список литературы

1. Психофизиологические проблемы безопасности полетов и профессиональной подготовки авиационных специалистов / Гос. служба гражд. авиации, Акад. гражд. авиации / Захарьянц Ю.З., ред. 2001.

Psychophysiological problems of flight safety and professional training of aviation specialists / State civil aviation service, Academy of Civil Aviation / Zakharyants Yu.Z., ed. 2001.

2. Клинико-функциональная диагностика, профилактика и реабилитация профессионально обусловленных нарушений и субклинических форм заболеваний у летного состава / Вартбаронов Р.А., ред. М., 2011.

Clinical and functional diagnosis, prevention and rehabilitation of professionally caused disorders and subclinical diseases in flight personnel / Vartbaronov R.A., ed. Moscow, 2011.

3. Пономаренко В.А. Безопасность полета – боль авиации. М., 2007.

Ponomarenko V.A. Flight safety – a pain of aviation. Moscow, 2007.

4. Ушаков И.Б. Медико-биологические основы обеспечения безопасности человека в авиации / Авиакосм. и экол. мед. 2004. № 1. С. 28–35.

Ushakov I.B. Biomedical foundation for human safety in aviation // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2004. № 1. P. 28–35.

5. Шалимов П.М., Горбаченко А.В., Первова Е.В. Возможности донозологической диагностики сердечно-сосудистой патологии у призывников // Воен.-мед. журн. 2002. № 7. С. 31–34.

Shalimov P.M., Gorbachenko A.V., Pervova E.V. Potentialities of prenosological diagnostics of cardio-vascular pathology in recruits // Voenno-meditsinskiy zhurnal. 2002. № 7. P. 31–34.

6. Анализ variability сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем (методические рекомендации) // Вестн. аритмологии. 2001. 24. С. 69–85.

Heart rate variability analysis in using of different electrocardiological systems (methodical recommendations) // Vestnik aritmologii. 2001. 24. P. 69–85.

7. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use // Circulation. 1996. V. 93. P. 1043–1065.

8. Baevskiy R.M., Funtova I.I., Diedrich A. et al. Autonomic function testing aboard the ISS using «PNEUMOCARD» // Acta Astronaut. 2009. V. 65. Issue 7–8. P. 930–932.

9. Баевский Р.М., Черникова А.Г. К проблеме физиологической нормы: Математическая модель функциональных состояний на основе анализа variability сердечного ритма // Авиакосм. и экол. мед. 2002. № 6. С. 11–17.

Baevskiy R.M., Chernikova A.G. To the problem of physiological norm: the mathematical model of functional states on the base of heart rate variability analysis // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2002. № 6. P. 11–17.

10. Chernikova A., Baevskiy R., Funtova I. Adaptation risk in space medicine // 2012. IAC-12. Napoli. ID-14827 (CD-ROM).

11. Иванов И.В. Исходная реактивность организма и радиационные воздействия в малых дозах: Науч.-метод. руководство. М., 2010.

Ivanov I.V. Initial reactivity of organism and radiation effects in small doses: Scientific-methodical manual. Moscow, 2010.

12. Иванов И.В. Исходная реактивность организма и радиационные воздействия: лечебно-профилактические аспекты проблемы: Науч.-практ. руководство / Н.Г. Даренская, ред. М., 2005.

Ivanov I.V. Initial reactivity of organism and radiation effects: medical-prophylactic aspects of the problem: Scientific-practical manual / N.G.Darenskaya, ed. Moscow, 2005.

13. Начала авиационной и космической медицины: Учеб. пос. / И.Б. Ушаков, ред. М., 2007.

Beginnings of Aviation and Space Medicine: Textbook / I.B. Ushakov, ed. Moscow, 2007.

Поступила 01.07.14

USE OF THE PRENOSOLOGY APPROACH FOR ATTAINING THE OBJECTIVES OF PILOT MEDICAL EXPERTISE

Ushakov I.B., Simakova T.G., Zipa O.M., Chernikova A.G., Baevskiy R.M.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2014. V. 48. № 6. P. 16–22

Early diagnostics of senior pilots for diseases and conditions undesirable in terms of flight safety is tightly linked with evaluation of risks of their development. Prenosology diagnostics is focused on borderline states that may pass from health to disease (prenosology and premorbidity) and, vice versa, from disease to recovery (post-nosology). Regarding health as a vital adaptation reserve, prenosology diagnostics is concerned with the ability of organism to adapt to an environment rather than probability of disease. Constant drain of adaptation reserves may become a reason for increased risks of disease. Heart rate variability analysis is one of the instruments of prenosology diagnostics. Authors of the paper discuss applicability of the space-medicine oriented probabilistic approach to evaluation of adaptation risks by medical expertise boards certifying civil pilots. Results of 2 series of investigations showed increased adaptation risks and reduced functional reserves in pilots found unfit to continue career.

Key words: prenosology diagnostics, adaptation risk, pilot medical expertise, heart rate variability.

УДК 576.3

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОХРОМА С И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ В КЛЕТКАХ СЕРДЕЧНОЙ И СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦ КРЫСЫ В ТЕЧЕНИЕ 3 СУТОК ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКИ

Огнева И.В.^{1, 2}, Бирюков Н.С.¹, Веселова О.М.¹, Ларина И.М.¹

¹Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

E-mail: iogneva@yandex.ru

Целью данного исследования было определение содержания цитохрома с и уровня экспрессии кодирующего его гена в кардиомиоцитах и волокнах камбаловидной мышцы крысы после 6, 12, 18, 24 и 72 ч гравитационной разгрузки, осуществленной с помощью антиортостатического вывешивания. В качестве параметра, отражающего функциональную активность митохондрий, определяли клеточное дыхание методом полярографии по Саксу.

*Содержание цитохрома с в мембранно-митохондриальной фракции белков кардиомиоцитов увеличивалось на 34,6 % ($p < 0,05$) относительно контроля через 18 ч вывешивания. Однако уровень экспрессии *scys* и *gapdh* не менялся. При этом параметры, характеризующие клеточное дыхание кардиомиоцитов, также возрастали через 18 ч вывешивания.*

*Содержание цитохрома с в волокнах камбаловидной мышцы снижалось через 24 ч вывешивания, а содержание мРНК *scys* достоверно снизилось через 6 ч разгрузки. При этом интенсивность клеточного дыхания достоверно уменьшилась через 72 ч гравитационной разгрузки.*

Ключевые слова: клеточное дыхание, антиортостатическое вывешивание, цитохром с.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2014. Т. 48. № 6. С. 23–29.

Следствием длительного пребывания в условиях невесомости и гипокинезии, является снижение функциональных возможностей мышечной системы, и в первую очередь постуральных мышц, в частности камбаловидной [1, 2]. Кроме того, пребывание в условиях микрогравитации приводит к различным изменениям в сердечно-сосудистой системе у человека, прежде всего к сдвигу жидкостных объемов тела в краниальном направлении [3] и изменению ударного объема сердца [4].

Свой вклад в развитие негативных последствий пребывания в условиях гравитационной разгрузки для работоспособности мышц вносят параметры их внутриклеточного энергообмена, выражающиеся в изменении содержания субстратов, таких, как гликоген и триглицериды [5, 6], а также параметров клеточного дыхания [7–9]. Интенсивность клеточного

дыхания зависит от активности ферментов цикла Кребса, состояния цепи переноса электронов и проницаемости мембраны митохондрии для АДФ.

О влиянии активности ферментов цикла Кребса на процесс клеточного дыхания можно говорить только в том случае, когда состояние дыхательной цепи остается неизменным. Авторами работы [10] было показано достоверное снижение активности малатдегидрогеназы и изоцитратдегидрогеназы в суспензии митохондрий, выделенных из задней группы мышц бедра крыс после 18,5-суточного космического полета (КП). В работах [11, 12] отмечалось, что гравитационная разгрузка в течение 10 и 14 сут приводила к снижению активности цитохромоксидазы в волокнах камбаловидной мышцы крысы. Данный факт может свидетельствовать о нарушении работы дыхательной цепи митохондрий, так как цитохромоксидаза катализирует конечный этап переноса электронов на кислород в процессе окислительного фосфорилирования. При этом авторы работы [13] показали, что разгрузка в течение 3 нед не привела к достоверным изменениям потребления кислорода скинированными волокнами камбаловидной мышцы.

В то же время данные по изменениям в сердечно-сосудистой системе весьма противоречивы. Ряд авторов обнаружили снижение сократимости миокарда и уменьшение потребления кислорода в условиях продолжительного вывешивания [14, 15]. Однако авторы работы [13] не обнаружили изменений в интенсивности клеточного дыхания кардиомиоцитов крыс после 3-недельного антиортостатического вывешивания.

На интенсивность клеточного дыхания может также влиять концентрация АДФ в митохондриях, которая, в свою очередь, зависит от проницаемости внешней мембраны для АДФ. В регуляции проницаемости внешней митохондриальной мембраны для АДФ играют роль белки цитоплазмы, которые, по-видимому, связаны с цитоскелетными белками [16]. Ранее было показано, что уже на самых ранних стадиях (через 6–12 ч) антиортостатического

вывешивания крыс наблюдались изменения в структуре кортикального цитоскелета, причем как у волокон камбаловидной мышцы, так и у кардиомиоцитов [17]. Поэтому целью данного исследования был анализ параметров клеточного дыхания как одного из основных показателей функциональной активности клеток в течение ультракороткого антиортостатического вывешивания.

Методика

Эксперименты проводили с тканью левого желудочка сердца и камбаловидной мышцы крысы породы Wistar с массой тела 225–255 г. С целью моделирования условий гравитационной разгрузки у грызунов проводили антиортостатическое вывешивание по методу Ильина – Новикова в модификации Морей-Холтон [18]. Животные контрольной группы содержались в виварных условиях, получая стандартный корм и воду *ad libitum*. Длительность гравитационной разгрузки составляла 6, 12, 18, 24 и 72 ч. Были сформированы следующие группы: Контроль, 6h, 12h, 18h, 24h и 72h – по 7 животных в каждой.

Все процедуры с животными были одобрены Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

Определение клеточного дыхания методом полярографии

Ткани части левого желудочка сердца и камбаловидной мышцы обрабатывали согласно методике, описанной в работе [19], и оценивали интенсивность клеточного дыхания методом полярографии.

В качестве субстратов дыхательной цепи использовали смесь 5 мМ глутамата + 2 мМ малата, а для определения максимальной скорости дыхания вносили 1 мМ АДФ. Измерение концентрации кислорода проводили с помощью электрода Кларка и оксиметра YSI Model 53 Oxygen Monitor (Yellow Spring Instrument Co., USA) при температуре 22 °C. Растворимость кислорода в 1 мл среды инкубации при этой температуре принимали равной 460 нг-ат [20].

Определяли следующие дыхательные параметры: V_0 – базальная скорость поглощения кислорода, $V_{\text{Glu} + \text{Mal}}$ – скорость дыхания на субстратах (5 мМ глутамата + 2 мМ малата), V_{max} – максимальная скорость дыхания (в присутствии 1 мМ АДФ); дыхательный контроль (ДК) рассчитывали как отношение максимальной скорости дыхания к скорости дыхания на субстратах. После измерений волокна извлекали из полярографической ячейки, высушивали при температуре +95 °C и затем взвешивали, что позволяло рассчитывать скоростные параметры, нормированные на мг сухого веса (нг-ат $\text{O}_2 \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$).

Определение содержания белков методом гель-электрофореза с последующим иммуноблоттингом

Для определения содержания белков часть левого желудочка сердца и камбаловидной мышцы крысы замораживали при температуре жидкого азота. Приготовление экстрактов ткани и получение мембранно-митохондриальной и цитоплазматической фракции белков проводили по методу, описанному в работе [21].

Денатурирующий электрофорез в полиакриламидном геле проводили по методу Лэмли на системе Bio-Rad (США). Опираясь на проведенное измерение концентрации, в каждую лунку вносили одинаковое количество белка. Перенос на нитроцеллюлозную мембрану проводили по методу, описанному в работе [22].

Для определения цитохрома с использовали специфические первичные моноклональные антитела на основе иммуноглобулинов мыши (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) в рекомендованном фирмой-производителем разведении 1:200. В качестве вторичных антител использовали биотинилированные козы антитела против IgG мыши (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) в разведении 1:5000.

Далее все мембраны обрабатывали раствором стрептавидина, конъюгированного с пероксидазой хрена (Sigma, Германия) в разведении 1:5000. Белковые полосы выявляли с помощью 3,3'-диаминобензидина (Merck, США).

Определение содержания мРНК методом количественной ПЦР

Для определения уровня экспрессии генов, кодирующих исследуемые белки, выделяли тотальную РНК из замороженных тканей левого желудочка сердца и камбаловидной мышцы крысы, используя RNeasy Micro Kit (Qiagen, Германия) согласно инструкции производителя. Обратную транскрипцию осуществляли, используя в качестве затравки $d(T)_{15}$ и 500 нг РНК. Для оценки уровня экспрессии исследуемых генов проводили ПЦР в реальном времени с использованием праймеров, подобранных с помощью программы Primer3Plus (табл. 1).

Статистическая обработка

Полученные в ходе экспериментов результаты статистически обрабатывали с помощью ANOVA, используя для оценки достоверности отличий между группами постхоковский t-тест с уровнем значимости $p < 0,05$. Данные представляли в виде $M \pm SE$; где M – среднее арифметическое, SE – ошибка среднего значения.

Таблица 1

Последовательность праймеров и размер продуктов

Ген	Направление	Последовательность праймера (5' ... 3')	Размер продукта, п.о.
Cycs	Прямой	ccaaatctccacggtctgtt	190
	Обратный	tctgcccttctcccttctt	
Gapdh	Прямой	accagaagactgtggatgg	172
	Обратный	acacattggggtaggaaca	

Таблица 2

Параметры клеточного дыхания кардиомиоцитов левого желудочка крысы в условиях кратковременной гравитационной разгрузки

Группы	Параметры			Дыхательный контроль
	V_{O_2} нг-ат О·мин ⁻¹ ·мг ⁻¹	$V_{Glu+Mal}$ нг-ат О·мин ⁻¹ ·мг ⁻¹	V_{max} нг-ат О·мин ⁻¹ ·мг ⁻¹	
Контроль (n = 7)	13,5 ± 1,6	15,3 ± 1,8	28,7 ± 2,5	1,91 ± 0,2
6h (n = 7)	13,8 ± 1,4	16,9 ± 2,2	31 ± 3	2,0 ± 0,3
12h (n = 7)	15 ± 1,1	15,9 ± 1,1	34 ± 4	2,2 ± 0,3
18h (n = 7)	18,2 ± 1,9*	29 ± 3*	53 ± 3*	2,1 ± 0,3
24h (n = 7)	19,1 ± 1,2*	25,9 ± 1,9*	47 ± 4*	1,83 ± 0,13
72h (n = 7)	18,6 ± 1,3*	24,2 ± 2,0*	47 ± 5*	1,91 ± 0,21

Примечание. * – здесь и в табл. 3 $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль».

Таблица 3

Параметры клеточного дыхания волокон камбаловидной мышцы крысы в условиях кратковременной гравитационной разгрузки

Группы	Параметры			Дыхательный контроль
	V_{O_2} нг-ат О·мин ⁻¹ ·мг ⁻¹	$V_{Glu+Mal}$ нг-ат О·мин ⁻¹ ·мг ⁻¹	V_{max} нг-ат О·мин ⁻¹ ·мг ⁻¹	
Контроль (n = 7)	5,3 ± 0,7	9,9 ± 1,2	13 ± 1,2	1,43 ± 0,21
6h (n = 7)	5,0 ± 0,4	8,6 ± 0,5	13,3 ± 1,1	1,6 ± 0,3
12h (n = 7)	6,2 ± 0,6	8,4 ± 0,8	12,5 ± 0,5	1,55 ± 0,13
18h (n = 7)	5,1 ± 0,6	8,4 ± 0,6	12,4 ± 0,7	1,57 ± 0,13
24h (n = 7)	5,6 ± 0,7	8,3 ± 0,5	11,3 ± 1,3	1,49 ± 0,18
72h (n = 7)	1,29 ± 0,09*	4,1 ± 0,4*	6,1 ± 0,8*	1,63 ± 0,28

Результаты и обсуждение

Для мышечных клеток было показано, что на функции митохондрий может оказывать влияние изменение их формы вследствие растяжения или сжатия мембраны, что может опосредоваться цитоскелетом [23]. В волокнах камбаловидной мышцы нуль-десминовых мышей обнаружили аномальные скопления кластеров субсарколеммальных митохондрий, а также снижение интенсивности клеточного дыхания [24].

При работе с кардиомиоцитами авторы работы [19] также показали, что интенсивность поглощения

кислорода зависит от состояния цитоскелета. Полученные ранее результаты свидетельствуют о том, что базальная скорость клеточного дыхания кардиомиоцитов крысы практически не изменялась в ходе антиортостатического вывешивания, лишь несколько, хотя и достоверно, возрастала в первые сутки. При этом скорость дыхания при добавлении в среду глутамата и малата, а также максимальная скорость дыхания существенно увеличивались уже через сутки и сохранялись столь же высокими в течение всего периода вывешивания, вплоть до 14 сут. При этом через 3 сут восстановления после 14-суточного антиортостатического вывешивания все указанные

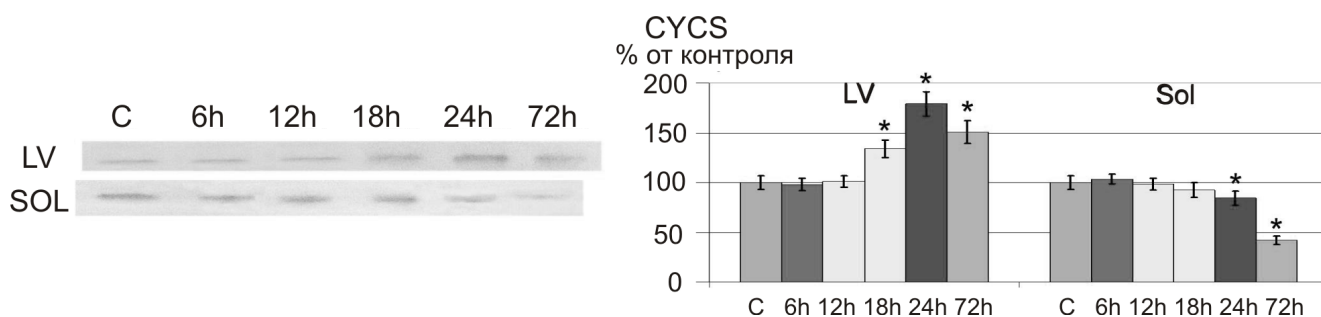


Рис. 1. Относительное содержание цитохрома с в мембранной белковой фракции кардиомиоцитов левого желудочка (LV) и волокон камбаловидной мышцы (Sol) крысы после кратковременной гравитационной разгрузки и типичные картины вестерн-блота;

* – $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль», обозначенной как «С» на этом рисунке

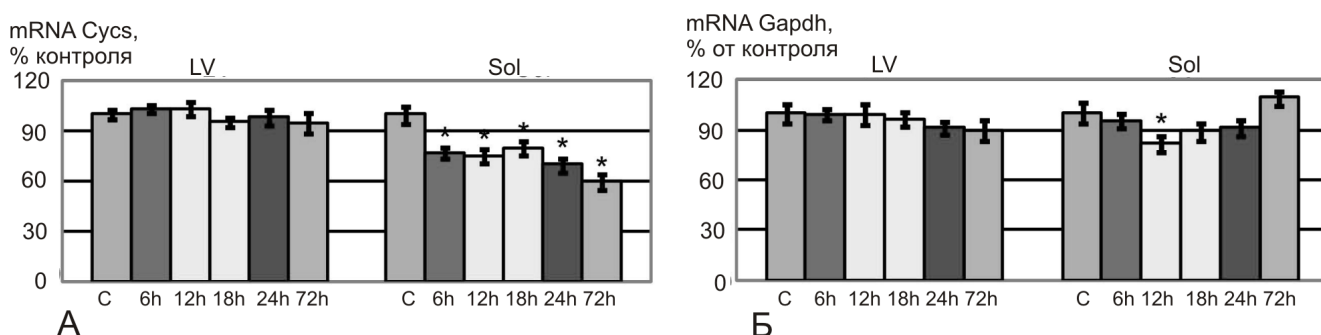


Рис. 2. Уровень экспрессии генов, кодирующих метаболические белки, в кардиомиоцитах левого желудочка (LV) и волокнах камбаловидной мышцы (Sol) крысы после кратковременной гравитационной разгрузки;

* – $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль», обозначенной как «С» на этом рисунке.

А – ген цитохрома с (Cyscs); Б – ген глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (Gapdh)

параметры существенно снижались по сравнению с контрольным уровнем [9]. Кроме того, имело место увеличение относительного содержания десмина в общем белке в кардиомиоцитах крысы в условиях антиортостатического вывешивания [9], который необходим для определения локализации митохондрий и регуляции проницаемости их мембраны.

Поскольку десмин главным образом локализуется в районе Z-диска саркомера и присоединяет Z-диск к подмембранному цитоскелету [25], то можно полагать, что состояние структуры подмембранного цитоскелета также может участвовать в регуляции интенсивности клеточного дыхания. Так, альфа-актинин-4, один из структурных белков кортикального цитоскелета, может связываться с промоторной областью гена цитохрома с, приводя к изменению его экспрессии [26].

Ранее было показано, что через 6 ч антиортостатического вывешивания крыс происходило снижение альфа-актинина-1 (для кардиомиоцитов) и альфа-актинина-4 (для волокон камбаловидной мышцы) в мембранной фракции белков и их увеличение в цитоплазматической фракции. Через 6–12 ч

уровень экспрессии бета-, гамма-актина, альфа-актинина-1 и альфа-актинина-4 в волокнах камбаловидной мышцы снижался, но экспрессия альфа-актинина-1 через 72 ч восстанавливалась до уровня контроля. Через 18–24 ч экспрессия бета-актина и альфа-актинина-4 в кардиомиоцитах возрастала, а альфа-актинина-1 – снижалась [17]. Поэтому в данной работе мы решили проанализировать параметры клеточного дыхания после ультракоротких сроков антиортостатического вывешивания.

Динамика параметров клеточного дыхания кардиомиоцитов левого желудочка сердца и волокон камбаловидной мышцы крысы в условиях кратковременной гравитационной разгрузки

Через 18 ч возрастали все параметры, характеризующие клеточное дыхание волокон левого желудочка сердца крысы (табл. 2), и оставались на том же уровне далее в ходе разгрузки: базальная скорость дыхания (V_0) возрастала на 35 % ($p < 0,05$), скорость дыхания на субстратах ($V_{Glu + Mal}$) – на 90 %, максимальная скорость дыхания (V_{max}) – на 85 % по сравнению с этими параметрами в группе «Контроль».

Параметры, характеризующие клеточное дыхание волокон камбаловидной мышцы (табл. 3), на ранних этапах антиортостатического вывешивания не менялись. Через 72 ч все параметры снижались: базальная скорость дыхания (V_0) – на 76 % ($p < 0,05$), скорость дыхания на субстратах ($V_{\text{Glu} + \text{Mal}}$) – на 59 %, максимальная скорость дыхания (V_{max}) – на 53 % по сравнению с этими параметрами в группе «Контроль».

Расчетный показатель, отражающий эффективность сопряжения окисления и фосфорилирования, называемый дыхательным контролем, не менялся в ходе кратковременной гравитационной разгрузки ни у волокон камбаловидной мышцы, ни у кардиомиоцитов.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что увеличение интенсивности клеточного дыхания кардиомиоцитов происходит уже через 18 ч антиортостатического вывешивания. Это может быть связано с увеличением эффективности работы терминальных участков дыхательной цепи или с увеличением количества комплексов дыхательной цепи. Поскольку расчетный показатель, отражающий эффективность сопряжения окисления и фосфорилирования – дыхательный контроль, не менялся в течение всего срока вывешивания, это может свидетельствовать в пользу второго варианта.

*Динамика содержания цитохрома с
в кардиомиоцитах левого желудочка сердца
и волокнах камбаловидной мышцы крысы
в условиях кратковременной
гравитационной разгрузки*

Анализ содержания цитохрома с, одного из ключевых компонентов дыхательной цепи, показал его увеличение также после 18 ч антиортостатического вывешивания.

Содержание цитохрома с в мембранной фракции белков в ткани левого желудочка крысы возрастало после 18 ч антиортостатического вывешивания на 34,6 % ($p < 0,05$), через 24 ч – на 79,2 % ($p < 0,05$), через 72 ч – на 50,8 % ($p < 0,05$) относительно контроля. В то же время в камбаловидной мышце содержание цитохрома с снижалось через 24 ч вывешивания на 15,7 % ($p < 0,05$), а через 72 ч – на 57,9 % ($p < 0,05$) относительно контроля (рис. 1). При этом в цитоплазматической фракции белков левого желудочка и камбаловидной мышцы крысы цитохром с не определялся.

*Динамика содержания мРНК цитохрома с
и глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы
(Gapdh) в кардиомиоцитах левого желудочка
сердца и волокнах камбаловидной мышцы крысы
в условиях кратковременной
гравитационной разгрузки*

Однако экспрессия гена цитохрома с в кардиомиоцитах оставалась неизменной в

течение всего периода разгрузки, так же как и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы.

Содержание мРНК цитохрома с и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (рис. 2) в кардиомиоцитах левого желудочка крысы не менялось в ходе антиортостатического вывешивания. Увеличение содержания белка в отсутствие увеличения экспрессии его гена может свидетельствовать либо об увеличении эффективности трансляции, либо об уменьшении его протеолиза.

При этом в волокнах камбаловидной мышцы крысы содержание мРНК цитохрома с (рис. 2, А) снизилось через 6 ч разгрузки на 23 % ($p < 0,05$) и продолжало падать, снижаясь на 41 % ($p < 0,05$) через 72 ч по сравнению с группой «Контроль». В то же время содержание мРНК глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (рис. 2, Б) в волокнах камбаловидной мышцы снизилось на 19 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой «Контроль» через 12 ч антиортостатического вывешивания, а через 18 ч восстановилось до контрольного уровня.

Иными словами, в волокнах камбаловидной мышцы снижение уровня экспрессии гена цитохрома с отмечалось уже через 6 ч антиортостатического вывешивания, а снижение содержания белка – через 24 ч. Через 72 ч снижалась и интенсивность клеточного дыхания волокон камбаловидной мышцы, при этом дыхательный контроль, так же как и у кардиомиоцитов, не менялся.

Выводы

1. Параметры, характеризующие клеточное дыхание кардиомиоцитов левого желудочка сердца крысы, возрастали через 18 ч антиортостатического вывешивания; аналогичные параметры камбаловидной мышцы снижались через 72 ч антиортостатического вывешивания.

2. Относительное содержание цитохрома с в ткани левого желудочка сердца крысы увеличивалось после 18 ч антиортостатического вывешивания, а в камбаловидной мышце снижалось через 24 ч вывешивания.

3. Содержание мРНК цитохрома с в кардиомиоцитах оставалось на уровне контроля в течение всего периода разгрузки, а в волокнах камбаловидной мышцы снизилось через 6 ч антиортостатического вывешивания.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00755-а.

