

# **АВИАКОСМИЧЕСКАЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА**

## **AVIAKOSMICHESKAYA I EKOLOGICHESKAYA MEDITSINA**

НАУЧНЫЙ ПЕРИОДИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ  
SCIENTIFIC PERIODIC JOURNAL

### **ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР**

Орлов О.И., д.м.н., 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.б.н., профессор – заместитель главного редактора  
Дьяченко А.И., д.т.н., профессор  
Ерофеева Л.М., д.б.н., профессор  
Иванов И.В., д.м.н., профессор  
Ильин Е.А., д.м.н., профессор  
Котов О.В., к.м.н.  
Красавин Е.А., к.м.н., д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН  
Меденков А.А., к.психол.н., д.м.н., профессор  
Синяк Ю.Е., к.х.н., д.т.н., профессор  
Сорокин О.Г., к.м.н. – ответственный секретарь  
Суворов А.В., д.м.н., профессор  
Усов В.М., д.м.н., профессор  
Хоменко М.Н., д.м.н., профессор  
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  
Жданык 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 АНПК (Казахстан)  
Gerzer R., M.D., Ph.D., professor (Germany)  
Gharib C., Ph.D., professor (France)  
Yinghui Li, M.D., Ph.D., professor (China)

**2019 Т. 53 № 5**

## **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»,  
с 1991 г. по настоящее время – «Авиакосмическая и экологическая 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, 2019  
© State Research Center RF – Institute of Biomedical Problems Russian Academy of Sciences, 2019

Все права зарегистрированы. Никакая часть журнала не может быть воспроизведена  
каким-либо способом без письменного разрешения Издателя  
All rights reserved. No part of this journal may be reproduced in any form by any means without  
written permission of the Editorial Board

**Метаданные статей, опубликованных в журнале, размещены на сайте журнала [journal.imbp.ru](http://journal.imbp.ru)  
Полные тексты статей доступны в базе данных РИНЦ ([www.elibrary.ru](http://www.elibrary.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](mailto:library@imbp.ru)  
Секретарь: Муромцева Т.С., тел.: 8 (499) 195-65-12, эл. почта: [arhiv@imbp.ru](mailto:arhiv@imbp.ru)

Сдано в набор 08.10.2019  
Подписано в печать 24.10.2019  
Формат 60 × 84 1/8  
Гарнитура Tahoma  
Печать офсетная  
Усл. печ. л. 11,63  
Тираж 180 экз  
Заказ № ...

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

## Содержание

## Contents

### Обзоры

### Reviews

Темнов А.А., Бояринцев В.В., Трофименко А.В., Бирюков С.А., Горина Е.В., Фильков Г.И. Мезенхимальные стволовые клетки при лечении ишемически-реперфузионного повреждения при холодовой травме

**5** Temnov A.A., Boyarintsev V.V., Trofimenko A.V., Biryukov S.A., Gorina E.V., Filkov G.I. Mesenchymal stem cells for treatment of ischemia reperfusion injuries

### Экспериментальные и общетеоретические исследования

### Experimental and Theoretical Investigations

Фомина Е.В., Кукоба Т.Б. Восстановление силы мышц ног космонавта после длительного космического полета с использованием силового тренажера для частичной компенсации гравитационной разгрузки

**11** Fomina E.V., Kukoba T.B. Recovery of cosmonaut's leg muscles strength after extended mission with the use of strength training equipment for partial compensation of the gravitational unloading

Бондаренко В.А., Митрикас В.Г., Цетлин В.В. Характеристики радиационных условий среды обитания на МКС в период 24-го цикла солнечной активности

**17** Bondarenko V.A., Mitrikas V.G., Tsetlin V.V. Characteristics of the ISS radiation environment in the period of the 24th solar cycle

Манько О.М., Смолеевский А.Е., Томиловская Е.С., Козловская И.Б. Влияние 5-суточной «сухой» иммерсии на состояние гидродинамики глаза

**22** Manko O.M., Smoleevsky A.E., Tomilovskaya E.S., Kozlovskaya I.B. Effect of 5-day dry immersion on eye hydrodynamics

Ратушный А.Ю., Буравкова Л.Б. Чувствительность мезенхимальных стромальных клеток к окислительному стрессу в условиях физиологической концентрации кислорода

**29** Ratushnyy A.Yu., Buravkova L.B. Sensitivity of mesenchymal stromal cells to oxidative stress under physiological oxygen concentrations

Иванова С.М., Лабетская О.И., Анисимов Н.А., Колотева М.И., Максимов Г.В. Исследование показателей метаболизма эритроцитов и эффективности переноса гемоглобином кислорода у испытуемых-добровольцев при воздействии перегрузок +Gz на центрифуге короткого радиуса

**34** Ivanova S.M., Labetskaya O.I., Anisimov N.A., Koloteva M.I., Maksimov G.V. Study of metabolism, erythrocytes and effectiveness of oxygen transfer by hemoglobin in test-volunteers during exposure to +Gz on a short-arm centrifuge

Павлов К.И., Сырцев А.В., Мухин В.Н., Архимук А.Н., Михеев А.В., Копытова Ю.С., Хамитова Е.А., Сысоев В.Н., Петренко М.И. Периферическая гемодинамика и вазорегуляция у курсантов в условиях военно-профессиональной адаптации

**39** Pavlov K.I., Syrtsev A.V., Mukhin V.N., Arkhimuk A.N., Mikheev A.V., Kopytova Yu.S., Khamitova E.A., Sysoev V.N., Petrenko M.I. Peripheral hemodynamics and vasoregulation in cadets during military occupational adaptation

- Прокопович Л.С., Ильин В.К., Никонов Р.В. **49** Prokopovich L.S., Ilyin V.K., Nikonov R.V.  
Профилактика воспаления ротоглотки у лиц  
опасных профессий в экстремальных условиях Prevention of oropharyngeal inflammations in people  
of risky occupations in extreme environments
- Дадашева О.А., Грушина Е.А., Гурьева Т.С., **60** Dadasheva O.A., Grushina E.A., Gurieva T.A.,  
Медникова Е.И., Лукичева Н.А., Сычев В.Н. Mednikova E.I., Lukicheva N.A., Sychev V.N.  
Особенности гистологического строения внутрен-  
них органов у рыбы *Danio rerio*, экспонированной Histological structure of the internal of fishes *Danio*  
*rerio* exposed to the spaceflight factors в условиях космического полета
- Солдатов П.Э., Шулагин Ю.А., **65** Soldatov P.E., Shulaguin Yu.A.,  
Тюрин-Кузьмин А.Ю., Крыченков Д.А., Tyurin-Kuzmin A.Yu.,  
Носовский А.М., Суворов А.В., Смоленская Т.С., Krychenkov D.A., Nosovsky A.M., Suvorov A.V.,  
Смирнов И.А., Смирнова Т.А. Смоленская Т.С., Smolenskaya T.S., Smirnov I.A., Smirnova T.A.  
Комплексная мониторинговая оценка кардиореспираторной Complex monitoring-based evaluation of the  
системы и газообмена подопытных животных при cardiorespiratory system and gas exchange in  
дыхании гипоксическими дыхательными смеша- laboratory animals breathing hypoxic breathing  
ми, содержащими инертные газы mixtures containing inertial gasses
- Ганапольский В.П., Авдюшенко С.А., **77** Ganapolsky V.P., Avdyushenko S.A.,  
Гринчук С.С., Королев Ю.Н., Лунин А.А., Grinchuk S.S.,  
Лучникова О.В., Матыцин В.О., Ржепецкая М.К., Korolev Yu.N., Lunin A.A., Luchnikova O.V.,  
Щукина Н.А. Матыцин В.О., Rzhepetskaya M.K., Shchukina N.A.  
Влияние гипоксических тренировок и фармацевти-  
ческой коррекции на физическую работоспо-  
собность и автономную регуляцию у альпинистов Effect of hypoxic training and pharmaceutical  
correction on physical performance and autonomic  
regulation in mountaineers
- Шумилина И.В. Изучение потребления белья и **85** Shumilina I.V. Investigations of underwear and  
одежды в условиях 520-суточной изоляции clothes consumption during 520-day isolation
- Кагиров И.А., Карпов А.А., Кипяткова И.С., **92** Kagirov I.A., Karpov A.A., Kipyatkova I.S.,  
Клюжев К.С., Кудрявцев А.И., Кудрявцев И.А., Klyuzhev K.S., Kudryavtsev A.I., Kudryavtsev I.A.,  
Рюмин Д.А. Рюмин Д.А. Интеллектуальный интерфейс для Intellectual interface to control a robotic  
управления роботизированным медицинским medical exoskeleton of the lower limbs «Remotion»  
экзоскелетом нижних конечностей Remotion

## ОБЗОРЫ

УДК 576.5+57.085.23+616-08-035

### МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ

**Темнов А.А., Бояринцев В.В., Трофименко А.В., Бирюков С.А., Горина Е.В., Фильков Г.И.**

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), г. Долгопрудный, Московская обл.

E-mail: dr.trofimenko@gmail.com

*В обзоре проведен анализ результатов применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) из различных тканевых источников для лечения состояний, вызванных последовательными нарушением (ишемией) и восстановлением (реперфузией) кровообращения органов и тканей. Приведены данные о способах модификации МСК с целью повышения эффективности лечения. Авторы выдвигают гипотезу, что МСК могут быть эффективны при лечении обморожений.*

Ключевые слова: обморожение, стволовые клетки, гипоксия, реперфузия, ишемия.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 5. С. 5–10.

**DOI:** 10.21687/0233-528X-2019-53-5-5-10

Обморожение – одна из наиболее часто встречающихся травм в условиях холодного климата, которая нередко приводит к потере конечностей. Основное повреждающее действие при криотравме оказывает последовательность патологических процессов, развивающихся в результате нарушения (ишемии) и последующего восстановления (реперфузии) кровообращения органа или конечности.

Переохлаждение и криотравма сопровождаются рефлекторным спазмом сосудов, централизацией кровообращения и ишемией периферических тканей. Повреждение клеток органа, подверженного ишемии, усугубляется после восстановления кровотока [1]. Указанную совокупность патологических процессов называют синдромом ишемии-реперфузии (ИР), а соответствующее повреждение клеток и тканей – ишемически-реперфузионным (ИРП).

Г.Р. Гирн [2] предложила следующее определение: «ИР – это парадоксальное и сложное явление обострения клеточной дисфункции и увеличение гибели клеток после восстановления кровотока в ткани, ранее подверженной ишемии».

Патологии, сопровождающиеся ИР – острый инфаркт миокарда, острая почечная недостаточность, ишемический инсульт – представляют собой распространенные причины смерти.

Существующие схемы лечения ИР недостаточно эффективны, поэтому ведется интенсивный поиск альтернативных методов терапии. Сегодня применение мезенхимальных стволовых клеток (МСК) представляется наиболее перспективным методом лечения ИР [3].

Для анализа возможности применения МСК при ИР рассмотрим основные этапы патогенеза ИР.

#### *Патогенез травмы ИР при криотравме*

В основе ИР лежат такие процессы, как метаболический дисбаланс, сопровождающийся повреждением митохондрий и нарушением гомеостаза  $Ca^{2+}$ , увеличение производства активных форм кислорода (ROS) и монооксида азота (NO), нарушение микроциркуляции, а также активация клеток иммунной системы с высвобождением провоспалительных и проапоптотических факторов.

Воспалительные изменения в форме повышенной секреции провоспалительных цитокинов ишемической тканью, таких, как TNF-альфа, IL-1, -6, -8 и т.д., а также активация компонентов комплемента (C5a) приводят к развитию воспаления и миграции лейкоцитарных клеток, прежде всего нейтрофилов, в поврежденную область [4]. Нейтрофилы активируют молекулы, способствующие адгезии, и взаимодействуют с эндотелием через так называемый механизм роллинга [5], продлевая ишемию во время начальной стадии реперфузии [6]. Среди провоспалительных цитокинов особое внимание привлекает TNF-альфа, поскольку доказано, что TNF-альфа способен индуцировать сердечную микрососудистую эндотелиальную дисфункцию независимо от нейтрофилов [7]. Кроме того, действие анти-TNF антител приводит к значительному ослаблению эндотелиальной дисфункции коронарных артериол и области инфаркта [4]. Дополнительно подтверждена прямая зависимость между уровнем экспрессии TNF-альфа и дисфункцией эндотелия при реперфузии [8].

Выделение активных форм кислорода и свободных радикалов (в частности, из-за увеличения

перекисного окисления липидов), в свою очередь, приводит к повышению уровня трансаминаз в крови, увеличению количества воспалительного инфильтрата, началу процесса фрагментации хроматина и развитию апоптоза [9]. Метаболические нарушения при ИР приводят к нарушению возбудимости клеток, активации циклогеназы и липоксигеназы с последующим образованием простагландинов и лейкотриенов, а также активации анаэробного метаболизма, усугубляющего метаболический ацидоз [10].

Вследствие недостаточной эффективности существующих схем лечения ИРП предпринимаются новые попытки найти альтернативные терапевтические подходы. Развитие клеточных технологий позволило расширить сферу применения клеточных препаратов для лечения различных патологий, в том числе связанных с ИР.

Следует отметить, что в изученной научно-медицинской литературе не найдено достаточного количества достоверных данных о действии МСК при ИРП конечностей при переохлаждении. Поэтому при анализе были использованы данные о действии МСК при ИРП внутренних органов.

Мы выдвигаем гипотезу, что МСК могут быть эффективны в лечении обморожений. Наша гипотеза основывается, во-первых, на доказанной эффективности МСК в лечении патологий, связанных с синдромом ИР, а во-вторых, на том, что основную повреждающую роль при криотравме играют патологические процессы, вызванные ИР.

#### *Использование МСК в почечной ИР*

Почечная ИР – наиболее частая причина острой почечной недостаточности [11]. Терапевтический эффект МСК в лечении острой почечной недостаточности продемонстрирован как *in vivo*, так и *in vitro*. Yen-Ta et al. [12] воспроизвели ИР почек у крыс, перекрыв обе почечные артерии на 1 ч. Затем экспериментальной группе были введены МСК, полученные из жировой ткани, в то время как животным из контрольной группы вводилась интактная культуральная среда. По сравнению с животными из группы, получавшими лечение МСК, гистологические исследования животных из контрольной группы выявили более тяжелое поражение тканей почек, которое привело к обширному трубчатому некрозу, клубочковой дилатации и т.д. Уровни мочевины и креатинина в контрольной группе значительно превышали таковые в экспериментальной, подтверждая наличие терапевтического эффекта МСК. Однако изучаемые показатели в экспериментальной группе значительно превышали таковые в норме, что свидетельствует о недостаточном терапевтическом эффекте монотерапии МСК.

Экспрессия эндотелина-1 (ЕТ-1), индикатора вазоконстрикции и повреждения эндотелия, а также

индикаторов воспаления TNF-альфа и матричной металлопротеиназы-9 (ММР-9) были значительно выше в контрольной группе, чем в экспериментальной, тогда как уровни противовоспалительных маркеров, таких, как IL-10, адипонектин и eNOS, были значительно выше в экспериментальной группе, чем в контрольной. Экспрессия антиоксидантных биомаркеров NAD (P) H-хиноноксидоредуктазы 1 (NQO1), гемоксигеназы-1 (HO-1), глутатионредуктазы (GR) и глутатионпероксидазы (GPx) была значительно увеличена как в экспериментальной, так и в контрольной группе по сравнению с нормой, при этом самый высокий уровень экспрессии наблюдался в контрольной группе. Полученные данные указывают на антиоксидантный и антиапоптотический эффекты трансплантации МСК при ИР почки, особо выделяя эффект паракринных факторов, секретруемых МСК [12].

На модели ИР почки исследовали увеличение высвобождения хемокина SDF-1 (фактора стромальной клетки-1, или CXCL12) при ишемии почки [11]. Этот фактор играет решающую роль в процессах хемотаксиса и органоспецифического «самонаведения» стволовых и прогенерирующих клеток в поврежденной ишемией ткани. Связывание SDF-1 с МСК происходит посредством 2 типов рецепторов: CXCR4 и CXCR7. Исследования показали, что культивирование МСК в условиях гипоксии (3 % O<sub>2</sub>) приводит к повышению уровня экспрессии рецепторов SDF-1. Авторы делают вывод о необходимости CXCR4 для миграции МСК в ткань, подверженную ишемии, на основании того, что блокирование этого рецептора моноклональными антителами нарушает хемотаксис стволовых клеток. Таким образом, CXCR7 необходим для повышения жизнеспособности МСК в ишемической ткани, пораженной ишемией.

Секреция 4 основных регенеративных факторов, выделяемых МСК (VEGF, HGF, IGF-1 и b-FGF), увеличивается в условиях гипоксии и/или при добавлении SDF-1 в культуру клеток. В то же время, если CXCR4 и CXCR7 нейтрализованы моноклональными антителами, секреция всех изученных факторов роста резко снижается и вместе с тем значительно снижается терапевтический эффект МСК в модели ИР почки *in vivo* [11].

Принимая во внимание, что активные формы кислорода являются одним из важнейших медиаторов гибели клеток при ИР [13], было изучено поведение МСК в присутствии H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Жизнеспособность клеток, культивируемых в гипоксических условиях, оказалась выше, чем у клеток, культивируемых в обычных условиях [14].

Терапевтическая эффективность МСК из жировой ткани крыс до и после процедуры замораживания подтверждена повышением выживаемости, понижением уровня креатинина и мочевины

в сыворотке крови в течение 4 ч, уменьшением экспрессии провоспалительных цитокинов IL-6 и MIP2-альфа (макрофагальный воспалительный белок 2-альфа, CXCL2) [15]. Кроме того, наблюдалось значительное снижение инфильтрации ткани почек макрофагами и увеличение пролиферации в дистальных и проксимальных канальцах почек. На основании того, что указанные изменения наблюдались в течение 24 ч после введения МСК, а через 72 ч донорские клетки в тканях почки практически отсутствовали, авторы делают вывод, что терапевтический эффект при ИР основан не на трансдифференцировке клеток, а на действии секретиремых факторов [15].

#### *МСК и миокардиальная ишемически-реперфузионная травма*

Острый коронарный синдром – это форма ишемической болезни сердца, которая является основной причиной смерти. Своевременная реперфузия является наиболее важным этапом в лечении данной патологии. Однако сама реперфузия сопровождается воспалительными изменениями, окислительным стрессом и нарушениями обмена веществ, которые, в свою очередь, приводят к усугублению повреждения миокарда. Согласно данным [16, 17], введение МСК в миокард значительно повышает вероятность ремоделирования области инфаркта и сократительную функцию желудочков за счет пролиферации клеток и васкуляризации области инфаркта. МСК оказались более эффективны в лечении инфаркта миокарда, чем кроветворные стволовые клетки [18].