Список литературы

1. Caiozzo V.J., Haddad F., Baker M.J. et al. Microgravity-induced transformations of myosin isoforms and contractile properties of skeletal muscle // *J. Appl. Physiol.* 1996. V. 81. P. 123–132.
2. Booth F.W., Kelso J.R. Effect of hindlimb immobilization on contractile and histochemical properties of skeletal muscle // *Pflugers Arch.* 1973. V. 342. P. 231–238.
3. Thornton W.E., Moore T.P., Pool S.L. Fluid shifts in weightlessness // *Aviat. Space Environ. Med.* 1987. V. 58. P. A86–A90.
4. Charles J.B., Lathers C.M. Cardiovascular adaptation to spaceflight // *J. Clin. Pharmacol.* 1991. V. 31. P. 1010–1023.
5. Grichko V.P., Heywood-Cooksey A., Kidd K.R., Fitts R.H. Substrate profile in rat soleus muscle fibers after hindlimb unloading and fatigue // *J. Appl. Physiol.* 2000. V. 88. P. 473–478.
6. Baldwin K.M., Herrick R.E., McCue S.A. Substrate oxidation capacity in rodent skeletal muscle: effects of exposure to zero gravity // *Ibid.* 1993. V. 75. P. 2466–2470.
7. Маилян Э.С., Буравкова Л.Б., Кокорева Л.В. Энергетические реакции в скелетных мышцах крыс после полета на биоспутнике «Космос-1129» // *Косм. биол. и авиакосм. мед.* 1983. Т. 17. № 3. С. 32–36.
8. Mailyan E.S., Buravkova L.B., Kokoreva L.V. Energy reactions in the skeletal muscles of rats after a flight on the Kosmos-1129 biosatellite // *Kosmicheskaya biologiya i avakosmicheskaya meditsina.* 1983. V. 17. № 3. P. 32–36.
9. Yajid F., Mercier J.G., Mercier B.M. et al. Effects of 4 wk of hindlimb suspension on skeletal muscle mitochondrial respiration in rats // *J. Appl. Physiol.* 1998. V. 84. P. 479–485.
10. Ogneva I.V., Mirzoev T.M., Biryukov N.S. et al. Structure and functional characteristics of rat's left ventricle cardiomyocytes under antiorthostatic suspension of various duration and subsequent reloading // *J. Biomed. Biotechnol.* 2012. V. 2012 (Article ID 659869). 11 p.
11. Буравкова Л.Б., Маилян Э.С. Активность дегидрогеназ в скелетных мышцах крыс после длительного действия невесомости // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 1988. Т. 105. № 5. С. 538–540.
12. Buravkova L.B., Mailyan E.S. Dehydrogenase activity in skeletal muscles of rats after long-term exposure to weightlessness // *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny.* 1988. V. 105. № 5. P. 538–540.
13. Ohira Y., Yasui W., Kariya F., Edgerton V.R. et al. Metabolic adaptation of skeletal muscles to gravitational unloading // *Acta Astronaut.* 1994. V. 33. P. 113–117.
14. Oishi Y., Ogata T., Yamamoto K.I. et al. Cellular adaptations in soleus muscle during recovery after hindlimb unloading // *Acta Physiol.* 2008. V. 192(3). P. 381–395.
15. Bigard A.-X., Boehm E., Veksler V. et al. Muscle unloading induces slow to fast transitions in myofibrillar but not mitochondrial properties. Relevance to skeletal muscle abnormalities in heart failure // *J. Mol. Cell Cardiol.* 1998. V. 30. P. 2391–2401.
16. Desplanches D., Mayet M.H., Sempore B. et al. Effect of spontaneous recovery or retraining after hindlimb suspension on aerobic capacity // *J. Appl. Physiol.* 1987. V. 63. P. 1739–1743.
17. Overton J.M., Woodman C.R., Tipton C.M. Effect of hindlimb suspension on VO₂max and regional blood flow responses to exercise // *J. Appl. Physiol.* 1989. V. 66. P. 653–659.
18. Saks V.A., Kuznetsov A.V., Khuchua Z.A. et al. Control of cellular respiration in vivo by mitochondrial outer membrane and by creatine kinase. A new speculative hypothesis: possible involvement of mitochondrial-cytoskeleton interactions // *J. Mol. Cell Cardiol.* 1995. V. 27. P. 625–645.
19. Ogneva I.V., Biryukov N.S., Leinsoo T.A., Larina I.M. Possible role of non-muscle alpha-actinins in the mechanosensitivity of muscle cells // *Cell Biochem. Biophys.* 2014. V. P.
20. Morey-Holton E., Globus R.K., Kaplansky A., Durnova G. The hindlimb unloading rat model: literature overview, technique update and comparison with space flight data // *Adv. Space Biol. Med.* 2005. V. 10. P. 7–40.
21. Saks V., Kuznetsov A., Andrienko T. et al. Heterogeneity of ADP diffusion and regulation of respiration in cardiac cells // *Biophys. J.* 2003. V. 84 (5). P. 3436–3456.
22. Seppet E.K., Eimre M., Andrienko T. et al. Studies of mitochondrial respiration in muscle cells in situ: use and misuse of experimental evidence in mathematical modeling // *Mol. Cell Biochem.* 2004. V. 256–257 (1–2). P. 219–227.
23. Vitorino R., Ferreira R., Neuparth M. et al. Subcellular proteomics of mice gastrocnemius and soleus muscles // *Anal. Biochem.* 2007. V. 366 (2). P. 156–169.
24. Towbin H., Staehlin T., Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some application // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1970. V. 76. P. 4350–4354.
25. Capetanaki Y., Bloch R.J., Kouloumenta A. et al. Muscle intermediate filaments and their links to membranes and membranous organelles // *Exp. Cell Res.* 2007. V. 313. P. 2063–2076.
26. Milner D.J., Mavroidis M., Weisleder N., Capetanaki Y. Desmin cytoskeleton linked to muscle mitochondrial distribution and respiratory function // *J. Cell Biol.* 2000. V. 150 (6). P. 1283–1298.
27. Paulin D., Li Z. Desmin: a major intermediate filament protein essential for the structural integrity and function of muscle // *Exp. Cell Res.* 2004. V. 301. P. 1–7.

26. Goffart S., Franko A., Clemen Ch.S., Wiesner R.J. α -Actinin 4 and BAT1 interaction with the cytochrome c promoter upon skeletal muscle differentiation // Curr. Genet. 2006. V. 49. P. 125–135.

27. Park J.B., Kim J.H., Kim Y. et al. Cardiac phospholipase D2 localizes to sarcolemmal membranes and is inhibited by α -actinin in an ADP-ribosylation factor-reversible manner // J. Biol. Chem. 2000. V. 275 (28). P. 21295–21301.

Поступила 28.08.14

CYTOCHROME C CONTENT AND MITOCHONDRIAL ACTIVITY IN RAT'S CARDIAC AND SKELETAL MUSCLE CELLS IN THE COURSE OF 3-DAY GRAVITATIONAL UNLOADING

Ogneva I.V., Biryukov N.S., Veselova O.M., Larina I.M.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2014. V. 48. № 6. P. 23–29

Purpose of the investigation was to determine the cytochrome c content and associated gene expression in cardiomyocytes and m. soleus fibers obtained from rats following 6, 12, 18, 24 and 72 hours of tail suspension. Cellular respiration was measured using Sax's polarography as a parameter reflecting the mitochondrial activity.

In cardiomyocytes, cytochrome c in the protein membrane-mitochondrial fraction grew 34.6 % ($p < 0.05$) after 18 hours of suspension relative the control. Cyps and gapdh expression was not altered, while parameters of the cardiomyocyte cellular respiration were increased.

In m. soleus fibers, cytochrome c made a fall following 24-hr suspension. mRNA cyps was found reduced significantly after 6 hours and cellular respiration intensity declined reliably after 72 hours of gravitational unloading.

Key words: cellular respiration, tail suspension, cytochrome c.

УДК 611.08:611.817.1:599.3/8+615.2216.85

ДЕЙСТВИЕ ВЕСТИБУЛОПРОТЕКТОРОВ МЕКСИДОЛА И МЕЛАТОНИНА НА УРОВНЕ МОЗЖЕЧКА ЖИВОТНЫХ

Яснецов В.В., Мотин В.Г., Яснецов Вик.В., Карсанова С.К., Иванов Ю.В., Чельная Н.А.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва
E-mail: vvy@lsn.ru

В экспериментах на кошках установлено, что мексидол и мелатонин (при пневмомикроинъекции) оказывали прямое влияние на 71–81 % клеток Пуркинье, при этом тормозная реакция встречалась в 4,2–6,3 раза чаще, чем возбуждающая. На фоне действия специфического неконкурентного антагониста NMDA-рецепторного комплекса МК-801 угнетающее влияние мексидола на спонтанную активность у 88 % клеток Пуркинье полностью предотвращалось или существенно ослаблялось, что свидетельствует об участии в реализации эффекта препарата NMDA-рецепторного комплекса. На фоне действия специфического антагониста мелатониновых MT_1 - и MT_2 -рецепторов лузиндола и ГАМК-негативного вещества бикакуллина угнетающее влияние мелатонина на спонтанную активность у 86 и 71 % клеток Пуркинье соответственно полностью предотвращалось или существенно ослаблялось. Это свидетельствует о том, что в угнетающее влияние мелатонина вовлечены как мелатониновые MT_1 - и MT_2 -рецепторы, так и ГАМК-ергический компонент (стимуляция ГАМКА-рецепторов). На переживающих срезах мозжечка крыс было показано, что мексидол (в концентрации 5 мМ) значительно угнетал популяционные ответы клеток Пуркинье на 93 ± 4 %, а на фоне действия МК-801 (100 мкМ) депрессирующий эффект препарата ослаблялся на 82 ± 3 %. Следовательно, мексидол способен выраженно угнетать синаптическую передачу в системе «параллельные волокна мозжечка – клетки Пуркинье» крыс, а МК-801 в значительной степени ослабляет это действие.

Ключевые слова: мозжечок, клетки Пуркинье, мексидол, мелатонин.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2014. Т. 48. № 6. С. 30–33.

Поскольку профилактика и лечение болезни движения до сих пор остается одной из важнейших проблем авиационной, космической и морской медицины [1–4], то поиск и изучение действия новых эффективных веществ на разных уровнях центральной нервной системы, в частности мозжечка, является своевременным и актуальным.

Ранее было обнаружено, что мексидол оказывает противоукачивающее действие у человека и животных (кошек и крыс) [5]. Наряду с этим в

экспериментах на крысах было установлено, что мелатонин оказывает выраженное вестибулопротекторное действие, превосходя в этом отношении такой препарат сравнения, как вестибулопротектор прометазин, широко используемый в настоящее время в авиакосмической и морской медицине [6]. Однако действие мексидола на уровне мозжечка практически не изучено, а мелатонина исследовано недостаточно.

Как известно, ключевой элемент мозжечка – клетки Пуркинье – представляют собой высокодифференцированные нейроны с обширным ветвлением дендритов и различными типами многочисленных синаптических контактов и обеспечивают единственный выход из мозжечка, при этом являясь ГАМК-ергическими [7, 8].

В связи с этим в настоящей работе проведено исследование влияния мексидола и мелатонина на клетки Пуркинье 2 видов животных (кошек и крыс).

Методика

Опыты проводили на 6 бездвигательных миорелаксантами кошках-самцах массой 3,1–4,1 кг, находящихся на искусственной вентиляции легких. Все хирургические манипуляции осуществляли в условиях общей анестезии барбитуратами (внутрибрюшинно этаминал-натрий в дозе 35 мг/кг). Внеклеточную регистрацию биоэлектрической активности отдельных клеток Пуркинье и микроионофорез/пневмомикроинъекцию (3–10 psi /1 psi $\approx$ 6 894,76 Па/) веществ осуществляли с помощью многоканальных стеклянных электродов [9].

Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

Электрофизиологические эксперименты были проведены и на переживающих срезах мозжечка белых нелинейных крыс-самцов массой 200–220 г (14 животных). Методика приготовления и инкубирования срезов описана в работе [10]. Состав перфузионной среды (мМ): NaCl – 126, KCl – 3, NaH_2PO_4 – 1,25, $MgSO_4$ – 1,2, $CaCl_2$ – 2, $NaHCO_3$ – 26, глюкоза – 10. Раствор насыщали газовой смесью – 95 O_2 и 5 % CO_2 (pH 7,4 при температуре $35 \pm 0,5$ °C). Скорость

Таблица

**Влияние мексидола и мелатонина
(при пневмомикроинъекции) на спонтанную
активность клеток Пуркинье кошек**

Препарат	Всего нейронов	Эффект	
Мексидол	31 (100 %)	Возбуждающий	3 (9,7 %)
		Угнетающий	19 (61,3 %)
		Отсутствует	9 (29,0 %)
Мелатонин	32 (100 %)	Возбуждающий	5 (15,6 %)
		Угнетающий	21 (65,6 %)
		Отсутствует	6 (18,8 %)

протока составляла 2 мл/мин. Период адаптации среза к указанной солевой среде продолжался не менее 1 ч, после чего приступали к регистрации исходных показателей. Электрическую стимуляцию параллельных волокон мозжечка осуществляли посредством платиновых биполярных электродов и регистрировали популяционные ответы в среднем слое грушевидных нейронов коры мозжечка (слой клеток Пуркинье) с помощью одноканальных стеклянных микроэлектродов. Более подробно данная методика рассмотрена в работе [11].

В работе использовали лекарственный препарат мексидол (в виде действующего вещества этилметилгидроксипиридина сукцината; ЗАО «Фармасофт») и мелатонин (Sigma-Aldrich, США).

В качестве анализаторных веществ были использованы специфический антагонист ГАМКА-рецепторов бикикуллин (Serva, ФРГ), специфический антагонист мелатониновых MT_1 - и MT_2 -рецепторов лузиндол и специфический неконкурентный антагонист NMDA-рецепторного комплекса МК-801 (Sigma-Aldrich, США).

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием программ BioStat 2009 Professional и OriginPro 8 SRO.

Результаты и обсуждение

Исследование влияния мексидола и мелатонина (при пневмомикроинъекции) на спонтанную активность клеток Пуркинье кошек показало, что они оказывают сходное действие на данные клетки (табл.). Так, например, мексидол и мелатонин главным образом угнетали фоновую импульсацию нейронов (у 61–66 % клеток), а усиление спонтанной активности встречалось довольно редко (у 10–16 % клеток). Следовательно, мексидол и мелатонин оказывают прямое влияние на 71–81 % клеток Пуркинье, при этом тормозная реакция на пневмомикроинъекцию веществ встречается в 4,2–6,3 раза чаще ($p < 0,001$), чем возбуждающая.

На фоне действия специфического неконкурентного антагониста NMDA-рецепторного комплекса МК-801 (микроионофорез до пневмомикроинъекции мексидола) угнетающее влияние мексидола на спонтанную

активность у 15 (88 %) клеток Пуркинье из 17 полностью предотвращалось или существенно ослаблялось. Это свидетельствует о том, что у этих нейронов коры мозжечка угнетающее действие препарата реализуется через NMDA-рецепторный комплекс.

На фоне действия специфического антагониста мелатониновых MT_1 - и MT_2 -рецепторов лузиндола (пневмомикроинъекция до подведения мелатонина) и ГАМК-негативного вещества бикикуллина (микроионофорез до пневмомикроинъекции мелатонина) угнетающее влияние мелатонина на спонтанную активность у 18 (86 %) из 21 и 12 (71 %) из 17 клеток Пуркинье соответственно полностью предотвращалось или существенно ослаблялось. Это свидетельствует о том, что у этих нейронов коры мозжечка кошек в угнетающее действие мелатонина вовлечены как мелатониновые MT_1 - и MT_2 -рецепторы, так и ГАМК-ергический компонент (стимуляция ГАМКА-рецепторов).

На переживающих срезах мозжечка крыс показано, что мексидол в концентрации 5 мМ значительно ($p < 0,001$) угнетал популяционные ответы клеток Пуркинье на 93 ± 4 % ($n = 8$) (рис. 1). Специфический неконкурентный антагонист NMDA-рецепторного комплекса МК-801 в концентрации 100 мкМ ($n = 7$) существенно не влиял на популяционные ответы клеток Пуркинье крыс. Вместе с тем на фоне действия МК-801 ($n = 8$) депрессирующий эффект препарата ослаблялся на 82 ± 3 % ($p < 0,001$) (рис. 2).

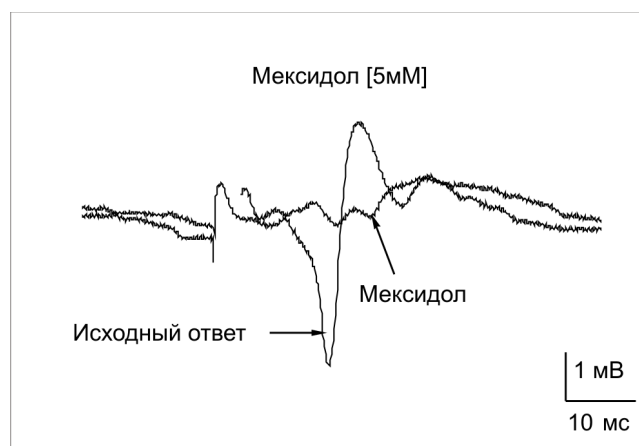


Рис. 1. Влияние мексидола в концентрации 5 мМ на популяционные ответы клеток Пуркинье крыс. Здесь и на рис. 2: по оси абсцисс – время, 10 мс; по оси ординат – амплитуда, 1 мВ

Итак, мексидол способен выраженно угнетать синаптическую передачу в системе «параллельные волокна мозжечка – клетки Пуркинье» крыс, а МК-801 в значительной степени ослабляет это депрессирующее действие.

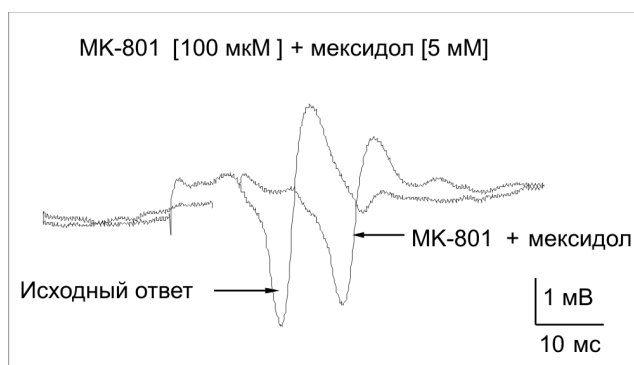


Рис. 2. Влияние мексидола в концентрации 5 мМ на фоне действия МК-801 (100 мкМ) на популяционные ответы клеток Пуркинье крыс

Полученные результаты хорошо согласуются с данными литературы. Так, в мозжечке человека и животных были обнаружены мелатониновые рецепторы [12, 13]. При этом у мышей в клетках-зернах коры мозжечка мелатонин обеспечивает сигнальную функцию через MT_1 - и MT_2 -рецепторы [14]. У крыс в культуре клеток-зерен коры мозжечка мелатонин угнетал токи, вызванные никотином, а блокатор мелатониновых MT_1 - и MT_2 -рецепторов лузиндол в значительной степени уменьшал этот эффект [15]. Кроме того, мелатонин способен модулировать ГАМК-ергические ответы в культуре нейронов гиппокампа крыс [16].

Таким образом, можно предположить, что клетки Пуркинье играют важную роль в реализации центрального, в том числе и противоукачивающего, действия мексидола и мелатонина.

Выводы

1. У кошек мексидол и мелатонин (при пневмомикроинъекции) оказывают прямое влияние на 71–81 % клеток Пуркинье; при этом тормозная реакция встречается в 4,2–6,3 раза чаще, чем возбуждающая. Специфический неконкурентный антагонист NMDA-рецепторного комплекса МК-801 полностью предотвращает или существенно ослабляет угнетающий эффект мексидола у 88 % клеток, а специфические антагонист мелатониновых MT_1 - и MT_2 -рецепторов лузиндол и антагонист ГАМКА-рецепторов бикикуллин – эффект мелатонина у 86 и 71 % соответственно.

2. На переживающих срезах мозжечка белых нелинейных крыс-самцов мексидол (в концентрации 5 мМ) значительно угнетает популяционные ответы клеток Пуркинье на 93 ± 4 %, а на фоне действия МК-801 (100 мкМ) депрессирующий эффект препарата ослабляется на 82 ± 3 %.

Список литературы

1. Шашков В.С., Яснецов В.В., Шашков А.В. и др. Фармакологическая профилактика вестибуловегетативного синдрома (болезнь движения) в модельных исследованиях // Авиакосм. и экол. мед. 2000. Т. 34. № 4. С. 9–13.
2. Shashkov V.S., Yasnetsov V.V., Shashkov A.V. et al. Pharmacological prophylaxis of vestibulo-autonomous syndrome (motion sickness) in model investigations // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. V. 34. № 4. P. 9–13.
3. Мацнев Э.И. Болезнь движения // Фарм. вест. 2002. № 19. С. 13–21.
4. Matsnev E.I. Motion sickness // Farmatsevticheskiy vestnik. 2002. № 19. P. 13–21.
5. Knox G.W. Motion sickness: an evolutionary and genetic basis for the negative reinforcement model // Aviat. Space Environ. Med. 2014. V. 85. № 1. P. 46–49.
6. Thornton W.E., Bonato F. Space motion sickness and motion sickness: symptoms and etiology // Ibid. 2013. V. 84. № 7. P. 716–721.
7. Яснецов В.В., Правдивцев В.А., Шашков А.В. и др. Исследование противоукачивающих свойств производных 3-гидроксипиридина // Авиакосм. и экол. мед. 2005. Т. 39. № 4. С. 45–49.
8. Yasnetsov V.V., Pravdivtsev V.A., Shashkov A.V. et al. Investigation of the anti-motion sickness effect of 3-hydroxypyridine derivatives // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2005. V. 39. № 4. P. 45–49.
9. Яснецов В.В., Мотин В.Г., Карсанова С.К. и др. Исследование вестибулопротекторных свойств мелатонинергических средств // Там же. 2014. Т. 48. № 2. С. 31–34.
10. Yasnetsov V.V., Motin V.G., Karsanova S.K. et al. Investigation into the vestibular protective properties of melatoninergetic agents // Ibid. 2014. V. 48. № 2. P. 31–34.
11. Фанарджян В.В., Григорьян Р.А. Интегративные механизмы мозжечка: Руководство по физиологии. Частная физиология нервной системы. Л., 1983. С. 112–170.
12. Fanardzhayn V.V., Grigorayn R.A. Integrative mechanism of cerebellum: The guide to physiology. Private physiology of nervous system. Leningrad, 1983. P. 112–170.
13. Hawkes R. Purkinje cell stripes and long-term depression at the parallel fiber-Purkinje cell synapse // Front Syst. Neurosci. 2014. V. 8. Art. 41. P. 1–11.
14. Яснецов В.В., Шашков В.С. Нейрохимические и фармакотерапевтические аспекты болезни движения. М., 1993.
15. Yasnetsov V.V., Shashkov V.S. Neurochemical and pharmacotherapeutic aspects of motion sickness. Moscow, 1993.
16. Мотин В.Г., Яснецов В.В., Ковалев С.М., Крылова И.Н. Влияние ноотропов на электрическую

активность в поле CA1 гиппокампа крыс // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2000. Т. 130. № 9. С. 252–254.

Motin V.G., Yasnetsov V.V., Kovalev S.M., Krylova I.N. Effects of nootropes on electrical activity in CA1 area of rat hippocampus // Byulleten experimentalnoy biologii i meditsiny. 2000. V. 130. № 9. P. 252–254.

11. Мотин В.Г. Холин – предшественник ацетилхолина – вызывает NMDA-зависимую эпилептиформную активность в CA1 области гиппокампа крыс // Там же. 2011. Т. 152. № 7. С. 32–36.

Motin V.G. Acetylcholine precursor choline evokes NMDA-dependent epileptoid activity in rat hippocampal CA1 area // Ibid. 2011. V. 152. № 7. P. 32–36.

12. Sugden D. Melatonin Receptors // Tocris Reviews. 2000. № 14. P. 1–4.

13. Imbesi M., Uz T., Manev H. Melatonin receptor agonist ramelteon activates the extracellular signal-regulated kinase 1/2 in mouse cerebellar granule cells // Neuroscience. 2008. V. 155. № 4. P. 1160–1164.

14. Imbesi M., Uz T., Dzitoyeva S et al. Melatonin signaling in mouse cerebellar granule cells with variable native MT1 and MT2 melatonin receptors // Brain Res. 2008. V. 1227. P. 19–25.

15. Lax P. Melatonin inhibits nicotinic currents in cultured rat cerebellar granule neurons // J. Pineal Res. 2008. V. 44. № 1. P. 70–77.

16. Cheng X.P., Sun H., Ye Z.Y., Zhou J.N. Melatonin modulates the GABAergic response in cultured rat hippocampal neurons // J. Pharmacol. Sci. 2012. V. 119. № 2. P. 177–185.

Поступила 18.09.14

EFFECTS OF VESTIBULOPROTECTORS MEXIDOL AND MELATONIN ON ANIMAL CEREBELLUM

**Yasnetsov V.V., Motin V.G., Yasnetsov Vik.V.,
Karsanova S.K., Ivanov Yu.V., Chelnaya N.A.**

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).
2014. V. 48. № 6. P. 30–33

In experiments with cats, air-assisted microinjections of mexidol and melatonin had a direct effect on 71–81 % Purkinje cells inducing the inhibitory response 4.2–6.3 times more often than exiting. In case of concurrent action of MK-801 (a specific noncompetitive NMDA-receptor antagonist) the mexidol effect on the spontaneous activity was suppressed fully or abated significantly in 88 % Purkinje cells. Lusindol (a specific melatonin MT₁- and MT₂-receptor antagonist) and GABA-negative bicuculline prevented the inhibiting effect of melatonin fully or abated significantly the spontaneous activity of 86 % and 71 % Purkinje cells, respectively. This means that melatonin-produced inhibition recruits both melatonin MT₁- and MT₂-receptors, and also the GABA-ergic component (stimulation of GABAA-receptors). Investigation of rat's cerebellum slices with prolonged survival showed that 5 mM of mexidol inhibited reliably Purkinje cells population responses by 93 ± 4 %; the presence of MK-801 (100 μM) weakened this effect by 82 ± 3 %. Consequently, mexidol is capable to inhibit strongly the parallel fibers – Purkinje cells synaptic transmission in the rat's cerebellum, whereas MK-801 abates this effect appreciably.

Key words: cerebellum, Purkinje cells, mexidol, melatonin.

УДК 612.014.4

УСТОЙЧИВОСТЬ К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ПРИ РАЗНОМ СОДЕРЖАНИИ КИСЛОРОДА

Погодина М.В., Буравкова Л.Б.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

E-mail: pogodina_m@mail.ru

Исследование реакции мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) из жировой ткани человека на окислительный стресс показало, что клетки, культивируемые в условиях различного содержания O_2 , имеют разную устойчивость к действию перекиси водорода. При 5 % O_2 наблюдается пониженная активность супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГП) по сравнению с ММСК при 20 % O_2 и 1 % O_2 . Экспозиция клеток в среде с H_2O_2 в минимальной концентрации (LD_5) способствует кислородзависимому увеличению активности СОД, при этом уровень каталазы и ГП не изменяется. Выявленная активация антиоксидантной системы как при слабом гипоксическом (1 % O_2), так и при слабом гипероксическом (20 % O_2) стрессе приводит к повышению устойчивости стромальных предшественников к действию H_2O_2 .

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, окислительный стресс, перекись водорода, антиоксидантная система.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2014. Т. 48. № 6. С. 34–38.

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) представляют большой интерес для изучения в связи со способностью принимать участие в репаративном remodelировании тканей за счет активной пролиферации и дифференцировки. Кроме того, ММСК вырабатывают паракринные факторы, которые способствуют повышению выживаемости поврежденных и активации резидентных прогениторных клеток [1, 2]. Тем не менее эффективность применения клеточной терапии во многих случаях зависит от их устойчивости к повреждающим воздействиям, в том числе окислительному стрессу, который сопровождает воспалительные процессы, инсульты, инфаркты. Так, установлено, что при инфаркте миокарда чрезмерная продукция активных форм кислорода (АФК) наблюдается как во время реперфузии ишемизированных участков [3, 4], так и до нее [5, 6]. При этом наибольший вклад в развитие окислительного стресса вносят образующиеся перекись водорода (H_2O_2), супероксид анион (O_2^-) и гидроксильный радикал ($OH\cdot$) [7, 8].

Показано, что устойчивость клеток к окислительному стрессу определяется большим числом факторов, в том числе содержанием кислорода в среде при культивировании *in vitro* [9, 10]. Тем не менее механизмы действия АФК на ММСК в настоящее время изучены недостаточно.

Целью данной работы является исследование устойчивости ММСК, культивируемых при разном содержании кислорода, к окислительному стрессу, моделируемому действием перекиси водорода.

Методика

Выделение ММСК из жировой ткани человека проводили, используя методику, описанную в работе [11] с модификациями [12]. Клетки культивировали в среде α -МЕМ, содержащей 10 % фетальной бычьей сыворотки, 50 ед./мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина. Для проведения экспериментов использовали ММСК 2–5 пассажей, постоянно культивируемые в нормоксических (стандартные условия CO_2 -инкубатора: 20 % O_2 , 75 % N_2 , 5 % CO_2) или гипоксических условиях. Гипоксические условия создавали с помощью мультигазового инкубатора (Sanyo, Япония), поддерживающего содержание кислорода на уровне 5 %, и герметичной камеры (Stem Cell Technologies, Канада) с кислородным датчиком, в которой воздух замещали газовой смесью (95 % N_2 , 5 % CO_2) до достижения концентрации O_2 в среде 1 %.

Окислительный стресс моделировали добавлением в ростовую среду раствора перекиси водорода в фосфатном буфере (диапазон конечных концентраций от 0,5 до 30 μ моль/кл). Через 24 ч определяли жизнеспособность ММСК и вычисляли концентрацию H_2O_2 , соответствующую LD_5 , LD_{15} и LD_{50} . Далее клетки при 20, 5 и 1 % O_2 обрабатывали H_2O_2 в дозе LD_5 , исследовали активность каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), и глутатионпероксидазы (ГП).

Жизнеспособность ММСК определяли методом проточной цитофлуориметрии на приборе Epics XL (Beckman Coulter, США) с использованием набора Annexin V-FITC/PI (Immunotech, Франция) согласно

инструкции производителя. Аннексин V, меченный FITC, взаимодействует с фосфатидилсерином, который в норме находится во внутреннем слое фосфолипидного бислоя мембран клеток, а при апоптозе, когда клетка теряет способность поддерживать асимметричность локализации мембранных фосфолипидов, перемещается во внешний монослой. Некротические клетки выявляли за счет связывания с пропидия йодидом, который при необратимом повреждении клетки проходит через клеточную мембрану и взаимодействует с малой бороздкой ДНК. Живые клетки при этом остаются неокрашенными.

Для определения активности ферментов готовили лизаты ММСК с помощью M-PER Plus Halt Protease Inhibitor Cocktail Kit (Thermo Scientific, США) и методом Бредфорд определяли содержание белка.

Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) определяли с помощью методики, описанной в работе [13]. Реакцию запускали добавлением 0,1 мл лизата ММСК к 1 мл 0,03 %-го раствора перекиси водорода. В холостой пробе лизат заменяли 0,1 мл дистиллированной воды. Реакцию останавливали через 10 мин добавлением 1 мл 4 %-го раствора молибдата аммония. Интенсивность развивающейся окраски измеряли на спектрофотометре DU-530 (Beckman Coulter, США) при длине волны 410 нм против контрольной пробы, в которую вместо перекиси водорода вносили 1 мл воды. Активность фермента выражали в мкМ H_2O_2 /мин на 1 мкг клеточного белка.

Активность супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.1) определяли по ингибированию скорости восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) в неэнзиматической системе феназинметасульфата (ФМС) и НАДН [14]. Лизат ММСК вносили в количестве 10 мкл на 300 мл среды инкубации, состоящей из 0,1 М фосфатного буфера (pH 7,8), 0,33 мМ ЭДТА, 0,41 мМ НСТ, 0,01 мМ ФМС и 0,8 мМ НАДН. Реакцию запускали добавлением НАДН и регистрировали прирост оптической плотности за 5 мин при длине волны 540 нм. За единицу активности СОД принимали количество фермента, необходимого для 50 %-го ингибирования восстановления НСТ. Расчет вели по формуле:

$$E = (100 - E_0 \cdot 100 / E_k) / 50 \cdot \text{мкг белка},$$

где E_0 , E_k – средние значения прироста экстинкции за 1 мин в опытной и контрольной пробах соответственно. Активность СОД выражали в усл. ед. на 1 мкг белка.

Для определения активности глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9) в 2 микропробирки вносили 25 мкл лизата и 25 мкл 31,88 мМ раствора восстановленного глутатиона. Полученную смесь инкубировали 5 мин при 37 °С. Затем в опытную пробирку добавляли 5 мкл 13,8 мМ раствора H_2O_2 , встряхивали на вортексе и оставляли в термостате. Через

1 мин в контрольную и опытную пробы приливали по 0,1 мл холодного 10 % раствора ТХУ, после чего в контрольную пробирку добавляли 5 мкл 13,8 мМ раствора H_2O_2 . Обе пробирки встряхивали и помещали в холодильник на 10 мин, затем центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин и +4 °С. К 50 мкл надосадочной жидкости приливали по 1 мл фосфатного буфера (pH 8,0), 5 мкл реактива Элмана, тщательно перемешивали и измеряли оптическую плотность опытной пробы по сравнению с контрольной при 412 нм. Для определения скорости неферментативного окисления восстановленного глутатиона исследовали пробы, в которые вместо лизата добавляли аналогичный объем дистиллированной воды. Активность ГП выражали в мкМ восстановленного глутатиона/мин на 1 мкг клеточного белка.

Изменение активности ферментов в клетках, обработанных H_2O_2 , оценивали относительно таких параметров в контрольных ММСК, культивируемых в аналогичных по содержанию O_2 условиях. Достоверность различий между группами оценивали на основе критерия Манна – Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Перекись водорода часто используется в качестве классической модели окислительного стресса из-за своих уникальных биохимических свойств, таких, как относительно длительный период полураспада и растворимость в липидах и водной среде [15, 16]. H_2O_2 легко проникает через мембрану, быстро устанавливается равновесие ее концентраций внутри и вне клетки. Обработка перекисью водорода помимо непосредственного влияния приводит к образованию различных форм АФК, например супероксида, перекиси водорода и гидроксильного радикала, которые способны повреждать ДНК, белки и липиды мембран клетки [17].

При исследовании устойчивости ММСК из жировой ткани человека к окислительному стрессу, вызванному широким диапазоном концентраций H_2O_2 , использовали величины LD_{50} , LD_{15} и LD_{50} – концентрации H_2O_2 в среде культивирования, при которых через 24 ч погибает 5, 15 и 50 % клеток соответственно. Для определения LD использовали удельную концентрацию (пмоль/кл), поскольку как было показано в работе [18], на жизнеспособность клеток влияет не конечная концентрация H_2O_2 в среде, а то ее количество, которое приходится на клетку. В результате проведенных экспериментов на клетках 3 разных доноров было выявлено, что для ММСК, культивируемых при 20 % O_2 , LD_{15} и LD_{50} составляют $10,7 \pm 1,45$ и $13,3 \pm 0,83$ пмоль/кл, для ММСК при 1 % O_2 – $11,2 \pm 0,73$ и $13,7 \pm 0,33$ пмоль/кл соответственно. При 5 % O_2 устойчивость к действию H_2O_2 снижалась, показатель LD_{15} зарегистрирован

Таблица 1

Пути клеточной гибели ММСК, культивируемых в условиях различного содержания O_2 , после обработки H_2O_2 в дозах LD_5 и LD_{15}

Доза H_2O_2	Содержание O_2 в среде, %	AnnV ⁻ PI ⁻ , %	AnnV ⁺ PI ⁻ , %	AnnV ⁻ PI ⁺ , %	AnnV ⁺ PI ⁺ , %
LD_5	20	94,6 ± 0,28	2,0 ± 0,2	2,3 ± 0,57	1,1 ± 0,09
	5	95,2 ± 2,02	3,6 ± 1,86	0,6 ± 0,33	0,5 ± 0,26
	1	95,1 ± 0,38	4,0 ± 0,20	0,2 ± 0,02	0,6 ± 0,21
LD_{15}	20	85,8 ± 1,09	7,2 ± 2,67	0,9 ± 0,39	6,0 ± 3,07
	5	84,9 ± 1,46	10,2 ± 1,58	0,5 ± 0,09	4,45 ± 2,70
	1	85,9 ± 1,34	10,1 ± 0,72	0,8 ± 0,28	3,16 ± 0,52

Примечание. Представлено количество живых (AnnV⁻PI⁻), апоптотических (AnnV⁺PI⁻), некротических (AnnV⁻PI⁺) клеток и клеток в состоянии постапоптотического некроза (AnnV⁺PI⁺), n = 3

Таблица 2

Активность ферментов антиоксидантной системы в ММСК при культивировании в условиях различного содержания O_2

Фермент	Содержание O_2 в среде, %		
	20	5	1
Каталаза (КФ 1.11.1.6), мкМ H_2O_2 /мин×мкг белка	5,86 ± 0,92	4,65 ± 0,79	5,97 ± 0,99
СОД (КФ 1.15.1.1), у.е./мкг белка	0,077 ± 0,004	0,057 ± 0,001*	0,065 ± 0,002
ГП (КФ 1.11.1.9), мкМ восстановленного глутатиона/мин×мкг белка	0,0038 ± 0,0001	0,0026 ± 0,0003*	0,0037 ± 0,0001

Примечание. * – $p \leq 0,01$ относительно активности ферментов в ММСК при 20 и 1 % O_2

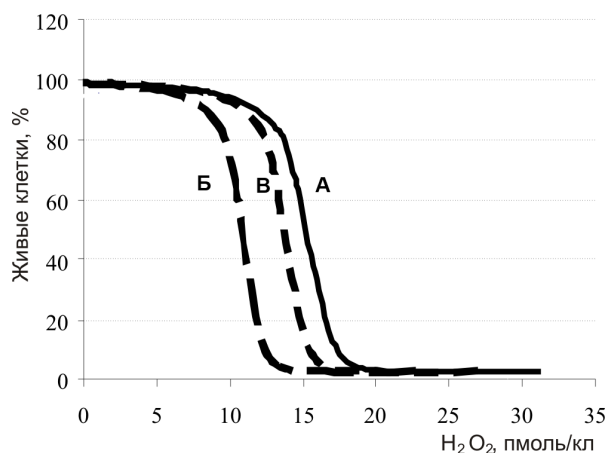


Рис. 1. Выживаемость ММСК, культивируемых при 20 % O_2 (А), 5 % O_2 (Б) и 1 % O_2 (В), после 24-часового окислительного стресса в зависимости от удельного количества H_2O_2 в среде

на уровне 8 ± 1 пмоль/кл, что достоверно ниже, чем в ММСК при 1 % O_2 , а удельная концентрация H_2O_2 , соответствующая LD_{50} , имела достоверно более низкое значение ($11,3 \pm 0,33$ пмоль/кл) по сравнению с клетками при 20 и 1 % O_2 . Значения

LD_5 во всех 3 группах регистрировались на уровне 6–8 пмоль/кл (рис. 1). Аналогичная устойчивость к перекиси водорода была показана на первичной культуре дермальных фибробластов человека [18].

При исследовании путей клеточной гибели было показано, что перекись водорода индуцирует гибель клеток преимущественно путем апоптоза (An⁺PI⁻, табл. 1).

Изучение ферментов системы антиоксидантной защиты выявило некоторые отличия их активности в ММСК при культивировании в условиях 5 % O_2 по сравнению с клетками при 20 и 1 % O_2 . Наблюдалось снижение уровня активности СОД, катализирующей реакцию дисмутации супероксид-анион-радикала с образованием молекулярного кислорода и H_2O_2 [19]. Активность каталазы, ускоряющей реакцию двухэлектронного восстановления H_2O_2 до H_2O , не изменялась, однако уровень ГП, катализирующей реакцию восстановления гидроперекиси с помощью глутатиона, был понижен (табл. 2). Отметим, что наряду с указанной функцией ГП способна восстанавливать гидроперекиси жирных кислот, перекисные продукты белков и нуклеиновых кислот.

После экспозиции клеток в присутствии H_2O_2 в дозе LD_5 ни при одном из вариантов культивирования не было обнаружено достоверных изменений

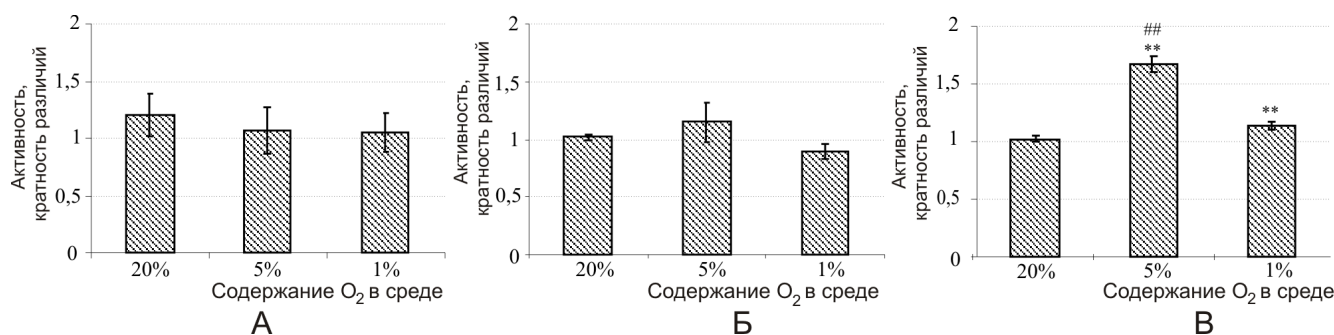


Рис. 2. Изменение активности ферментов в ММСК через 24 ч после обработки H_2O_2 в дозе LD_5 относительно таковых параметров в контрольных ММСК, культивируемых в аналогичных по содержанию O_2 условиях.

А – каталаза; Б – глутатионпероксидаза; В – супероксиддисмутаза;

** – $p \leq 0,01$ относительно активности СОД в интактных ММСК при соответствующих условиях культивирования;

– $p \leq 0,01$ относительно изменений СОД в ММСК при 20 и 1 % O_2

в уровне активности каталазы и ГП. Исследования, проведенные авторами работы [20], свидетельствуют о том, что ММСК оказывают цитопротекторный эффект на клетки в условиях окислительного стресса путем активации СОД. В данной работе непосредственно в ММСК после 24-часовой инкубации с H_2O_2 в дозе LD_5 наблюдалось повышение активности СОД при 1 % O_2 и наиболее интенсивно при 5 % O_2 (рис. 2). Это указывает на активацию адаптивных антиоксидантных реакций при культивировании ММСК в условиях пониженного содержания кислорода.

Согласно проведенным ранее исследованиям содержание O_2 в микроокружении ММСК *in vivo* составляет от 4 до 7 %. При культивировании *in vitro* клетки в подобных условиях (5 % O_2) оказались наименее устойчивыми к окислительному стрессу по сравнению с ММСК при повышенном (20 %) и пониженном (1 %) содержании кислорода. При этом наблюдалось наиболее интенсивное увеличение активности ферментов антиоксидантной защиты. Однако на фоне увеличения активности СОД в данном случае отсутствовали изменения уровня ГП. Известно, что ГП обладает в 1000 раз большим сродством к пероксиду водорода по сравнению с каталазой. В этой связи данный фермент имеет первостепенное значение в защите клетки от H_2O_2 .

Суммируя полученные результаты, можно предположить, что клетки, культивируемые в условиях повышенного (20 %) и пониженного (1 %) содержания кислорода, испытывают слабый окислительный стресс, благодаря адаптации к которому в них на более высоком уровне поддерживается активность некоторых компонентов антиоксидантной системы, что повышает их устойчивость к повреждающему действию H_2O_2 .

Выводы

Наиболее устойчивыми к повреждающему действию пероксида водорода являются ММСК, культивируемые в условиях 20 % и 1 % кислорода, в них повышена активность ферментов антиоксидантной системы (СОД, ГП) по сравнению с клетками, постоянно культивируемыми при 5 % O_2 .

При действии пероксида водорода в дозе LD_5 в ММСК при пониженном содержании O_2 (5 % и 1 %) наблюдается увеличение активности СОД в отсутствие изменений со стороны каталазы и ГП.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 14-15-00693.

Список литературы

1. Gimble J.M., Katz A.J., Bunnell B.A. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine // *Circ. Res.* 2007. V. 100. № 9. P. 1249–1260.
2. Gimble J.M., Bunnell B.A., Guilak F. Human adipose-derived cells: an update on the transition to clinical translation // *Regen. Med.* 2012. V. 7. № 2. P. 225–235.
3. Ambrosio G., Zweier J.L., Duilio C. et al. Evidence that mitochondrial respiration is a source of potentially toxic oxygen free radicals in intact rabbit hearts subjected to ischemia and reflow // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. № 25. P. 18532–18541.
4. Vanden Hoek T.L., Becker L.B., Shao Z.H. et al. Preconditioning in cardiomyocytes protects by attenuating oxidant stress at reperfusion // *Circ. Res.* 2000. V. 86. № 5. P. 541–548.
5. Becker L.B., Vanden Hoek T.L., Shao Z.H. et al. Generation of superoxide in cardiomyocytes during ischemia before reperfusion // *Am. J. Physiol.* 1999. V. 277. P. H2240–H2246.

6. Lu L., Quinn M.T., Sun Y. Oxidative stress in the infarcted heart: role of de novo angiotensin II production // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. V. 325. № 3. P. 943–951.
7. Kinugawa S., Tsutsui H., Hayashidani S. et al. Treatment with dimethylthiourea prevents left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction in mice: role of oxidative stress // *Circ. Res.* 2000. V. 87. № 5. P. 392–398.
8. Sun Y. Oxidative stress and cardiac repair/remodeling following infarction // *Am. J. Med. Sci.* 2007. V. 334. № 3. P. 197–205.
9. Peterson K.M., Aly A., Lerman A. et al. Improved survival of mesenchymal stromal cell after hypoxia preconditioning: role of oxidative stress // *Life Sci.* 2011. V. 88. P. 65–73.
10. Theus M.H., Wei L., Cui L. et al. In vitro hypoxic preconditioning of embryonic stem cells as a strategy of promoting cell survival and functional benefits after transplantation into the ischemic rat brain // *Exp. Neurol.* 2008. V. 210. № 2. P. 656–670.
11. Zuk P.A., Zhu M., Mizuno H. et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies // *Tissue Eng.* 2001. V. 7. № 2. P. 211–228.
12. Буравкова Л.Б., Гринаковская О.С., Андреева Е.Р. и др. Характеристика мезенхимных стромальных клеток из липоаспирата человека, культивируемых при пониженном содержании кислорода // *Цитология.* 2009. Т. 51. № 1. С. 5–11.
13. Buravkova L.B., Grinakovskaya O.S., Andreeva E.R. et al. Characteristics of human lipoaspirate-isolated mesenchymal stromal cells cultivated under a lower oxygen tension // *Tsitologiya.* 2009. V. 51. № 1. P. 5–11.
14. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // *Лаб. дело.* 1988. № 1. С. 16–19.
15. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokarev V.E. Method for determination of catalase activity // *Laboratornoe delo.* 1988. V. 1. P. 16–19.
16. Матюшин Б.Н., Логинов А.С., Ткачев В.Д. Определение супероксиддисмутазной активности в материале пункционной биопсии печени при ее хроническом поражении // *Там же.* 1991. № 7. С. 16–19.
17. Matyushin B.N., Loginov A.S., Tkachev V.D. Measurement of superoxide dismutase activity of liver puncture biopsy specimens in chronic involvement of the liver // *Ibid.* 1991. V. 7. P. 16–19.
18. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function // *Physiol. Rev.* 2002. V. 82. № 1. P. 47–95.
19. Ryter S.W., Kim H.P., Hoetzel A. et al. Mechanisms of cell death in oxidative stress // *Antioxid. Redox. Signal.* 2007. V. 9. № 1. P. 49–89.
20. Cadenas E. Lipid peroxidation during the oxidation of haemoproteins by hydroperoxides. Relation to electronically excited state formation // *J. Biolumin. Chemilumin.* 1989. V. 4. № 1. P. 208–218.

18. Бурова Е.Б., Люблинская О.Г., Шатрова А.Н. и др. Сравнительный анализ устойчивости к окислительному стрессу стволовых клеток эндометрия и фибробластов человека // *Цитология.* 2012. Т. 54. № 6. С. 478–482.

Burova E.B., Lyublinskaya O.G., Shatrova A.N. et al. Comparison of human endometrial stem cells and fibroblasts resistance to oxidative stress. // *Tsitologiya.* 2012. V. 54. № 6. P. 478–482.

19. Zelko I.N., Mariani T.J., Folz R.J. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression // *Free Radic. Biol. Med.* 2002. V. 33. P. 337–349.

20. Cho K.A., Woo S.Y., Seoh J.Y. Mesenchymal stem cells restore CCl₄-induced liver injury by an antioxidative process // *Cell Biol. Int.* 2012. V. 36. № 12. P. 1267–1274.

Поступила 20.08.14

OXIDATIVE STRESS RESISTANCE OF MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS CULTIVATED UNDER DIFFERENT OXYGEN TENSION

Pogodina M.V., Buravkova L.B.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2014. V. 48. № 6. P. 34–38

Studies of the reaction of multipotent mesenchymal stromal cells (MMSCs) derived from human adipose tissue to oxidative stress showed that cells cultivated at 5 % O₂ possessed much lower resistance to hydrogen peroxide. This could be consequent to low basal activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GP) in these cells when compared to MMSCs exposed to 20 % O₂ and 1 % O₂. Twenty-four-hour exposure of stromal precursors in a medium containing H₂O₂ in a minimal concentration (LD₅₀) stimulated an oxygen-dependent rise of the SOD activity, whereas catalase and GP concentrations did not change. Activation of the antioxidant system in response to equally a weak hypoxic (1 % O₂) and weak hyperoxic (20 % O₂) stress in vitro enhances the MMSCs resistance to H₂O₂.

Key words: multipotent mesenchymal stromal cells, oxidative stress, hydrogen peroxide, antioxidant system.

УДК 612.08:612.172.4:612.176.4

ИЗМЕНЕНИЕ КОМПЛЕКСА QRS НА ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАММЕ У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ ПРИ НАГРУЗОЧНЫХ ТЕСТАХ

Салтыкова М.М.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН,
Москва

E-mail: saltykova@imbp.ru

Проведен анализ изменений амплитуды зубцов комплекса QRS у здоровых лиц в течение нагрузочных тестов и определено влияние на эти показатели увеличения легочной вентиляции, артериального давления и частоты сердечных сокращений (ЧСС). В исследование приняли участие здоровые лица в возрасте до 35 лет (17 человек). Проведено 6 экспериментов: 3 – для выявления закономерностей изменений QRS-показателей, обусловленных смещением и ротацией сердца, а также изменением электропроводящих свойств органов и тканей грудной клетки вследствие изменения паттерна дыхания, и 3 – для выявления закономерностей изменения QRS-показателей, обусловленных изменением показателей центральной гемодинамики (систолического и диастолического артериального давления и ЧСС). Во всех нагрузочных экспериментах было выявлено достоверное увеличение амплитуды зубца S, которое не связано с ротацией сердца вследствие смещения диафрагмы при увеличении глубины дыхания и изменении положения тела, коррелирующее с увеличением систолического артериального давления (САД). Возможно данные изменения связаны с увеличением трансмурального давления в миокарде в фазе изоволюмического сокращения при увеличении физической нагрузки.

Ключевые слова: электрокардиограмма (ЭКГ), пробы с физической нагрузкой, индуцированные нагрузкой изменения вольтажа QRS.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2014. Т. 48. № 6. С. 39–46.

Реакции человека на нагрузочное тестирование характеризуются полиморфизмом и фазовостью ответа со стороны различных органов и систем и определяются как характером и скоростью нарастания нагрузки, так и текущим функциональным состоянием организма. Сочетание биофизических и ответных физиологических реакций организма определяет результаты тестирования. Специфика биофизических реакций связана с наличием в организме человека 3 различных сред: жидкой (кровь, лимфа, интерстициальная жидкость и др.), эластичной (мышцы, сухожилия, внутренние органы и др.) и твердой (костно-хрящевой). Для жидких сред характерны гидростатические эффекты с последующим

перераспределением объемов, для эластичных – явления растяжения и сжатия, для твердых – определенная вероятность структурных повреждений [1, 2]. Кроме того, биохимические изменения, сопровождая указанные выше реакции, могут менять электропроводящие свойства органов и тканей.

Неоднозначность влияния всех этих факторов на результаты инструментальных диагностических методик оценки функционального состояния человека существенно усложняет учет этого влияния при интерпретации результатов.

Как известно, одним из универсальных индикаторов состояния организма человека, вовлекаемых в реакцию при самых разнообразных воздействиях, является сердечно-сосудистая система. Поэтому адекватный анализ и интерпретация динамики распределения кардиоэлектрических потенциалов на поверхности тела имеет особое значение. Практически каждый человек на земном шаре хотя бы один раз проходил ЭКГ-обследование, и на протяжении более чем столетней истории этого метода накоплен значительный фактологический материал, позволяющий выделить основные закономерности отклонений ЭКГ при различных заболеваниях сердца. Однако определение механизмов, обуславливающих те или иные изменения ЭКГ, представляет пока существенные трудности. Одна из основных проблем состоит в сложности дифференциации изменений ЭКГ, вызванных различными по своей природе факторами: а) изменением собственно электрической активности кардиомиоцитов; б) изменением расстояния от сердца до регистрирующих электродов, которое может быть следствием как изменения формы и размеров сердца, связанных с гипертрофией миокарда или дилатацией камер, так и некоторого смещения и ротации сердца, например, при смене пациентом позы или при напряжении мышц брюшного пресса, вызывающим смещение диафрагмы; в) изменением электропроводности органов и тканей грудной клетки вследствие перераспределения крови и других биологических жидкостей.