Рассматривается гипотеза, что в основе терапевтического эффекта МСК лежит их способность дифференцироваться в кардиомиоциты *in situ* [16, 17]. Данная гипотеза остается неподтвержденной в силу низкой частоты такого явления [19]. Ряд исследований указывает на большую роль паракринных механизмов в улучшении функций миокарда [18, 20]. Продемонстрировано, что введение кондиционированной МСК-среды значительно снижает тяжесть ИРП миокарда как *in vitro* [21], так и *ex vivo* [22], возможно, за счет активации PI3K-зависимого пути.

Введение в миокард среды, кондиционированной МСК с избыточной экспрессией гена Akt, значительно уменьшало площадь инфаркта и улучшало функцию левого желудочка [19]. В этой же работе на модели *in vitro* было показано, что среда, кондиционированная МСК, повышает жизнеспособность кардиомиоцитов, культивируемых в условиях низкого содержания кислорода, за счет снижения апоптоза и повышения уровня паракринных факторов (VEGF, HGF, IGF-1, b-FGF и TMB4) [20].

Кардиопротекторный эффект МСК был продемонстрирован также при выключении гена TLR4 [21, 24]. При взаимодействии со своим лигандом рецептор

TLR4 индуцирует апоптоз и снижает пролиферативную способность клеток, в то время как дефицит этого рецептора приводит к уменьшению секреции провоспалительных цитокинов клетками [24, 25].

На модели ИР с использованием изолированного сердца крысы была исследована корреляция давления в левом желудочке (LVDP) и конечного диастолического давления. При введении в миокард как интактных МСК, так и клеток с выключенным геном TLR4 (TLR4KO МСК) наблюдалось значительно менее выраженное падение LVDP по сравнению с контрольной группой, однако TLR4KO МСК показали более выраженный кардиопротективный эффект на фоне усиленной секреции факторов роста и хемокинов (TIMP-1, KC, M-CSF, JE). С помощью РНК-интерференции удалось продемонстрировать участие STAT3-зависимого пути в активации паракринной активности. В то же время конечное диастолическое давление было примерно одинаково, что говорит об эквивалентном ИРП во всех группах [26].

Matthew et al. [27] разработали гель, состоящий из самособирающихся нановолокон гликозаминогликанов, связанных с гепаринсвязывающим пептидным амфифилом (НВРА). Этот гель способен к связыванию и иммобилизации молекул гепарина. Разработанный гель позволяет фиксировать различные белки, способные связываться с гепарином. Например, данный гель способен связывать VEGF и HGF. Исследование показало, что в модели острого инфаркта миокарда у крыс введение геля, экспонированного в кондиционированной МСК-среде, в стенку левого желудочка в значительной степени способствует сохранению функции миокарда (сократимость левого желудочка, релаксационная способность и среднее систолическое давление) по сравнению с группой, в которой гель не был трансплантирован, а также по сравнению с группами, в которых отдельно вводились кондиционированная среда или гель, который не был экспонирован в кондиционированной среде [27]. Более того, наиболее выраженный эффект был получен при помещении геля в среду, кондиционированную клетками, культивируемыми в гипоксических условиях (5 % O<sub>2</sub>).

Хорошо известно, что МСК способны не только хорошо адаптироваться к условиям гипоксии/ишемии, но и увеличивать функциональную активность, в том числе секреторную [28, 29].

#### *МСК и ишемически-реперфузионная травма других органов*

В модели ИРП печени у крыс трансплантация МСК сразу после восстановления перфузии значительно снижала уровень печеночных трансаминаз и уровень апоптоза, а также усиливала регенерацию печени в целом [22]. Область миграции клеток и область апоптоза не совпадали. Следовательно, трансплантированные клетки не заменяли поврежденные

гепатоциты, и антиапоптотический эффект, вероятно, обусловлен паракринными механизмами. Значительное снижение уровня трансаминаз в течение 24 ч после введения МСК исключает механизм трандифференцировки МСК в гепатоциты.

На модели ИР легких у крыс показано, что введение МСК из жировой ткани заметно повышает уровень насыщения крови кислородом и снижает систолическое артериальное давление в правом желудочке уже через 72 ч после начала реперфузии (что означает сохранение функции легкого) при отсутствии изменений в контрольной группе. Кроме того, исследователи обнаружили значительное увеличение уровня экспрессии и секреции провоспалительных цитокинов (TNF-альфа, IL-1b, MMP-9, NF-κB, VCAM-1 и ICAM-1), проапоптотических факторов (каспазы-3, Вах) и эндотелина-1 в контрольной группе по сравнению с группой, получавшей МСК [30]. Аналогичные результаты были получены с применением МСК, полученных из костного мозга [31].

Модифицированные вирусным геном IL-10 МСК, полученные из костного мозга, вызывали значительное улучшение структурного и функционального состояния легких при ИР за счет снижения интенсивности воспаления и уровня апоптоза [32].

Результаты пока немногочисленных исследований свидетельствуют об эффективности МСК в лечении ИРП таких органов, как кишечник [33], сетчатка [34], мозг [35] и конечности [23]. Тем не менее очевидно, что использование МСК является перспективным методом лечения ИРП. Несмотря на то что механизм действия МСК изучен далеко не полностью, есть все основания полагать, что факторы, секретируемые стволовыми клетками, играют важную роль в наблюдаемом защитном эффекте.

Следует признать, что разделение эффектов МСК на противовоспалительные, иммуномодулирующие, регенерирующие, антиапоптотические и антиоксидантные – условно. Все указанные эффекты взаимосвязаны и часто вызываются одними и теми же факторами. В первую очередь одним из ключевых аспектов действия МСК являются паракринные эффекты [36]. Цитокины и факторы роста, секретируемые МСК, способствуют протекторному и терапевтическому эффекту при различных патологиях.

Ряд исследований показал, что гипоксия определяет функциональное состояние прогениторных клеток и уровень экспрессии некоторых генов [37]. Миграция или трансплантация МСК в ткани в состоянии гипоксии могут сопровождаться активацией клеточного апоптоза. Было показано, что культивирование клеток при концентрации кислорода, сниженной до 2 %, значительно стимулирует пролиферативную активность: в течение 14 дней количество МСК, культивированных при гипоксии, более чем в 30 раз превышало количество клеток, культивированных при нормальном содержании кислорода

(21 %). Культивирование МСК в условиях гипоксии увеличивает экспрессию антиапоптотических факторов, что снижает активность каспазы-3 и блокирует апоптоз.

Несмотря на то что механизмы действия МСК при различных заболеваниях, в том числе ишемии/реперфузии, не до конца понятны, есть все основания полагать, что факторы, секретируемые стволовыми клетками, играют важную роль в наблюдаемом защитном эффекте.

#### Выводы

1. Терапевтическая эффективность МСК может быть объяснена действием секретируемых паракринных факторов.

2. Культивирование МСК в условиях гипоксии позволяет повысить выживаемость клеток и их функциональную активность, что может быть эффективным методом повышения терапевтической эффективности МСК.

3. Механизмы действия МСК и профиль их терапевтической эффективности позволяют предположить, что МСК могут быть эффективны при лечении обморожений.

*Работа выполнена при поддержке гранта в форме субсидии по соглашению от 28 ноября 2018 г. № 075-02-2018-208 (уникальный идентификатор проекта RFMEFI57518X0179), заключенному между Министерством науки и высшего образования Российской Федерации и ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)».*

#### Список литературы

1. Teoh N.C., Farrell G.C. Hepatic ischemia reperfusion injury: pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection // J. of Gastroenterol. and Hepatol. 2003. V. 18. № 8. P. 891–902.
2. Rowart P, Ericum P, Detry O. et al. Mesenchymal stromal cell therapy in ischemia/reperfusion injury // J. of Immunol. Res. 2015. V. 2015. Article ID 602597. 8 p. DOI: 10.1155/2015/602597.
3. Girn H.R., Ahilathirunayagam S., Mavor A.I. et al. Reperfusion syndrome: cellular mechanisms of microvascular dysfunction and potential therapeutic strategies // Vasc. Endovascular Surg. 2007. V. 41. № 4. P. 277–293.
4. Junxi Wu, Jun Li, Nannan Zhang et al. Stem cell-based therapies in ischemic heart diseases: a focus on aspects of microcirculation and inflammation // Basic Res. in Cardiol. 2011. V. 106. № 3. P. 317–324.
5. Arslan F, de Kleijn D.P., Timmers L. et al. Bridging innate immunity and myocardial ischemia/reperfusion injury: the search for therapeutic targets // Curr. Pharm. Des. 2008. V. 14. P. 205–216.

6. Engler R.L., Dahlgren M.D., Peterson M.A. et al. Accumulation of polymorphonuclear leukocytes during 3-h experimental myocardial ischemia // *Am. J. Physiol.* 1986. V. 251. P. H93–H100.
7. Gao X., Zhang H., Belmadani S. et al. Role of TNF-alpha-induced reactive oxygen species in endothelial dysfunction during reperfusion injury // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2008. V. 295. P. H2242–H2249.
8. Zhang C., Wu J., Xu X. et al. Direct relationship between levels of TNF-alpha expression and endothelial dysfunction in reperfusion injury // *Basic Res. Cardiol.* 2010. V. 105. P. 453–464.
9. Chang E.L., Lee S.H., Mun K.C. et al. Effect of artificial cells on hepatic function after ischemia-reperfusion injury in liver // *Transplant. Proc.* 2004. V. 36. № 7. P. 1959–1961.
10. Sologub T.V., Romanzov M.G., Kremen N.V. Free-radical processes and inflammation (pathogenic, clinical and therapeutic aspects): Textbook for medical doctors. Moscow, 2008.
11. Hongbao Liu, Shuibing Liu, Yang Li. The role of SDF-1-CXCR4/CXCR7 axis in the therapeutic effects of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells for renal ischemia/reperfusion injury // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 4. e34608.
12. Yen-Ta Chen, Cheuk-Kwan Sun, Yu-Chun Lin et al. Adipose derived mesenchymal stem cell protects kidneys against ischemia-reperfusion injury through suppressing oxidative stress and inflammatory reaction // *J. of Transl. Med.* 2011. V. 9. P. 51.
13. Sachse A., Wolf G. Angiotensin II-induced reactive oxygen species and the kidney // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007. V. 18. P. 2439–2446.
14. Погодина М.В., Буравкова Л.Б. Устойчивость к окислительному стрессу мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, культивируемых при разном содержании кислорода // *Авиакосм. и экол. мед.* 2014. Т. 48. № 6. С. 34–38.
15. Pogodina M.V. Buravkova L.B. Resistance to oxidative stress of multipotent mesenchymal stromal cells cultured with different oxygen contents // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2014. V. 48. № 6. P. 34–38.
16. Feng Z., Ting J., Alfonso Z. et al. Fresh and cryopreserved, uncultured adipose tissue-derived stem and regenerative cells ameliorate ischemia-reperfusion-induced acute kidney injury // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010. V. 25. P. 3874–3884.
17. Tomita S., Mickle D.A., Weisel et al. Improved heart function with myogenesis and angiogenesis after autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2002. V. 123. P. 1132–1140.
18. Wang J.S., Shum-Tim. The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: pathophysiologic and therapeutic implications // *Ibid.* 2001. V. 122. P. 699–705.
19. Arminan A., Gandia C., Garcia-Verdugo J.M. et al. Mesenchymal stem cells provide better results than hematopoietic precursors for the treatment of myocardial infarction // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010. V. 55. P. 2244–2253.
20. Pittenger M.F., Martin B.J. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics // *Circ. Res.* 2004. V. 95. P. 9–20.
21. Gneccchi M., He H., Noiseux N. Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement // *FASEB J.* 2006. V. 20. P. 661–669.
22. Angoulvant D., Ivanov F., Ferrera R. et al. Mesenchymal stem cell conditioned media attenuates in vitro and ex vivo myocardial reperfusion injury // *J. of Heart and Lung Transplant.* 2011. V. 30. № 1. P. 95–102.
23. Kanazawa H., Fujimoto Y., Teratani T. et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells ameliorate hepatic ischemia reperfusion injury in a rat model // *PLoS One.* 2011. V. 6. № 4. e19195.
24. Li Q., Yao D., Ma J. Transplantation of MSC in combination with Netrin-1 improves neoangiogenesis in a rat model of hind limb ischemia // *J. of Surg. Res.* 2011. V. 166. № 1. P. 162–169.
25. Pevsner-Fischer M., Morad V., Cohen-Sfady M. et al. Toll-like receptors and their ligands control mesenchymal stem cell functions // *Blood.* 2007. V. 109. P. 1422–1432.
26. Rolls A., Shechter R., London A. et al. Toll-like receptors modulate adult hippocampal neurogenesis // *Nat. Cell Biol.* 2007. V. 9. P. 1081–1088.
27. Wang Y., Abarbanell A.M., Herrmann J.L. et al. TLR4 inhibits mesenchymal stem cell (MSC) STAT3 activation and thereby exerts deleterious effects on MSC-mediated cardioprotection // *PLoS One.* 2010. V. 5. № 12. e14206.
28. Matthew J. Webber M.S., Xiaoqiang Han et al. Capturing the stem cell paracrine effect using heparin-presenting nanofibers to treat cardiovascular diseases // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2010. V. 4. № 8. P. 600–610.
29. Буравкова Л.Б., Андреева Е.Р., Григорьев А.И. Роль кислорода как физиологического фактора в проявлении функциональных свойств мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека // *Физиология человека.* 2012. Т. 38. № 4. С. 1–10.
30. Buravkova L.B., Andreeva E.R., Grigoriev A.I. The role of oxygen as a physiological factor in the manifestation of the functional properties of multipotent mesenchymal stromal cells in humans // *Fiziologiya cheloveka.* 2012. V. 38. № 4. P. 1–10.
31. Андреева Е.Р., Буравкова Л.Б. Паракринная активность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток и ее особенности в условиях гипоксии // *Там же.* 2013. Т. 39. № 5. С. 25–33.
32. Andreeva E.R., Buravkova L.B. Paracrine activity of multipotent mesenchymal stromal cells and its features in hypoxia // *Ibid.* 2013. V. 39. № 5. P. 25–33.
33. Sun C.K., Yen C.H., Lin Y.C. et al. Autologous transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells markedly reduced acute ischemia-reperfusion lung injury in a rodent model // *J. of Translat. Med.* 2011. V. 9. P. 118.
34. Chen S., Chen L., Wu X. Ischemia postconditioning and mesenchymal stem cells engraftment synergistically attenuate ischemia reperfusion-induced lung injury in rats // *J. of Surg. Res.* 2012. V. 178. № 1. P. 81–91.

32. Manning E., Pham S., Li S. Interleukin-10 delivery via mesenchymal stem cells: a novel gene therapy approach to prevent lung ischemia-reperfusion injury // Human Gene Therapy. 2010. V. 21. № 6. P. 713–727.

33. Jiang H., Qu L., Li Y. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells reduce intestinal ischemia reperfusion injuries in rats // J. Surg. Res. 2009. V. 168. № 1. P. 127–134.

34. Park S.S., Caballero S., Bauer G. et al. Long-term effects of intravitreal injection of GMP-grade bone-marrow-derived CD34 cells in NOD-SCID mice with acute ischemia-reperfusion injury // IOVS. 2012. V. 53. № 2. P. 986–994.

35. Dharmasaroja P. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells for the treatment of ischemic stroke // J. of Clin. Neurosci. 2009. V. 16. P. 12–20.

36. Temnov A., Rogov K., Zhalimov V. et al. The effect of a mesenchymal stem cell conditioned medium fraction on morphological characteristics of hepatocytes in acetaminophen-induced acute liver failure: a preliminary study // Hepat. Med. 2019. Jul. V. 19. № 11. P. 89–96. DOI: 10.2147/HMER.S196354. eCollection 2019.

37. Buravkova L.B., Andreeva E.R., Gogvadze V.G., Zhivotovsky B.D. Mesenchymal stem cells and hypoxia: Where are we? // Mitochondrion. 2014. V. 19. P. 105–112.

Поступила 12.08.2019

## **MESENCHYMAL STEM CELLS FOR TREATMENT OF ISCHEMIA REPERFUSION INJURIES**

**Temnov A.A., Boyarintsev V.V., Trofimenko A.V.,  
Biryukov S.A., Gorina E.V., Filkov G.I.**

Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny,  
Moscow region

*The review deals with analysis of the use of mesenchymal stem cells (MSCs) obtained from various tissues in treatment of the conditions consequent to the sequence of ischemia (circulation injury) and reperfusion (restoration) in organs and tissues. Methods of MDCs modification in order to raise treatment effectiveness are described. The authors set up a hypothesis that MSCs can be effective in frostbite treatment.*

Key words: frostbite, stem cells, hypoxia, reperfusion, ischemia.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).  
2019. V. 53. № 5. P. 5–10.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И ОБЩЕТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК/612.766

### ВОССТАНОВЛЕНИЕ СИЛЫ МЫШЦ НОГ КОСМОНАВТА ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИЛОВОГО ТРЕНАЖЕРА ДЛЯ ЧАСТИЧНОЙ КОМПЕНСАЦИИ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКИ

Фомина Е.В.<sup>1, 2, 3</sup>, Кукоба Т.Б.<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup>Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

<sup>2</sup>Московский педагогический государственный университет

<sup>3</sup>Российский университет дружбы народов, Москва

E-mail: fomin-fomin@yandex.ru

*Впервые определена динамика изменений силы и силовой выносливости мышц ног у большой группы космонавтов ( $n = 25$ ) в течение 2 нед реадaptации к условиям Земли в случае использования в длительном космическом полете в качестве средства усиления притока информации с проприорецептивного и опорного входов упражнений на силовом тренажере ARED. Физические упражнения выполнялись в соответствии с рекомендациями российской системы профилактики гипогравитационных нарушений.*

*Космонавты, выполнившие длительные космические полеты ( $176 \pm 81$  сут) на Международной космической станции (МКС), приняли участие в изокинетическом тестировании силовых характеристик мышц ног до и после полета. Существенное снижение скоростно-силовых качеств по всем изученным показателям выявлено на 4-е сутки после полета, наибольшее снижение максимального момента силы отмечено в мышцах голени на угловой скорости  $30^\circ/\text{с}$ . На 15-е сутки после полета значительно уменьшения потерь силы и силовой выносливости не зарегистрировано. Следовательно, восстановление скоростно-силовых качеств после длительного космического полета происходит достаточно медленно. Рекомендуется учитывать эти результаты при планировании работ, сопряженных с проявлением силовых качеств, в межпланетных миссиях.*

Ключевые слова: силовая тренировка, космонавты, сила, силовая выносливость, динамика, восстановление.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 5. С. 11–16.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-5-11-16

Орбитальные космические полеты являются очередной ступенью к межпланетным миссиям. Выполнение задач на поверхности незнакомой планеты требует эффективных методов профилактики гипогравитационных нарушений в скелетно-мышечной системе во время межпланетного полета. Возникает задача определения периода времени

после высадки на поверхность, по истечении которого человек сможет успешно проводить деятельность, требующую проявления силы и силовой выносливости.