Влияние биофизических факторов на вольтажные показатели ЭКГ более выражено при нагрузочном

тестировании по сравнению с состоянием покоя. Видимо, вследствие этого эмпирические критерии и подходы, разработанные для «стандартных» условий регистрации в покое, оказываются недостаточно эффективными в стресс-тестах [3–5]. Наиболее изменчивы показатели реполяризации, поскольку они зависят от продолжительности потенциалов действия кардиомиоцитов, а значит, зависят от сердечного ритма, растяжения миокардиальных клеток и многих других трудно контролируемых факторов. Напротив, амплитуда и скорость нарастания потенциала действия кардиомиоцита желудочка в норме практически постоянна, не зависит от его растяжения, сердечного ритма (до 350 уд/мин), концентрации ацетилхолина и катехоламинов [6, 7]. Поэтому в норме в динамике кардиоэлектрических потенциалов в период деполяризации доминирующим оказывается влияние факторов, не связанных непосредственно с электрической активностью миокардиальных клеток. При нагрузочном тестировании это, прежде всего, такие показатели, как: 1) увеличение глубины дыхания, которое приводит к увеличению экскурсии грудной клетки и, следовательно, изменению положения ЭКГ-электродов относительно сердца, а также изменению электропроводящих свойств грудной клетки (прежде всего легких) и 2) увеличение трансмурального давления желудочков сердца, которое меняет электропроводящие свойства миокарда вследствие уменьшения количества биологических жидкостей в сердечной стенке. Невозможность неинвазивного определения трансмурального давления в миокарде обуславливает необходимость косвенной оценки его влияния на QRS по данным измерения артериального давления (АД). Удобной моделью для этого являются парные тесты с физической нагрузкой, выполняемые при сходном изменении параметров центральной гемодинамики, но разной по величине физической нагрузкой, а также парные тесты, выполняемые при разном положении верхней части тела, которые, в свою очередь, могут позволить оценить значимость влияния изменения диастолического объема левого желудочка на изучаемые параметры. Моделью для оценки влияния изменения паттерна дыхания на амплитуду комплекса QRS могут служить парные тесты, в одном из которых выполняется физическая нагрузка, которая индуцирует увеличение глубины дыхания, а в другом – в покое дыхание осуществляется в соответствии с паттерном, зарегистрированным при нагрузке.

Целью данного исследования был анализ изменения амплитуды зубцов комплекса QRS у здоровых лиц в течение нагрузочных тестов и определение влияния на эти показатели увеличения легочной вентиляции, АД и частоты сердечных сокращений (ЧСС).

Методика

Для исключения влияния на вольтажные параметры ЭКГ изменений трансмембранного потенциала кардиомиоцитов под действием медиаторов вегетативной нервной системы в условиях повышающейся физической нагрузки и/или вследствие дефицита АТФ при недостаточном кровоснабжении миокарда в исследовании приняли участие только практически здоровые лица в возрасте до 35 лет, и в анализ включались только периоды деполяризации миокарда желудочков (комплекс QRS на ЭКГ).

В исследование включены данные 17 здоровых, физически активных добровольцев в возрасте от 22 до 34 лет. Добровольцы были допущены к экспериментам врачебно-экспертной комиссией ГНЦ РФ – ИМБП РАН. Всего было проведено 6 экспериментов: 3 – для выявления закономерностей изменения QRS-показателей, обусловленных смещением и ротацией сердца, а также изменением электропроводящих свойств органов и тканей грудной клетки вследствие изменения паттерна дыхания (эксперименты 1–3), и 3 – для выявления закономерностей изменения QRS-показателей, обусловленных изменением показателей центральной гемодинамики (эксперименты 4–6).

Эксперименты 1–3

Для выявления основных закономерностей изменения амплитуды зубцов комплекса QRS на ЭКГ в условиях возрастающей физической нагрузки было проведено нагрузочное тестирование – эксперимент 1 (нагрузочный). Для выявления закономерностей изменения этих показателей, обусловленных смещением и ротацией сердца, а также изменением электропроводящих свойств органов и тканей грудной клетки вследствие изменения паттерна дыхания при нагрузке, был проведен эксперимент 2 (дыхательный).

Нагрузочное тестирование (эксперимент 1) проводили с использованием велоэргометрического теста со ступенчато повышающейся мощностью (от 50 до 200 Вт; величина ступени – 50 Вт, продолжительность – 3 мин) на велоэргометре Ergoselect 200K (Ergoline, Германия). Исходно (1 мин покоя), в течение всей пробы (12 мин нагрузки) и на этапе восстановления регистрировали ЭКГ в 12 стандартных отведениях (ЭКГ-12) с помощью беспроводного усилителя Kardi3 с адаптером K3/A1 (МКС, Зеленоград). Кроме того, мониторировался паттерн дыхания, включающий частоту дыхания и уровень легочной вентиляции с использованием портативного мобильного комплекса для эргоспирометрического тестирования MetaMax 3B (Cortex, Германия) в режиме breath-by-breath, при этом на испытуемого была надета стандартная силиконовая маска (Hans Rudolph, США).

При проведении эксперимента 2 (дыхательного) электрокардиограмму регистрировали аналогично эксперименту 1; испытуемые, сидя на велоэргометре, крутили педали без нагрузки и дышали через маску синтетическим воздухом в соответствии с паттерном, зарегистрированным во время нагрузки. Ритм дыхания задавался голосовой командой с компьютера, уровень легочной вентиляции поддерживался испытуемым путем сравнения отображенного на дисплее его текущего значения с величиной, соответствующей паттерну, зарегистрированному на нагрузке. Для предотвращения эффектов гипервентиляции, связанных с вымыванием углекислого газа из крови, его концентрация во вдыхаемом воздухе поддерживалась на уровне, обеспечивающем приблизительно постоянное содержание CO_2 в выдыхаемом воздухе.

В каждом из этих экспериментов приняли участие 9 человек (исследовательская группа). Шесть человек составили контрольную группу, они приняли участие в контрольном эксперименте (эксперимент 3), в котором ЭКГ регистрировалась только во время нагрузочного теста без записи параметров дыхания и без использования маски. Наличие контрольной группы было обусловлено необходимостью проверить выявленные в исследовательском эксперименте закономерности в условиях без ограничения дыхания, вызванного использованием маски.

Эксперименты 4–6

В каждом из этих экспериментов приняли участие 11 человек (4 мужчин и 7 женщин). Эксперименты представляли собой: 1) разгибание правой ноги в коленном суставе при вертикальном положении корпуса (эксперимент 4); 2) разгибание правой ноги в коленном суставе при горизонтальном положении корпуса (эксперимент 5); 3) разгибание обеих рук в локтевом суставе при вертикальном положении корпуса (эксперимент 6). В каждом из экспериментов испытуемым давалась ступенчато возрастающая нагрузка (5 ступеней по 4 мин).

Для создания нагрузки использовали универсальный динамометр Biodex System Pro 3 (Biodex Medical Systems, США). В течение пробы непрерывно регистрировали ЭКГ в 12 стандартных отведениях (ЭКГ-12) с использованием прибора Kardi (МКС, РФ) с адаптером КЗ/А1 (МКС, Зеленоград), систолическое (САД) и диастолическое (ДАД) АД измеряли с помощью прибора Omron (Япония). В эксперименте 6 (разгибание обеих рук в локтевом суставе) было проведено 2 тестирования: в 1-м – АД измеряли на левой руке в течение 2 последних мин каждой ступени, во 2-м – на левой ноге в течение всего эксперимента; ноги испытуемого в обоих тестированиях располагались горизонтально.

Частота разгибания правой ноги в коленном суставе составляла 50 циклов в минуту. Скорость

движения рычага уменьшалась от 210 до 90 град/с (на каждой ступени на 30 град/с), а развиваемый момент силы ступенчато возрастал.

Разгибание обеих рук в локтевом суставе осуществлялось с частотой 60 циклов в минуту. В каждом цикле испытуемые, разгибая руки в локтевом суставе, удерживали вращающиеся рычаги динамометра в горизонтальном положении (угол в локтевом суставе составлял 140°) неподвижно в течение 200–300 мс. Момент силы, достаточный для удержания обоих рычагов, составлял на 1-й ступени для мужчин и женщин 10 и 5 Нм соответственно, а на последней – 30 и 25 Нм.

В данной работе представлены данные прироста изучаемых показателей на пике нагрузки. Для оценки статистической значимости различий использовался двусторонний критерий Вилкоксона ($p < 0,05$), для оценки зависимости между изучаемыми показателями – коэффициент корреляции Спирмена ($p < 0,05$). Для статистического описания данных использовались медианы с указанием верхней и нижней квартилей.

В анализ включены только зубцы R и S, поскольку зубец Q на ЭКГ регистрировался не у всех обследуемых.

Результаты и обсуждение

Эксперименты 1–3

При сравнении вольтажных показателей QRS в эксперименте 1 выявлены высокодостоверные ($p < 0,001$) различия в амплитуде зубца S в отведениях v_3 , v_4 , v_5 и v_6 . При этом у всех 9 обследуемых в течение нагрузки амплитуда зубца S в отведении v_3 увеличивалась на 100–300 мкВ (медиана 200 мВ), в отведении v_4 – на 100–400 мкВ (медиана 200 мВ), в отведении v_5 – на 100–300 мкВ (медиана 200 мВ), у 8 обследуемых амплитуда зубца S в отведении v_6 увеличилась на 0,1 мВ. Амплитуда зубца R уменьшалась в отведении v_4 у 6 обследуемых, в v_3 и v_5 – у 4, v_6 – у 2.

В эксперименте 2 (дыхательном) не было выявлено характерной для всех обследуемых динамики показателей QRS.

В табл. 1 приведены статистические показатели (медиана, верхняя и нижняя квартили) прироста в нагрузочном и дыхательном экспериментах ЧСС (ΔЧСС), объема легочной вентиляции (ΔVe) и амплитудных показателей комплекса QRS (максимальных значений прироста амплитуды зубца R ($\max\Delta R$) и зубца S ($\max\Delta S$)).

В экспериментах 1 и 2 ЧСС на пике нагрузки достоверно увеличивалась. Однако, как видно из табл. 1, во 2-м эксперименте (дыхательном) это увеличение было незначительным по величине.

При сравнении вольтажных показателей QRS, зарегистрированных в эксперименте 3 (контрольная

Таблица 1

Статистические характеристики* прироста (Δ) на пике нагрузки ЧСС (уд/мин), объема легочной вентиляции (Ve, л/мин) и максимальных значений прироста амплитуды зубца S (maxΔS, мкВ) в отведениях v3–v5

Эксперимент 1 (нагрузочный)				Эксперимент 2 (дыхательный)			
ΔЧСС	ΔVe	maxΔR	maxΔS	ΔЧСС	ΔVe	maxΔR	maxΔS
60	42	-180	250	10	44	-120	-65
40–70	32–50	-250– -100	190–280	7–15	33–49	-170– -90	-100– -50

Примечание. Здесь и табл. 2: * – медиана, нижняя и верхняя квартили.

Таблица 2

Статистические характеристики* прироста (Δ) на пике нагрузки показателей центральной гемодинамики (ЧСС, уд/мин), САД, ДАД (мм рт. ст.) и амплитуды зубца S в отведениях v3–v5

Эксперимент 4, работа одной ногой			Эксперимент 5, работа одной ногой			Эксперимент 6, работа обеими руками		
Вертикальное положение			Горизонтальное положение			Вертикальное положение		
ΔЧСС	ΔСАД	ΔДАД	ΔЧСС	ΔСАД	ΔДАД	ΔЧСС	ΔСАД	ΔДАД
33	32	12	30	17	15	29	25	7
28–46	21–35	2–16	30–36	15–18	11–20	25–32	20–27	5–9
ΔS								
125			120			225		
100–200			100–200			100–300		

Таблица 3

Статистические показатели* зависимости прироста амплитуды зубца S и параметров АД от величины развиваемого момента силы при работе ногой при вертикальном и горизонтальном положениях корпуса

Показатели гемодинамики	Вертикальное положение		Горизонтальное положение	
	Эксперимент 4, работа одной ногой		Эксперимент 5, работа одной ногой	
	R	p	R	p
ΔS	0,445	0,11	0,915	0,001
САДпик	0,716	0,006	0,928	0,001
ДАДпик	0,715	0,006	0,644	0,06
ΔСАД	0,683	0,01	0,361	0,4
ΔДАД	0,807	0,001	0,678	0,05

Примечание. * – коэффициент корреляции по Спирмену (R) и ошибка первого рода (p).

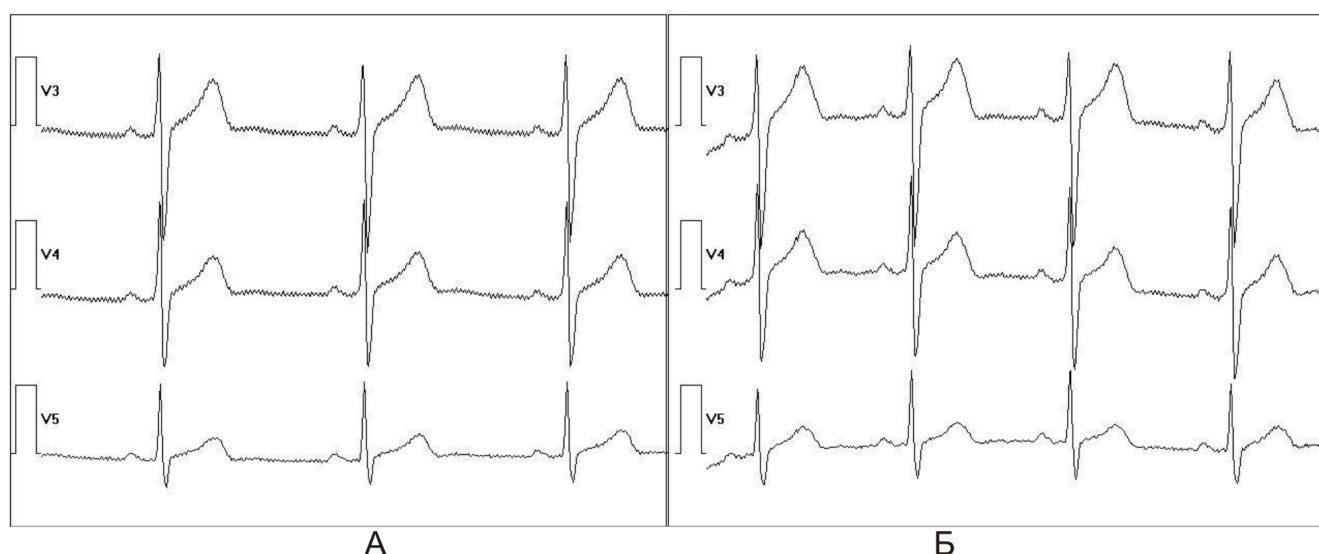


Рисунок. ЭКГ (отведения v3–v5) обследуемого Л. (26 лет) в тесте с разгибанием ноги в коленном суставе при вертикальном положении корпуса;

А – до начала нагрузки; Б – на последней ступени нагрузки

группа), также выявлены высокодостоверные ($p < 0,001$) различия в амплитуде зубца S в отведениях v3–v6. При этом у всех 6 обследуемых в течение нагрузки амплитуда зубца S в отведении v3 увеличивалась на 100–500 мкВ (медиана 200 мкВ), в отведении v4 – на 100–800 мкВ (медиана 300 мВ), в отведении v5 – на 100–700 мкВ (медиана 300 мкВ), у 5 обследуемых амплитуда зубца S в отведении v6 увеличилась на 100–500 мкВ (медиана 200 мкВ). Амплитуда зубца R уменьшалась в отведениях v3–v6 у 3 обследуемых.

Эксперименты 4–6

Сравнение изучаемых показателей при работе одной ногой при вертикальном и горизонтальном положениях корпуса (эксперименты 4 и 5).

Достоверных различий между развиваемыми моментами силы в вертикальном и горизонтальном положениях выявлено не было ($p = 0,2$).

В табл. 2 приведены статистические характеристики (медиана, нижняя и верхняя квартили) прироста ЧСС (Δ ЧСС), систолического (Δ САД) и диастолического (Δ ДАД) АД (измерение на левом плече) на пике нагрузки по сравнению с исходным состоянием покоя. В горизонтальном положении (эксперимент 5) прирост САД на пике нагрузки был достоверно ($p < 0,008$) меньше по сравнению с вертикальным (эксперимент 4), а соответствующий прирост ДАД достоверно больше. Достоверных различий по ЧСС выявлено не было ($p = 0,6$).

В табл. 2 приведены статистические показатели (медиана, верхняя и нижняя квартили) максимальных значений прироста амплитуды зубца S в отведениях v3–v5. В обоих экспериментах амплитуда зубца

S в левых грудных отведениях достоверно ($p < 0,01$) увеличивалась. Достоверных различий в приросте зубца S между экспериментами выявлено не было ($p = 0,7$). После прекращения работы амплитуда зубца S возвращалась к исходному значению. В горизонтальном положении у всех обследуемых регистрировали достоверное ($p < 0,01$) снижение амплитуды зубца R в отведениях v3–v5, которое сохранялось (в отличие от прироста амплитуды зубца S) в отведениях v3–v4 в покое после прекращения выполнения работы. Уменьшение амплитуды R составило в целом по группе 100 мкВ (70–150 мкВ), в группе мужчин 100 мкВ (90–125 мкВ), в группе женщин – 120 мкВ (70–150 мкВ). На рисунке представлена типичная динамика ЭКГ в эксперименте 4.

Сравнение изучаемых показателей при работе в вертикальном положении одной ногой (эксперимент 4) и обеими руками (эксперимент 6)

При разгибании ноги в коленном суставе (эксперимент 4) наибольшие значения развиваемого момента силы (в % от максимального произвольного момента силы (МПМС)) у всех обследуемых достоверно ($p < 0,0015$) увеличивались; в среднем (медиана (нижняя – верхняя квартили) от 18 % (16–25 %) до 31 % (26–38 %)). Достоверных различий по указанным величинам между включенными в исследование подгруппами мужчин и женщин выявлено не было ($p = 0,23$). В подгруппе мужчин в течение теста развиваемый момент силы в среднем увеличивался от 15 % МПМС (13–18 %) до 20 % МПМС (16–41 %). В группе женщин развиваемый момент силы увеличивался от 25 % МПМС (19–26 %) до 31 % МПМС (29–32 %).

При работе обеими руками (эксперимент 6) суммарный развиваемый момент силы увеличивался в течение теста в подгруппе мужчин от 13 % МПМС (11–19 %) до 39 % МПМС (33–57 %), в подгруппе женщин – 15 % МПМС (14–17 %) и 61 % МПМС (55–68 %).

Усредненный за время теста момент силы при работе ногой был достоверно выше, чем при работе обеими руками ($p < 0,0015$). Отношение усредненного за время теста момента силы при работе ногой к соответствующему моменту силы при работе руками для мужчин составило 2,15 (1,93–2,44), а для женщин 3,33 (3,12–3,57).

При сравнении прироста ЧСС, САД (измерение на левом плече) между экспериментами 4 и 6 достоверных различий не выявлено. Величина прироста ДАД, измеренного на левом плече, была достоверно ниже при работе руками ($p < 0,0015$).

При измерении АД на нижней части голени (при горизонтальном положении ног) прирост САД составил 50 (45–58) мм рт. ст., прирост ДАД – 40 (30–45) мм рт. ст., при этом прирост ЧСС составил 37 (30–48) уд/мин. Прирост АД, измеренный на голени, был достоверно ($p < 0,015$) выше соответствующего значения, измеренного на плече. Достоверных различий по ЧСС выявлено не было.

У всех обследуемых в обоих экспериментах выявлен высокодостоверный ($p < 0,01$) прирост амплитуды зубца S в левых грудных отведениях (см. табл. 2). После прекращения работы амплитуда зубца S возвращалась к исходному значению. Достоверных различий между приростом амплитуды зубца S в экспериментах 4 и 6 (работа одной ногой и обеими руками) выявлено не было ($p = 0,06$).

Изменения амплитуды зубца R на пике нагрузки носили разнонаправленный характер: у 50 % обследуемых она уменьшалась, у 43 % – не изменялась, у 7 % (1 обследуемый) – увеличивалась. При этом изменения амплитуды зубцов R и S происходили не одновременно.

Оценка статистической связи между изучаемыми показателями

Достоверной зависимости между изменением амплитуды зубца R и другими изучаемыми показателями выявлено не было, поэтому в дальнейшем приводятся данные только для изменения амплитуды зубца S.

В табл. 3 приведены статистические показатели (коэффициент корреляции по Спирмену (R) и ошибка первого рода (p) зависимости максимальных значений прироста амплитуды зубца S в отведениях $v3-v5$, параметров артериального давления (САД и ДАД на пике нагрузки (САДпик, ДАДпик) и прироста САД и ДАД (Δ САД, Δ ДАД) от величины развиваемого момента силы при работе ногой при вертикальном и горизонтальном положениях корпуса.

Достоверной зависимости ЧСС на пике нагрузки и прироста ЧСС от величины развиваемого момента силы выявлено не было. Как в вертикальном, так и в горизонтальном положении R не превосходил 0,5, а p была выше 0,2.

При работе обеими руками достоверной зависимости изучаемых параметров центральной гемодинамики от развиваемого момента силы выявлено не было. R не превосходил 0,3, а p была выше 0,4.

При проведении корреляционного анализа была выявлена высокодостоверная зависимость между приростом амплитуды зубца S и систолическим давлением на пике нагрузки при работе ногой. В вертикальном положении коэффициент корреляции по Спирмену (R) составил 0,744 ($p < 0,002$). В горизонтальном положении $R = 0,735$ ($p < 0,02$). При работе обеими руками зависимости между приростом амплитуды S и параметрами центральной гемодинамики (ЧСС, САД и ДАД) выявлено не было.

Данное исследование показало, что при проведении тестов с физической нагрузкой достоверно увеличивается амплитуда зубца S в левых грудных отведениях. При вертикальном и горизонтальном положениях корпуса обследуемого прирост зубца S сходный, что позволяет исключить из возможных механизмов, обуславливающих эти изменения, фактор возможного смещения диафрагмы (вследствие увеличения напряжения мышц брюшного пресса при работе ногой) и как следствие изменения положения сердца относительно электродов. В дыхательном эксперименте (эксперимент 2) не наблюдалось увеличения амплитуды зубца S. Это позволяет предположить, что выявленная динамика амплитуды зубца S обусловлена увеличением нагрузки и не связана с изменением паттерна дыхания.

Напротив, амплитуда зубца R в отведениях $v4-v5$ уменьшалась и в нагрузочном, и в дыхательном эксперименте, что, видимо, обусловлено увеличением объема легочной вентиляции. Поскольку изменения амплитуды зубцов R и S происходили не одновременно, то это исключает возможное объяснение динамики амплитуд устойчивой ротацией сердца, например, вследствие изменения позиции диафрагмы при увеличении напряжения мышечного пресса. Наряду с этим, во второй части исследования амплитуда зубца R уменьшалась у всех испытуемых при работе ногой в горизонтальном положении и у половины – при работе в вертикальном положении. Это уменьшение сохранялось после прекращения физической нагрузки, что могло быть обусловлено как сохраняющимся увеличенным объемом легочной вентиляции, так и некоторым перераспределением биологических жидкостей (прежде всего крови) в неработающую ногу (голень и стопа этой ноги были свободно опущены вниз, что могло приводить к перераспределению биологических жидкостей в нижнюю часть неработающей ноги). Этот процесс более

выражен при горизонтальном положении корпуса, поскольку в этом случае сосудистый тонус ниже, чем при вертикальном, что способствует большему перераспределению жидкостей [8]. Уменьшение амплитуды зубца R с ростом нагрузки у практически здоровых лиц отмечалось ранее в других работах [5, 9–10], но дополнительных исследований, направленных на выявление механизмов, авторы не проводили. Зависимость динамики амплитуды зубца R при нагрузочном тестировании от положения тела, возможно, является одной из причин рассогласования результатов оценки информативности динамики вольтажа QRS в разных исследованиях с использованием горизонтального и вертикального велоэргометров и тредмилла [4, 11–13].

При работе ногой как в вертикальном, так и в горизонтальном положениях (эксперименты 4 и 5) увеличение амплитуды зубца S высокодостоверно коррелировало с величиной систолического АД на пике нагрузки, а в горизонтальном положении и с величиной развиваемого момента силы. Наличие высокодостоверной связи САД на пике нагрузки с величиной развиваемого момента силы (см. табл. 3) позволяет предположить, что выявленная в данном исследовании высокая корреляционная связь между величиной прироста амплитуды S и САД может быть обусловлена не только непосредственной зависимостью увеличения зубца S от систолического давления, но и зависимостью обоих этих показателей от величины развиваемого испытуемым момента силы. Однако тот факт, что приросты амплитуды зубца S и САД были сходными при работе одной ногой и обеими руками, в то время как развиваемый момент силы отличался в 2–3 раза, позволяет рассматривать увеличение САД, а не увеличение развиваемого момента силы как фактор, более тесно связанный с увеличением амплитуды зубца S. Возможным механизмом, обуславливающим зависимость увеличения амплитуды зубца S от систолического давления на пике нагрузки, является изменение электропроводящих свойств сердечной стенки вследствие уменьшения в ней биологических жидкостей (электролитов) при увеличении силы сокращения миокарда на более высоких ступенях нагрузки. Увеличение степени выдавливания биологических жидкостей из миокарда в фазу сокращения (в данном случае изоволюмического) приводит к уменьшению степени шунтирования внеклеточных токов и как следствие увеличению разности потенциалов на поверхности тела [14]. Зависимость этого показателя от перераспределения биологических жидкостей была показана ранее в исследованиях с использованием постуральных тестов и переменной гравитации во время полетов специально оборудованного самолета по параболе Кеплера [15, 16].

Выявленные различия в динамике изменения амплитуды зубцов R и S в левых грудных отведениях могут быть обусловлены тем, что зубец S приходится на фазу изоволюмического сокращения левого желудочка и увеличение силы сокращения миокарда желудочков с увеличением нагрузки неизбежно влияет на вольтаж S за счет уменьшения в сердечной стенке хорошо проводящих ток биологических жидкостей, в то время как зубец R в левых грудных отведениях приходится на фазу диастолы и на его вольтаж влияют трансмуральное давление, а также объем желудочков в эту фазу.

В нашем исследовании прирост амплитуды зубца S был достоверно связан с величиной САД при работе ногой. Отсутствие такой связи при работе обеими руками, видимо, обусловлено тем, что измерение АД проводилось либо в течение второй половины каждой ступени на руке, выполнявшей физическую нагрузку в течение предыдущих 2 мин, т.е. в период реактивной гиперемии; либо в течение всего теста на голени, где величина АД существенно зависит от дополнительных факторов, не связанных напрямую с внутрисердечным давлением (внутрибрюшное давление, тонус мышц ног и др.). Небольшие величины прироста диастолического давления, измеренного на руке, при достоверно больших значениях, измеренных на голени, косвенно подтверждают эти предположения.

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить закономерности изменения амплитуды зубцов комплекса QRS на ЭКГ при физической нагрузке и раскрыть основные механизмы, лежащие в их основе. Указанные закономерности в дальнейшем могут быть использованы в разработке новых критериев электрокардиографической диагностики, применяемых при проведении нагрузочных проб.

Выводы

1. В тестах с физической нагрузкой достоверно увеличивается амплитуда зубца S.
2. Выявленное увеличение амплитуды зубца S не связано с ротацией сердца вследствие смещения диафрагмы при увеличении глубины дыхания и изменением положения тела.
3. Выявленное увеличение амплитуды зубца S статистически достоверно связано с увеличением САД.
4. Возможной причиной возрастания амплитуды зубца S при физической нагрузке может быть уменьшение в сердечной стенке в фазу изоволюмического сокращения хорошо проводящих ток биологических жидкостей вследствие увеличения в этот интервал времени трансмурального давления в миокарде, что приводит к уменьшению степени шунтирования внеклеточных токов и увеличению разности потенциалов на поверхности тела.

Автор благодарит научного сотрудника лаборатории физиологии мышечной деятельности ГНЦ РФ – ИМБП РАН Т.Ф. Миллер за помощь в проведении экспериментов.

Работа поддержана грантом «Фундаментальные науки медицине» РАН 6001/5.

Список литературы

1. Котовская А.Р., Вартбаронов Р.А. Длительные линейные ускорения. Человек в космическом полете: В 2 кн. // Космическая биология и медицина. Т. III. Кн. 2. М., 1997. С. 10–67.
2. Kotovskaya A.R., Vartbaronov R.A. Sustained linear acceleration. Man in space flight: in 2 volumes // Space biology and medicine. Moscow, 1997. P. 10–67.
3. Котовский Е.Ф., Шимкевич Л.Л. Функциональная морфология при экстремальных воздействиях. Проблемы космической биологии. Т. XV (15) М., 1971.
4. Kotovskiy E.F., Shimkevich L.L. Functional morphology during external action. Problems of space biology. V. 15. Moscow, 1971.
5. Battler A., Froelicher V., Slutsky R., Ashburn W. Relationship of QRS amplitude changes during exercise to left ventricular function and volume and the diagnosis of coronary artery disease // Circulation. 1979. V. 60. P. 1004–1013.
6. Kligfield P. Rethinking the exercise electrocardiogram // A.N.E. 2006. V. 11. P. 99–101.
7. Fletcher G.F., Ades P.A., Kligfield P. Exercise standards for testing and training: a scientific statement from the American Heart Association // Circulation. 2013. V. 128. P. 873–934.
8. Гоффман Б., Крейнфилд П. Электрофизиология сердца. М., 1962.
9. Hoffman B., Kreinfield P. Electrophysiology of the heart. Moscow, 1962.
10. Lekven J., Chatterjee K., Tyberg J.K. et al. Pronounced dependence of ventricular endocardial QRS potentials on ventricular volume // Br. Heart J. 1978. V. 40. P. 891–896.
11. González-Alonso J., Mora-Rodríguez R., Coyle E.F. Supine exercise restores arterial blood pressure and skin blood flow despite dehydration and hyperthermia // Am. J. Physiol. 1999. V. 277 (2 Pt 2). P. H576.
12. Falkner B., Lowenthal D.T., Affrime M.B., Hamstra B. Changes in R wave amplitude during aerobic exercise stress testing in hypertensive adolescents // Am. J. Cardiol. 1982. V. 50. № 1. P. 152–156.
13. Myers J., Ahnve S., Froelicher V., Sullivan M. Spatial R wave amplitude changes during exercise: relation with left ventricular ischemia and function // J. Am. Coll. Cardiol. 1985. V. 6. № 3. P. 603–608.
14. Michaelides A.P., Tousoulis D., Raftopoulos L.G. et al. The impact of novel exercise criteria and indices for the diagnostic and prognostic ability of exercise testing // Inter. J. Cardiol. 2010. V. 143. Issue 2. P. 119.
15. Hsu T.S., Lee C.P., Chern M.S., Cheng N.J. Critical appraisal of exercise variables: a treadmill study // Coron. Artery Dis. 1999. V. 10 (1). P. 15.
16. Detrano R., Salcedo E., Passalacqua M., Friis R. Exercise electrocardiographic variables: a critical appraisal // J. Am. Coll. Cardiol. 1986. V. 8. P. 836.
17. Lepeshkin E. Physiological influence on transfer factors between heart currents and body-surface potentials // The theoretical basis of electrocardiology / C.V. Nelson, D.B. Geselowitz, eds. Oxford, 1976. P. 135–164.
18. Салтыкова М.М., Хеймец Г.И., Певзнер А.В. и др. Динамика вольтажных показателей QRS при изменении положения тела // Кардиол. вестн. 2007. Т. 2 (14), № 1. С. 32–36.
19. Saltykova M.M., Kheymets G.I., Pevzner A.V. et al. Dynamic of QRS voltage in changing body position // Kardiologicheskiy vestnik. 2007. V. 2 (14). № 1. P. 32–36.
20. Saltykova M., Capderou A., Atkov O. et al. Variation of intrathoracic amount of blood as a reason of ECG voltage changes // Ann. of Noninvasive Electrocardiol. 2003. V. 8. № 4. P. 321–332.

Поступила 26.06.14

ALTERATION OF THE QRS COMPLEX IN ELECTROCARDIOGRAMS OF HEALTHY PEOPLE IN THE COURSE OF TEST LOADING

Saltykova M.M.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2014. V. 48. № 6. P. 39–46

QRS amplitudes were analyzed in ECG records obtained from exercising healthy people to evaluate the sensitivity of QRS waves to exaggerated pulmonary ventilation, blood pressure (BP) and heart rate (HR). Seventeen normal subjects aged >35 years were involved in a series of three test loading sessions aimed to define QRS alterations caused by shifting and rotation of the heart, and changes in conductivity of thoracic organs and tissues as a consequence of a different respiration pattern. They also participated in a second series of three loading sessions aimed to trace QRS alterations stemming from changes in central hemodynamics (systolic and diastolic BP and HR). Both series demonstrated a reliable S-wave rise that did not relate to the heart rotation caused by the diaphragm displacement due to deep respiration and change in body positioning but correlated with increases in systolic BP. These observations could have been induced by growth of the transmural myocardial pressure produced by isovolumic contractions during heavy test loading.

Key words: electrocardiogram, test loading, loading-induced alterations in QRS voltage.

УДК 612.13;612.166;612.313.82

СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ РИТМА СЕРДЦА, ГЕМОДИНАМИКИ И БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕГОРЬЯ

Курданова М.Х., Бесланев И.А., Батырбекова Л.М., Курданов Х.А.

Центр медико-экологических исследований – филиал Государственного научного центра Российской Федерации – Института медико-биологических проблем РАН, Нальчик, Россия
E-mail: ibisl@yandex.ru

Изучены особенности variability ритма сердца (ВРС), гемодинамики и биоэлектрической активности головного мозга (альфа-ритма) и их системные взаимосвязи у 35 здоровых лиц в возрасте $37,2 \pm 3,8$ лет., проживающих в условиях среднегорья.

Проведено комплексное клинико-функциональное, инструментальное обследование, включающее в том числе variability ритма сердца (ВРС), электроэнцефалографию (ЭЭГ) в 21 монополярном отведении, мониторинг артериального давления (АД). Построены математические модели – трехмерные графики, отражающие закономерности взаимосвязей исследуемых параметров, которые описаны с помощью уравнений множественной регрессии.

Показано, что относительное повышение LF диапазона и снижение HF диапазона сопровождается более высокими уровнями АД. На ЭЭГ у обследованных лиц выявлено относительное снижение амплитуды и индекса альфа-ритма. Отмечено, что при снижении ВРС и изменении структуры альфа-ритма изменяются уровни АД. Полученные данные свидетельствуют о взаимодействии вегетативной и центральной нервных систем с гемодинамикой и тесной взаимосвязи между ними.

Ключевые слова: variability ритма сердца, гемодинамика, альфа-ритма головного мозга, системный анализ.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2014. Т. 48. № 6. С. 47–52.

Состояние центральной нервной системы (ЦНС) и вегетативной нервной системы (ВНС) является определяющим в оптимальном функционировании систем регуляции, обеспечивающих гомеостаз и адаптационный потенциал организма к внешним и внутренним воздействиям [1].

Клинико-физиологические исследования свидетельствуют о тесной связи психических и вегетативных процессов в формировании адаптационного потенциала организма. При этом в последнее время все большее внимание уделяется вопросам функциональной роли обратной афферентации от вегетативных систем к интегративной деятельности мозга.

Исследование взаимоотношений высших психических процессов и кардиальной афферентации имеет большое значение для физиологии и медицины. В физиологическом аспекте такие исследования раскрывают новые функциональные взаимосвязи, а в медицинском – позволяют оценить вклад психоневрологических механизмов в развитие и течение как сердечно-сосудистых заболеваний, так и неврологических расстройств [2].

В экспериментальных и клинических исследованиях показана связь кардиocereбральных синхронных влияний с ритмической активностью альфа-ритма, частотой сердечных сокращений (ЧСС) и сенсомоторных реакций, фазовосвязанных с частотой альфа-ритма. Увеличение ЧСС и артериального давления (АД) приводит к возрастанию обратной афферентации от артериальных барорецепторов. Уменьшение ЧСС и АД, снижая барорецепторное торможение, приводит к улучшению восприятия внешних сигналов. Таким образом, центральные структуры, не связанные с механизмами регуляции гемодинамики и ритма сердца оказывают влияние на них посредством барорецепторного торможения [3].

В последние годы для оценки ВНС широко используется исследование ВРС. Изменение уровня системного АД отражается на параметрах ВРС. Так, повышение АД приводит к увеличению низкочастотных (симпатических) влияний и снижению высокочастотных (парасимпатических) влияний на ритм сердца [4].

Сердечная деятельность глубоко интегрирована во все органы и системы организма. Нарушения функции подкорковых и корковых структур мозга вызывают изменения в ВНС и ЦНС со смещением регуляций ритма сердца от автономного контура к центральным отделам регуляции, что приводит к характерным изменениям ВРС. Изменения регуляции в ВНС приводят к изменению уровней системного АД, также вызывающих специфические изменения в показателях ВРС.

Вышеизложенные данные подчеркивают важность комплексной оценки показателей ВРС, параметров гемодинамики и биоэлектрической

активности головного мозга как у здоровых лиц, так и у лиц, имеющих предрасположенность к сердечно-сосудистым заболеваниям и неврологическим расстройствам.

Применение клинико-функциональных и математико-статистических методов с учетом параметров ВРС, гемодинамики и биоэлектрической активности головного мозга может выявить важные механизмы кардиocereбральных взаимосвязей и стать основой для разработки новых методических подходов для диагностики, лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний.

Цель исследования: изучить состояние ВРС, гемодинамики, биоэлектрической активности головного мозга и их системные взаимосвязи у здоровых лиц, проживающих в условиях среднегорья.

Методика

Обследовано 35 здоровых лиц (14 мужчин и 21 женщина); средний возраст $37,2 \pm 3,8$ года; индекс массы тела $23,8 \pm 1,4$ кг/м², проживавших в условиях среднегорья (550–850 м над уровнем моря).

Все обследованные были предварительно ознакомлены с содержанием исследования. Получено информированное согласие на его проведение.

Критерии включения добровольцев в состав обследуемой группы: отсутствие функциональных или органических заболеваний сердечно-сосудистой и нервной системы, хронических воспалительных и других заболеваний в анамнезе и на момент исследования.

Для исключения синдрома «белого халата» все исследования проводили в обычной одежде. Всем пациентам проведены клиническое, инструментальное и лабораторное обследования по методикам, приведенным ниже.

Регистрация ЭКГ и АД осуществлялась комплексом суточного мониторинга «Союз» («ДМС – передовые технологии», Россия) в течение 24 ч. Запись ЭКГ и ЭЭГ осуществлялась синхронно в течение 30 мин. Параметры АД, ЧСС и ВРС рассчитывались и обрабатывались в программе «Союз-2012», («ДМС – передовые технологии», Россия). Анализ подвергались стационарные записи ЭКГ по 5-минутным интервалам.

Анализ ВРС. Во временной области определялись статистические характеристики динамического ряда по 5-минутным интервалам записи кардиоинтервалограммы: количество кардиоциклов – NN; RRNN (средняя длительность нормальных интервалов RR, мс); стандартное отклонение дисперсии всех NN интервалов – SDNN, мс; среднеквадратичное отклонение абсолютных приращений длительностей кардиоциклов – RMSSD, мс; процент кардиоциклов, длительность которых отличается от предыдущего более чем на 50 мс – pNN50 %.

Рассчитывали показатели вариационной пульсометрии одномерного и двумерного распределений по Р.М. Баевскому: Мо – мода, значение длительности кардиоцикла, соответствующее середине модального класса шириной 50 мс, характеризующая доминирующее влияние синусового узла; амплитуда моды – АМо, % – процент R-R интервалов, попавших в модальный класс, характеризующий меру влияния симпатического отдела ВНС; коэффициент вариации – CV, % = $(SDNN/NN \times 100 \%)$; вторичные производные показатели вариационной пульсометрии: индекс вегетативного равновесия (IBP = A_{Mo}/dRR) ед., отражающий соотношение между активностью симпатического и парасимпатического отдела ВНС; вегетативный показатель ритма (ВПР = $1/Mo \times dRR$) ед., показатель вегетативного баланса организма; показатель адекватности процессов регуляции (ПАПР = A_{Mo}/Mo) ед., отражающий соответствие между активностью симпатического отдела ВНС и уровнем доминирования синусового узла; индекс напряжения (стресс-индекс) ИН = $A_{Mo}/(2 \times dRR \times Mo)$ ед., отражающий степень централизации регуляции ритма сердца [5].

Анализ волновой структуры ритма. В частотной области ВРС в стационарных интервалах кардиоинтервалограммы определяли: TP – общую мощность всех нормальных интервалов R-R (мс²), < 0,4 Гц, отражающую суммарное влияние регуляторных систем на ритм сердца; спектральные плотности мощности в диапазоне очень низких частот – VLF (мс²), 0,003–0,04 Гц – влияние надсегментарных вегетативных центров, отражающих влияние нейрогуморальной и метаболической регуляции, влияние и межсистемную интеграцию на уровне высших отделов головного мозга, эмоциональные и психогенные влияния на ВРС; мощность в диапазоне низких частот – LF (мс²), 0,04–0,15 Гц, отражающую симпатические влияния вазомоторного центра продолговатого мозга; мощность в диапазоне высоких частот – HF (мс²), 0,15–0,4 Гц, характеризующую парасимпатические кардиальные влияния, обусловленные синусовой аритмией; индекс – LF/HF, ед., отражающий баланс симпатических и парасимпатических влияний на ритм сердца; индекс централизации – $LF + VLF/HF$, ед., отражающий степень преобладания не дыхательных составляющих синусовой аритмии над дыхательными (соотношение влияний центрального и автономного контуров регуляции сердечного ритма); индекс активности подкорковых нервных центров – LF/VLF, ед., характеризующий активность стволовых нервных центров, участвующих в регуляции, относительно влияния иерархически более высоких отделов головного мозга, регулирующих частоту дыхания, частоту ритма сердца, и влияние на них процессов коркового торможения [6, 7].

Таблица 1

Основные показатели вариабельности ритма сердца и уровни АД у группы здоровых лиц ($M \pm m$)

Группа	Здоровые лица
Показатели	n = 35
SDNN, мс	98,3 ± 4,3
SDANN, мс	72,7 ± 3,4
RMSSD, мс	38,2 ± 3,8
pNN50, %	6,7 ± 0,3
CV, %	9,43 ± 0,9
ИВР, ед.	75,3 ± 7,1
ВПР, ед.	5,1 ± 0,43
ИН, ед.	67,5 ± 1,3
ПАПР, ед.	36,7 ± 4,5
АМо, %	36,5 ± 1,8
TP, мс ²	2885,3 ± 98,2
VLF, мс ²	986,3 ± 36,2
LF, мс ²	848,7 ± 40,3
HF, мс ²	1050,3 ± 103,6
LF/HF, ед.	0,81 ± 0,01
(LF+VLF)/HF, ед.	1,74 ± 0,02
LF/VLF, ед.	0,86 ± 0,01
VLF, %	34,2
LF, %	29,4
HF, %	36,4
АДС, мм рт. ст.	121,3 ± 1,9
АДД, мм рт. ст.	78,7 ± 0,97
АДСр, мм рт. ст.	92,9 ± 1,3
АДП, мм рт. ст.	42,6 ± 0,89
ДП (АДС · ЧСС/100), ед	82,7 ± 1,2

Электроэнцефалографию проводили на аппаратно-программном комплексе ЭЭГ-2000 Мицар-201 (Россия) в состоянии спокойного бодрствования (в положении сидя с закрытыми глазами) в течение 30 мин., в 21 монополярном отведении с ушными референтными электродами в полосе частот 1–35 Гц, синхронно с ЭКГ-каналом ЭЭГ.

Для количественной оценки спектра ЭЭГ в частотном диапазоне проводили усредненную для каждого пациента оценку амплитуды (мкВ), частоты (Гц), индекса альфа-ритма, (%). Значение индекса и спектра альфа-ритма рассчитывали по 30-секундным интервалам ЭЭГ. Межзональные и межполушарные различия оценивали по асимметрии альфа-индекса и амплитудному картированию.

Измерения АД во время записи ЭЭГ регистрировали дополнительно, автоматическими тонометрами Omron (Япония). Анализировали систолическое (АДС, мм рт. ст.), диастолическое (АДД, мм рт. ст.), среднее динамическое (АДСр, мм рт. ст.), пульсовое (АДП, мм рт. ст.) давление и двойное произведение – ДП = (АДС · ЧСС)/100, ед.

Полученные результаты обрабатывались параметрическими и непараметрическими методами статистики с использованием пакета статистических программ Microsoft Excel 14 for Windows и Statistica v.10.01. StatSoft. Данные представлены в виде средних арифметических значений (M) ± стандартные средние ошибки (m). Статистическую значимость различий средних значений определяли по t -критерию Стьюдента и критерию Вилкоксона.

Для изучения взаимосвязей между колебаниями показателей ВРС с параметрами ЭЭГ и гемодинамики была исследована множественная линейная регрессия и выбраны критерии согласия для получения максимальных коэффициентов корреляции. В программе Statistica в модулях «линейная регрессия и корреляция, множественная регрессия» построены математические модели – двумерные и трехмерные графики рассеяния (гиперплоскости), отражающие закономерности взаимосвязей 3 исследуемых переменных. Для системного анализа из показателей ВРС исключались наиболее вариабельные переменные, связанные с возрастом, и показатели, значительно варьирующие при незначительных физических нагрузках. Показатели вариационной пульсометрии и спектральные показатели ВРС сравнивали при помощи множественной регрессии и ранговой корреляции Спирмена. Различия считали значимыми при коэффициенте достоверности $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Основные показатели вариабельности ритма сердца и уровни артериального давления в группе здоровых лиц представлены в табл. 1.

Как видно из таблицы, все основные средние значения частотной и временной области ВРС и уровни АД у здоровых лиц соответствуют средним референтным значениям [8]. Это подтверждают относительно низкие значения таких показателей, как АМо, ИН, ВПР и ПАПР, отражающие меньшую централизацию регуляции сердечного ритма, лучшее функциональное состояние организма и более высокий адаптационный и энергетический потенциал. Увеличение ИН, ИВР, ВПР и ПАПР, снижение HF, высокие значения отношения LF/HF и индекса централизации свидетельствуют о большем напряжении регуляторных механизмов и о смещении функциональной активности в область преобладания вегетативных и нейрогуморальных (надсегментарных) центров регуляции. Сниженные показатели индекса активности подкорковых нервных центров свидетельствуют о нарушении регуляции как в сегментарных отделах ВНС, так и в интегративных отделах (стволовые структуры, лимбическая система, ретикулярная формация) регуляции головного мозга и нарушении влияния на них коркового торможения [9].

Таблица 2

Амплитуда, частота и индекс альфа-ритма ЭЭГ у здоровых лиц ($M \pm m$)

Отведения ЭЭГ	Параметры ЭЭГ		
	Амплитуда, мкВ	Частота, Гц	Индекс альфа-ритма, %
Fp1	35,2 ± 0,9	11,8 ± 0,03	82,4 ± 0,9
Fp2	35,8 ± 0,9	11,9 ± 0,02	82,5 ± 1,1
Fpz	33,1 ± 1,2	10,8 ± 0,05	82,3 ± 0,9
F7	37,2 ± 0,9	10,9 ± 0,02	89,7 ± 1,2
F3	38,9 ± 1,1	11,5 ± 0,02	90,8 ± 0,9
Fz	39,7 ± 1,3	11,9 ± 0,1	90,4 ± 1,3
F4	39,8 ± 1,2	11,8 ± 0,03	90,6 ± 1,2
F8	39,9 ± 0,9	11,7 ± 0,01	90,7 ± 0,8
T3	41,8 ± 1,3	11,7 ± 0,06	94,2 ± 1,2
T5	40,1 ± 1,4	10,9 ± 0,06	93,8 ± 1,3
T4	40,3 ± 1,3	10,8 ± 0,07	94,4 ± 1,1
T6	41,9 ± 1,1	11,8 ± 0,02	94,2 ± 1,1
P3	43,9 ± 1,3	11,9 ± 0,03	95,9 ± 1,2
Pz	41,2 ± 1,2	11,8 ± 0,05	94,6 ± 1,3
P4	43,7 ± 1,1	11,9 ± 0,04	95,1 ± 1,2
O1	56,2 ± 1,1	11,7 ± 0,04	96,9 ± 1,3
O2	57,8 ± 1,1	11,8 ± 0,03	97,9 ± 1,3
Oz	57,3 ± 1,2	11,9 ± 0,04	97,7 ± 1,2
C3	40,1 ± 1,3	11,8 ± 0,05	93,3 ± 1,1
Cz	41,5 ± 0,3	11,8 ± 0,06	94,7 ± 1,1
C4	40,1 ± 1,5	10,9 ± 0,05	93,5 ± 1,3

Избыточная активация симпатико-адреналовой системы, снижение активности парасимпатической регуляции ВНС, преобладание эрготропной системы регуляции над трофотропной характерны для смещения процессов регуляции на более высокий уровень с длительными периодами колебательных процессов, большим числом регуляций и энергетического дефицита, характерных для дезадаптивных процессов [10].

Показатели амплитуды, частоты и индекса альфа-ритма ЭЭГ, представлены в табл. 2.

На ЭЭГ доминировал альфа-ритм с амплитудой 37,1–65,8 мкВ. Образ ритма: с выраженной амплитудной модуляцией, синусоидальный, структурированный в веретена, без зональных и межполушарных различий амплитуды альфа-ритма со средней частотой (10,16 колеб./с), без выраженных зональных различий. Частотная межполушарная асимметрия была слабо выражена.

Между АДС и SDNN, RMSSD, АМо, ИН, LF получены достоверные отрицательные корреляционные связи ($r = -0,63-0,85$; $p < 0,01$). Положительные

высокие коэффициенты корреляции получены между SDNN, RMSSD, TP, CV, pNN50, VLF, HF ($r = 0,73-0,92$; $p < 0,01$).

Между показателями ВРС (SDNN, RMSSD, pNN50) и амплитудой альфа-ритма в затылочных отведениях (O1 и O2) получены высокие положительные корреляционные связи ($r = 0,69-0,77$; $p < 0,01$).

Систолическое артериальное давление (АДС) и амплитуда, частота, индекс альфа-ритма в отведениях O1, O2 и P3, P4 имели высокие отрицательные корреляционные связи ($r = -0,65-0,85$; $p < 0,01$). Между АДС и индексом вагосимпатического баланса (LF/HF) получена высокая отрицательная корреляционная связь ($r = -0,76$; $p < 0,01$).

Закономерности изменений между систолическим АД, SDNN и амплитудой альфа-ритма в затылочных отведениях O1 и O2 были описаны с помощью уравнений множественной регрессии. Трехмерные графики, отражающие закономерности взаимосвязей исследуемых параметров показаны на рисунке. Между АДС, SDNN и амплитудой

АДС, мм.рт.ст. = $-19,134 + 6,9354 \cdot x - 1,2504 \cdot y + 0,1114 \cdot x \cdot x - 0,1687 \cdot x \cdot y + 0,045 \cdot y \cdot y$

АДС, мм.рт.ст. = $-1,0064 + 13,751 \cdot x - 4,2963 \cdot y + 0,1599 \cdot x \cdot x - 0,2679 \cdot x \cdot y + 0,0809 \cdot y \cdot y$

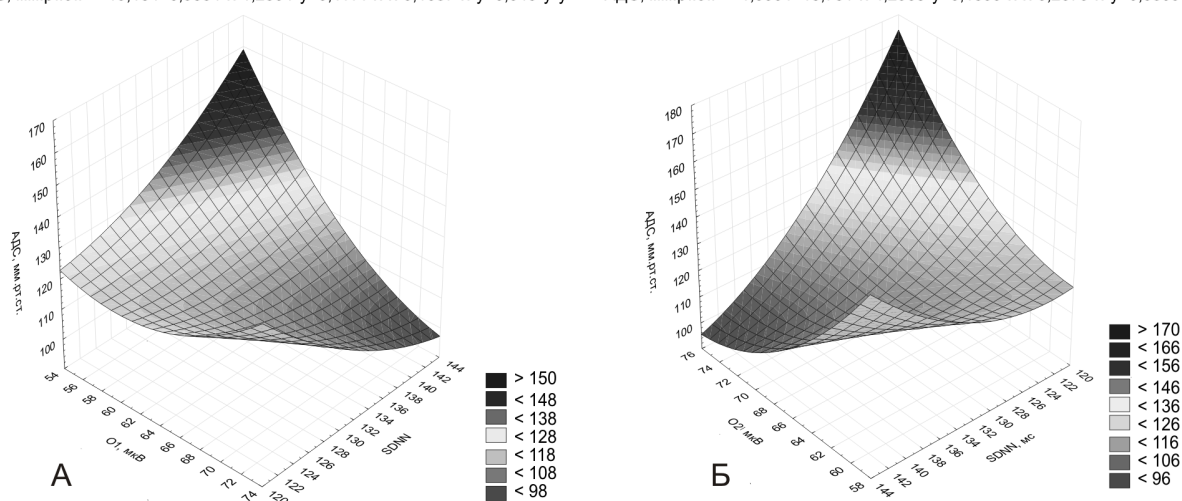


Рисунок. Взаимосвязи между АДС, SDNN и амплитудой альфа-ритма в затылочных отведениях: А – О1, мкВ; Б – О2, мкВ

альфа-ритма в затылочных отведениях наблюдались прямые взаимосвязи, а между АДС и амплитудой альфа-ритма в тех же отведениях – обратные.

Между диастолическим АД и индексом альфа-ритма в лобных, теменных и затылочных отведениях выявлены высокие отрицательные корреляционные связи ($r = -0,70$ – $-0,87$; $p < 0,01$).

Между TP и RMSSD получена высокая положительная связь ($r = 0,75$; $p < 0,01$), а с АМо – отрицательная ($r = -0,66$; $p < 0,01$).

Между pNN50 (%) и амплитудой альфа-ритма в затылочных отведениях О1, О2 (мкВ) также выявлены прямые взаимосвязи ($r = 0,743$; $r = 0,769$; $p < 0,01$).

Между АДС, ИН (ед.) и частотой альфа-ритма в затылочном отведении О2, (Гц) выявлены отрицательные взаимосвязи ($r = -0,846$; $r = -0,533$; $p < 0,01$).

Увеличение спектральных составляющих ВРС – LF и HF при низкой ЧСС связано со снижением симпатических влияний и увеличением вагусных влияний на ритм сердца. Об этом косвенно свидетельствует снижение амплитуды альфа-ритма и индекса альфа-ритма при увеличении RRNN и АДС.

Выявленная корреляция между RMSSD, pNN50, диапазоном HF и уровнями АД характерна для повышения быстрых (высокочастотных) регуляций на ВРС с преобладанием парасимпатической активации ритма сердца.

Прямые корреляционные связи SDNN с индексом активности подкорковых нервных центров LF/VLF (ед), частотным диапазоном VLF (мс²) и амплитудой альфа-ритма (мкВ) свидетельствуют о вовлечении в регуляцию ВРС нейрогуморальных и надсегментарных подкорковых и корковых структур.