Пребывание человека в условиях длительного космического полета сопровождается снижением скоростно-силовых возможностей мышц, причины этих изменений многофакторны [1–4]. Одним из основных факторов, запускающих негативные изменения в нервно-мышечной системе, является гравитационная разгрузка, приводящая к экстензорной атонии и сухожильной гиперрефлексии [1, 5, 6]. Рекрутирование мышечных волокон также претерпевает значительные изменения при переходе к условиям безопорности. Так, удержание усилия в 10 % от максимального выполняется с увеличением участия двигательных единиц с межпульсным интервалом 190–230 мс [6, 7]. Триггером, инициирующим развитие негативных изменений в нервно-мышечной системе, по предположению И.Б. Козловской, является опорная разгрузка, приводящая к инактивации мотонейронов медленных двигательных единиц [5]. Показано смещение миозинового фенотипа мышц ног человека в быструю сторону после длительных космических полетов [8]. Дефицит механической нагрузки, сопровождающий космический полет, является дополнительным фактором снижения скоростно-силовых качеств мышц [1, 2, 6, 8, 9]. Усиление сенсорного притока и компенсация опорной разгрузки обеспечивается физическими упражнениями, выполняемыми в ходе космического полета. На Международной космической станции (МКС) физические тренировки выполняются космонавтами в соответствии с рекомендациями российской системы профилактики гипогравитационных нарушений, имеющей ряд отличий от системы, рекомендуемой астронавтам [7–9]. Резистивные упражнения выполняются космонавтами через день, чередуясь с упражнениями на велоэргометре,

в то время как астронавты выполняют резистивные упражнения ежедневно. Известно, что при выполнении резистивных упражнений происходит натуживание и увеличение постнагрузки на сердце [10]. Поэтому космонавтам по сравнению с астронавтами рекомендован сниженный вес отягощения и увеличенное число повторений, так как предполагается, что именно такой режим является более безопасным в условиях микрогравитации, сопровождающейся перераспределением жидкости в краниальном направлении.

Ранее описана динамика восстановления скоростно-силовых качеств мышц у астронавтов, где на 7-е сутки после длительного полета наибольшее снижение силовых показателей зарегистрировано для мышц голени. Эти изменения отмечались и на 13-е сутки после завершения полета [8]. Наибольшие потери силы после космического полета обычно отмечают при подошвенном сгибании стопы [5, 11].

Вопрос о запуске физиологических механизмов, противодействующих негативному влиянию невесомости на нервно-мышечную систему, с помощью резистивных упражнений во время полета для обеспечения быстрой реадаптации к возросшему гравитационному воздействию после полета остается открытым. В этой связи целью работы явилось определение динамики восстановления силы и силовой выносливости мышц ног космонавта в течение 2 нед после длительного космического полета с применением российской системы профилактики. Полученные результаты могут быть полезны для планирования деятельности, связанной с проявлением силовых качеств во время межпланетного полета.

#### *Методика*

В эксперименте приняли участие 25 космонавтов, выполнивших длительные космические полеты продолжительностью от 163 до 189 сут. Один космонавт был обследован после выполнения 3 космических полетов, пять космонавтов – после выполнения 2 космических полетов, остальные после выполнения 1 космического полета. Всего в исследовании представлены данные 32 обследований. В соответствии с Хельсинкской декларацией испытуемые подписали Информированное согласие на участие в эксперименте.

Все космонавты, принявшие участие в эксперименте, во время космического полета выполняли силовые упражнения на тренажере ARED, обеспечивающим «весовое нагружение» до 272 кг. При выполнении упражнений «Приседания» и «Подъемы на носки» вес отягощения составлял от 30 до 130 % от веса тела космонавта на Земле. За тренировку упражнения выполняли в 3–4 подхода, по 16–30 повторений в каждом подходе.

Оценку динамики изменений физических качеств выполняли по результатам изокинетического тестирования (силовой динамометр Sybex) на основе регистрации моментов силы и силовой выносливости мышц ног космонавтов. Тестирование проводили за 30 и 60 сут до космического полета и на 4-е и 15-е сутки после его завершения. Регистрировали максимальные моменты силы мышц бедра при сгибании и разгибании в коленном суставе, на угловой скорости 60°/с, выполняли по 5 попыток, фиксировали максимальное значение. Выносливость мышц бедра определяли на угловой скорости 120°/с при выполнении 22 сгибаний и разгибаний ноги в коленном суставе.

Максимальные моменты силы мышц голени оценивали на угловой скорости 30°/с, выполняли по 5 сгибаний и разгибаний стопы в голеностопном суставе, фиксировали максимальное значение. Сгибанием в голеностопном суставе обозначали движение, обеспечивающее сближение тыльной поверхности стопы с передней поверхностью голени, разгибанию в голеностопном суставе соответствует движение, сопровождающееся увеличением угла и соответственно отдалением тыльной поверхности стопы от передней поверхности голени.

При оценке изменений скоростно-силовых показателей за 100 % брали исходный уровень развития силы и силовой выносливости до космического полета.

Обработка результатов исследования выполнена с использованием общепринятых методов математической статистики. Для каждого из исследуемых показателей рассчитывались среднее значение и среднеквадратическое отклонение. Оценка достоверности различий осуществлялась на основе расчетов *t*-критерия Стьюдента в программе Excel 2010.

#### *Результаты и обсуждение*

В результате исследования показано, что на 4-е сутки после завершения космического полета и сила, и силовая выносливость мышц бедра космонавтов в большинстве случаев значительно снижались по сравнению с уровнем, выявленным до космического полета. Однако в ряде случаев наблюдались исключения из этого правила, т.е. повышение показателей в сравнении с предполетным уровнем, которые более подробно будут описаны ниже. В исследовании представлены все случаи изменений физических качеств ( $n = 32$ ).

В мышцах голени на 4-е сутки восстановления было выявлено наибольшее снижение максимальных моментов силы. Снижение по сравнению с исходным уровнем составляло около 19 % и при сгибании, и при разгибании ноги в голеностопном суставе (табл. 1). При этом в группе обследованных космонавтов отмечали и повышение силы мышц

Таблица 1

**Динамика восстановления максимальной произвольной силы мышц голени и бедра космонавтов после полета**

Движение	Исходный уровень $X \pm \sigma$ (n = 32)	4-е сутки восстановления $X \pm \sigma$ (n = 32)	15-е сутки восстановления $X \pm \sigma$ (n = 32)
Подошвенное сгибание стопы	109,95 ± 29,40	88,65 ± 26,89**	94,69 ± 27,13*
Тыльное сгибание стопы	46,22 ± 11,94	37,12 ± 11,67**	21,59 ± 9,32**@
Разгибание в коленном суставе	172,28 ± 43,17	144 ± 40,56*	148,25 ± 38,58
Сгибание в коленном суставе	102,12 ± 23,29	86,28 ± 24,94*	91,22 ± 24,36

Примечание. \* – различия достоверны с исходным уровнем при  $p < 0,01$ ; \*\* – различия достоверны с исходным уровнем при  $p < 0,001$ ; @ – различия достоверны с изменениями на 4-е сутки восстановления при  $p < 0,01$ .

Таблица 2

**Динамика восстановления силовой выносливости мышц бедра космонавтов при 22 сгибаниях и разгибаниях в коленном суставе после полета**

Движение	Исходный уровень $X \pm \sigma$ (n = 32)	4-е сутки восстановления $X \pm \sigma$ (n = 32)	15-е сутки восстановления $X \pm \sigma$ (n = 32)
Разгибание в коленном суставе	1721,25 ± 477,94	1509,59 ± 423,71	1486,41 ± 466,84
Сгибание в коленном суставе	872,06 ± 194,43	734,53 ± 192,09*	701,69 ± 224,97*

Примечание. \* – различия достоверны с исходным уровнем при  $p < 0,001$ .

голеи в 2 случаях при разгибании и в 1 – при сгибании.

На 15-е сутки после полета снижения силы мышц голени при сгибании в голеностопном суставе достигали 23 %, значимо отличаясь от предполетного уровня и от значений в более ранний период реадaptации. Регистрация моментов силы мышц голени при разгибании в голеностопном суставе выявила тенденцию к уменьшению потерь до 13 % по сравнению с предполетным уровнем.

Потери силы мышц бедра на 4-е сутки восстановления составили около 15 % как при сгибании, так и при разгибании ноги в коленном суставе. Необходимо отметить, что в 2 случаях было отмечено повышение силы как во время сгибания так и во время разгибания ноги в коленном суставе, еще в 2 случаях повышение силы только во время сгибания, еще в 2 – только во время разгибания.

На 15-е сутки сила мышц, обеспечивающих сгибание и разгибание ноги в коленном суставе, несколько увеличивалась по сравнению с 4-ми сутками восстановления, потери составляли около 13 и 10 % соответственно.

Статистически значимое снижение силовой выносливости мышц бедра на 4-е сутки после

космического полета наблюдалось при разгибании ноги в коленном суставе, потери по группе составили 16 % (табл. 2). В 5 случаях выявлено повышение силовой выносливости мышц бедра, при этом только в 1 случае наблюдалось повышение силовой выносливости как при разгибании, так и при сгибании ноги в коленном суставе, в 3 случаях – только при разгибании, и в 1 – при сгибании. На 15-е сутки восстановления значительных изменений силовой выносливости мышц бедра по сравнению с 4-ми сутками после полета не наблюдалось.

Изучение гипогравитационных изменений в мышечной системе ранее проводили в экспедициях человека на орбитальные станции Skylab и «Мир» [2, 9] и далее в экспедициях на МКС. В связи с планированием межпланетных пилотируемых полетов влияние микрогравитации на мышечную систему человека продолжает изучаться [12–14].

Показано, что после 6-месячных космических полетов наибольшие негативные изменения происходят в мышцах голени, отмечены процессы атрофии медленных мышечных волокон, снижение мышечного тонуса, массы, силы мышц [15], что согласуется с полученными нами данными. Ранее И.Б. Козловской и соавт. также отмечалось, что в

условиях эксперимента «сухая» иммерсия наиболее выраженные изменения происходили в мышцах голени [11]. Более выраженные негативные изменения в экстензорах голени по сравнению с флексорами отмечены и в работе с обследованием астронавтов на 9-е сутки после длительных космических полетов [14].

Устранение опоры в невесомости сопровождается снижением активности медленных волокон, их атонией, ведет к снижению интенсивности протеосинтеза и ускорению распада мышечных белков [7]. На уровне мышечного волокна в модельных экспериментах обнаружено снижение мембранного потенциала покоя [16]. Результаты клеточных исследований на животных в условиях реальной и моделируемой невесомости указывают на ведущую роль нарушений в деятельности центральных нервных механизмов управления движением, таких, как снижение синтеза ацетилхолина, нарушение процесса секреции медиатора в нервно-мышечном синапсе [16], отмечено увеличение размера мотонейронов и уменьшение числа мотонейронов, содержащих холинацетилтрансферазу [17], в спинном мозге изменяется количество астроцитов, олигодендроцитов и миелообразующих клеток [18]. Очевидно, что столь значительные перестройки в нервно-мышечной системе не могут быть возвращены к исходному уровню за короткий промежуток времени после завершения космического полета. Динамика силы и силовой выносливости мышц человека в период до 14 сут реадaptации к условиям Земли, показанная в настоящей работе, находится в полном соответствии с этими представлениями о механизмах развития гипогравитационного двигательного синдрома, указывая на достаточно медленное восстановление скоростно-силовых возможностей мышц. Вероятно, устранение нарушений, обусловленных длительным пребыванием в невесомости, как на уровне клеточных и молекулярных механизмов центрального управления движением, так и на уровне исполнительного аппарата самой мышцы требует большего времени. Кроме того, известно, что возвращение в условия земной гравитации сопряжено с наличием дополнительных эксцентрических нагрузок [11, 19], что может задерживать процесс восстановления.

Очевидно, что в космическом полете отсутствует растяжение мышц под влиянием силы тяжести и соответствующая афферентация от проприорецепторов мышц. Компенсация опорной разгрузки во время длительных космических полетов может быть в некоторой степени обеспечена с помощью силовых упражнений определенной интенсивности для соответствующих мышечных групп. Упражнения «Приседания» и «Подъемы на носки» помимо включения проприорецептивного сенсорного входа увеличивает опорную афферентацию. Ранее было

показано, что реакции опоры при выполнении резистивных упражнений меньше, чем при выполнении локомоторных [20], но мы полагаем, что важно рассматривать и вклад резистивных тренировок в профилактику гипогравитационных нарушений. Ранее мы достаточно подробно рассматривали связь параметров локомоторной тренировки и ее эффективности с величиной опорных реакций и соответственно интенсивностью стимуляции рецепторов опоры [21].

Полученные данные дают определенные основания полагать, что величина нагрузки, используемой космонавтами в процессе резистивных тренировок в полете, оказывает влияние на опорную афферентацию и динамику восстановления силы и силовой выносливости мышц ног, что, однако, требует более детального дальнейшего изучения.

### Выводы

1. На 4-е сутки после космического полета максимальные моменты силы мышц голени и бедра космонавтов значительно снижены по сравнению с предполетным уровнем, статистически значимое снижение силовой выносливости зарегистрировано при выполнении сгибания ноги в коленном суставе.

2. На 15-е сутки после длительного космического полета сила мышц голени остается сниженной, потери силы мышц бедра становятся статистически незначимыми, т.е. восстановление скоростно-силовых качеств мышц бедра после длительного космического полета происходит быстрее, чем сила мышц голени.

3. Можно рекомендовать учитывать результаты настоящего исследования при планировании работ, сопряженных с проявлением силовых качеств в этих сегментах тела, при составлении сценария высадки на неисследованную планету.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-01826.*

*Обследования космонавтов, участвовавших в экспедициях на МКС до 2009 г., выполнялись при поддержке базовым финансированием РАН 63.1.*

### Список литературы

1. Какурин Л.И., Черепяхин М.А., Первушин В.Н. Влияние факторов космического полета на мышечный тонус у человека // Косм. биология и медицина. 1971. Т. 5. № 2. С. 63–68.

Kakurin L.I., Cherepakhin M.A., Pervushin V.N. The influence of space flight factors on muscle tone in humans // Kosmicheskaya biologiya i meditsina. 1971. V. 5. № 2. P. 63–68.

2. Gopalakrishnan R., Genc K.O. et al. Muscle volume, strength, endurance, and exercise loads during 6-month missions in // Apply Physiol. 2010. V. 81. № 2. P. 91–102.

3. *Fitts R.H., Trappe S.W. et al.* Prolonged space flight-induced alterations in the structure and function of human skeletal muscle fibres // *Apply Physiol.* 2010. V. 588. № 18. P. 3567–3592.
4. *Martin T.P., Edgerton V.R., Grindeland R.E.* Influence of spaceflight on rat skeletal muscle // *J. Appl. Physiol.* (1985). 1988. V. 65. № 5. P. 2318–2325.
5. *Козловская И.Б.* Сенсомоторные функции и системы двигательного управления // *Космическая медицина и биология.* Воронеж, 2013.
- Kozlovskaya I.B.* Sensomotor functions and motor control systems // *Space medicine and biology.* Voronezh, 2013.
6. *Козловская И.Б.* Гравитация и позно-тоническая двигательная система // *Авиакосм. и экол. мед.* 2017. Т. 51. № 3. С. 5–21.
- Kozlovskaya I.B.* Gravity and the tonic propulsion system // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2017. Т. 51. № 3. P. 5–21.
7. *Шенкман Б.С., Григорьев А.И., Козловская И.Б.* Гравитационные механизмы в тонической двигательной системе. Нейрофизиологические и мышечные аспекты // *Физиология человека.* 2017. Т. 43. № 5. С. 104–117.
- Shenkman B.S., Grigoriev A.I., Kozlovskaya I.B.* Gravity mechanisms in the tonic motor system. Neurophysiological and muscle aspects // *Fiziologiya cheloveka.* 2017. V. 43. № 5. P. 104–117.
8. *Trappe S., Costill P. et al.* Exercise in space: human skeletal muscle after 6 months aboard the International Space Station // *Apply Physiol.* 2009. V. 106. № 4. P. 1159–1168.
9. *Коряк Ю.А.* Влияние продолжительного космического полета на изокинетический концентрический и эксцентрический суставной момент разных мышц и концентрическую работоспособность мышц – разгибателей бедра // *Междунар. журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2015. № 10–4. С. 674–687.
- Koryak Yu.A.* The effect of long-term space flight on the isokinetic concentric and eccentric articular moment of different muscles and concentric performance of the extensor muscles of the thigh // *Mezhdunarodny zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy.* 2015. V. 10-4. P. 674–687.
10. *Окулов Т., Кочнев А.* Дифференцированная оценка изменения показателей центральной гемодинамики в условиях силовой тренировки // *Вестник Поморского университета.* 2008. № 2. С. 23–29.
- Okulov T., Kochnev A.* Differentiated assessment of changes in central hemodynamics in strength training // *Vestnik Pomorskogo universiteta.* 2008. № 2. P. 23–29.
11. *Григорьева Л.С., Козловская И.Б.* Влияние невесомости и гипокинезии на скоростно-силовые свойства скелетных мышц человека // *Косм. биол. и авиакосм. мед.* 1987. Т. 21. № 1. С. 27–30.
- Grigorieva L.S., Kozlovskaya I.B.* The effect of weightlessness and hypokinesia on the speed-strength properties of human skeletal muscles // *Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina.* 1987. V. 21. № 1. P. 27–30.
12. *Fitts R.H., Colloton P.A. et al.* Effects of prolonged space flight on human skeletal muscle enzyme and substrate profiles // *Apply Physiol.* 2013. V. 115. P. 667–679.
13. *Fitts R.H., Riley D.R., Widrick J.J.* Invited review: Physiology of a microgravity environment: microgravity and skeletal muscle // *Apply Physiol.* 2000. V. 89. P. 823–839.
14. *Greenleaf J., Bulbulian R. et al.* Exercise-training protocols for astronauts in microgravity // *Apply Physiology.* 1989. V. 67. P. 2191–2204.
15. *Kozlovskaya I.B., Grigoriev A.I., Stepanov V.I.* Countermeasures of the negative effects of the weightlessness on physiological systems in long-term flights // *Acta Astronaut.* 1995. V. 36. № 8–9. P. 661–688.
16. *Islamov R.R., Mishagina E.A., Tyapkina O.V., Shajmardanova G.F. et al.* Mechanisms of spinal motoneurons survival in rats under simulated hypogravity on earth // *Acta Astronaut.* 2011. V. 68 (9–10). P. 1469–1477.
17. *Porseva V.V., Shilkin V.V., Strelkov A.A., Krasnov I.B. et al.* Changes in the neurochemical composition of motor neurons of the spinal cord in mice under conditions of space flight // *Bull. of Exp. Biol. and Med.* 2017. V. 162. № 3. P. 336–339.
18. *Chelyshev Yu.A., Muhamedshina Y.O., Povysheva T.V., Shaymardanova G.F.* Characterization of spinal cord glial cells in a model of hindlimb unloading in mice // *Neurosci.* 2014. V. 7. P. 328–339.
19. *Fitts R.H., Riley D.R., Widrick J.J.* Functional and structural adaptations of skeletal muscle to microgravity // *J. Exp. Biol.* 2001. V. 18. P. 3201–3208.
20. *Cavanagh P.R., Genc K.O., Gopalakrishnan R. et al.* Foot forces during typical days on the international space station // *J. of Biomech.* 2010. V. 43. P. 2182–2188.
21. *Fomina E., Savinkina A.* Locomotion strategy and magnitude of ground reaction forces during treadmill training on ISS // *Aerospace Med. and Hum. Performance.* 2017. V. 88. № 9. P. 841–849.