Полученные данные позволяют предположить значимую роль ВНС и ЦНС в формировании гемодинамических сдвигов при адаптационных процессах

и развитии автономной дисфункции. Это предположение обосновывается тесными связями показателей ВРС, амплитудно-частотных параметров альфа-ритма головного мозга и гемодинамики в группе здоровых лиц.

Изменения показателей ВРС и ЭЭГ свидетельствуют о вегетативном дисбалансе, развивающемся при увеличении уровня АД. Преобладание симпатических и эрготропных влияний над парасимпатическими и трофотропными влияниями может быть ассоциировано с развитием сердечно-сосудистых заболеваний (в том числе артериальной гипертонии) [11, 12].

В заключение следует отметить, что ВРС и амплитудно-частотные параметры альфа-ритма имеют важное клиническое значение. С помощью их системного анализа можно оценить состояние вегетативного и неврологического статуса, вклад центральных и автономных механизмов в процессы регуляции ритма сердца и гемодинамики и использовать полученные данные для коррекции кардиocereбральных взаимосвязей.

Выводы

1. Изменения в частотной области ВРС и амплитудно-частотных параметров альфа-ритма головного мозга свидетельствуют о умеренном повышении симпатических и центральных эрготропных влияний на ритм сердца и АД у здоровых лиц, проживающих в условиях среднегорья.

2. Между показателями ВРС, частотой, амплитудой и индексом альфа-ритма головного мозга и параметрами гемодинамики существуют разнонаправленные корреляционные связи, количество которых возрастает при увеличении системного АД.

3. Получен ряд уравнений множественной регрессии, отражающих зависимость абсолютных и

относительных спектральных, временных показателей и индексов ВРС от амплитудно-частотных параметров альфа-ритма и показателей гемодинамики.

4. Системный анализ ВРС, параметров гемодинамики и биоэлектрической активности головного мозга позволяет комплексно оценить состояние регуляторных систем организма и оптимизировать методы диагностики и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний.

Список литературы

1. Баевский Р.М. Анализ variability сердечного ритма: история и философия, теория и практика // Клиническая информатика и телемедицина. 2004. № 1. С. 54–64.

Baevskiy R.M. Analysis of heart rate variability: history and philosophy, theory and practice // Klinicheskaya informatika i telemitsina. 2004. № 1. P. 54–64.

2. Каплан А.Я., Шишкин С.Л. Кардиосинхронные феномены работы мозга: психофизиологические аспекты // Биол. науки. 1992. № 10. С. 5–23.

Kaplan A.Ya., Shishkin S.L. Cardio synchronous phenomena of work a brain: psychophysiological aspects // Biologicheskie nauki. 1992. № 10. P. 5–23.

3. Head G.A. Cardiac baroreflexes and hypertension // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 1994. V. 21. № 10. P. 791–802.

4. Баевский Р.М., Иванов Г.Г., Чирейкин Л.В. и др. Анализ variability сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем (методические рекомендации) // Вестн. аритмологии. 2001. № 24. С. 65–87.

Baevskiy R.M., Ivanov G.G., Chireykin L.V. et al. The analysis of heart rate variability when using various electrocardiographic systems (methodical recommendations) // Vestnik aritmologii. 2001. № 24. P. 65–87.

5. Яблучанский Н.И., Мартыненко А.В. Variability сердечного ритма в помощь практическому врачу. Для настоящих врачей. Харьков, 2010.

Yabluchanskiy N.I., Martynenko A.V. Heart rate variability. For the practical doctor. For the Real doctors. Kharkov. 2010.

6. Хаятин В.М., Лукошкова Е.В. Спектральный анализ колебаний частоты сердцебиений: физиологические основы и осложняющие его явления // Рос. физиол. журн. 1999. Т. 85. № 7. С. 893–908.

Khayutin V.M., Lukoshkova E.V. Spectral analysis of fluctuations frequency heart of beats: physiological bases and complicating it the phenomena // Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal. 1999. V. 8. № 7. P. 893–908.

7. Баевский Р.М., Иванов С.Г. Variability сердечного ритма: теоретические аспекты и возможности клинического применения // Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2001. № 3. С. 106–127.

Baevskiy R.M., Ivanov S.G. Heart rate variability: theoretical aspects and possibilities of clinical application // Ultrazvukovaya i funktsionalnaya diagnostika. 2001. № 3. P. 106–127.

8. Котельников С.А., Ноздрачев А.Д., Одинак М.М. и др. Variability ритма сердца: представления о механизмах // Физиология человека. 2002. Т. 28. № 1. С. 130–143.

Kotelnikov S.A., Nozdrachev A.D., Odinak M.M. et al. Variability rhythm of heart: ideas an mechanisms // Fiziologiya cheloveka. 2002. V. 28. № 1. P. 130–143.

9. Гнездицкий В.В. Обратная задача ЭЭГ и клиническая электроэнцефалография. М., 2004.

Gnezditskiy V.V. The inverse problem of EEG and clinical electroencephalography. Moscow, 2004.

10. Баевский Р.М., Берсенева А.П. Оценка адаптационных возможностей организма и риск развития заболеваний. М., 1997.

Baevskiy R M., Berseneva A.P. Assessment opportunities of adaptation an organism and risk of development of diseases. Moscow, 1997.

11. Лурия А.П. Основы нейропсихологии. М., 2003.

Luriya A.R. Bases of neuropsychology. Moscow, 2003.

12. Фолков Б.Е. Эмоциональный стресс и его значение для развития сердечно-сосудистых заболеваний // Кардиология. 2007. № 10. С. 4–11.

Folkov B.E. Emotional stress and its value for development of cardiovascular diseases // Kardiologiya. 2007. № 10. P. 4–11.

Поступила 28.07.14

SYSTEM ANALYSIS OF HEART RATE VARIABILITY, HEMODYNAMICS AND BIOELECTRICAL ACTIVITY OF THE HUMAN BRAIN AT MODERATE ALTITUDES

Kurdanova M.Kh., Beslaneev I.A., Batyrbekova L.M., Kurdanov Kh.A.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2014. V. 48. № 6. P. 47–52

Heart rate variability (HRV), hemodynamics, cerebral alpha-rhythm and systemic relations between them were investigated in 35 normal human subjects at the age of 37.2 ± 3.8 years.

Results of comprehensive clinical, functional and instrumental HRV investigations, electroencephalography (EEG) using 21 monopolar electrodes and blood pressure (BP) monitoring were embodied in mathematical models describing the relations of these parameters, multiple regression equations, and generated 3-D diagrams.

It was found that relative increase of LF and reductions of HF ranges occurred on the background of BP elevation. The EEG alpha amplitude was depressed and alpha index decreased. The HRV reduction and modification of the alpha-rhythm structure were demonstrated to affect BP values. These data point to interactions and tight relations between the vegetative and central nervous systems and BP.

Key words: heart rate variability, hemodynamics, cerebral alpha-rhythm, system analysis.

УДК 577.112.3+611.73:599.323.4+611.08

ВЛИЯНИЕ СМЕСИ АМИНОКИСЛОТ С РАЗВЕТВЛЕННОЙ БОКОВОЙ ЦЕПЬЮ НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ АТРОФИРОВАННЫХ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ КРЫС

Туртикова О.В.¹, Лысенко Е.А.¹, Немировская Т.Л.^{1,2}, Шенкман Б.С.¹

¹Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

E-mail: nemirovskaya@bk.ru

Потеря мышечной массы (атрофия) является закономерным следствием гравитационной разгрузки. В основе гипогравитационной атрофии мышц лежит снижение интенсивности синтеза белка и повышение интенсивности его распада. При иммобилизации мышц, раковой кахексии, кардиогенной миопатии и геронтологической саркопении в основе атрофических явлений также лежат оба эти процесса. В то же время при хронической алкогольной интоксикации атрофия скелетных мышц определяется главным образом снижением интенсивности синтеза белка. Данное исследование являлось частью программы по отработке способа восстановления атрофированных мышц на основе интенсификации анаболических сигнальных путей. Аналогичные подходы используются и для коррекции гипогравитационной атрофии мышц, однако анализ такой коррекции при алкогольной интоксикации будет более «чистым», так как протеолитические процессы в этом случае находятся на уровне, характерном для интактного животного.

Исследовался эффект введения аминокислот с разветвленной боковой цепью (BCAA) на *m. gastrocnemius medialis* крыс в течение 30-дневного периода восстановления после 16-недельной алкогольной интоксикации. Применение BCAA способствовало более эффективному восстановлению размеров быстрых мышечных волокон, привело к полному восстановлению содержания фосфорилированной p90RSK и существенно не повлияло на общие пролиферативные процессы и миоядерное число в медиальной икроножной мышце крыс.

Ключевые слова: *m. gastrocnemius*, миоядра, рибосомальная киназа, алкогольная интоксикация, BCAA, BrdU.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2014. Т. 48. № 6. С. 53–58.

Алкогольная миопатия является более распространенным мышечным заболеванием, чем наследственная миодистрофия Беккера или Дюшена [1], и ведет к потере 20 % мышечной массы [2]. Восстановление клинических и морфологических свойств мышц не наблюдалось даже через 5 лет после прекращения приема алкоголя [3]. Известно, что степень алкогольиндуцированной мышечной

атрофии пропорциональна продолжительности времени потребления алкоголя [2], однако механизм, который регулирует этот процесс, до сих пор неизвестен. Снижение белкового синтеза в скелетных мышцах животных и человека после употребления алкоголя было показано ранее [4–7]. Кроме того, было показано, что быстрые мышцы страдают от вызванного алкоголизацией снижения белкового синтеза в большей степени, чем медленные [8]. Снижение белкового синтеза и инициации трансляции – обратимый процесс у алкоголизированных крыс [9]. Фосфорилирование mTOR у этих животных снижается [10], так же как и уровень фосфорилирования p70S6k and rpS6 [11]. Внутривентрикулярное введение алкоголя самцам крыс увеличивает общее содержание mPDK атрогина-1 и MuRF-1 в *m. gastrocnemius* [12], в то время как протеолиз остается неизменным [13]. Поэтому можно полагать, что снижение мышечной массы при злоупотреблении алкоголем является результатом снижения белкового синтеза [14]. Ранее было показано, что IGF-I играет важную роль в регуляции белкового синтеза при атрофии, вызванной употреблением алкоголя. Алкоголь ослабляет анаболический эффект IGF-I [11], что может предотвращать возможность IGF-I стимулировать трансляцию mPDK 5'-TOR. Трехдневное введение комплекса IGF-I и IGFBP-3 восстанавливало скорость белкового синтеза и эффективность трансляции, вызванных потреблением алкоголя, но не приводило к восстановлению мышечной массы [15]. В предыдущих исследованиях мы анализировали эффект 30-дневного введения рекомбинантного полноразмерного MGF (сплайс-варианта IGF-1) после 16-недельной алкогольной интоксикации крыс и не обнаружили его существенного влияния на восстановление атрофированной *m. gastrocnemius* [16].

Количество ДНК, необходимой для поддержания транскрипции генов, определяется числом ядер в мышечных волокнах [17]. Ядра зрелых мышечных волокон являются постмитотическими и не способны к делению, поэтому появление миоядер может быть обеспечено только клетками-миосателлитами

при их слиянии с мышечным волокном. Считается, что именно они обеспечивают волокно дополнительными ядрами для роста в постнатальный период и участвуют в восстановлении и локальной регенерации мышечных волокон после повреждения [3]. Алкогольиндуцированная миопатия сопровождается снижением уровня системного IGF-1 и снижением активности главных компонентов сигнальных путей, регулирующих mTOR, который участвует в активации роста клеток [18]. При воздействии алкоголя *in vitro* имеются свидетельства супрессии пролиферации миогенных клеток-предшественников [19].

Для интенсификации процессов восстановления после приема алкоголя крысами в данной работе была использована добавка смеси аминокислот с разветвленной боковой цепью (BCAA). Известно, что аминокислоты стимулируют те этапы белкового синтеза, которые в наибольшей степени страдают при хроническом потреблении алкоголя. Было показано, что введение аминокислот при острой алкогольной интоксикации не ведет к стимулированию инициации трансляции по сравнению с контрольными животными [20].

Мы предположили, что введение аминокислот может эффективно инициировать синтез белка, возможно, влияя на пролиферацию и как следствие ускорять восстановление площади поперечного сечения мышечных волокон и мышечной массы после удаления алкоголя из рациона животных.

Методика

Эксперимент проводили в соответствии с правилами биомедицинской этики и был одобрен Комиссией по биоэтике ИМБП РАН (протокол № 265 от 5 марта 2009 г.). Животные содержались в виварии при 22 °С и получали корм и воду *ad libitum*. Использовали 28 самцов крыс Wistar массой 180–200 г. Протокол эксперимента был разработан на основе протокола Lang [15]. Крысы были разделены на 4 группы по 7 животных в каждой. Контрольные животные (контроль) получали агаровые кубики. Животные групп Алк, Восст и Восст + АК получали алкоголь (этанол) в течение 16 нед. Среднее потребление алкоголя крысами 25 г/кг/день. В течение первых 6 нед объем потребления алкоголя увеличивался от 20 до 35 г/кг/день, но после 9-й недели он снизился до 21 г/кг/день. После 16 нед эксперимента была проведена эвтаназия животных групп контроль и Алк овердозой нембутала, а из рациона крыс групп Восст и Восст + АК был исключен алкоголь, и животные восстанавливались в течение 30 дней на обычном рационе кормления для лабораторных крыс. При этом животные группы Восст + АК получали аминокислоты в количестве 0,8 г/кг/день с питьевой водой.

После окончания 20-й недели эксперимента была проведена эвтаназия животных групп Восст и Восст + АК. Была выделена и заморожена в жидком азоте медиальная икроножная мышца (*m. gastrocnemius medialis*), которая хранилась при температуре -85 °С до момента анализа.

Протокол введения алкоголя. При проведении эксперимента питьевые емкости содержали раствор 10 %-го этилового спирта. Крысы также получали агаровые кубики с алкоголем. Количество алкоголя в агаровых блоках постепенно увеличивали с 10 %-го (1-я неделя) до 40 %-го (4-я неделя). Содержание этанола в агаровых кубиках оставалось постоянным с 4-ю по 16-ю неделю. Потребление этанола оценивалось каждый день по количеству потребленной воды со спиртом и оставшихся несъеденными кубиков.

Иммуногистохимический анализ мышечных проб. Поперечные срезы проб мышечной ткани (7 мк) делали в криостате при -20 °С.

Для выявления изоформ тяжелых цепей миозина (ТЦМ), ядер и дистрофина замороженные мышечные срезы оттаивали при комнатной температуре. Далее образцы 60 мин инкубировали во влажной камере при +37 °С с первичными антителами (1:30 для антител против быстрых (NCL – MHCf) и медленных изоформ (NCL – MHCs) ТЦМ, 1:20 для антител против дистрофина (NCL – Dys 2 Novocastra Laboratories, Великобритания). Затем срезы промывали PBS 3 раза по 5 мин, добавляли вторичные антитела, конъюгированные с Alexa Fluor goat anti mouse IgG (Molecular probes) 1:400 и инкубировали в темноте 60 мин при комнатной температуре. При окраске образцов, меченных антителами к дистрофину, в раствор вторичных антител добавляли DAPI из расчета 1 мкг на миллилитр раствора антител. После отмывки вторичных антител в PBS срезы заключали в среду, стабилизирующую флуоресцентную метку.

Окрашивание на BrdU. Ядра делящихся клеток визуализировали путем иммуногистохимического выявления включения бромодезоксиуридина (BrdU) в них. Бромодезоксиуридин вводили животным внутривентрально за 12 ч до забоя. Для выявления ядер, меченных BrdU, криостатные срезы мышц толщиной 7 мк фиксировали в спиртовом растворе уксусной кислоты (90 % этанола, 5 % уксусной кислоты, 5 % воды) в течение 30 мин при комнатной температуре, после чего 3 раза по 5 мин промывали в PBS. После этого наносили раствор нуклеазы с мышиными моноклональными антителами против BrdU (Amersham Biosciences) и инкубировали 1 ч при 37 °С. Срезы инкубировали в течение 1 ч в биотинилированных овечьих антителах против иммуноглобулинов мыши (в разведении 1:200), а затем в стрептавидине, конъюгированном с пероксидазой хрена (Amersham Biosciences) (1:100).

при комнатной температуре. После каждой инкубации срезы промывали в PBS 3 раза в течение 5 мин. Затем срезы обрабатывали раствором DAB в PBS с 0,01 М имидазолом и 3 %-ной перекисью водорода в течение 8 мин, обезвоживали, проводя через батарею спиртов возрастающей концентрации, и заключали в канадский бальзам. Подсчитывали число ядер с включенным BrdU, приходящихся на 1 мышечное волокно. При этом в число меченых ядер могли входить делящиеся ядра клеток-миосателлитов, клеток соединительной или сосудистой ткани. Исследования проводили с помощью флуоресцентного микроскопа Leica (Германия), анализ изображений проводили с помощью программного обеспечения Leica. При определении площади поперечного сечения мышечных волокон (ППС МВ) анализировали не менее 100 мышечных волокон, при измерении числа миоядер – не менее 200 МВ. BrdU+ ядра подсчитывали во всех полях зрения.

Определение содержания рибосомальных киназ. Проба *m. gastrocnemius medialis* (10–15 мг) гомогенизировалась в 100 мкл буфера, содержащего 50 мМ Трис-НСl (рН 8,0), 150 мМ NaCl, 0,1 % ДДС-Na, 10 мМ ЭДТА, 50 мМ бета-глицерофосфата, 0,5 мМ DTT, 5 мМ ЭГТА, 10 мкг/мл аprotинина, 10 мкг/мл леупептина, 1 мМ PMSF, 50 мМ NaF, 1 мМ Na₃VO₄, 10 мкг/мл пепстатина; 0,1% Тритон X-100. Образцы нормировали относительно уровня GAPDH, содержащегося в той же пробе. Электроперенос белков производился в буфере (25 мМ Трис рН 8,3, 192 мМ глицина, 20 % метанола, 0,04 % ДДС-Na) на нитроцеллюлозную мембрану. После отмывки мембраны в PBS-TWEEN наносились первичные антитела против phospho-p70S6k (Santa Cruz; 1:2000) либо phospho-p90 RSK (Abcam; 1:1000). Использовали вторичные антитела козы против иммуноглобулинов мыши (Bio-Rad США 1:50000) и против иммуноглобулинов кролика (Santa Cruz, 1:1000). Анализ белковых полос производили с помощью денситометра GS-800 (BioRad). Для каждой группы были подсчитаны $M \pm m$ (средняя $\pm$ стандартная ошибка). Достоверность различий между группами определяли по непарному t-критерию Стьюдента при вероятности нулевой гипотезы $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Масса животных и размеры мышечных волокон. За 16 нед потребления алкоголя животные существенно прибавили в массе. Динамика ее была одинаковой у животных, потреблявших алкоголь и сахар. После 16 нед приема алкоголя у крыс происходило достоверное уменьшение ППС быстрых волокон в *m. gastrocnemius medialis* на 32 %. Атрофии медленных волокон вследствие приема алкоголя у крыс не наблюдалось (рис. 1). 4 недели восстановления не привели к существенному увеличению

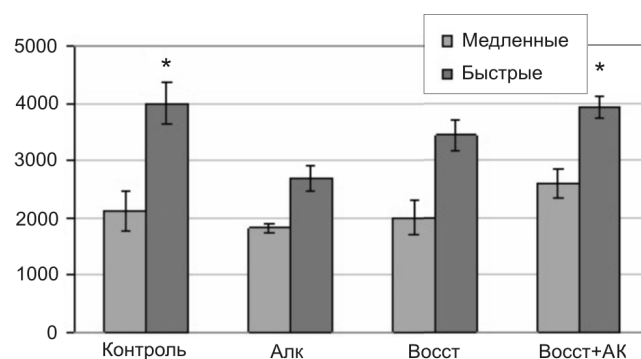


Рис. 1. Площадь поперечного сечения медленных и быстрых мышечных волокон *m. gastrocnemius medialis*; * – здесь и на рис. 3, 4 отличие от контроля существенно при $p < 0,05$

ППС МВ II типа в группе Восст, в то же время введение аминокислот во время восстановления (группа Восст + АК) привело к увеличению ППС МВ II типа до уровня контроля (см. рис. 1).

Пролиферация. Число ядер делящихся клеток (ядер с включенным BrdU) в группе Алк снижалось на 12 % по сравнению с контрольной группой (рис. 2). В то же время в группах Восст и Восст + АК число пролиферирующих ядер было увеличено на 23 и 25 % по сравнению с группой Алк ($p < 0,05$). В группе Восст + АК оно существенно превышало даже уровень контроля ($p < 0,05$) (см. рис. 2).

Миоядра. Число миоядер в группе Алк снизилось на 25 % по сравнению с группой «Контроль» ($p < 0,05$) (рис. 3) и не различалось в группах Восст и Восст + АК.

Анаболические маркеры. Для анализа сигнальных механизмов, которые ведут к снижению ППС МВ II типа после потребления алкоголя и восстановления ППС волокон после введения аминокислот исследовали содержание фосфорилированных рибосомальных киназ p-p70S6K и p-p90RSK в *m. gastrocnemius medialis* крыс. Akt-mTOR-S6K известен как главный путь регуляции белкового синтеза на уровне инициации трансляции. Содержание фосфорилированной p70S6k в эксперименте не различалось между группами. В то же время существует альтернативный путь регуляции белкового синтеза – через p90RSK. Как показано на рис. 4, потребление алкоголя существенно снижало уровень фосфорилированной p90RSK (на 25 %, $p < 0,05$) по сравнению с группой «Контроль». Четырехнедельное восстановление не привело к повышению уровня p-p90RSK, и достоверное отличие от уровня контроля сохранялось. Однако в группе Восст + АК уровень фосфорилированной p90RSK не отличался от контроля.

При исследовании действия приема аминокислот на восстановительные процессы в быстрой *m. gastrocnemius medialis* крыс после 16 нед

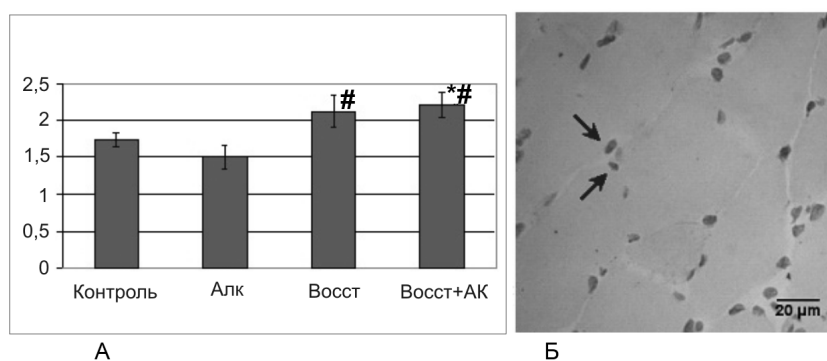


Рис. 2. Количество ядер с включенным BrdU (А) и поперечный срез мышечной ткани (Б);

* – отличие от группы Алк существенно при $p < 0,001$;

– отличие от группы «Контроля» существенно при $p < 0,05$

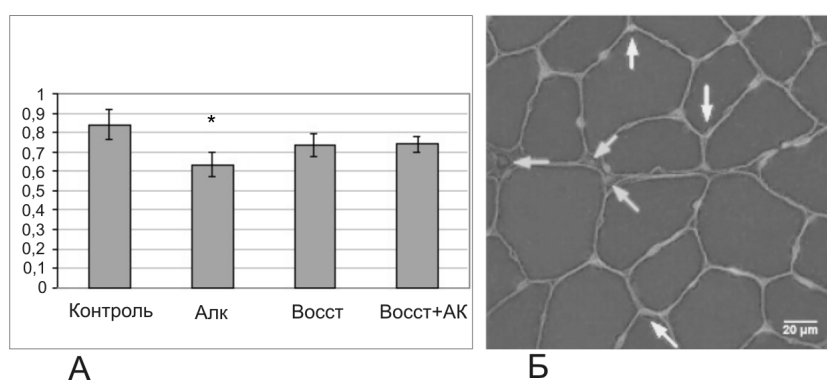


Рис. 3. Количество mioядер, приходящихся на одно волокно (на поперечном срезе мышечной ткани)

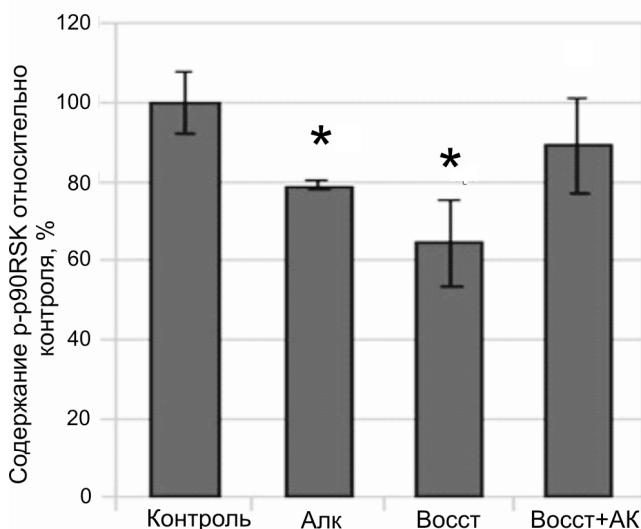


Рис. 4. Содержание p-90RSK в *m. gastrocnemius medialis*;

* - отличие от контроля существенно при $p < 0,05$

потребления алкоголя, предполагали, что их введение может компенсировать ряд патологических изменений, характерных для алкогольиндуцированной миопатии. Было определено существенное снижение ППС МВ II типа в *m. gastrocnemius* в группе Алк (рис. 1), которое ранее также было показано как в модельных экспериментах на крысах, так и у пациентов с хроническим алкоголизмом [3, 21]. Снижение размеров мышечных волокон может быть связано как с изменением пула мио ядер (которое может изменяться в результате апоптоза и зависеть от интенсивности слияния клеток-миосателлитов), так и со снижением фосфорилирования киназ сигнального анаболического каскада. В группе Алк обнаружили существенное снижение количества мышечных ядер, расположенных внутри границы дистрофинового слоя (мио ядер) (см. рис. 3). Аналогичное снижение количества мио ядер в результате апоптоза было показано и ранее при развитии алкогольной интоксикации у крыс [22], а также обнаружили тенденцию к снижению пролиферативной активности в группе Алк (см. рис. 2). Аналогичное снижение пролиферативной активности при добавлении алкоголя к культуре ткани было показано ранее в эксперименте *in vitro* [19]. В то же время

снижения фосфорилирования p70S6K в эксперименте не наблюдалось. Эти результаты расходятся с данными авторов работы [13], которые в аналогичной модели алкогольной интоксикации крыс обнаружили снижение этого показателя вместе со снижением уровня фосфорилирования и других компонентов каскада mTOR. Возможно, эти различия в результатах связаны с разной чувствительностью крыс Sprague – Dawley и Wistar к алкогольной интоксикации. Что касается уровня фосфорилирования p90RSK, то в данном эксперименте впервые было продемонстрировано достоверное снижение этого параметра у крыс в результате хронического потребления этанола. Поэтому снижение площади поперечного сечения мышечных волокон у животных группы Алк может быть связано как с уменьшением мио ядерного числа и интенсивности пролиферации клеток-предшественников, так и со снижением уровня фосфорилирования p90RSK.