Поступила 23.05.2019

## RECOVERY OF COSMONAUT'S LEG MUSCLES STRENGTH AFTER EXTENDED MISSION WITH THE USE OF STRENGTH TRAINING EQUIPMENT FOR PARTIAL COMPENSATION OF THE GRAVITATIONAL UNLOADING

**Fomina E.V.<sup>1, 2, 3</sup>, Kukoba T.B.<sup>1, 2, 3</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

<sup>2</sup>Moscow Pedagogical State University

<sup>3</sup>RUDN University, Moscow

*This was the first successful tracking of leg muscles strength and endurance dynamics in a group of 25 cosmonauts during 2 weeks of readaptation. In the*

*extended the ISS missions (176 ± 81 days) the cosmonauts used the US resistance training device (ARED) as an important source of information about proprioception and ground reaction force from the proprioceptive and support inputs. Exercises were performed following the instructions in the Russian system of preventing hypo-gravity induced disorders.*

*Isokinetic testing of the leg strength was conducted before and after missions. Significant deterioration of all strength and velocity indices was observed on R + 4; maximal loss of the peak torque was at the angular velocity of 30°/s.*

*deterioration of strength and endurance was not significant on R + 15. Hence, recovery of the strength and velocity indices after extended missions is a fairly slow process. This fact should be taken into account in planning of strength-dependent activities in future exploration missions.*

Key words: strength training, cosmonauts, strength, strength endurance, dynamics, recovery.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 5. P. 11–16.

УДК 629.786.2:614.876

## ХАРАКТЕРИСТИКИ РАДИАЦИОННЫХ УСЛОВИЙ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ НА МКС В ПЕРИОД 24-ГО ЦИКЛА СОЛНЕЧНОЙ АКТИВНОСТИ

**Бондаренко В.А., Митрикас В.Г., Цетлин В.В.**

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

E-mail: bondval@imbp.ru

*В статье представлены результаты по оперативному наблюдению радиационных условий пребывания экипажей на Международной космической станции (МКС) в период с 26-й по 55-ю основную экспедицию на МКС (15.12.2010 по 04.10.2018 г.). Приведены результаты измерений доз за указанный период и проведен анализ защищенности рабочих отсеков станции. Выявлено, что изменение фазы цикла солнечной активности, а также увеличение средней высоты орбиты станции МКС от 357 до 409,1 км не приводит к изменениям пространственного распределения поглощенных доз. Установлено, что спускаемый аппарат транспортного корабля «Союз» целесообразно использовать в качестве радиационного убежища, так как уровни радиационного воздействия, измеренные в ложементах спускаемого корабля, превышают единицу. Показано, что полученные космонавтами поглощенные дозы за время космических полетов не превышают установленные нормативные значения доз. Проанализированы данные по радиационным нагрузкам на экипажи в различных отсеках станции. Проведено экспериментальное изучение характеристик радиационной обстановки в отсеках пилотируемой МКС и ее динамики.*

Ключевые слова: радиационная безопасность, дозы космического ионизирующего излучения, солнечные протонные события.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 5. С. 17–21.

**DOI:** 10.21687/0233-528X-2019-53-5-17-21

В предыдущей работе [1], посвященной анализу пространственного распределения поглощенных доз в российском сегменте Международной космической станции (РС МКС) в период минимума между 23-м и 24-м циклами солнечной активности (СА) и на фазе роста 24-го цикла СА, был показан рост среднесуточной мощности поглощенной дозы в каютах и малых модулях по сравнению с рабочим отсеком большого диаметра. В рассмотренном периоде средняя высота орбиты станции составляла 357,0 км. За прошедшее со времени выхода этой статьи время завершилась фаза максимума СА и значительная часть фазы спада. Средняя высота орбиты возросла до 409,1 км, что привело к относительному росту вклада в поглощенную дозу от протонов радиационного пояса

Земли (РПЗ). Среднесуточная мощность поглощенной дозы в рабочем отсеке большого диаметра возросла от 172,4 до 267,9 мкГр/сут. Возникает естественный вопрос: как изменившиеся условия полета МКС повлияли на пространственное распределение поглощенных доз?

### Методика

Система дозиметрического контроля включает следующие штатные приборы: дозиметр «Пилле-МКС», радиометр Р-16 и индивидуальные дозиметры ИД-3МКС. До начала января 2015 г. в состав СРК входил набор дозиметров ДБ8. Представленные результаты дозиметрических измерений получены в период работы основных экспедиций МКС – с 26-й по 55-ю. Необходимость постоянного наблюдения динамики радиационной обстановки в отсеках орбитального космического комплекса МКС обусловлена стохастическим характером и временными вариациями воздействия космического ионизирующего излучения на членов экипажа.

Радиометр Р-16 [2] функционирует на МКС с конца декабря 2013 г. по настоящее время. Радиометр Р-16 содержит 2 ионизационных камеры и 2 независимых канала регистрации, отличающихся тем, что в одном канале ионизационная камера имеет дополнительный защитный экран из органического стекла толщиной 3 г/см<sup>2</sup>. Чувствительность регистрации равна 50 мкГр/импульс, погрешность – ( $\pm 20\%$ ). Радиометр Р-16 установлен стационарно за потолочной панелью 327, в начале рабочего отсека большого диаметра.

Дозиметрическая информация с дозиметра ДБ8 [3] поступала в СРБ по 27 декабря 2014 г. Дозиметр ДБ8 содержал 4 пары полупроводниковых детекторов, 1 из которых защищен дополнительной оболочкой из свинца толщиной 3 г/см<sup>2</sup>. Чувствительность дозиметров  $\pm 0,1$  мкГр (0,01 мрад). Площадь каждого детектора составляет 1 см<sup>2</sup>, толщина 300 мкм. Дозиметры были установлены в различных точках станции:

– ДБ8-1 – в рабочем отсеке малого диаметра за панелью 410;

- ДБ8-2 – за поперечной панелью 244 каюты левого борта;
- ДБ8-3 – за поперечной панелью 447 каюты правого борта;
- ДБ8-4 – в районе рабочего стола в отсеке большого диаметра за панелью 435.

Дозиметры «Пилле-МКС» (разработка Института атомной энергии, Венгрия) [4] используются для контроля пространственного распределения полей радиации и для индивидуального дозиметрического контроля при выполнении внекорабельной деятельности. Всего на МКС используется 12 датчиков. Согласно технической документации на дозиметры «Пилле-МКС», погрешность их измерений составляет  $\pm 20\%$ . Диапазон регистрации поглощенных доз от 3 мкГр до 10 Гр. Измерения на МКС продолжают по настоящее время.

Каждый член экипажа во время полета снабжен индивидуальной дозиметрической сборкой ИД-ЗМКС, которую космонавт обязан носить постоянно и которая регистрирует индивидуальную поглощенную дозу. В состав сборок входят термолюминесцентные детекторы, изготовленные на основе пластин алюмофосфатного стекла.

### Результаты и обсуждение

Результаты измерения поглощенной дозы штатными средствами радиационного контроля за рассматриваемый период функционирования станции МКС представлены на рис. 1.

С помощью штатной аппаратуры – дозиметров «Пилле-МКС» проведен ряд экспериментов по изучению радиационных нагрузок в отсеках пилотируемой МКС и их динамики во времени. Экспериментально показано, что измеряемая поглощенная доза в отсеках станции может различаться более чем в 2 раза, в зависимости от толщины защиты отсека.

Отношение среднесуточной мощности поглощенной дозы, измеренное дозиметрами «Пилле-МКС»,

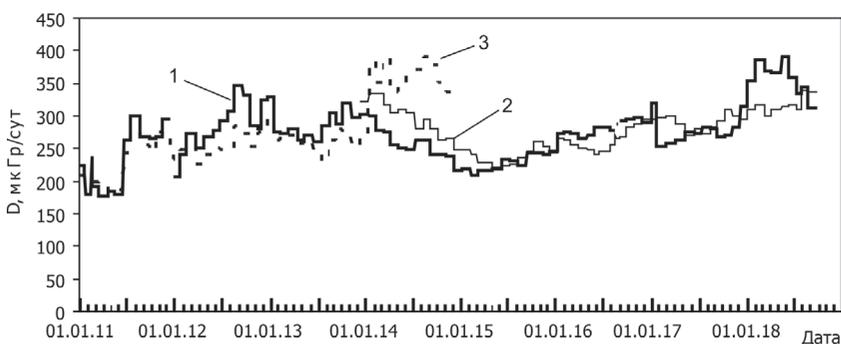


Рис. 1. Динамика поглощенной дозы на станции МКС по измерениям штатными средствами радиационного контроля: 1 – дозиметром «Пилле-МКС» на панели 327; 2 – радиометром Р-16 за панелью 327; 3 – дозиметром ДБ8-4

к среднесуточной мощности поглощенной дозы, измеренной на панели 327, получило название уровня радиационного воздействия (УРВ). Уровень радиационного воздействия характеризует пространственное распределение поглощенных доз в различных отсеках РС МКС. По мере удаления от оси служебного модуля при приближении к бортам мощность поглощенной дозы возрастает. Максимальные УРВ наблюдались по показателям дозиметров «Пилле-МКС» в каюте левого борта до 1,78 (июнь 2013 г.), в каюте правого борта до 2,02 (октябрь 2014 г.). В малых исследовательских модулях (МИМ-1, МИМ-2, СО-1) УРВ достигал значений 2,30 (МИМ-2 – январь 2011 г.). В транспортных кораблях дополнительная мощность поглощенной дозы обусловлена наличием гамма-источника, содержащегося в спускаемом аппарате.

В табл. 1 представлены УРВ в разных отсеках за рассматриваемый период, 4-й столбец таблицы соответствует предыдущему периоду [1].

В табл. 1 приводятся данные пространственного распределения поглощенных доз в различных отсеках МКС 26–55-й экспедиций и 8–25-й экспедиций по работе [1]. Из представленных результатов следует, что изменение фазы цикла солнечной активности и изменение высоты орбиты не сказывается на относительном распределении поглощенных доз.

Установлены радиационные нагрузки в спускаемом аппарате. Проведен ряд измерений дозиметрами «Пилле-МКС» в 2014 г. (для пилотируемого транспортного корабля «Союз» ТМА) и 2016 г. (для новой модификации пилотируемого транспортного корабля «Союз» МС), расположенными на ложементх кресел. Выявлено, что несколько большие значения доз наблюдаются на правом и центральном креслах спускаемого аппарата, что, очевидно, вызвано особенностями расположения гамма-источника мягкой посадки. Результаты измерений представлены в табл. 2.

Из анализа результатов таблицы следует, что изменение фазы цикла солнечной активности и изменение высоты орбиты не сказывается на относительном распределении поглощенных доз. Модификация транспортного корабля не приводит к существенным изменениям пространственного распределения поглощенных доз.

Из данных табл. 2 видно, что защищенность спускаемого аппарата в 2 с лишним раза слабее защищенности, обеспечиваемой толщиной оболочки и оборудованием российского сегмента МКС. Это означает, что использовать спускаемый аппарат в качестве радиационного убежища на МКС нецелесообразно.

Таблица 1

**Результаты оценки среднего УРВ и стандартного отклонения ( $\sigma$ ) в различных местах МКС относительно панели 327**

№	Место размещения датчика	УРВ $\pm \sigma$	УРВ $\pm \sigma$ [1]
1	Каюта правого борта, панель 443	1,51 $\pm$ 0,25	1,47 $\pm$ 0,17
	Каюта правого борта, панель 447	1,23 $\pm$ 0,28	1,26 $\pm$ 0,24
2	Каюта левого борта, панель 239	1,36 $\pm$ 0,18	1,27 $\pm$ 0,14
3	АСУ, панель 457	0,88 $\pm$ 0,05	1,10 $\pm$ 0,17
4	Рабочий отсек малого диаметра, панель 410	1,21 $\pm$ 0,35	1,40 $\pm$ 0,14
5	Рабочий отсек большого диаметра, панель 435	0,87 $\pm$ 0,08	0,88 $\pm$ 0,12
6	Переходная камера	1,00 $\pm$ 0,11	–
7	Функционально-грузовой блок, начало	0,94 $\pm$ 0,01	–
	Функционально-грузовой блок, середина	0,78 $\pm$ 0,04	–
	Функционально-грузовой блок, конец	1,27 $\pm$ 0,14	–
8	СО-1 («Пирс»),	1,29 $\pm$ 0,05	1,31 $\pm$ 0,19
9	МИМ-1 («Рассвет»)	1,37 $\pm$ 0,16	1,37 $\pm$ 0,16
10	МИМ-2 («Поиск»)	1,35 $\pm$ 0,17	1,32 $\pm$ 0,13
11	Каюта в американском сегменте (NOD)	0,81 $\pm$ 0,13	–

Таблица 2

**Результаты оценки УРВ относительно панели 327 в ложементх транспортных пилотируемых кораблей**

№	Место размещения датчика	УРВ $\pm \sigma$	УРВ $\pm \sigma$ [1]
1	Ложемент правого кресла в «Союзе ТМА»	2,45 $\pm$ 0,05	2,73 $\pm$ 0,0
2	Ложемент центрального кресла в «Союзе ТМА»	2,00 $\pm$ 0,05	1,79 $\pm$ 0,34
3	Ложемент левого кресла в «Союзе ТМА»	1,78 $\pm$ 0,18	1,82 $\pm$ 0,07
4	Ложемент правого кресла в «Союзе МС-01»	2,09 $\pm$ 0,08	–
5	Ложемент центрального кресла в «Союзе МС-01»	1,96 $\pm$ 0,29	–
6	Ложемент левого кресла в «Союзе МС-01»	1,18 $\pm$ 0,02	–

Радиационные нагрузки на станции зависят от параметров орбиты, в частности, от ее высоты. Средняя высота станции за время ее эксплуатации изменялась от 343,2 до 428,2 км. При этом среднесуточная мощность дозы по экспедициям составляла от 172,4 до 267,9 мкГр/сут по данным радиометра Р-16.

Результаты измерения потоков протонов космического излучения с энергией больше 100 МэВ, средней высоты орбиты МКС, поглощенной дозы, измеренной дозиметром ДБ8-1, потока радиоизлучения Солнца на длине волны 10,7 см за рассматриваемый период функционирования станции МКС представлены на рис. 2.

В табл. 3 представлены крупные протонные события (с потоками протонов за все события  $J$  ( $>30$  МэВ) – больше 107), зафиксированные штатными средствами радиационного контроля на борту МКС.

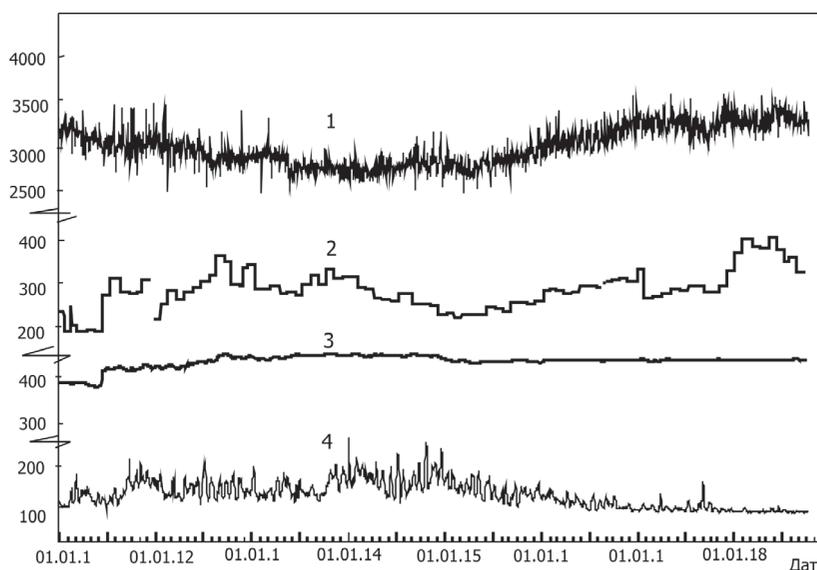


Рис. 2. Динамика основных параметров мониторинга радиационной обстановки на МКС: 1 – потока протонов с энергией больше 100 МэВ (прот·см<sup>-2</sup>·сутки<sup>-1</sup>·стерад<sup>-1</sup>) за вычетом протонов СПС; 2 – поглощенной дозы, измеренной дозиметром «Пилле-МКС» (мкГр/сут); 3 – средней высоты орбиты станции (км); 4 – потока радиоизлучения Солнца на длине волны 10,7 см (10<sup>-22</sup>·Вт·м<sup>-2</sup>·Гц<sup>-1</sup>)

Таблица 3

**Крупные протонные события, вызвавшие возмущения радиационной обстановки на борту МКС**

№	Дата начала СПС	J (>30 МэВ)	R, МВ	Доза за СПС по ДБ8-1, мкГр
1	07.07.2011	1,89·10 <sup>7</sup>	94,30	–
2	04.08.2011	1,59·10 <sup>7</sup>	58,80	80
3	23.01.2012	3,76·10 <sup>8</sup>	37,45	–
4	27.01.2012	1,48·10 <sup>7</sup>	61,73	65
5	07.03.2012	9,85·10 <sup>8</sup>	75,19	2146
6	13.03.2012	1,93·10 <sup>7</sup>	54,05	–
7	17.05.2012	1,34·10 <sup>8</sup>	96,15	70
8	19.07.2012	1,16·10 <sup>7</sup>	50,76	120
9	23.07.2012	1,09·10 <sup>7</sup>	81,97	20
10	11.04.2013	1,55·10 <sup>7</sup>	72,46	60
11	22.05.2013	1,04·10 <sup>8</sup>	49,75	45
12	30.09.2013	1,03·10 <sup>7</sup>	38,02	–
13	06.01.2014	1,05·10 <sup>7</sup>	91,74	172*
14	07.01.2014	1,72·10 <sup>8</sup>	46,73	
15	25.02.2014	2,04·10 <sup>7</sup>	60,98	67*
16	01.09.2014	9,07·10 <sup>6</sup>	102,15	–
17	10.09.2014	8,65·10 <sup>6</sup>	64,10	–
18	04.09.2017	1,80·10 <sup>7</sup>	38,91	–
19	10.09.2017	5,49·10 <sup>8</sup>	84,22	139*

Примечание. \* – доза по радиометру Р-16.

Таблица 4

**Годовая локальная поглощенная доза по показаниям дозиметра «Пилле-МКС», расположенного на панели 237, мГр и эквивалентные годовые дозы на органы и системы космонавтов, мЗв**

Год	Поглощенная доза, мГр	Эквивалентная доза, мЗв		
		КЖ	ХГ	КТС
2011	85,6	203,0	213,4	179,3
2012	104,5	223,6	229,6	193,4
2013	105,0	218,7	230,3	196,0
2014	94,2	206,3	217,9	184,7
2015	83,3	187,7	198,8	170,1
2016	102,9	209,0	221,6	180,4
2017	101,1	225,1	238,6	194,4

Из данных, приведенных в табл. 3, видно, что солнечные протонные события (СПС) происходили только на фазах максимума и спада солнечной активности. Максимальный вклад в поглощенную дозу от СПС составил 1,14 % от накопленной поглощенной дозы в полете.

Радиационные нагрузки на космонавтов при однократном полугодовом полете составляют ~ 10–15 % от предельно допустимой эквивалентной дозы за профессиональную деятельность, составляющей 1 Зв. Они возрастают до ~75 % при суммировании повторных полетов.

Основные пределы дозы для космонавтов за космический полет продолжительностью в 1 год установлены равными для кроветворной системы (КТС) 500 мЗв (п. 4.3), для хрусталика глаза (ХГ) 1,0 Зв, для кожи (КЖ) 3,0 Зв (п. 4.6) [5]. Если пересчитать поглощенные дозы, измеренные дозиметром «Пилле-МКС», расположенным на панели 237 в отсеке большого диаметра, за каждую экспедицию продолжительностью полета в 1 год, получим данные, представленные в табл. 4. Расчеты эквивалентных доз на органы и системы космонавтов проводились согласно работе [6].

На основе полученных данных по индивидуальным накопленным дозам космонавтов за период профессиональной деятельности показано, что радиационные нагрузки не превышают значения, установленные нормативными документами [5].

### Выводы

1. Изменение фазы цикла солнечной активности от максимума до минимума, а также увеличение средней высоты орбиты МКС от 357,0 до 409,1 км не приводит к изменениям относительного пространственного распределения поглощенных доз.

2. Спускаемый аппарат транспортного корабля «Союз» нецелесообразно использовать в качестве радиационного убежища, так как УРВ, измеренные в ложементх спускаемого корабля, превышают единицу и колеблются от 1,18 в левом ложементе до 2,45 в правом ложементе.

3. Полученные космонавтами годовые эквивалентные дозы за время космических полетов в период с 2011 до 2017 г. составили от 83,3 мГр в 2015 г. до 105,0 мГр в 2013 г. и не превышают установленные нормативные значения доз.

*Работа выполнена в рамках плана фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН по теме № 65.2 и при финансовой поддержке РКК «Энергия» по договору № 16-03-930 от 27.12.2016 г.*

### Список литературы

1. Бондаренко В.А., Митрикас В.Г., Цетлин В.В. Пространственное распределение локальных поглощенных доз в российском сегменте Международной космической станции // *Авиакосм. и экол. мед.* 2011. Т. 45. № 4. С. 22–27.

*Bondarenko V.A., Mitrikas V.G., Tsetlin V.V.* Spatial distribution of local absorbed doses inside the Russian segment of the International space station // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2011. V. 45. № 4. P. 22–27.

2. Юрятин Е.И., Шумшуров В.И., Фоминых В.А., Тельцов М.В. Исследования дозиметрических характеристик ионизационной камеры с электростатическим реле // *Измерительная техника.* 1979. № 3. С. 48.

*Yuryatin E.I., Shumshurov V.I., Fominykh V.A., Teltsov M.V.* Studies of dosimetric characteristics of the ionization chamber with an electrostatic relay // *Izmeritel'naya tekhnika.* 1979. № 3. P. 48.

3. Лягушин В.И., Волков А.Н., Александрин А.П. и др. Предварительные результаты измерения поглощенных доз по данным системы радиационного контроля российского сегмента Международной космической станции // *Вопросы атомной науки и техники. Сер. Физика радиационного воздействия на радиоэлектронную аппаратуру.* 2002. Вып. 4. С. 22–25.

*Lyagushin V.A., Volkov A.N., Aleksandrin A.P. et al.* Preliminary results of measurement of absorbed doses

according to the radiation control system of the Russian segment of the International space station // *Voprosy atomnoy nauki i tekhniki. Ser. Fizika radiatsionnogo vozdeystviya na radioelektronnyuyu apparaturu.* 2002. Is. 4. P. 22–25.

4. Сабо Б., Сабо П.П., Вагвелди Е., Акатов Ю.А. Универсальный прибор для измерения термолуминесцентных материалов // *Космическое приборостроение.* М., 1982. С. 201–204.

*Sabo B., Sabo P.P., Vagveldi E., Akatov Yu.A.* Universal device for measuring thermoluminescent materials // *Space instrumentation.* Moscow, 1982. P. 201–204.

5. Ограничение облучения космонавтов при околоземных космических полетах (ОКОКП-2004): Методические указания. МУ 2.6.1.44-03-2004 (п. 4.1). М., 2004.

Limiting the exposure of astronauts in near-earth space missions (LEANESM-2004): Methodical instructions. MI 2.6.1.44-03-2004. Moscow, 2004.

6. Митрикас В.Г. Оценка эффективных доз ионизирующей радиации у экипажей Международной космической станции методом расчетного моделирования // *Авиакосм. и экол. мед.* 2015. Т. 49. № 3. С. 5–11.

*Mitrikas V.G.* Estimation of effective doses of ionizing radiation in the crews of the International space station by the method of computational modeling // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2015. V. 49. № 3. P. 5–11.

Поступила 22.10.2018

## CHARACTERISTICS OF THE ISS RADIATION ENVIRONMENT IN THE PERIOD OF THE 24TH SOLAR CYCLE

**Bondarenko V.A., Mitrikas V.G., Tsetlin V.V.**

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

*The paper presents the ISS radiation monitoring results over the period from 15.12.2010 to 04.10.2018 (the ISS missions 26–55) including dose measurements and estimated shielding in the working compartments. It was concluded that change of the solar activity phase and rise of the ISS mean altitude from 357 to 409.1 km does not alter spatial distribution of the absorbed doses. Also, the Soyuz descent module is not suitable as a shelter since levels of exposure measured in the seat liners are larger than a unit. It was shown that absorbed doses received during missions do not exceed the established dose limits. Dose loads in different ISS Russian segment compartments were analyzed and radiation dynamics in the compartments was evaluated experimentally.*

Key words: radiation safety, doses from space ionizing radiation, solar proton events.

*Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).* 2019. V. 53. № 5. P. 17–21.

УДК 613.693+617.7-073.178

## ВЛИЯНИЕ 5-СУТОЧНОЙ «СУХОЙ» ИММЕРСИИ НА СОСТОЯНИЕ ГИДРОДИНАМИКИ ГЛАЗА

Манько О.М., Смолеевский А.Е., Томиловская Е.С., Козловская И.Б.

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

E-mail: olgamanko@list.ru

*Исследование гидродинамики глаза после 5-суточной «сухой» иммерсии позволило впервые оценить влияние компенсаторной гипогидратации организма на состояние внутриглазного гидродинамического баланса. Впервые проведен сравнительный анализ электронной тонографии глаза до и после действия искусственной микрогравитации.*

*В исследовании принимали участие 10 мужчин-добровольцев в возрасте от 24 до 40 лет, без офтальмологической патологии. Оценивались результаты электронной тонографии глаза и динамика гипогидратации по значениям водного баланса.*

*Электронная тонография проводилась до, на 1-е и 7-е сутки после действия «сухой» иммерсии по показателям: истинного внутриглазного давления, скорости продукции внутриглазной жидкости (F), коэффициента легкости оттока камерной влаги, коэффициента Беккера, трофического коэффициента (ТК).*

*На 1-е сутки после действия модельной микрогравитации у 8 обследуемых в 60 % случаев (12 глаз) было выявлено снижение коэффициента скорости продукции внутриглазной жидкости (F). Степень снижения F варьировала от 40 % фонового значения (5 глаз) до патологически низкого 54 % (7 глаз), обуславливающих трофические изменения. Значение ТК ухудшалось в 60 % случаев (12 глаз), из них в 50 % случаев (6 глаз) значение ТК снижалось до клинически значимого.*

*К 7-м суткам после действия «сухой» иммерсии значения показателей внутриглазной гидродинамики были сравнимы с фоновыми.*

*Предполагается, что рефлекторная гипогидратация в условиях «сухой» иммерсии (рефлекс Генри – Гауэра) обуславливает изменения внутриглазной гидродинамики, степень выраженности которых зависит от силы компенсаторного гипоталамического влияния на систему «антидиуретический гормон – ангиотензин-II».*

*Ключевые слова: антидиуретический гормон, водный баланс, гидродинамика глаза, рефлекс Генри – Гауэра, «сухая» иммерсия, электронная тонография глаза.*

*Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 5. С. 22–28.*

**DOI:** 10.21687/0233-528X-2019-53-5-22-28

*Состояние зрительной системы в условиях микрогравитации сегодня является предметом*

*пристального изучения [1, 2]. Одним из важных параметров нормального функционирования зрительной системы является состояние внутриглазной гидродинамики. Внутриглазная жидкость образуется в результате активной ее секреции беспигментным эпителием отростков цилиарного тела, ее количество в среднем составляет 9 мл в сутки. Образование и последующий отток внутриглазной жидкости поддерживают внутриглазное давление в нормальном диапазоне от 12 до 20 мм рт. ст. Соотношение секреции внутриглазной жидкости и ее оттока обуславливает гидродинамический баланс [3].*

*Гидродинамика глаза определяет качество внутриглазной жидкости (химический состав, электролитный баланс, pH), от которого зависит морфофункциональное состояние основных оптических структур глаза – хрусталика, роговицы, стекловидного тела, сетчатки [4].*

*Основную роль в местном регулировании гидродинамического баланса выполняют  $\alpha$ 1- и  $\alpha$ 2-адренорецепторы,  $\beta$ -адренорецепторы, расположенные в цилиарном теле, и эндотелиальные клетки цилиарного тела, продуцирующие фермент карбоангидразу.*

*Усиление секреции внутриглазной жидкости происходит при активации  $\beta$ -адренорецепторов и высвобождении цилиарного фермента карбоангидразы, снижение секреции наблюдается при активации  $\alpha$ 1- и  $\alpha$ 2-адренорецепторов [3, 5].*

*Механизм центральной регуляции образования внутриглазной жидкости до конца не изучен. В ходе многочисленных экспериментальных исследований на животных была установлена неоспоримая роль системы «гипоталамус – гипофиз – надпочечники» в регуляции внутриглазного давления. Раздражение отделов гипоталамуса в остром опыте вызывает значительные колебания внутриглазного давления, причем преобладает повышение офтальмотонуса, в условиях хронического опыта наблюдалось инверсированное изменение внутриглазного давления на водную нагрузку [6].*

*Исследование гидродинамики глаза у пациентов с гипопизарной патологией, по данным литературы не проводилось.*

В исследованиях гидродинамики глаза при гипотиреозе была показана косвенная зависимость глазного давления от эндокринного статуса, так как оценивались при развитой патогномичной дисфункции щитовидной железы, скорректированной лекарственными препаратами [7].

Известно, что микрогравитация в условиях космического полета и моделируемая микрогравитация вызывают изменение центральной гемодинамики человека, которое, в свою очередь, приводит к развитию компенсаторного изменения водного баланса, обусловленного проявлением депрессорных разгрузочных рефлексов, в том числе рефлексом Генри – Гауэра. В основе рефлекса Генри – Гауэра – эфферентный ответ гипоталамуса, который проявляется торможением высвобождения вазопрессина и аргинина, увеличением скорости клубочковой фильтрации, повышением диуреза, подавлением спонтанной и индуцированной ангиотензином-II жажды, ослаблением симпатической иннервации [7–9].

Изменение центральной регуляции антидиуретического гормона и симпатической иннервации, вероятно, может отражаться на состоянии местного регулирования внутриглазной гидродинамики.

В ходе космических (Ocular Health, Fluidshifts) и наземных экспериментов «Иммерсия» и «Антиортостатическая гипокинезия (АНОГ)» проводили оценку состояния внутриглазного давления, но только по значению  $P$  или  $P_0$  (истинное глазное давление).  $P_0$  характеризует интегральный показатель гидротонуса глаза, но не отражает его динамических характеристик. Достоверно значимых изменений  $P$  и  $P_0$  по результатам вышеперечисленных экспериментов выявлено не было [10, 11].

Изучение состояния гидродинамики здорового глаза в условиях модельной микрогравитации при компенсаторной активации системы «гипоталамус – гипофиз – надпочечники» позволит впервые дать оценку адаптационной устойчивости внутриглазного гидродинамического баланса как одного из важных показателей функционального здоровья зрительной сенсорной системы.

#### Методика

Исследования проводились в 2018 г. на уникальной научной установке – стендовой базе «Сухая» иммерсия» в ГНЦ РФ – ИМБП РАН. Программа экспериментальных исследований с участием человека по уровню научной обоснованности, достаточности мероприятий по организации медицинского контроля и обеспечению безопасности была признана соответствующей нормам биомедицинской этики и одобрена Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 471 от 15.03.2018 г.). Риск и дискомфорт при проведении исследования

определен как допустимый. Обследуемые – 10 практически здоровых мужчин-добровольцев в возрасте от 24 до 40 лет, прошедшие врачебно-экспертную комиссию, – провели 5 сут в моделируемых условиях микрогравитации – «сухой» иммерсии [12].

Всем участникам было проведено полное стандартное офтальмологическое обследование, включающее оценку остроты зрения (визометрию), измерение глазного давления (офтальмотонометрию по Гольдману), биомикроскопию, цифровую офтальмоскопию глазного дна. Полученные данные соответствовали клинической норме.

Внутриглазную тонографию проводили утром с 10.00 до 12.00 с помощью электронного тонографа ТНЦ-100 (Россия) по стандартной методике продленной тонометрии [13, 14] до начала эксперимента (за 1–3 сут), на 1-е и 7-е сутки после выхода из иммерсии.

Датчик (грузик массой 5,5 г) тонометра-тонографа на 4 мин устанавливался на роговицу, после ее анестезии. За это время через каждую минуту на дисплее тонографа фиксировалось 5 значений  $P_0$ , отражающих изменение тургора роговицы. Расчет параметров внутриглазной динамики проводился по таблице Фриденвальда для среднестатистического значения ригидности роговицы  $E = 0,0215$  и массы плунжера (грузика) 5,5 г.

Внутриглазной гидродинамический баланс оценивали по расчетным параметрам:  $F$  ( $\text{мм}^3/\text{мин}$ ) – коэффициент скорости продукции камерной влаги, (отражает количество водянистой влаги, которая поступает в глаз за 1 мин);  $C$  ( $\text{мм}^3/\text{мин}/\text{мм}$ ) – коэффициент легкости оттока (показывает количество жидкости, которое оттекает из глаза за 1 мин); коэффициент Беккера ( $\text{КБ} = P_0/C$ ) – отношение истинного внутриглазного давления к коэффициенту легкости; трофический коэффициент ( $\text{ТК} = P_0/F$ ) – отношение истинного внутриглазного давления к коэффициенту скорости образования внутриглазной жидкости [15].

Границами нормы для значений внутриглазной гидродинамики считали клинические нормы [5, 15, 16]:  $P_0 = 17,7\text{--}20,2$  мм рт. ст.;  $C = 0,22\text{--}0,33$   $\text{мм}^3/\text{мин}/\text{мм}$ ;  $F = 1,8\text{--}3,6$   $\text{мм}^3/\text{мин}$ ;  $\text{КБ} = 63\text{--}100$ ;  $\text{ТК} = \text{до } 10$ .

У всех обследуемых фоновые значения электронной тонографии соответствовали возрастной клинической норме.

Водный баланс оценивали по показателям суточного количества потребленной жидкости «П» (мл) (вода, чай, сок, суп) и суточного диуреза «Д» (мл, исходя из среднестатистической нормы суточного водного баланса (ВБ), по который диурез составляет 80 % от объема потребленной жидкости ( $\text{ВБ} = 0,8 \text{ П}$ ). Значение водного баланса считали по разнице от нормы. Водный баланс считали отрицательным при превышении диуреза от среднестатистической нормы более чем на 30 %.

Обобщение и анализ полученных данных проводились методами непараметрической статистики с использованием программного обеспечения Statistica 6.

### Результаты и обсуждение

Исходные расчетные значения динамики водного баланса представлены в табл. 1. Анализ водного баланса в ходе острой адаптации к искусственной микрогравитации выявил у всех обследуемых характерную динамику, обусловленную, как мы предполагаем, действием депрессорного разгрузочного рефлекса (рефлексом Генри – Гауэра).

Так, у 7 обследуемых на 1-е сутки действия «сухой» иммерсии наблюдался выраженный отрицательный водный баланс, который от нормы изменялся в среднем на 180 % и сохранялся в 80 % случаев первые 3 сут. При этом потребление жидкости у 6 обследуемых снизилось на 50 % от возрастной нормы и составило в среднем 1050 мл (см. табл. 1, рис. 1).