В течение 30 сут после прекращения потребления алкоголя достоверного увеличения площади поперечного сечения быстрых волокон и количества

миоцеллов по сравнению с группой Алк выявлено не было, при этом не было достоверных отличий и от контрольной группы (см. рис. 1, 3). Это же касается и уровня фосфорилирования p90RSK (см. рис. 4). Использование аминокислот с разветвленной боковой цепью привело к полному восстановлению площади поперечного сечения волокон в группе Восст + АК (см. рис. 1). Хорошо известно, что лейцин, как наиболее часто используемый представитель семейства аминокислот с разветвленной боковой цепью, является стимулятором сигнального пути mTOR/p70S6K [23]. Однако каких-либо изменений в уровне фосфорилирования p70S6K у крыс, получавших смесь аминокислот с разветвленной боковой цепью обнаружено не было. Ранее было показано, что после однократной алкогольной интоксикации комплекс mTOR демонстрировал резистентность к действию лейцина [24]. Поэтому стимулирующее влияние аминокислотной смеси на восстановление размеров волокон быстрого типа в данном эксперименте не может рассматриваться как следствие стимуляции mTOR.

Пролиферативные процессы у восстанавливающихся животных протекали более интенсивно по сравнению с группой Алк и в группе Восст + АК превышали значения контрольной группы. Не было обнаружено изменений интенсивности пролиферации в m. gastrocnemius medialis при восстановлении с введением и без введения аминокислот. Однако само по себе число ядер с включенным BrdU, отражая общие пролиферативные процессы (в основном пролиферация клеток-миосателлитов), не дает представления об интенсивности слияния миосателлитов с волокнами и пополнении пула миоцеллов. Из данных литературы известно, что в ряде случаев (при тяжелых мышечных и системных заболеваниях и при гравитационной разгрузке) мышечная атрофия сопровождается уменьшением количества миоцеллов на волокно при соответствующем развитии апоптотических процессов в миоцеллах [25, 26]. Существует предположение, что при атрофии скелетной мышцы возрастающая скорость протеолиза и снижение синтеза белка уравнивается потерей миоцеллов, апоптозом или некрозом, т.е. снижение необходимости в синтезе белка ведет к сокращению числа миоцеллов [27]. Ранее было показано, что промежуточный продукт метаболизма лейцина β -гидрокси-метилбутират подавляет проявления апоптоза в условиях инактивации мышц [28]. Предполагаем, что использование аминокислот с разветвленной боковой цепью может привести к снижению интенсивности апоптотической гибели миоцеллов после хронической алкогольной интоксикации. Однако не обнаружено достоверных отличий в числе миоцеллов между группами с введением и без введения аминокислот.

Выводы

Применение ВСАА эффективно восстанавливает размеры мышечных волокон (достоверно для волокон быстрого типа), полностью восстанавливает содержание фосфорилированной p90RSK и не оказывает существенного влияния на пролиферативные процессы в m. gastrocnemius и число миоцеллов при восстановлении после хронического потребления алкоголя.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 14-15-00392.

Список литературы

1. Preedy V.R., Adachi J., Ueno Y. et al. Alcohol-fed skeletal muscle myopathy: definitions, features, contribution of neuropathy, impact and diagnosis // Eur. J. Neurol. 2001. V. 8 (6). P. 677–687.
2. Martin F., Ward K., Slavin G. et al. Alcohol-fed skeletal myopathy, a clinical and pathological study // Q. J. Med. 1985. V. 55 (218). P. 233–251.
3. Estruch R., Sacanella E., Fernández-Solá J. et al. Natural history of alcohol-fed myopathy: a 5-year study // Alcohol Clin. Exp. Res. 1998. V. 22 (9). 2023–2028.
4. Lang C.H., Frost R.A., Kumar V., Vary T.C. Impaired myocardial protein synthesis induced by acute alcohol intoxication is associated with changes in eIF4F // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2000. V. 279 (5). P. 1029–1038.
5. Reilly M.E., Mantle D., Richardson P.J. et al. Studies on the time-course of ethanol's acute effects on skeletal muscle protein synthesis: comparison with acute changes in proteolytic activity // Alcohol Clin. Exp. Res. 1997. V. 21 (5). P. 792–798.
6. Pacy P.J., Preedy V.R., Peters T.J., Read M., Halliday D. The effect of chronic alcohol ingestion on whole body and muscle protein synthesis – a stable isotope study // Alcohol and Alcoholism. 1991. V. 26 (5–6). P. 505–513.
7. Preedy V.R., Macallan D.C., Griffin G.E. et al. Total contractile protein contents and gene expression in skeletal muscle in response to chronic ethanol consumption in the rat // Ibid. 1997. V.14 (6). P. 545–549.
8. Shenkman B.S., Kozlovskaya I.B., Kuznetsov S.L. et al. Plasticity of skeletal muscle fibres in space-flown primates // J. Gravit. Physiol. 1994. V. 1 (1). P. 64–66.
9. Peters T.J., Martin F., Ward K. Chronic alcohol-fed skeletal myopathy – common and reversible // Alcohol and Alcoholism. 1985. V. 2 (3). P. 485–489.
10. Lang C.H., Frost R.A., Deshpande N. et al. Alcohol impairs leucine-mediated phosphorylation of 4E-BP1, S6K1, eIF4G, and mTOR in skeletal muscle // J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2003. V. 285 (6). P. 1205–1215.
11. Kumar V., Frost R.A., Lang C.H. Alcohol impairs insulin and IGF-I stimulation of S6K1 but not 4E-BP1 in skeletal muscle // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2002. V. 283 (5). P. 917–928.

12. Pruznak A.M., Nystrom J., Lang C.H. Direct central nervous system effect of alcohol alters synthesis and degradation of skeletal muscle protein // *Alcohol and Alcoholism*. 2013. V. 48 (2). P. 138–145.

13. Lang C.H., Kimball S.R., Frost R.A., Vary T.C. Alcohol myopathy: impairment of protein synthesis and translation initiation // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2001. V. 33. P. 457–473.

14. Vary T.C., Frost R.A., Lang C.H. Acute alcohol intoxication increases atrogen-1 and MuRF1 mRNA without increasing proteolysis in skeletal muscle // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2008. V. 294 (6). P. 1777–1789.

15. Lang C.H., Frost R.A., Svanberg E., Vary T.C. IGF-I/IGFBP-3 ameliorates alterations in protein synthesis, eIF4E availability, and myostatin in alcohol-fed rats // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2004. V. 286 (6). P. 916–926.

16. Лысенко Е.А., Туртикова О.В., Морозкина Е.В. и др. Эффекты рекомбинантного механозависимого фактора роста на фоне хронической алкоголизации крыс // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2012. Т. 98 (2). С. 283–292.

Lysenko E.A., Turtikova O.V., Morozkina E.V. et al. Effects of recombinant mechano-dependent growth factor against the background of chronic alcoholization in rats // *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova*. 2012. V. 98 (2). P. 283–292.

17. Allen D.L., Roy R.R., Edgerton V.R. Myonuclear domains in muscle adaptation and disease // *Muscle Nerve*. 1999. V. 22. P. 1350–1360.

18. McKoy G., Ashley W., Mander J. et al. Expression of insulin growth factor-1 splice variants and structural genes in rabbit skeletal muscle induced by stretch and stimulation // *J. Physiol.* 1999. V. 516 (2). P. 583–592.

19. Garriga J., Adanero E., Fernández-Solá J. et al. Ethanol inhibits skeletal muscle cell proliferation and delays its differentiation in cell cultures // *Alcohol and Alcoholism*. 2000. V. 35 (3). P. 236–241.

20. Sneddon A.A., Koll M., Wallace M.C. et al. Acute alcohol administration inhibits the refeeding response after starvation in rat skeletal muscle // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2003. V. 284 (5). P. 874–882.

21. Preedy V.R., Peters T.J. The effect of chronic ethanol ingestion on protein metabolism in type-I- and type-II-fire-rich skeletal muscles of the rat // *Biochem. J.* 1988. V. 254. P. 631–639.

22. Fernandez-Sola J., Nicolas J.-M., Fatjo F., Garcia G. Evidence of apoptosis in chronic alcoholic skeletal myopathy // *Hum. Pathol.* 2003. V. 34 (12). P. 1247–1252.

23. Yang S., Goldspink G. Different roles of the IGF-I E peptide (MGF) and mature IGF-I in myoblast proliferation and differentiation // *FEBS Lett.* 2002. V. 522. P. 156–160.

24. Hong-Brown L.Q., Brown C.R., Kazi A.A. et al. Rag GTPases and AMPK/TSC2/Rheb mediate the differential regulation of mTORC1 signaling in response to alcohol and leucine // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2012. V. 302. P. C1557–C1565.

25. Reimann J., Irintchev A., Wernig A. Regenerative capacity and the number of satellite cells in soleus muscles of normal and mdx mice // *Neuromuscul. Disord.* 2000. V. 10 (4–5). P. 276–282.

26. Smith H.K., Maxwell L., Martyn J.A., Bass J.J. Nuclear DNA fragmentation and morphological alterations in adult rabbit skeletal muscle after short-term immobilization // *Cell Tissue Res.* 2000. V. 302 (2). P. 235–241.

27. Teixeira C.E., Duarte J.A. Changes in cross sectional area per myonucleus on mice soleus muscle during one week of hindlimb suspension reinforce the concept of myonuclear domain // *Arch. Exerc Health Dis.* 2011. V. 2 (1). P. 76–80.

28. Hao Y., Jackson J.R., Wang Y. et al. beta-Hydroxymethylbutyrate reduces myonuclear apoptosis during recovery from hind limb suspension induced muscle fiber atrophy in aged rats // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2011. V. 301. P. R701–R715.

Поступила 17.11.14

EFFECT OF BRANCHED-CHAIN AMINO ACIDS MIXTURE ON REPAIR OF ATROPHIED RATS' SKELETAL MUSCLES

**Turtikova O.V., Lysenko E.A.,
Nemirovskaya T.L., Shenkman B.S.**

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2014. V. 48. № 6. P. 53–58

Loss of muscle mass (atrophy) is a regular consequence of gravitational unloading. In hypogravity, muscle atrophy ensues from depression of protein synthesis and increase of its degradation. Both of these processes underlie also atrophy caused by muscle immobilization, cancer cachexia, cardiomyopathy and age-related sarcopenia. At the same time, atrophy of skeletal muscles due to chronic alcohol intoxication is the outcome of protein synthesis depression primarily. The study was part of a program aimed to develop a technique for atrophied muscle recovery by activation of anabolic signal pathways. A similar approach is applied to correct hypogravity-induced atrophy; however, analysis of effectiveness of this approach to the treatment of alcoholic muscle atrophy will be more «pure», as proteolytic processes in intoxicated animals are on the level typical of the intact ones.

The issue in hand was whether injection of branched-chain amino acids (BCAA) would facilitate repair of m. gastrocnemius medialis in rats in the period of 30 days after 16-week alcoholic intoxication. BCAA was shown to enhance regain size by fast muscular fibers, full recovery of phosphorylated p90RSK concentrations without consequential effects on general proliferative processes and myonuclear number in rat's m. gastrocnemius medialis.

Key words: m. gastrocnemius, myonuclei, ribosomal kinase, alcoholic intoxication, BCAA, BrdU.

ИНФОРМАЦИЯ

УДК 613.693+611.08:613.65

ПОСЛЕДСТВИЯ НЕСОБЛЮДЕНИЯ РЕКОМЕНДОВАННЫХ РЕЖИМОВ СИЛОВЫХ ТРЕНИРОВОК В КОСМИЧЕСКОМ ПОЛЕТЕ: УНИКАЛЬНЫЙ СЛУЧАЙ ВЫНУЖДЕННОЙ ДОРАБОТКИ ЛОЖЕМЕНТА НА ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНОМ ЭТАПЕ ПОЛЕТА

Ушаков И.Б., Богомолов В.В., Козловская И.Б., Ярманова Е.Н., Фомина Е.В.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

E-mail: fomin-fomin@yandex.ru

В длительном космическом полете (КП) возник случай значительных изменений антропометрических параметров космонавта, повлекший за собой вынужденную доработку индивидуального ложе-мента. До полета антропометрические характеристики космонавта не выходили за пределы допустимых, в ходе экспедиции результаты штатного медицинского контроля состояния здоровья выявляли типичные для этапов длительного КП изменения и динамику функционального состояния систем организма. Клинически значимых проблем в процессе полета отмечено не было. Масса тела космонавта в ходе КП колебалась умеренно и к концу КП составила больше на 500 г в сравнении с 1-м измерением в КП (изменения в пределах ошибки метода). Вместе с тем уменьшение объема голени составило 12–13 % от 1-го измерения. На 67-е сутки КП примерка космонавта в изделии «Казбек» не выявляла каких-либо проблем с размещением в ложементе спускаемого аппарата, зазор между макушкой и заголовником кресла «Казбек» составлял 2 см (достаточный резерв), что не предвещало каких-либо проблем с размещением в ложементе.

Уровень физической тренированности и работоспособности космонавта по результатам мониторинга тренировок на бегущей дорожке и данным локомоторного теста МО-3 оценивался как удовлетворительный и достаточный для выполнения программы полета. Результаты теста с физической нагрузкой на велоэргометре и лабораторные биохимические исследования мочи не выявляли существенных изменений. Вместе с тем во 2-й половине КП по данным теста с приложением отрицательного давления к нижней половине тела у космонавта были отмечены признаки снижения ортостатической устойчивости и изменения состояния кровенаполнения сосудов нижних конечностей.

В целом состояние космонавта оценивалось как удовлетворительное, соответствующее этапу полета, при этом в качестве основного тренажера

космонавт использовал силовой тренажер ARED, на котором выполнял занятия не через день, как рекомендовалось, а ежедневно. В начале полета космонавт выполнял силовые тренировки с параметрами нагрузки, близкими к рекомендациям российских специалистов, но в дальнейшем от тренировки к тренировке он увеличивал объем выполняемой нагрузки и ее интенсивность так, что на завершающем этапе полета нагрузка превышала рекомендованную в 10 раз. При этом космонавт выполнял активно упражнения, способствующие увеличению объема мышц плечевого пояса: bench press, shrugs, cable bent over row, cable upright row, а также, по личной инициативе, упражнения, не предусмотренные в программе тренировок – sumo squat, sl. squat, направленные на увеличение объема мышц таза.

Несмотря на то, что космонавт был ознакомлен с принципами российской системы профилактики, он предпочитал выполнять тренировки по протоколу, отличающемуся от рекомендованного бортовой документацией.

Возможно, неадекватность физических тренировок космонавта и недостаточный комплаенс в отношении готовности следовать рекомендациям специалистов ИМБП усугублялись тем обстоятельством, что перед полетом обучение работе на силовом тренажере ARED проводится в США американскими тренерами, российские специалисты в этих тренировках не участвуют.

За 3 нед до предполагаемой даты завершения КП при измерении в изделии «Казбек» у космонавта выявилось отсутствие зазора (0 см) между макушкой головы и краем заголовника кресла, при условии, что примерка проводилась в полетных костюмах, т.е. без скафандра. По рекомендации специалистов космонавту было предписано ношение нагрузочного костюма «Пингвин» с установкой нагрузок в соответствии с бортовой документацией. Одновременно были даны рекомендации повысить уровень притяга при занятиях на бегущей дорожке,

доводя его до рекомендованных 70 % от массы тела во время бега, перейти на 2-разовые тренировки на бегущей дорожке по первому дню тренировочного цикла и полностью исключить силовые тренировки.

Предпринятые мероприятия оказались недостаточными для адекватного размещения космонавта в ложементе кресла «Казбек». Фоторегистрация размещения космонавта в ложементе показала, что антропометрические изменения касались не только удлинения туловища, но и увеличения объемов мышечной массы плечевой и тазовой областей. Возникла обеспокоенность космонавта и всего экипажа в отношении безопасности приземления.

Учитывая психологическую настороженность экипажа, недостаточную эффективность медицинских мероприятий по оптимизации антропометрических показателей, а также дефицит времени до срока окончания полета, по просьбе ИМБП на Совете главных конструкторов была представлена и одобрена программа доработки ложементов по методике предприятия «Звезда» без снижения его надежности и безопасности при спуске и приземлении. Работы были выполнены и показали комфортное размещение в ложементе. Этап спуска и приземления прошел штатно, без клинических проблем. Можно констатировать, что это первый случай в истории отечественной космонавтики, когда изменения антропометрических показателей космонавта основной экспедиции на заключительном этапе КП не удалось полностью скорректировать медицинскими мероприятиями.

В 1-е сутки после полета клиническими специалистами у космонавта было отмечено уменьшение физиологических изгибов позвоночника, гипертрофия мышц плечевого пояса и таза, отмечались умеренные болевые ощущения в грудном отделе позвоночника. МРТ-исследование позвоночника и осмотр травматологом не выявили травматических повреждений, препятствующих проведению послеполетной реабилитации. В дальнейшем клинико-физиологическое обследование и программа восстановительно-лечебных мероприятий проходила для космонавта без особенностей. Через месяц после окончания полета была произведена примерка в ложементе, в ходе которой было показано более комфортное размещение в доработанном ложементе по сравнению с исходным. Детальный анализ описанного случая позволил разработать рекомендации по выполнению предполетных примерок изделия «Казбек».

Таким образом, индивидуальные особенности космонавта и отсутствие возможности объективного контроля выполнения резистивных тренировок на тренажере ARED, неполное выполнение рекомендаций специалистов по физической профилактике и отклонения от штатной программы профилактических мероприятий привели к трудностям

размещения космонавта в ложементе изделия «Казбек» в период подготовки к спуску с орбиты.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-25-00167.

Поступила 17.11.2014

CONSEQUENCES OF DISREGARDING THE RECOMMENDED STRENGTH TRAINING REGIMES IN SPACE FLIGHT: A UNIQUE CASE OF SEAT LINER EMERGENCY MODIFICATION AT THE FINAL STAGE OF A MISSION

Ushakov I.B., Bogomolov V.V., Kozlovskaya I.B., Yarmanova E.N., Fomina E.V.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2014. V. 48. № 6. P. 59-60

УДК 612.766.1.611.737:796.92

К ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ И ПОДБОРА ТРЕНИРОВОЧНЫХ НАГРУЗОК ДЛЯ МЫШЦ ПЛЕЧЕВОГО ПОЯСА В ЛЫЖНОМ СПОРТЕ

Боровик А.С., Попов Д.В., Фадин В.Г., Кузьмин И.В., Шарова А.П., Виноградова О.Л.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

E-mail: ovin@imbp.ru

Лыжные гонки – это уникальный вид спорта, где в специальном упражнении задействованы практически все мышцы ног, туловища и плечевого пояса. Профили современных соревновательных дистанций предъявляют высокие требования не только к аэробным, но и к силовым возможностям спортсменов. Особо следует отметить, что в последнее десятилетие четко обозначилась тенденция к увеличению доли нагрузки на мышцы плечевого пояса и увеличению доли передвижения одновременным ходом на соревновательных дистанциях [1]. Вследствие этого возрастает значение правильного подбора силовых и аэробных нагрузок для мышц плечевого пояса и их точного измерения во время тестирования и тренировок.

Показано, что наиболее информативный показатель аэробных возможностей мышц плечевого пояса – анаэробный порог (АнП) – у лыжников положительно коррелирует со спортивным результатом [2, 3]. Более того, иногда аэробные возможности мышц плечевого пояса более тесно связаны со спортивным результатом, чем аэробные возможности мышц ног [4].

Прямые измерения показали, что у квалифицированных лыжников при работе попеременным ходом (работа руками и ногами) мышцы рук продуцируют лактат, тогда как мышцы ног его потребляют [5]. Следовательно, можно предположить, что у квалифицированных лыжников аэробные возможности мышц плечевого пояса и туловища ниже, чем возможности мышц ног, и могут быть ключевым фактором, определяющим работоспособность. Следует отметить, что пиковое потребление кислорода во время рамп-теста на ручном эргометре у российских спортсменов заметно ниже, чем у квалифицированных скандинавских лыжников [6, 7].

Различие в продукции лактата мышцами плечевого пояса и ног, скорее всего, связано с более низкими окислительными возможностями мышц плечевого пояса, а также с большей вовлеченностью в работу высокопороговых мышечных волокон [8].

Потребление O_2 работающими мышцами определяется величиной D_{M,O_2} , которая у квалифицированного

спортсмена зависит от объема мышечной массы [9]. Максимальная алактатная мощность, развиваемая мышцами, также определяется объемом активной мышечной массы. Важность этого показателя подтверждается высокой взаимосвязью результата в гонке классическим ходом на 10 км со средней мощностью в максимальном 10-с тесте руками [3, 7]. Поэтому определение максимальной алактатной мощности мышц плечевого пояса представляется важной задачей для тестирования и аэробных возможностей квалифицированного лыжника.

Из изложенного следует, что для оценки функционального состояния мышц плечевого пояса и туловища квалифицированных лыжников необходимо определить максимальную алактатную мощность, характеризующую скоростно-силовые возможности мышц, и мощность на уровне АнП, характеризующую аэробные возможности мышц. Для задания нагрузки на мышцы плечевого пояса используют тредбан (спортсмен тестируется на лыжероллерах, отталкиваясь только руками) или ручные эргометры. Следует отметить, что на рынке представлено несколько эргометров для задания дозированной физической нагрузки на мышцы плечевого пояса лыжников. Однако программное обеспечение, «зашитое» в контроллер этих устройств, не позволяет контролировать точность выполнения тренировочного задания.

Поэтому нашей задачей было выявление наиболее информативных показателей, характеризующих аэробные и скоростно-силовые возможности мышц плечевого пояса у лыжников, и разработка алгоритма тестирования физиологических возможностей этих мышц и подбора оптимальных тренировочных нагрузок для увеличения аэробных и скоростно-силовых характеристик. Для тестирования использовался разработанный аппаратно-программный комплекс (АПК), позволяющий имитировать одновременный бесшажный ход.

Экспериментальный образец АПК создан на основе тренажера Ski erg (Concept2 Inc, USA), анализатора лактата крови Biosen C line (EKF – diagnostic sales GmbH, Германия) и разработанных нами контроллера и программного обеспечения.

Основой тренажера Skierg является простая и надежная конструкция гребного тренажера фирмы Concept2. В этих тренажерных устройствах нагрузка создается за счет аэродинамического сопротивления – спортсмен раскручивает воздушный вентилятор, при этом сила сопротивления растет по мере увеличения скорости вращения. Тренажер снабжен контроллером с дисплеем, который регистрирует частоту движений, величину средней мощности в каждом цикле движения и динамику изменения силы. Однако программное обеспечение, «зашитое» в контроллер, не дает возможности сформировать протокол задания нагрузки и проконтролировать точность выполнения тренировочного задания.

В разработанном нами АПК этот недостаток устранен за счет использования принципа биологической обратной связи – спортсмен во время тренировки или тестирования на дисплее планшетного компьютера видит график, на котором отображается заданный протокол изменения мощности нагрузки и ее текущее значение. Сравнивая эти величины, спортсмен может с высокой точностью поддерживать заданный протокол нагрузки.

При работе в силовом блоке тренажера вырабатывается импульсный сигнал, частота которого изменяется в зависимости от скорости вращения вентилятора. Разработанный контроллер регистрирует эти сигналы, определяет мгновенную частоту вращения вентилятора и вычисляет характеристики нагрузки. Кроме того, контроллер регистрирует радиосигналы с кардиомонитора Polar, с помощью которых определяется частота сердечных сокращений спортсмена.

Информация с контроллера через порт USB поступает в планшетный компьютер, работающий под управлением операционной системы Windows 8, и отображается в цифровом и графическом виде на его дисплее.

Программное обеспечение поддерживает следующие режимы работы:

Аэробная тренировка. Этот режим предназначен для тренировки мышц плечевого пояса с профилем изменения мощности нагрузки, который создается заново или загружается из базы данных. Можно задать режим тренировки с постоянной мощностью, интервальной тренировки или тренировки с любым профилем изменения мощности. Выбранный протокол изменения мощности нагрузки отображается в виде графика и сохраняется в базе данных.

Силовая тренировка. В этом режиме тренировки спортсмен сам определяет число подходов, выполняемых за одно тренировочное занятие, однако программа, анализируя динамику падения развиваемой им мощности и силы при увеличении числа подходов, может давать рекомендации к ее завершению.

Тестирование силовых возможностей. Спортсмен может выполнить несколько попыток.

Тестирование аэробных возможностей. Этот режим предназначен для проведения теста со ступенчато возрастающей нагрузкой. В зависимости от пола и квалификации спортсмена программа предлагает использовать один из стандартных нагрузочных протоколов. Предоставляется также возможность создания любого протокола нагрузки, задавая уровень мощности на каждой ступени и ее длительность. В конце каждой ступени подается звуковой сигнал к прекращению движения – во время этой паузы у спортсмена берется проба капиллярной крови для измерения концентрации лактата.

Все данные, полученные во время тренировок и тестирований, сохраняются в базе данных для последующего просмотра и анализа результатов.

Важной особенностью разрабатываемого АПК является интеграция процедур тестирования с тренировочным процессом – на основании результатов проведенных тестирований и тренировок программное обеспечение автоматически формирует рекомендации по выбору оптимальных тренировочных режимов для каждого спортсмена и, кроме того, по текущей корректировке индивидуальных тренировочных нагрузок.

Исследования выполняются в ГНЦ РФ – ИМБП РАН (уникальный идентификатор RFMEF160414X0029), поддержаны субсидией Минобрнауки РФ № 14.604.21.0029.

Список литературы

1. Lindinger S.J., Stoggl T., Muller E. et al. Control of speed during the double poling technique performed by elite cross-country skiers // Med. Sci. Sports Exerc. 2009. V. 41 (1). P. 210–220.
2. Nesser T.W., Chen S., Serfass R.C. et al. Development of upper body power in junior cross-country skiers // J. Strength. Cond. Res. 2004. V. 18 (1). P. 63–71.
3. Alsobrook N.G., Heil D.P. Upper body power as a determinant of classical cross-country ski performance // Eur. J. Appl. Physiol. 2009. V. 105 (4). P. 633–641.
4. Fabre N., Balestreri F., Leonardi A. et al. Racing performance and incremental double poling test on treadmill in elite female cross-country skiers // J. Strength. Cond. Res. 2010. V. 24 (2). P. 401–407.
5. van Hall G., Jensen-Urstad M., Rosdahl H. et al. Leg and arm lactate and substrate kinetics during exercise // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2003. V. 284 (1). P. 193–205.
6. Попов Д.В., Виноградова О.Л. Сопоставление аэробных возможностей мышц ног и мышц плечевого пояса у спортсменов-лыжников // Физиология человека. 2012. Т. 38 (5). С. 67–72.

Popov D.V., Vinogradova O.L. Aerobic capacity of upper body compared to leg muscles in elite skiers // *Fiziologiya cheloveka*. 2012. V. 38 (5). P. 67–72.

7. Rusko H., Smith C.A. Cross country skiing // Blackwell Science Ltd. 2003.

8. Calbet J.A., Holmberg H.C., Rosdahl H. et al. Why do arms extract less oxygen than legs during exercise? // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2005. V. 289 (5). P. 1448–1458.

9. Terzis G., Stattin B., Holmberg H.C. Upper body training and the triceps brachii muscle of elite cross country skiers // *Scand. J. Med. Sci. Sports*. 2006. V. 16 (2). P. 121–126.