В последующие дни наблюдалась компенсаторная реакция адаптации, которая характеризовалась изменением водного баланса в сторону его нормализации (см. табл. 1, рис. 2).

Результаты электронной тонографии глаза представлены в табл. 2.

На 1-е сутки после действия модельной микрогравитации в 60 % случаев (12 глаз) было выявлено снижение коэффициента скорости продукции внутриглазной жидкости (F). Степень снижения варьировала в диапазоне клинической нормы и патологических значений. Так, в 3 случаях наблюдалось снижение F в диапазоне клинической нормы, на 20–30 % от фоновых значений, снижение F до низких порогов физиологической нормы ( $F = -1,9 \text{ мм}^3/\text{мин}$ ) наблюдалось в 2 случаях, где регистрировалось снижение F на 46 % от фоновых значений. Снижение скорости продукции F до патологических низких значений ( $F = 0,07\text{--}1,58 \text{ мм}^3/\text{мин}$ ), в среднем на 70 % от фонового значения, регистрировалось в 7 случаях у 4 обследуемых (см. табл. 2, рис. 3).

Изменение трофического коэффициента (ТК) наблюдалось у этих же обследуемых (12 глаз). Из них в 50 % случаев (6 глаз) значение ТК составило более 10 усл. ед., что свидетельствует о нарушении внутриглазной трофики [15] (см. табл. 2, рис. 4).

Значение коэффициента легкости оттока камерной влаги (С) снижалось до клинически значимого в 15 % случаев (3 глаза) и составило  $C = 0,04\text{--}0,008 \text{ мм}^3/\text{мин}/\text{мм}$  (рис. 5).

КБ был повышен в 60 % случаев (12 глаз), по сравнению с фоновыми значениями в среднем на 30 %. Патологическое значение КБ регистрировалось при соответствующем низком показателе С (3 глаза) (см. табл. 2).

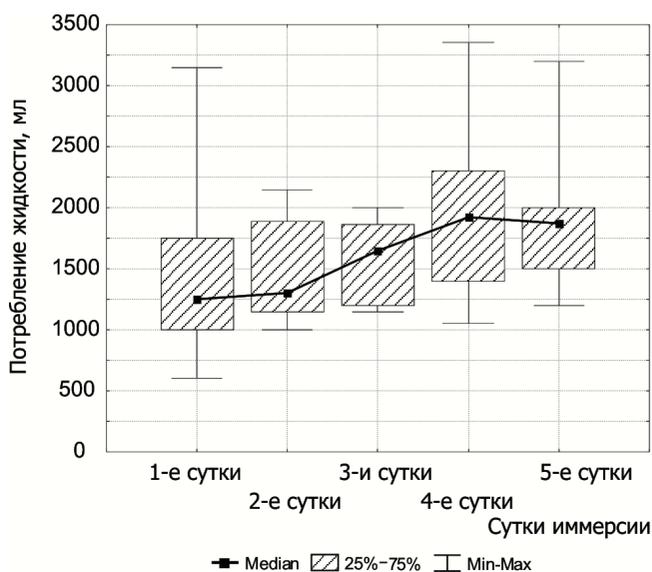


Рис. 1. Динамика потребления жидкости

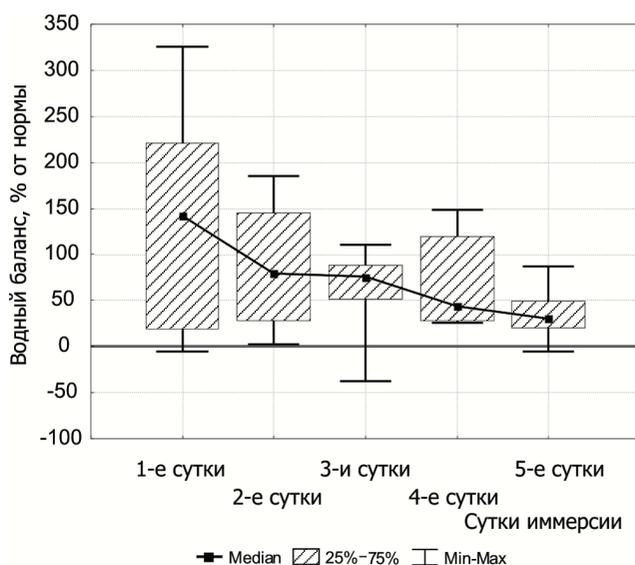


Рис. 2. Динамика отрицательного водного баланса. Нулевая линия показывает выделение равное 80 % от потребленной жидкости (расчетная норма)

Значение  $P_0$  по сравнению с фоновым статистически значимо не изменялось, что обусловлено стабильностью баланса продукции и оттока внутриглазной жидкости здорового глаза.

Увеличение  $P_0$  на 10 мм рт. ст. выше допустимой клинической нормы было зарегистрировано у 1 обследуемого на 1 глазу и составило 30 мм рт. ст. (см. табл. 2).

Таким образом, у 4 обследуемых № 7, 8, 9, 10 – регистрировались значения электронной тонографии, указывающие на клинически значимые нарушения гидродинамики и трофики глаза.

Таблица 1

Динамика водного баланса в условиях 5-суточной «сухой» иммерсии

Обследуемый	1-е сутки			2-е сутки			3-е сутки			4-е сутки			5-е сутки		
	П	Норма Д	% от нормы	П	Норма Д	% от нормы	П	Норма Д	% от нормы	П	Норма Д	% от нормы	П	Норма Д	% от нормы
1	1750	1400	221	1750	1400	91	1750	1400	77	1850	1480	148	2550	2040	148
2	600	480	325	1000	800	140	1860	1488	61	1050	840	120	1500	1200	120
3	1980	1584	19	1200	960	28	2000	1600	-38	1400	1120	50	1200	960	50
4	1030	824	184	1890	1512	47	1950	1560	52	2440	1952	28	1950	1560	28
5	3150	2520	85	1950	1560	68	1750	1400	-14	3350	2680	27	3200	2560	27
6	1150	920	2	1150	920	185	1150	920	88	2000	1600	34	1400	1120	34
7	1640	1312	147	2150	1720	11	1550	1240	75	1550	1240	138	1950	1560	138
8	1350	1080	137	1350	1080	178	1150	920	76	2050	1640	38	1550	1240	38
9	1000	800	231	1250	1000	2	1200	960	111	1290	1032	53	2000	1600	53
10	920	736	-5	1150	920	145	1200	960	106	2300	1840	26	1800	1440	26

Примечание. П – потребление жидкости, мл/сут; норма Д – расчетный диурез выделения жидкости (80 % от П); Д – суточный диурез, мл/сут; % от нормы – реальный диурез в % от расчетного значения.

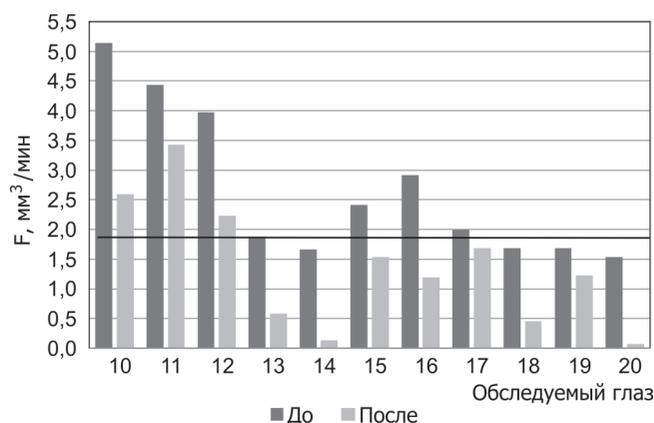


Рис. 3. Отрицательная динамика коэффициента F. Горизонтальная линия показывает нижнюю границу нормы

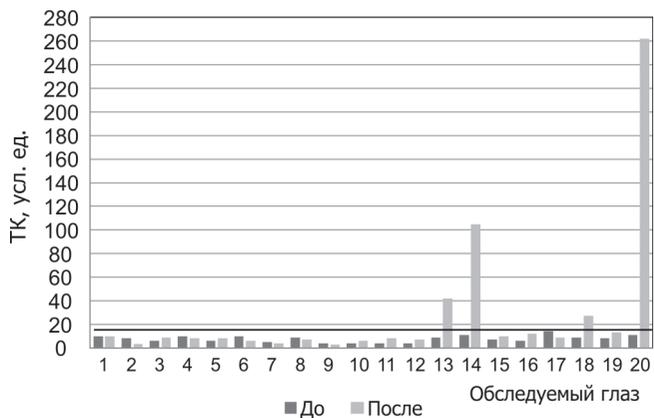


Рис. 4. Динамика трофического коэффициента. Горизонтальная линия показывает нижнюю границу нормы

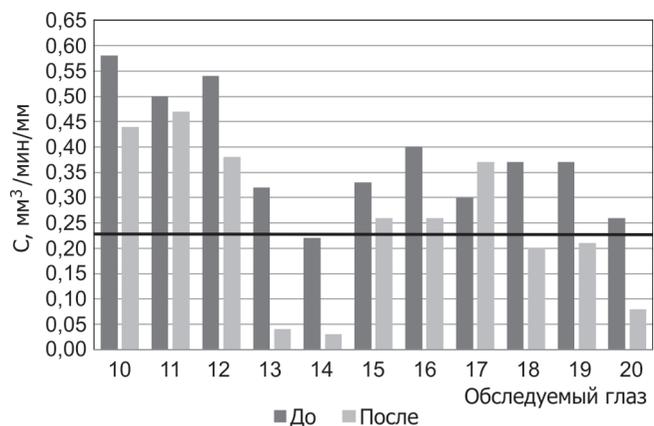


Рис. 5. Отрицательная динамика коэффициента С. Горизонтальная линия показывает нижнюю границу нормы

Таблица 2

Показатели тонографии глаза

Глаз	Показатели тонографии											
	С		F		КБ		ТК		Рo			
	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После		
1	0,29	0,30	2,65	2,00	42	44	10	10,1	12,2	13,1		
2	0,32	0,27	1,88	1,97	50	<b>64</b>	8,4	3,34	15,9	16,8		
3	0,27	0,27	2,92	<b>1,97</b>	43	<b>64</b>	6	<b>9</b>	18,0	18,0		
4	0,27	0,27	1,53	1,97	61	64	10,1	8,1	16,0	16,7		
5	0,40	0,32	2,92	<b>1,88</b>	43	<b>50</b>	6	<b>8</b>	17,4	15,6		
6	0,26	0,40	1,53	2,92	61	43	10	5,8	16,0	17,2		
7	0,47	0,54	3,43	3,95	37	32	5	4	16,6	16,6		
8	0,27	0,33	1,97	2,41	64	54	9	7	17,3	16,7		
9	0,50	0,63	4,43	6,65	38	33	4	3	19,7	20,6		
10	0,58	0,44	5,14	<b>2,59</b>	33	36	4	<b>6</b>	18,3	15,8		
11	0,50	0,47	4,43	<b>3,43</b>	38	37	4	<b>8</b>	18,6	16,5		
12	0,54	<b>0,38</b>	3,97	<b>2,23</b>	32	<b>42</b>	4	<b>7</b>	16,6	15,6		
13	0,32	<b>0,04</b>	1,88	<b>0,58</b>	50	<b>609</b>	9	<b>42</b>	16,2	<b>24,4</b>		
14	0,22	<b>0,03</b>	1,66	<b>0,13</b>	79	<b>455</b>	11	<b>105</b>	17,5	13,7		
15	0,33	<b>0,26</b>	2,41	<b>1,53</b>	52	<b>61</b>	7	<b>10</b>	17,6	15,0		
16	0,40	<b>0,26</b>	2,92	<b>1,19</b>	43	<b>56</b>	6	<b>12</b>	16,9	14,3		
17	0,30	<b>0,37</b>	2,00	1,69	44	<b>39</b>	14	9	13,7	15,8		
18	0,37	<b>0,20</b>	1,69	<b>0,45</b>	39	<b>61</b>	9	<b>27</b>	14,4	12,1		
19	0,37	<b>0,21</b>	1,69	<b>1,23</b>	39	<b>76</b>	8	<b>13</b>	14,1	15,8		
20	0,26	<b>0,08</b>	1,53	<b>0,07</b>	61	<b>236</b>	11	<b>262</b>	15,8	18,4		

К 7-м суткам после действия «сухой» иммерсии значения показателей внутриглазной гидродинамики глаза были сравнимы с фоновыми.

Регистрируемые изменения связаны, по всей видимости, с гипоталамическим угнетением секреции антидиуретического гормона, обусловленным рефлексом Генри – Гауэра.

Можно предположить, что снижение секреции вазопрессина опосредовано влияет на активность цилиарного фермента карбоангидразы [17, 18], что, в свою очередь, вызывает снижение секреции внутриглазной жидкости по аналогии со снижением секреции ликвора в условиях инактивации церебральной карбоангидразы [17, 19].

Рефлекторное центральное угнетение симпатического влияния на эфференты цилиарного тела ( $\alpha_2$ - и  $\beta$ -адренорецепторы) также приводит к снижению продукции внутриглазной жидкости.

#### Выводы

1. Впервые была проведена сравнительная оценка состояния внутриглазной гидродинамики после компенсаторной гипогидротации организма, обусловленной действием искусственной микрогравитации.

2. Выявлено в 60 % случаев (12 глаз) снижение скорости продукции внутриглазной жидкости (F) к 1-м суткам после 5-суточного действия «сухой» иммерсии. Изменение гидродинамики имело негативный характер, обусловленный ухудшением показателя трофики глаза (ТК). Отрицательная динамика ТК наблюдалась при всех значениях сниженного F, и в 30 % случаев (6 глаз) ТК соответствовал патологическому значению.

3. Полученные результаты показывают необходимость дальнейшего исследования состояния внутриглазного гидробаланса в условиях микрогравитации с определением адаптационной устойчивости гидродинамики глаза. Представляется целесообразным исследование уровня активности фермента карбоангидразы как возможного маркера адаптации к микрогравитации.

*Работа выполнена в рамках:*

– базовых тем РАН № 63.1 «Изучение механизмов функционирования сенсорных и двигательных систем в условиях измененной гравитационной среды и формирование концепции профилактики гипогравитационных нарушений в сверхдлительных космических полетах» и № 63.2 «Исследование интегративных процессов в центральной нервной системе, закономерностей поведения и деятельности человека в условиях автономности и под влиянием других экстремальных факторов среды»;

– гранта РФФИ № 16-29-083120-ОФИ-м «Определение оптимальных характеристик проприоцептивных сигналов различной модальности (опорных, мышечных, вестибулярных) с целью разработки алгоритмов их использования в системе мультимодального мягкого экзоскелета в интересах нейрореабилитации и практики космических полетов».

#### Список литературы

1. Marshall-Bowman K., Barratt M.R., Gibson C.R. Ophthalmic changes and increased intracranial pressure associated with long duration spaceflight: an emerging understanding // *Acta Astronaut.* 2013. V. 87. № 4. P. 77–87.
2. Makarov I.A., Voronkov Yu.I., Aslanjan M.G. Ophthalmic changes associated with long-term exposure to microgravity // *Human Physiol.* 2017. V. 43. № 1. P. 105–113.
3. Нестеров А.П. Глаукома. М., 2008. Nesterov A.P. Glaucoma. Moscow, 2008.
4. Серенко А.Ф., Ермакова В.В. Социальная гигиена и организация здравоохранения. М., 1984. 2-е изд. Serenko A.F., Ermakova V.V. Social hygiene and health organization. Moscow, 1984. 2nd ed.
5. Нестеров А.П., Бунин А.Я., Кацнельсон Л.А. Внутриглазное давление. Физиология и патология. М., 1974. Nesterov A.P., Bunin A.Ya., Katsnel'son L.A. Intraocular pressure. Physiology and pathology. – Moscow, 1974.
6. Пантлеева В.М. Нейроэндокринные факторы регуляции внутриглазного давления. Экспериментально-клинические исследования: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1973. Pantileeva V.M. Neuroendocrine regulation factors of intraocular pressure. Experimental clinical studies: Avtoreferat dissertatsii ... doktora meditsinskikh nauk. Moscow, 1973.
7. Маркевич Т.В. Состояние функциональных параметров – офтальмотонуса и показателей гидродинамики глаза при гипофункции щитовидной железы в условиях эутиреоидной компенсации: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Тюмень, 2005. Markevich T.V. The state of functional parameters – ophthalmotonus and hydrodynamic indicators of the eye during hypofunction of the thyroid gland under conditions of euthyroid compensation: Avtoreferat dissertatsii ... kandidata meditsinskikh nauk. Tyumen, 2005.
8. Амирова Л.Е. Нейромышечные и сердечно-сосудистые нарушения при ортостатической и позной неустойчивости обуславливаемые микрогравитацией: Дис. ... канд. биол. наук. М., 2018. Amirova L.E. Neuromuscular and cardiovascular disorders in orthostatic and postural instability caused by microgravity: Dissertatsiya ... kandidata biologicheskikh nauk. Moscow, 2018.
9. Modak S. Studies of left ventricular functions by systolic time intervals on exposure to dry immersion // *Indian J. Aerospace Med.* 2004. V. 48. P. 48.

10. Nelson E.S., Mulugeta L., Myers J.S. Microgravity-induced fluid shift and ophthalmic changes // *Life*. 2014. V. 4. № 4. P. 621.

11. Крупина Т.Н., Тизул А.Я., Кузьмин М.П. Клинико-физиологические изменения в организме человека при длительной антиортостатической гипокинезии // *Авиакосм. и экол. мед.* 1982. Т. 16. № 2. С. 29–34.

Krupina T.N., Tizul A.Ya., Kuz'min M.P. Clinical and physiological changes in the human body with prolonged antiorthostatic hypokinesia // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 1982. V. 16. № 2. P. 29–34.

12. Томиловская Е.С. Эксперимент с 5-суточной «сухой» иммерсией: задачи, объем, структура исследований, особенности методических подходов // *Там же*. 2011. Т. 45. № 6. С. 3–7.

Tomilovskaya E.S. An experiment with a 5-day «dry» immersion: objectives, scope, research structure, features of methodological approaches // *Ibid.* 2011. V. 45. № 6. P. 3–7.

13. Методическое руководство по клинической тонометрии и тонографии БРИД. 941222.001 ПС.

Clinical tonometry and tonography manual. 941222.001 PS.

14. Нестеров А.П., Бунин А.Я., Кацнельсон Л.А. Внутриглазное давление (физиология и патология). М., 1974.

Nesterov A.P., Bunin A.Ya., Katsnel'son L.A. Intraocular pressure (physiology and pathology). Moscow, 1974.

15. Скрипка В.К., Попов А.Д. Критерии оценки стабилизации процесса по трофическому коэффициенту при первичной неоперированной глаукоме: Методические рекомендации. Ворошиловград, 1979.

Skripka V.K., Popov A.D. Criteria for assessing the stabilization of the process by the trophic coefficient in primary non-operated glaucoma: Guidelines. Voroshilovgrad, 1979.

16. Игнатьева С.Г., Шилкин Г.А., Ярцева Н.С. и др. Динамика внутриглазной жидкости и гомеостаз глаза // *Клиническая офтальмология*. 2010. № 3. С. 74–76.

Ignat'eva S.G., Shilkin G.A., Yartseva N.S. et al. Dynamics of intraocular fluid and eye homeostasis // *Klinicheskaya oftal'mologiya*. 2010. № 3. P. 74–76.

17. Крепе Е.М. Дыхательный фермент – угольная ангидраза и его значение в физиологии и патологии // *Успехи современной биологии*. 1944. Т. 17. № 2. С. 28–35.

Krepe E.M. Respiratory enzyme – coal anhydrase and its importance in physiology and pathology // *Uspekhi sovremennoy biologii*. 1944. V. 17. № 2. P. 28–35.

18. Scrutton M. Assay of enzymes of carbon dioxide metabolism // *Meth. Microbiol.* / J.R. Norris, D.W. Ribbons, eds. 1971. V. 6A. P. 479.

19. Tomaselli C.M. Effect of a central redistribution of fluid volume on response to lowerbody negative pressure // *Aviat. Space and Environmental Med.* 1990. V. 61. № 1. P. 38–42.

Поступила 22.04.2019

## EFFECT OF 5-DAY DRY IMMERSION ON EYE HYDRODYNAMICS

**Manko O.M., Smoleevsky A.E., Tomilovskaya E.S., Kozlovskaya I.B.**

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

*Study of eye hydrodynamics following 5-d dry immersion (DI) was aimed to evaluate the influence of compensatory body hydration on the intraocular hydrodynamic balance. Data of electronic eye tonography before and after modeled microgravity were compared.*

*The study involved 10 male volunteers 24 to 40 years of age without ophthalmologic pathologies. Electronic eye tonography results and hypohydration dynamics were assessed by fluid balance.*

*Electronic tonography was performed before DI and on post-DI days 1 and 7 to measure the true intraocular pressure, and to calculate the intraocular fluid production rate (F), coefficient of aqueous humor outflow ease, Bekker coefficient and trophic coefficient (TC).*

*On post-DI day 1, F reduction was observed in 8 volunteers (60 % cases, 12 eyes). Level of the F reduction varied from 40 % of the baseline value (5 eyes) to abnormally low 54 % (7 eyes) underlying trophic changes. TC went down in 60 % cases (12 eyes); in 50 % cases (6 eyes) TC reduction was clinically significant.*

*On post-DI day 7, intraocular hydrodynamics was comparable with baseline.*

*It is hypothesized that the reflectory hypohydration during DI (Gauer – Henry reflex) is responsible for changes in intraocular hydrodynamics; depth of these changes is determined by the degree of compensatory hypothalamic influence upon the antidiuretic hormone-angiotensin-II system.*

**Key words:** antidiuretic hormone, fluid balance, intraocular hydrodynamics, Gauer – Henry reflex, dry immersion, electronic eye tonography.

*Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).* 2019. V. 53. № 5. P. 22–28.

УДК 576.32/.36

## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ В УСЛОВИЯХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ КИСЛОРОДА

Ратушный А.Ю., Буравкова Л.Б.

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

E-mail: ratushkin@mail.ru

*Использование мезенхимальных стромальных клеток (МСК) в регенеративной медицине требует изучения их реакций на стрессовые факторы в различных условиях микроокружения. Трансплантация клеток сопряжена с окислительным стрессом, который может значительно повлиять на регенеративный потенциал. В данной работе проведено сравнение устойчивости МСК, культивируемых при атмосферном (20 %) и физиологическом (5 %) содержании  $O_2$ , к окислительному стрессу. Показано, что через 1 ч после добавления  $H_2O_2$  уровень клеточной гибели значительно повышается в условиях с физиологическим содержанием  $O_2$ . В то же время, несмотря на повышенный уровень АФК, через 96 ч после часового окислительного стресса не обнаруживается значительного влияния уровня оксигенации на жизнеспособность и морфологию. Таким образом, МСК, постоянно культивируемые в условиях с физиологическим содержанием  $O_2$ , менее устойчивы к окислительному стрессу непосредственно при воздействии. Спустя 96 ч влияние уровня оксигенации в целом нивелируется.*

Ключевые слова: мезенхимальные стромальные клетки, окислительный стресс, гипоксия, активные формы кислорода.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 5. С. 29–33.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-5-29-33

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) представляют собой гетерогенную популяцию мезенхимальных стромальных предшественников, обладающих высокой пролиферативной и паракринной активностью, а также способностью к мультилинейной дифференцировке [1, 2]. На сегодняшний день МСК представляют интерес как с точки зрения фундаментальной науки, так и прикладного применения в регенеративной медицине. Однако свойства клеточной популяции могут значительно различаться в зависимости от донора, тканевой принадлежности и даже на уровне отдельных клеточных клонов, что затрудняет сопоставление результатов и обуславливает необходимость изучения каждой тканеспецифичной популяции в отдельности [3]. В нашей работе мы использовали МСК, выделенные

из жировой ткани, которая является одним из наиболее перспективных источников данного типа клеток вследствие относительной доступности.

Применение МСК в регенеративной медицине сопряжено с рядом трудностей, одной из которых является потеря трансплантированных клеток, как предполагается, из-за воспалительных реакций и окислительного стресса в ишемизированных областях повреждения. В связи с этим существует необходимость поиска методов, позволяющих контролировать уровень активных форм кислорода (АФК) в клетках во время культивирования *ex vivo* и в поврежденном тканевом микроокружении [4, 5]. На устойчивость клеток к окислительному стрессу и генерацию эндогенных АФК может влиять большое количество факторов, в том числе содержание кислорода в среде при культивировании *in vitro*, способного в значительной мере модулировать свойства МСК [6–11]. Было показано, что постоянное культивирование МСК, выделенных из жировой ткани, в условиях физиологического уровня кислорода приводит к достоверному снижению продукции внутриклеточных АФК на 20 % [11].

Цель данной работы заключалась в определении устойчивости МСК, культивируемых при физиологическом уровне кислорода, к окислительному стрессу.

### Методика

Для экспериментов клетки выделяли из жировой ткани человека по методу, описанному в работе [12], и культивировали в среде  $\alpha$ -MEM, содержащей 10 % фетальной бычьей сыворотки, 50 ед/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина. Анализ иммунофенотипа по основным поверхностным маркерам (CD73+, CD90+, CD105+, CD45-) и оценка способности к дифференцировке в канонических направлениях подтвердили соответствие полученных клеточных популяций минимальным требованиям, предъявляемым к МСК [13]. В работе использовали МСК 2–6 пассажей, постоянно культивируемые при атмосферном (стандартные условия  $CO_2$ -инкубатора: 5 %  $CO_2$ , 95 % воздуха, 37 °C,

100%-ная влажность) или физиологическом (5 % CO<sub>2</sub>, 5 % O<sub>2</sub>, 90 % N<sub>2</sub>, 37 °C, 100% влажность) уровне кислорода.

Окислительный стресс вызывали добавлением перекиси водорода в ростовую среду без сыворотки, в культуральных чашках диаметром 35 мм на стадии 80–90 % конfluenceности в соответствующих условиях оксигенации. Для экспериментов использовали 30%-ный раствор H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Sigma), который разводили в фосфатном буфере до нужной концентрации (20, 200, 1000 μM) перед использованием. Для исследований *in vitro* предложено указывать не конечную концентрацию перекиси водорода, а количество агента в пересчете на клетку [14]. В наших экспериментах этот параметр составлял 0,2; 2 и 10 пкмоль/кл, соответственно. Клетки анализировали непосредственно через 10, 30, 60 мин окислительного стресса, а также через 96 ч после 1 ч воздействия. Для анализа отсроченных эффектов МСК после моделирования окислительного стресса промывали фосфатным буфером и культивировали в полной ростовой среде с сывороткой в соответствующих условиях оксигенации.

Жизнеспособность МСК определяли методом проточной цитофлуориметрии на приборе Accuri C6 (BD, США) с использованием набора Annexin V-FITC/PI (Immunotech, Франция), согласно инструкции производителя.

Детекцию АФК в клетках проводили с помощью специфического флуоресцентного красителя 2,7-дихлорфлуоресцеин диацетата (H2DCFDA) (Sigma, США). Для окрашивания H2DCFDA, растворенный в диметилсульфоксиде (ДМСО), вносили в среду культивирования МСК в конечной концентрации 20 μM. Инкубацию проводили в течение 30 мин в соответствующих кислородных условиях. Флуоресценцию оценивали на проточном цитофлуориметре Accuri C6 (BD, США).

Для оценки относительного размера и гранулярности МСК использовали метод проточной цитофлуориметрии. Датчики регистрировали поглощение и рассеивание света клеткой (прямое (Forward Scatter – FSC-A) и боковое (Side Scatter – SSC-A). FSC-A позволяет судить о размерах клетки, а SSC-A – о гранулярности цитоплазмы.

Достоверность различий между группами оценивали на основе непараметрического критерия Манна – Уитни. Размер выборки в каждой группе сравнения ≥3. Различия считали достоверными при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

В последние десятилетия активно изучается воздействие стрессовых факторов на отдельные клеточные популяции, включая различные окислители, с целью разработки и модификации протоколов для регенеративной медицины [15]. Специфическая реакция клеток на окислительный стресс может

играть важную роль в регуляции тканевого гомеостаза и регенеративных процессах. Одним из наиболее распространенных способов моделирования окислительного стресса *in vitro* является использование перекиси водорода, при этом степень стресса зависит от используемой концентрации и продолжительности воздействия [14]. Перекись водорода имеет относительно длительный период полураспада и растворяется в липидах, что позволяет ей легко проникать через эндоплазматическую мембрану и быстро устанавливать равновесие концентраций внутри и вне клетки [16, 17].

В нашей работе мы использовали короткие экспозиции (до 1 ч) на фоне депривации сыворотки с целью оценить эффекты окислительного стресса на ранних этапах воздействия. Известно, что длительность воздействия может модулировать характер реакции клеток [18]. В первую очередь, была изучена жизнеспособность МСК в зависимости от концентраций перекиси водорода в среде культивирования. Также было определено влияние уровня оксигенации на данный показатель. Согласно полученным данным, тенденция к снижению жизнеспособности проявляется уже при концентрации перекиси водорода в среде – 20 μM, повышение концентрации до 200 μM приводило к значимому увеличению доли нежизнеспособных клеток до 6–10 %, а при 1000 μM до 10–20 % (рис. 1). К нежизнеспособным клеткам относили совокупность МСК, находящихся на стадии раннего апоптоза (Ann+/PI-) и на поздних этапах клеточной гибели (Ann+/PI+). Чувствительность МСК, постоянно культивируемых при физиологическом уровне оксигенации (5 %), к окислительному стрессу была повышена (см. рис. 1).

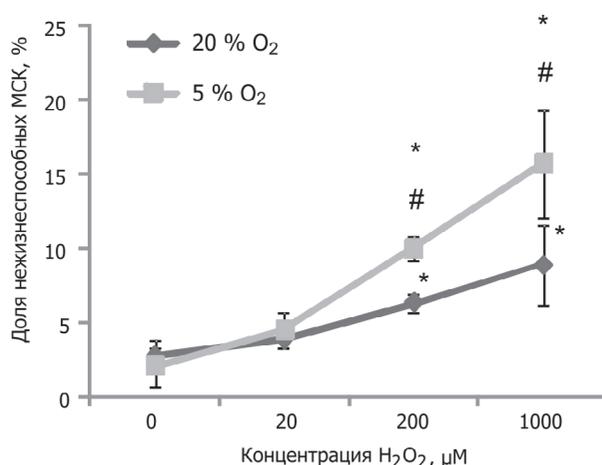


Рис. 1. Доля нежизнеспособных МСК при моделировании окислительного стресса в условиях с различным содержанием O<sub>2</sub> непосредственно после 1 ч экспозиции (M ± σ, n = 3). Здесь и на рис. 2, 3: \* –  $p \leq 0,05$  (отличие от клеток, необработанных пероксидом водорода); # –  $p \leq 0,05$  (отличие от клеток, культивируемых при 20 % O<sub>2</sub>)

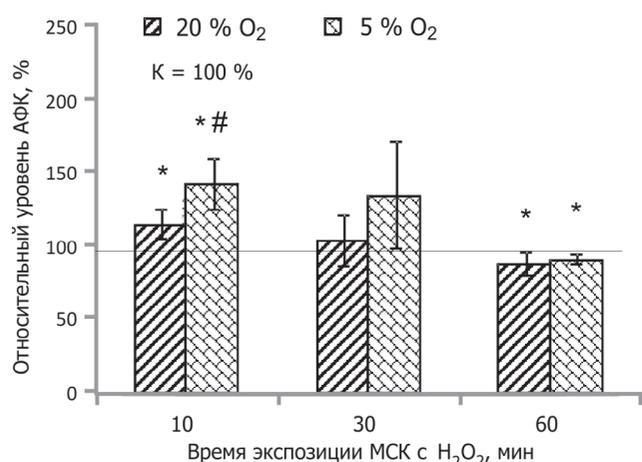


Рис. 2. Детектируемый уровень АФК в МСК непосредственно после экспозиции перекисью водорода при различном содержании O<sub>2</sub> (M ± σ, n = 3). Данные представлены относительно необработанных клеток (K = 100 %) при соответствующем содержании O<sub>2</sub>

Так, при концентрациях 200 и 1000 μM количество нежизнеспособных клеток значительно повышалось в 1,5 раза по сравнению с клетками, культивируемыми при атмосферном уровне кислорода (20 %).

Повреждающее действие окислительного стресса обусловлено нарушением равновесия между АФК и антиоксидантными системами клетки. Ранее в нашей лаборатории было показано, что культивирование МСК при 5 % кислорода приводит к понижению активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы [17]. Вероятно, данный эффект является следствием перманентного снижения продукции АФК [8, 9, 11].

В условиях проведенного эксперимента было показано, что уже через 10 мин воздействия H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (200 μM) уровень внутриклеточных АФК значительно увеличивается относительно контроля. Наблюдаемый эффект был достоверно выше при физиологических значениях кислорода (рис. 2). Анализ МСК после более длительных экспозиций выявил постепенное снижение уровня АФК. Спустя 1 ч после воздействия он оказывался ниже, чем в необработанных клетках. Сходные данные были получены

и другими авторами при изучении реакции на окислительный стресс МСК, выделенных из эндометрия [19]. Вероятно, данный эффект является следствием активации антиоксидантных клеточных систем.

Известно, что сублетальные дозы перекиси водорода могут приводить к аресту клеточного цикла и активации стресс-индуцированного клеточного старения. Старение клеток сопровождается снижением жизнеспособности, повышением уровня АФК, m-TOR-опосредованной гипертрофией и вакуолизацией цитоплазмы [19, 20]. Исходя из вышеуказанного, в дальнейших экспериментах было изучено отсроченное влияние перекиси водорода на жизнеспособность, продукцию эндогенных АФК и морфологию клеток в условиях физиологического и атмосферного содержания O<sub>2</sub>. Для этого после 1 ч воздействия H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в концентрации 200 μM клетки промывали, а затем помещали в свежую ростовую среду. Анализ отсроченных эффектов проводили через 96 ч инкубации в соответствующих условиях оксигенации. Полученные результаты подтвердили наличие признаков, характерных для клеточного старения. Обработанные МСК были увеличены в размере, обладали более гранулярной цитоплазмой и сниженной жизнеспособностью (рис. 3, А, В, Г). Также анализ выявил повышенный

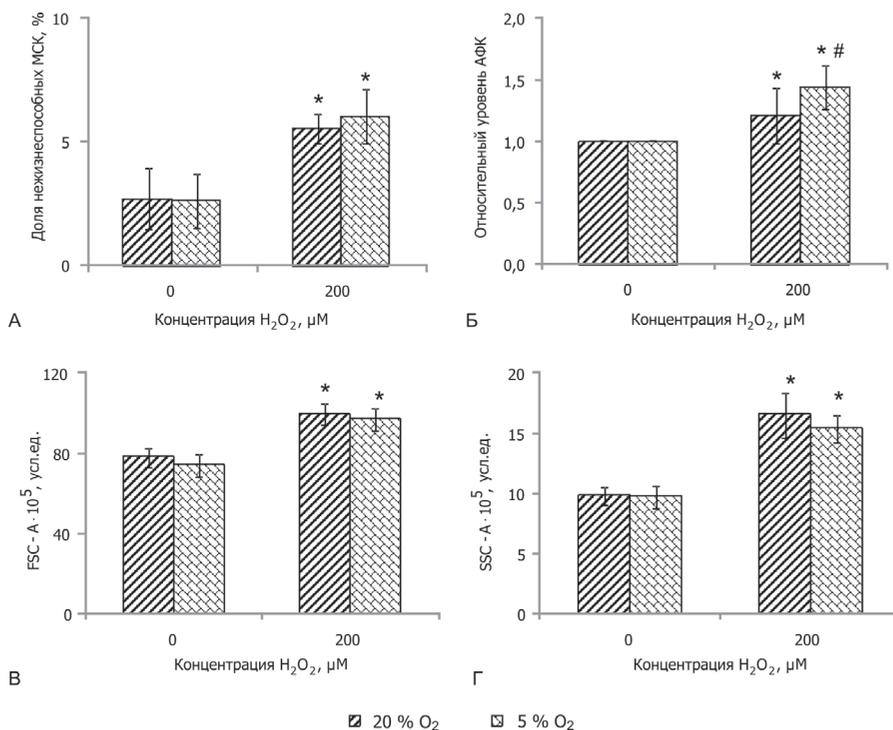


Рис. 3. Характеристика МСК, культивируемых при различном уровне O<sub>2</sub>, через 96 ч после окислительного стресса (M ± σ, n ≥ 4).