Поступила 17.11.2014

ON THE FUNCTIONAL POTENTIAL EVALUATION AND SELECTION OF SKIING-SPECIFIC TRAINING LOAD FOR SHOULDER GIRDLE MUSCLES

**Borovik A.S., Popov D.V., Fadin V.G.,
Kuzmin I.V., Sharova A.P., Vinogradova O.L.**

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).
2014. V. 48. № 6. P. 61–63

УКАЗАТЕЛЬ СТАТЕЙ ЖУРНАЛА «АВИАКОСМИЧЕСКАЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА». 2014. Т. 48. №№ 1-6

Колонка главного редактора, № 1 (5)

Обзоры

Жданыко И.М., Зинкин В.Н., Солдатов С.К., Богомолов А.В., Шешегов П.М. Фундаментальные и прикладные аспекты профилактики неблагоприятного действия авиационного шума, № 4 (5)

Кабицкая О.Е., Оганов В.С., Гордиенко К.В., Бакулин А.В. Изменение структуры костной ткани в невесомости по материалам исследований на биоспутниках серии «Космос», № 5 (5)

Крутько В.Н., Донцов В.И., Захарьяшева О.В., Кузнецов И.А., Мамиконова О.А., Пырву В.В., Смирнова Т.М., Соколова Л.А. Биологический возраст как показатель уровня здоровья, старения и экологического благополучия человека, № 3 (12)

Огнева И.В., Ларина И.М., Саранцева С.В. Развитие плодовой мушки *Drosophila melanogaster* в условиях космического полета, № 3 (5)

Экспериментальные и общетеоретические исследования

Андреева Е.Р., Гончарова Е.А., Горностаева А.Н., Григорьева О.В., Буравкова Л.Б. Характеристика кариоцитов костного мозга большеберцовой кости мышей после космического полета на биоспутнике «Бион-М1», № 2 (5)

Андреев-Андриевский А.А., Шенкман Б.С., Попова А.С., Долгов О.Н., Анохин К.В., Солдатов П.Э., Виноградова О.Л., Ильин Е.А., Сычев В.Н. Экспериментальные исследования на мышах по программе полета биоспутника «Бион-М1», № 1 (14)

Афонин Б.В., Седова Е.А., Тихонова Г.А., Соловьева А.А., Валуев В.А. Оценка функциональных изменений печени при моделировании гемодинамических эффектов невесомости в антиортостатическом положении, № 4 (17)

Борzych А.А., Кузьмин И.В., Лысенко Е.А., Виноградова О.Л. Региональные различия уровней фосфорилирования ERK1/2 и экспрессии миогенных регуляторных факторов после электростимуляции с различным механическим и метаболическим воздействием на икроножную мышцу, № 2 (43)

Величко В.В., Ушакова С.А., Тихомиров А.А. Ионообменный субстрат как источник мобильных форм азота при конвейерном методе выращивания овощных растений на почвоподобном субстрате, № 4 (57)

Водолажская М.Г., Водолажский Г.И. Половые различия метеочувствительности здоровых взрослых людей, регистрируемые на реоэнцефалограмме и электроэнцефалограмме, № 5 (27)

Воейкова Т.А., Тяглов Б.В., Новикова Л.М., Крестьянова И.Н., Емельянова Л.К., Коршунов Д.В., Морозова Ю.А., Ильин В.К. «Бион-М1». Особенности биологической активности микроорганизмов в условиях 30-суточного космического полета, № 4 (46)

Восканян К.Ш., Ворожцова С.В., Абросимова А.Н., Мицын Г.В., Гаевский В.Н., Молоканов А.Г. Снижение радиационного поражения мышей при остром и пролонгированном γ -облучениях с помощью лазерного устройства, № 5 (21)

Гурфинкель Ю.И., Васин А.Л., Матвеева Т.А., Сасонко М.Л. Оценка влияния гипомагнитных условий на капиллярный кровоток, артериальное давление и частоту сердечных сокращений, № 2 (24)

Гущин В.И., Швед Д.М., Левинских М.А., Виноходова А.Г., Сигналова О.Б., Смолеевский А.Е. Экопсихологические исследования в условиях 520-суточной изоляции, № 3 (25)

Еськов К.Н., Виноходова А.Г. Взаимосвязанная операторская деятельность в условиях экспериментального климатического стресса, № 4 (28)

Завалко И.М., Боритко Я.С., Ковров Г.В., Виноходова А.Г., Чекалина А.И., Смолеевский А.Е. Изменение структуры ночного сна в зависимости от индивидуальных стратегий адаптации к условиям 520-суточной изоляции, № 1 (27)

Иванов А.И., Лапа В.В., Давыдов В.В., Рябинин В.А., Голосов С.Ю. Надежность восприятия знаковой информации с авиационного жидкокристаллического индикатора, № 4 (33)

Карапетян М.А., Адамян Н.Ю. Влияние раздражения некоторых ядер заднего гипоталамуса на импульсную активность бульбарных дыхательных нейронов при гипоксии, № 2 (35)

Климарев С.И., Синяк Ю.Е. Обеззараживание воды при воздействии СВЧ-энергии и активного хлора, образующегося при ее электролизе, № 2 (48)

Котовская А.Р., Фомина Г.А., Сальников А.В., Ярманова Е.Н. Разработка методологии изучения состояния вен нижних конечностей космонавтов в практике космической медицины, № 6 (5)

Курданова М.Х., Бесланев И.А., Батырбекова Л.М., Курданов Х.А. Системный анализ вариабельности ритма сердца, гемодинамики и биоэлектрической активности головного мозга человека в условиях среднегогорья, № 6 (47)

Кусто М.-А., Иванисенко В.А., Колчанов Н.А., Николаев Е.Н., Почуев В.И., Ларина И.М. Постоянные белки мочи здорового человека в эксперименте с 520-суточной изоляцией, № 1 (48)

Медникова Е.И., Гурьева Т.С., Дадашева О.А., Сычев В.Н., Морозова Ю.А. Пастообразный корм для экспериментов с мышами на борту автоматических космических аппаратов, № 4 (53)

Мельников В.Н., Поляков В.Я., Кривошеков С.Г., Баранов В.И., Речкина С.Ю. Структурно-функциональные показатели сосудов шеи у обследуемых с артериальной гипертензией при изменении атмосферного давления, № 3 (51)

Милошевский А.В., Мызников И.Л. Особенности коморбидности у летного состава Северного флота, дисквалифицированного по состоянию здоровья, № 1 (54)

Мирзоев Т.М., Вильчинская Н.А., Ломоносова Ю.Н., Немировская Т.Л., Шенкман Б.С. Влияние 30-суточного космического полета и последующей реадаптации на сигнальные процессы в m. longissimus dorsi мыши, № 2 (12)

Митрикас В.Г. Некоторые результаты статистического анализа динамики дозовых полей ионизирующих излучений в служебном модуле Международной космической станции за 2000–2012 гг., № 1 (59)

Моисеев Ю.Б. Механизмы изменений позвоночника человека на статические и динамические продольные механические нагрузки, № 5 (46)

Моруков И.Б., Рыкова М.П., Антропова Е.Н., Берендеева Т.А., Пономарев С.А., Моруков Б.В. Состояние остеокластактивирующей системы у космонавтов после длительных космических полетов на Международной космической станции, № 6 (10)

Мухамедиева Л.Н., Оганесян М.В., Татаркин С.В., Баранцева М.Ю., Шафиркин А.В. Морфологические изменения трахеи, бронхов и легких у мышей после длительного комбинированного радиационного и ингаляционного химического воздействий, № 5 (13)

Огнева И.В., Бирюков Н.С., Веселова О.М., Ларина И.М. Содержание цитохрома с и функциональная активность митохондрий в клетках сердечной и скелетной мышц крысы в течение 3 суток гравитационной разгрузки, № 6 (23)

Огнева И.В., Бирюков Н.С., Лейнсоо Т.А., Ларина И.М. Структура кортикального цитоскелета кардиомиоцитов левого желудочка и волокон камбаловидной мышцы крысы после кратковременного антиортостатического вывешивания, № 4 (37)

Пастушкова Л.Х., Киреев К.С., Кононихин А.С., Тийс Е.С., Попов И.А., Доброхотов И.В., Кусто М.-А., Иванисенко В.А., Колчанов Н.А., Николаев Е.Н., Почуев В.И., Ларина И.М. Постоянные белки мочи здорового человека в эксперименте с 520-суточной изоляцией, № 1 (48)

Погодина М.В., Буравкова Л.Б. Устойчивость к окислительному стрессу мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, культивируемых при разном содержании кислорода, № 6 (34)

Подольский И.Г., Стругов О.М., Бингхем Г.Е. (Bingham G.E.) Эксплуатационные характеристики датчиков влагосодержания и водного потенциала корнеобитаемых сред для оранжерей в условиях длительных космических полетов, № 5 (39)

Рудимов Е.Г., Погодина М.В., Буравкова Л.Б. Влияние моделируемой микрогравитации на секреторную активность культивируемых эндотелиальных клеток человека, № 3 (30)

Салтыкова М.М. Изменение комплекса QRS на электрокардиограмме у здоровых людей при нагрузочных тестах, № 6 (39)

Солдатов П.Э., Медникова О.А., Гурьева Т.С., Дадашева О.А., Смоленская Т.С., Орлова В.С. Сравнительная оценка воздействия гипоксических газовых смесей с различной концентрацией кислорода на эмбриогенез японского перепела, № 5 (5)

Соловьева А.А., Седова Е.А., Томиловская Е.С., Шигуева Т.А., Афонин Б.В. Функциональная активность печени в условиях иммерсии и влияние на нее средств профилактики, № 2 (16)

Степанова Г.П., Буйлов С.П., Ещенко А.И., Скедина М.А., Воронков Ю.И. Влияние 520-суточной изоляции на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы, № 4 (23)

Сухотерин А.Ф., Пашенко П.С. Структурно-функциональные резервы вегетативной нервной системы летчиков высокоманевренной авиации, № 3 (20)

Сычев В.Н., Ильин Е.А., Ярманова Е.Н., Раков Д.В., Ушаков И.Б., Кирилин А.Н., Орлов О.И., Григорьев А.И. Проект «Бион-М1»: общая характеристика и предварительные итоги, № 1 (7)

Темурьянц Н.А., Костюк А.С. Переменное магнитное поле частотой 8 Гц корректирует активность опиоидной системы у моллюсков в условиях ферромагнитного экранирования, № 3 (45)

Тихомирова Н.А., Ушакова С.А., Куденко Ю.А., Анищенко О.В., Тихомиров А.А. Использование ионообменного субстрата для оптимизации условий минерального питания растений в биолого-технической системе жизнеобеспечения с высокой степенью замкнутости, № 5 (33)

Туртикова О.В., Лысенко Е.А., Немировская Т.Л., Шенкман Б.С. Влияние смеси аминокислот с разветвленной боковой цепью на восстановление атрофированных скелетных мышц крыс, № 6 (53)

Ушаков И.Б., Бубеев Ю.А., Котровская Т.И., Квасовец С.В., Иванов А.В. Неосознаваемые компоненты психофизиологических реакций участников эксперимента с 520-суточной изоляцией, № 1 (39)

Ушаков И.Б., Симакова Т.Г., Зипа О.М., Черникова А.Г., Баевский Р.М. Использование донологического подхода при решении задач врачебно-лётной экспертизы, № 6 (16)

Хулапко С.В., Лягушин В.И., Архангельский В.В., Шуршаков В.А., Смит М. (Smith M.), Инг Х. (Ing H.), Машрафи Р. (Mashrafi R.), Николаев И.В. Результаты измерения дозы и энергетического спектра нейтронов внутри российского сегмента Международной космической станции в эксперименте «Матрешка-Р» с использованием пузырьковых детекторов в период экспедиций МКС-24 – МКС-34, № 2 (52)

Цетлин В.В., Зотин А.А., Мойса С.С. Влияние изменения магнитного поля на развитие роговой катушки *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Planorbidae), № 3 (36)

Чумаченко Е.Н., Логашина И.В. Расчет напряженно-деформированного состояния двигательного сегмента позвоночника при нагрузках, № 5 (51)

Яснецов В.В., Мотин В.Г., Карсанова С.К., Яснецов Вик.В., Иванов Ю.В., Чельная Н.А. Исследование вестибулопротекторных свойств мелатонинергических средств, № 2 (31)

Яснецов В.В., Мотин В.Г., Яснецов Вик.В., Карсанова С.К., Иванов Ю.В., Чельная Н.А. Действие вестибулопротекторов мексидола и мелатонина на уровне мозжечка животных, № 6 (30)

Клинические исследования

Игошина Т.В., Котровская Т.И., Бубеев Ю.А., Счастливец Д.В., Потапов А.В. Применение ингаляции субнаркологических доз ксенона в санаторном лечении посттравматических стрессовых расстройств, № 5 (58)

Моисеев Ю.Б. Механизмы изменений позвоночника человека на статические и динамические продольные механические нагрузки, № 5 (46)

Моисеев Ю.Б., Страхов А.Ю., Чурилов Ю.К., Вовкодав В.С., Радченко С.Н. Медицинские исходы аварийных катапультирований из российских самолетов в 2003–2010 годах, № 2 (57)

Методики

Беркович Ю.А., Кривобок А.С., Кривобок Н.М., Смолянина С.О. Перспективный метод организации минерального питания растений применительно к условиям микрогравитации, № 3 (56)

Митрикас В.Г. Расчетное сопровождение дозиметрического контроля на российском сегменте Международной космической станции, № 3 (63)

Прошкин В.Ю., Курмазенко Э.А. Российская система генерации кислорода «Электрон-ВМ»: содержание водорода в электролизном кислороде для дыхания экипажа Международной космической станции, № 1 (65)

Рецензии

Markov M. Ю.Г. Григорьев, И.Б. Ушаков, Е.А. Красавин, Б.И. Давыдов, А.В. Шафиркин Космическая радиобиология за 55 лет. М., 2013, № 1 (69)

Хроника и информация

Александрова Э.Б. 4-я Международная конференция «Человек и электромагнитные поля», № 2 (66)

Боровик А.С., Попов Д.В., Фадин В.Г., Кузьмин И.В., Шарова А.П., Виноградова О.Л. К оценке функциональных возможностей и подбора тренировочных нагрузок для мышц плечевого пояса в лыжном спорте, № 6 (61)

Быстрова А.Г., Кузьмина А.Ю., Усачев А.Б. Об итогах работы 61-го Международного конгресса по авиационной и космической медицине, № 1 (77)

Денисов С.Л., Романов А.Н., Помелова М.А. О праздновании 50-летнего юбилея Государственного научного центра Российской Федерации – Института медико-биологических проблем Российской академии наук, № 1 (80)

Ильин Е.А. Шестнадцатое совещание российско-американской совместной рабочей группы по исследованиям в области космической биомедицины и биологии, № 2 (68)

Меденков А.А., Нестерович Т.Б. Человеческие ресурсы космической деятельности (по материалам XLVIII Научных чтений памяти К.Э. Циолковского), № 1 (73)

Подольский М.Д., Тараканов С.А., Кузнецов В.И., Гайдуков В.С. Современные средства мониторингирования электрокардиограммы с помощью встраиваемых в одежду электродов, № 1 (71)

Поляков А.В. Совещание многосторонних медицинских органов Международной космической станции, № 2 (63)

Пономарёв С.А. Итоги XIII конференции молодых ученых, специалистов и студентов, посвященной 50-летию полета первого в мире врача-космонавта Б.Б. Егорова, № 2 (70)

Ушаков И.Б., Богомолов В.В., Козловская И.Б., Ярманова Е.Н., Фомина Е.В. Последствия несоблюдения рекомендованных режимов силовых тренировок в космическом полете: уникальный случай вынужденной доработки ложементов на заключительном этапе полета, № 6 (59)

Юбилеи

Книга В.В. Кафедре авиационной и космической медицины 75 лет, № 4 (63)

Краткие сообщения

Лазарев А.О. Топографические особенности электродермальной активности человека, № 5 (64)

Правила для авторов, № 1 (85)

Авторский указатель

- Абросимова А.Н., № 5 (21)
 Адамян Н.Ю., № 2 (35)
 Александрова Э.Б., № 2 (66)
 Андреева Е.Р., № 2 (5)
 Андреев-Андриевский А.А., № 1 (14)
 Анищенко О.В., № 5 (33)
 Анохин К.В., № 1 (14)
 Антропова Е.Н., № 6 (10)
 Архангельский В.В., № 2 (52)
 Афонин Б.В., № 2 (16), № 4 (17)
 Баевский Р.М., № 6 (16)
 Бакулин А.В., № 5 (5)
 Баранов В.И., № 3 (51)
 Баранцева М.Ю., № 5 (13)
 Батырбекова Л.М., № 6 (47)
 Берендеева Т.А., № 6 (10)
 Беркович Ю.А., № 3 (56)
 Беспланеев И.А., № 6 (47)
 Бингхем Г.Е. (Bingham G.E.), № 5 (39)
 Бирюков Н.С., № 4 (37), № 6 (23)
 Богомоллов А.В., № 4 (5), № 6 (59)
 Борзых А.А., № 2 (43)
 Боритко Я.С., № 1 (27)
 Боровик А.С., № 6 (61)
 Бубеев Ю.А., № 1 (39), № 5 (58)
 Буйлов С.П., № 4 (23)
 Буравкова Л.Б., № 2 (5), № 3 (30), № 6 (34)
 Быстрова А.Г., № 1 (77)
 Валуев В.А., № 4 (17)
 Васин А.Л., № 2 (24)
 Величко В.В., № 4 (57)
 Веселова О.М., № 6 (23)
 Вильчинская Н.А., № 2 (12)
 Виноградова О.Л., № 1 (14), № 2 (43), № 6 (61)
 Виноходова А.Г., № 1 (27), № 3 (25), № 4 (28)
 Вовкодав В.С., № 2 (57)
 Водолажская М.Г., № 5 (27)
 Водолажский Г.И., № 5 (27)
 Воейкова Т.А., № 4 (46)
 Ворожцова С.В., № 5 (21)
 Воронков Ю.И., № 4 (23)
 Восканян К.Ш., № 5 (21)
 Гаевский В.Н., № 5 (21)
 Гайдуков В.С., № 1 (71)
 Голосов С.Ю., № 4 (33)
 Гончарова Е.А., № 2 (5)
 Гордиенко К.В., № 5 (5)
 Горностаева А.Н., № 2 (5)
 Григорьев А.И., № 1 (7)
 Григорьева О.В., № 2 (5)
 Гурфинкель Ю.И., № 2 (24)
 Гурьева Т.С., № 4 (53), № 5 (9)
 Гущин В.И., № 3 (25)
 Давыдов В.В., № 4 (33)
 Дадашева О.А., № 4 (53), № 5 (9)
 Денисов С.Л., № 1 (80)
 Доброхотов И.В., № 1 (48)
 Долгов О.Н., № 1 (14)
 Донцов В.И., № 3 (12)
 Емельянова Л.К., № 4 (46)
 Еськов К.Н., № 4 (28)
 Ещенко А.И., № 4 (23)
 Жданько И.М., № 4 (5)
 Завалко И.М., № 1 (27)
 Захарьяшева О.В., № 3 (12)
 Зинкин В.Н., № 4 (5)
 Зипа О.М., № 6 (16)
 Зотин А.А., № 3 (36)
 Иванисенко В.А., № 1 (48)
 Иванов А.В., № 1 (39), № 4 (33)
 Иванов Ю.В., № 2 (31), № 6 (30)
 Игошина Т.В., № 5 (58)
 Ильин В.К., № 4 (46)
 Ильин Е.А., № 1 (7), № 1 (14), № 2 (68)
 Инг Х. (Ing H.), № 2 (52)
 Кабицкая О.Е., № 5 (5)
 Карапетян М.А., № 2 (35)
 Карсанова С.К., № 2 (31), № 6 (30)
 Квасовец С.В., № 1 (39)
 Киреев К.С., № 1 (48)
 Кирилин А.Н., № 1 (7)
 Климарев С.И., № 2 (48)
 Книга В.В., № 4 (63)
 Ковров Г.В., № 1 (27)
 Козловская И.Б., № 6 (59)
 Колчанов Н.А., № 1 (48),
 Кононихин А.С., № 1 (48)
 Коршунов Д.В., № 4 (46)
 Костюк А.С., № 3 (45)
 Котовская А.Р., № 6 (5)
 Котровская Т.И., № 1 (39), № 5 (58)
 Крестьянова И.Н., № 4 (46)
 Кривобок А.С., № 3 (56)
 Кривошеков С.Г., № 3 (51)
 Крутько В.Н., № 3 (12)
 Куденко Ю.А., № 5 (33)
 Кузнецов В.И., № 1 (71)
 Кузнецов И.А., № 3 (12)
 Кузьмин И.В., № 2 (43), № 6 (61)
 Кузьмина А.Ю., № 1 (77)
 Курданов Х.А., № 6 (47)
 Курданова М.Х., № 6 (47)
 Курмазенко Э.А., № 1 (65)
 Кусто М.-А., № 1 (48)
 Лазарев А.О., № 5 (64)
 Лапа В.В., № 4 (33)
 Ларина И.М., № 1 (48), № 3 (5), № 4 (37), № 6 (23)
 Левинских М.А., № 3 (25)
 Лейнсоо Т.А., № 4 (37)
 Логашина И.В., № 5 (51)

- Ломоносова Ю.Н., № 2 (12)
 Лысенко Е.А., № 2 (43), № 6 (53)
 Лягушин В.И., № 2 (52)
 Мамиконова О.А., № 3 (12)
 Матвеева Т.А., № 2 (24)
 Машрафи Р. (Machrafi R.), № 2 (52)
 Меденков А.А., № 1 (73)
 Медникова Е.И., № 4 (53)
 Медникова О.А., № 5 (9)
 Мельников В.Н., № 3 (51)
 Милошевский А.В., № 1 (54)
 Мирзоев Т.М., № 2 (12)
 Митрикас В.Г., № 1 (59), № 3 (63)
 Мицын Г.В., № 5 (21)
 Моисеев Ю.Б., № 2 (57), № 5 (46)
 Мойса С.С., № 3 (36)
 Молоканов А.Г., № 5 (21)
 Морозова Ю.А., № 4 (46), № 4 (53)
 Моруков Б.В., № 6 (10)
 Моруков И.Б., № 6 (10)
 Мотин В.Г., № 2 (31), № 6 (30)
 Мухамедиева Л.Н., № 5 (13)
 Мызников И.Л., № 1 (54)
 Немировская Т.Л., № 2 (12), № 6 (53)
 Нестерович Т.Б., № 1 (73)
 Николаев Е.Н., № 1 (48)
 Николаев И.В., № 2 (52)
 Новикова Л.М., № 4 (46)
 Оганесян М.В., № 5 (13)
 Оганов В.С., № 5 (5)
 Огнева И.В., № 3 (5), № 4 (37), № 6 (23)
 Орлов О.И., № 1 (7)
 Орлова В.С., № 5 (9)
 Пастушкова Л.Х., № 1 (48)
 Пащенко П.С., № 3 (20)
 Погодина М.В., № 3 (30), № 6 (34)
 Подольский И.Г., № 5 (39)
 Подольский М.Д., № 1 (71)
 Поляков А.В., № 2 (63)
 Поляков В.Я., № 3 (51)
 Помелова М.А., № 1 (80)
 Пономарёв С.А., № 2 (70), № 6 (10)
 Попов Д.В., № 6 (61)
 Попов И.А., № 1 (48)
 Попова А.С., № 1 (14)
 Потапов А.В., № 5 (5)
 Почуев В.И., № 1 (48)
 Прошкин В.Ю., № 1 (65)
 Пырву В.В., № 3 (12)
 Радченко С.Н., № 2 (57)
 Раков Д.В., № 1 (7)
 Речкина С.Ю., № 3 (51)
 Романов А.Н., № 1 (80)
 Рудимов Е.Г., № 3 (30)
 Рыкова М.П., № 6 (10)
 Рябинин В.А., № 4 (33)
 Салтыкова М.М., № 6 (39)
 Сальников А.В., № 6 (5)
 Саранцева С.В., № 3 (5)
 Сасонко М.Л., № 2 (24)
 Седова Е.А., № 2 (16), № 4 (17)
 Сигналова О.Б., № 3 (25)
 Симакова Т.Г., № 6 (16)
 Синяк Ю.Е., № 2 (48)
 Скедина М.А., № 4 (23)
 Смирнова Т.М., № 3 (12)
 Смит М. (Smith M.), № 2 (52)
 Смолеевский А.Е., № 1 (27), № 3 (25)
 Смоленская Т.С., № 5 (9)
 Смолянина С.О., № 3 (56)
 Соколова Л.А., № 3 (12)
 Солдатов П.Э., № 1 (14), № 5 (9)
 Солдатов С.К., № 4 (5)
 Соловьева А.А., № 2 (16), № 4 (17)
 Степанова Г.П., № 4 (23)
 Страхов А.Ю., № 2 (57)
 Стругов О.М., № 5 (39)
 Сухотерин А.Ф., № 3 (20)
 Счастливец Д.В., № 5 (58)
 Сычев В.Н., № 1 (7), № 1 (14), № 4 (53)
 Тараканов С.А., № 1 (71)
 Татаркин С.В., № 5 (13)
 Темурьянц Н.А., № 3 (45)
 Тийс Е.С., № 1 (48)
 Тихомиров А.А., № 4 (57), № 5 (33)
 Тихомирова Н.А., № 5 (33)
 Тихонова Г.А., № 4 (17)
 Томиловская Е.С., № 2 (16)
 Туртикова О.В., № 6 (53)
 Тяглов Б.В., № 4 (46)
 Усачев А.Б., № 1 (77)
 Ушаков И.Б., № 1 (7), № 1 (39), № 1 (69), № 6 (16), № 6 (59)
 Ушакова С.А., № 4 (57), № 5 (33)
 Фадин В.Г., № 6 (61)
 Фомина Г.А., № 6 (5)
 Фомина Е.В., № 6 (59)
 Хулапко С.В., № 2 (52)
 Цетлин В.В., № 3 (36)
 Чекалина А.И., № 1 (27)
 Чельная Н.А., № 2 (31), № 6 (30)
 Черникова А.Г., № 6 (16)
 Чумаченко Е.Н., № 5 (51)
 Чурилов Ю.К., № 2 (57)
 Шарова А.П., № 6 (61)
 Шафиркин А.В., № 5 (13)
 Швед Д.М., № 3 (25)
 Шенкман Б.С., № 1 (14), № 2 (12), № 6 (53)
 Шешегов П.М., № 4 (5)
 Шигуева Т.А., № 2 (16)
 Шуршаков В.А., № 2 (52)
 Ярманова Е.Н., № 1 (7), № 6 (5)
 Яснецов В.В., № 2 (31), № 6 (30)
 Яснецов Вик.В., № 2 (31), № 6 (30)

Уважаемые авторы!

НОВЫЕ правила оформления статей в журнал
«Авиакосмическая и экологическая медицина»
будут опубликованы в № 1 за 2015 год
и на сайте журнала: journal.imbp.ru

Редколлегия журнала сердечно поздравляет
с юбилейными датами ведущих специалистов
в области космической медицины и биологии,
сотрудников ИМБП:

Комаревцева Владимира Николаевича

Спирину Нину Петровну

Сергеева Алексея Всеволодовича

Пономареву Ирину Павловну

Турчанинову Валентину Федоровну

Добрые вам пожелания и плодотворного сотрудничества
с нашим журналом!