А – доля нежизнеспособных МСК; Б – Относительный уровень АФК (данные представлены относительно необработанных клеток при соответствующем содержании O<sub>2</sub>); В – средний размер клеток, определенный по FSC-A; Г – средняя гранулярность клеток, определенная по SSC-A

уровень внутриклеточных АФК (см. рис. 3, Б). При этом в клетках, постоянно культивируемых при физиологическом содержании  $O_2$  (5 %), уровень детектируемых АФК был значимо выше по сравнению с 20 %  $O_2$ . Тем не менее культивирование МСК в различных условиях оксигенации не повлияло на выраженность изменений жизнеспособности и морфологии (см. рис. 3, А, В, Г).

Таким образом, с одной стороны, культивирование МСК, выделенных из жировой ткани человека при физиологическом содержании  $O_2$  (5 %) приводит к снижению уровня АФК и усилению пролиферативных свойств [8–11]. С другой стороны, клетки в данных условиях более чувствительны к окислительному стрессу, о чем свидетельствует быстрое повышение АФК. Одной из причин данного эффекта может быть снижение активности антиоксидантной защиты [17]. Несмотря на то, что на более поздних сроках экспозиции (30 и 60 мин) подобных различий уже не обнаружено, доля нежизнеспособных МСК была достоверно выше при 5 %  $O_2$ . В то же время, несмотря на повышенный уровень АФК, через 96 ч после часового окислительного стресса не выявлено значительного влияния уровня оксигенации на жизнеспособность и морфологические показатели. Вероятно, спустя 96 ч происходит восстановление баланса между уровнем АФК и антиоксидантной системой МСК, культивируемых при 5 %  $O_2$ , что позволяет нивелировать различия.

#### Выводы

1. МСК, культивируемые при физиологическом содержании  $O_2$  (5 %), более чувствительны к окислительному стрессу, чем МСК, культивируемые при 20 %  $O_2$ , что выражается в более значительном снижении жизнеспособности через 1 ч воздействия перекисью водорода.

2. Спустя 96 ч после воздействия перекисью водорода значительного влияния уровня оксигенации на жизнеспособность и морфологию МСК не обнаружено.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-015-00150 и стипендии Президента СП-960.2019.4.

#### Список литературы

1. Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells // *Sci.* 1999. V. 284. № 5411. P. 143–147. DOI: 10.1126/science.284.5411.143.

2. Horwitz E.M., Le Blanc K., Dominici M. et al. Clarification of the nomenclature for MSC: The international society for cellular therapy position

statement // *Cytother.* 2005. V. 7. № 5. P. 393–395. DOI: 10.1080/14653240500319234.

3. McLeod C.M., Mauck R.L. On the origin and impact of mesenchymal stem cell heterogeneity: new insights and emerging tools for single cell analysis // *Eur. Cell Mater.* 2017. V. 34. P. 217–231. DOI: 10.22203/eCM.v034a14.

4. 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. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.10.106.

5. Denu R.A., Hematti P. Effects of oxidative stress on mesenchymal stem cell biology // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2016. V. 2016. P. 2989076. DOI: 10.1155/2016/2989076.

6. 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. № 1–2. P. 65–73. DOI: 10.1016/j.lfs.2010.10.023.

7. Mohyeldin A., Garzón-Muvdi T., Quiñones-Hinojosa A. Oxygen in stem cell biology: a critical component of the stem cell niche // *Cell Stem Cell.* 2010. V. 7. № 2. P. 150–161. DOI: 10.1016/j.stem.2010.07.007.

8. Choi J.R., Pingguan-Murphy B., Wan Abas W.A. et al. In situ normoxia enhances survival and proliferation rate of human adipose tissue-derived stromal cells without increasing the risk of tumourigenesis // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 1. e0115034. DOI: 10.1371/journal.pone.0115034.

9. Sart S., Song L., Li Y. Controlling redox status for stem cell survival, expansion, and differentiation // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2015. V. 2015. P. 105135. DOI: 10.1155/2015/105135.

10. Buravkova L.B., Andreeva E.R., Gogvadze V., Zhivotovsky B. Mesenchymal stem cells and hypoxia: where are we? // *Mitochondrion.* 2014. 19 Pt A. P. 105–112. DOI: 10.1016/j.mito.2014.07.005.

11. Ratushnyy A., Lobanova M., Buravkova L.B. Expansion of adipose tissue-derived stromal cells at «physiologic» hypoxia attenuates replicative senescence // *Cell Biochem. Funct.* 2017. V. 35. № 4. P. 232–243. DOI: 10.1002/cbf.3267.

12. 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. DOI: 10.1089/107632701300062859.

13. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // *Cytother.* 2006. V. 8. № 4. P. 315–317. DOI: 10.1080/14653240600855905.

14. Gülden M., Jess A., Kammann J. et al. Cytotoxic potency of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in cell cultures: impact of cell concentration and exposure time // *Free Radic. Biol. Med.* 2010. V. 49. № 8. P. 1298–1305. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.07.015.

15. Otto W.R., Wright N.A. Mesenchymal stem cells: from experiment to clinic // *Fibrogenesis Tissue Repair.* 2011. V. 4. P. 20. DOI: 10.1186/1755-1536-4-20.

16. 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. DOI: 10.1089/ars.2007.9.49.

17. Погодина М.В., Буравкова Л.Б. Устойчивость к окислительному стрессу мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, культивируемых при разном содержании кислорода // *Авиакосм. и экол. мед.* 2014. Т. 48. № 6. С. 34–38.

*Pogodina M.V., Buravkova L.B. Oxidative stress resistance of multipotent mesenchymal stromal cells cultivated under different oxygen tension // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2014. V. 48. № 6. P. 34–38.

18. Шатрова А.Н., Люблинская О.Г., Бородкина А.В., Бурова Е.Б. Реакция на окислительный стресс мезенхимных стволовых клеток эндометрия и фибробластов человека // *Цитология.* 2015. Т. 57. № 10. С. 699–709.

*Shatrova A.N., Lyublinskaya O.G., Borodkina A.V., Burova E.B. Oxidative stress-promoted responses in human endometrial stem cells and lung embryonic fibroblasts // Tsitologiya.* 2015. V. 57. № 10. P. 699–709.

19. Borodkina A., Shatrova A., Abushik P. et al. Interaction between ROS dependent DNA damage, mitochondria and p38 MAPK underlies senescence of human adult stem cells // *Aging (Albany NY).* 2014. V. 6. № 6. P. 481–495. DOI: 10.18632/aging.100673.

20. McHugh D., Gil J. Senescence and aging: Causes, consequences, and therapeutic avenues // *J. Cell Biol.* 2018. V. 217. № 1. P. 65–77. DOI: 10.1083/jcb.201708092.

Поступила 10.07.2019

## **SENSITIVITY OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS TO OXIDATIVE STRESS UNDER PHYSIOLOGICAL OXYGEN CONCENTRATIONS**

**Ratushnyy A.Yu., Buravkova L.B.**

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

*Mesenchymal stromal cell (MSC) application in regenerative medicine will be possible with the understanding of their reactions to the stress factors in different microenvironments. Cell transplantation is associated with oxidative stress that can impact the regenerative potential drastically. The investigation had the purpose to compare resistance to oxidative stress of MSCs cultivated under atmospheric (20 %) and physiological (5 %) O<sub>2</sub> concentrations. It was shown that death rate of cells cultivated under the physiological O<sub>2</sub> concentration rose significantly in one hour after H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> exposure. Despite the increase in ROS level, vitality and morphology were not changed significantly after 96 hours following 1-hr oxidative stress. Therefore, MSCs cultivated permanently under physiological oxygen concentration are less resistant to oxidative stress during direct H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> exposure. Ninety six hours later the oxygenation effects were largely leveled.*

Key words: mesenchymal stromal cells, oxidative stress, hypoxia, reactive oxygen species.

*Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).* 2019. V. 53. № 5. P. 29–33.

УДК 612.1+001.891.5

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕТАБОЛИЗМА ЭРИТРОЦИТОВ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕРЕНОСА ГЕМОГЛОБИНОМ КИСЛОРОДА У ИСПЫТАТЕЛЕЙ-ДОБРОВОЛЬЦЕВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПЕРЕГРУЗОК $+G_z$ НА ЦЕНТРИФУГЕ КОРОТКОГО РАДИУСА

Иванова С.М.<sup>1</sup>, Лабецкая О.И.<sup>1</sup>, Анисимов Н.А.<sup>1</sup>, Колотева М.И.<sup>1</sup>, Максимов Г.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

E-mail: andre\_markine@mail.ru

*С помощью современных биохимических и биофизических методов было обнаружено, что воздействие перегрузок за счет увеличения силы действия гравитации от 2,1 до 2,9 g приводит к снижению содержания АТФ в эритроцитах из-за уменьшения эффективности энергообразующего процесса гликолиза и, вероятно, активации транспортных АТФаз. При увеличении перегрузок до 2,9 g была выявлена активация антиокислительных процессов в клетке: изменение содержания восстановленного глутатиона и активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы эритроцитов. Установлено, что при воздействии перегрузок увеличивается способность гемоглобина связывать кислород, что повышает риск развития гипоксического состояния.*

Ключевые слова: АТФ, глутатион, лактатдегидрогеназа, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа, гемоглобин, центрифуга короткого радиуса, перегрузки.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 5. С. 34–38.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-5-34-38

Известно, что длительное воздействие невесомости у космонавтов, пребывавших в условиях орбитальных комплексов «Мир» и Международной космической станции (МКС), вызывает эффекты минимализации функций основных физиологических систем организма [1], в том числе и системы красной крови. Так, в условиях длительного космического полета (КП) и после его завершения наблюдаются не только снижение количества эритроцитов, но и сдвиги в показателях их метаболизма в структурно-функциональном состоянии плазматической мембраны [2, 3]. В ходе длительных КП обнаружено увеличение содержания холестерина и снижение содержания фосфолипидов в мембране эритроцитов, свидетельствующее об изменении фазового состояния (увеличение вязкости) плазматической мембраны [4]. Важными показателями функционального состояния эритроцита являются содержание внутриклеточной АТФ, от которого зависит энергетический обмен, активность транспортных

Na<sup>+</sup>-, K<sup>+</sup>- и Ca<sup>2+</sup>-АТФаз, а также уровень восстановленного глутатиона, одного из важнейших компонентов антиоксидантной системы клетки, регулирующей процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) [5].

Установлено, что изменения показателей метаболизма в эритроцитах, приводящие к сдвигам на мембранном уровне, могут влиять на эффективность транспорта кислорода и быть предпосылкой к развитию тканевой гипоксии [6]. Так, изменение вязкости плазматической мембраны эритроцитов обуславливает снижение ее проницаемости для кислорода и как следствие снижение насыщения гемоглобина кислородом [7]. Уменьшение содержания оксигемоглобина сопровождается функциональным изменением конформации гемоглобина – увеличением сродства гемоглобина к кислороду. Последнее, с одной стороны, увеличивает насыщение гемоглобина кислородом, а с другой – может вызывать снижение выделения кислорода из эритроцитов в ткани и тем самым приводить к гипоксическому состоянию [6, 7]. В данном исследовании изучали содержание оксигемоглобина и сродство гемоглобина с кислородом, характеризующие эффективность переноса кислорода гемоглобином.

Известно [8, 9], что перспективным средством профилактики неблагоприятного воздействия невесомости на организм человека может быть искусственная сила тяжести путем использования центрифуги короткого радиуса (ЦКР). В связи с этим представляется важным в наземных условиях оценить возможность эффекта перегрузок и оптимальных режимов вращения с помощью ЦКР на структурно-функциональное состояние эритроцитов у испытуемых-добровольцев.

Целью исследования явилось изучение воздействия разных режимов перегрузки в направлении голова – таз на морфологические и биохимические показатели эритроцитов, а также эффективность переноса кислорода гемоглобином.

### Методика

В эксперименте участвовали 7 мужчин-добровольцев в возрасте от 24 лет до 41 года, прошедших отбор и подписавших Информированное согласие. Протокол эксперимента был утвержден Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

Использовали 3 режима вращения на ЦКР, создающих перегрузку в направлении голова – таз (+G<sub>z</sub>): 1-й режим – 2,1 g, 30 мин; 2-й режим – 2,4 g, 30 мин; 3-й режим – 2,9 g, 15 мин. Каждый обследуемый участвовал во всех режимах вращения. Промежуток между 1-м и 2-м вращениями составлял 2 сут, а между 2-м и 3-м – 3 сут. Отбор крови из локтевой вены осуществляли за 7 сут до начала эксперимента, а также сразу после каждого вращения.

Исследование показателей красной крови – количество эритроцитов, содержание гемоглобина в крови и величину гематокрита – проводили на гематологическом счетчике Celltac фирмы NikonCondens (Япония).

Содержание аденозинтрифосфата (АТФ), восстановленного глутатиона, активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) в эритроцитах осуществляли спектрофотометрическими методами [10], используя спектрофотометр DU-530 (Beckman, США).

Кислородотранспортную функцию эритроцитов оценивали по состоянию гемопорфирина гемоглобина – содержание оксигемоглобина и сродство гемоглобина с кислородом методом спектроскопии комбинационного рассеяния (КР). Регистрацию спектров КР проводили на микро-КР спектрометре «Интегра-Спектра» (НТ-МДТ, РФ) при длине волны возбуждающего света 532 нм и мощности излучения 5 мВт. Относительное содержание количества оксигемоглобина определяли по соотношению интенсивностей полос спектра КР  $I_{1375}/(I_{1375} + I_{1355})$ . Сродство гемопорфирина гемоглобина к кислороду изучали по соотношению интенсивностей полос спектра  $I_{1588}/I_{1552}$  [11].

Статистическую обработку данных проводили методами вариационной статистики с применением пакета прикладных программ Statistica for Windows, Kernel Release 5.5 A фирмы StatSoft, Inc. (США).

Достоверность различий между средними арифметическими в группах вычисляли с помощью t-критерия Стьюдента, принимая выявленные различия значимыми при  $p < 0,05$  [12].

### Результаты и обсуждение

Исследование картины красной крови (таблица) не выявило статистически достоверных результатов в изучаемых показателях.

При исследовании показателей метаболизма эритроцитов у испытуемых-добровольцев было выявлено следующее. В условиях 1-го режима вращения (2,1 g, 30 мин) наблюдалось повышение активности ЛДГ, и тенденция к снижению содержания АТФ (рис. 1). При 2-м режиме вращения (2,4 g, 30 мин) наблюдали достоверное снижение уровня АТФ (см. рис. 1) и активности ЛДГ. У испытуемых-добровольцев в условиях 3-го режима вращения (2,9 g, 15 мин) содержание АТФ повысилось до фонового уровня, а активность ЛДГ уменьшилась (рис. 2). При этом было выявлено увеличение активности Г-6-ФДГ и снижение уровня восстановленного глутатиона (рис. 3, 4). Полученные данные свидетельствуют о снижении содержания АТФ при воздействии перегрузок, что может быть обусловлено не только уменьшением интенсивности гликолиза, но и увеличенным расходом АТФ на уровне плазматической мембраны в связи с возможными изменениями активности транспортных АТФаз [3, 4].

Результаты данного исследования свидетельствуют о том, что более выраженные изменения в показателях метаболизма эритроцитов наблюдаются при увеличении силы перегрузок до 2,4 и 2,9 g. Так, кроме уменьшения содержания АТФ и ЛДГ было отмечено снижение уровня восстановленного глутатиона, что, возможно, приводит к активации окислительных процессов в клетке. В то же время наблюдаемое повышение активности Г-6-ФДГ свидетельствует о запуске компенсаторных механизмов, способных активировать переход окисленного глутатиона в восстановленную форму, снижающую угрозу активации процессов ПОЛ.

При исследовании показателей, характеризующих эффективность переноса кислорода

Таблица

**Состояние красной крови при исследовании режимов перегрузок в направлении голова – таз (+G<sub>z</sub>)**

Показатели, Норма (N)	Фон	1-й режим 2,1 g	2-й режим 2,4 g	3-й режим 2,9 g
Гемоглобин, N 130–160 (г/л)	148,5 ± 4,79	141,7 ± 4,30	142,8 ± 2,7	139,8 ± 3,39
Эритроциты, N 4,0–5,0 (10 <sup>12</sup> /л)	4,96 ± 0,17	4,78 ± 0,13	4,69 ± 0,11	4,72 ± 0,10
Гематокрит, N 44–48 (%)	42,47 ± 1,05	41,36 ± 1,02	41,04 ± 0,57	40,87 ± 0,64

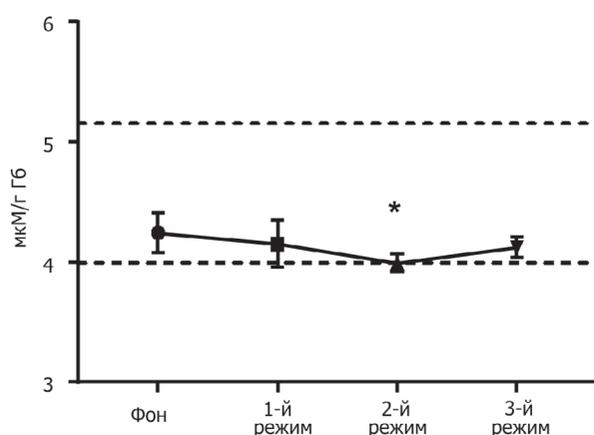


Рис. 1. Содержание АТФ при исследовании режимов перегрузок в направлении голова – таз (+G<sub>z</sub>). Здесь и на рис. 2–6: 1-й режим – 2,1 г, 2-й режим – 2,4 г, 3-й режим – 2,9 г; \* – достоверное различие с фоновым уровнем, p < 0,05; пунктирные линии – границы референтного диапазона

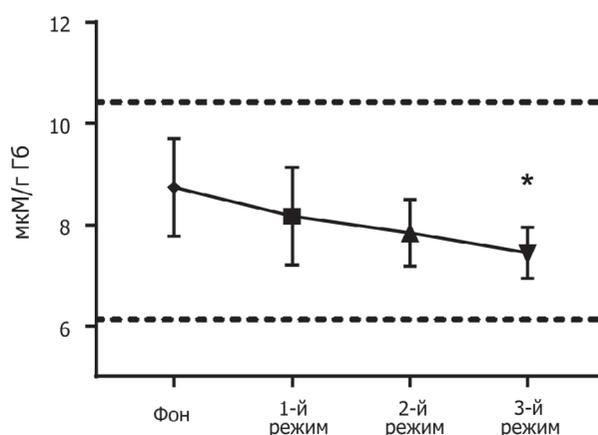


Рис. 4. Динамика концентрации восстановленного глутатиона при исследовании режимов перегрузок в направлении голова – таз (+G<sub>z</sub>)

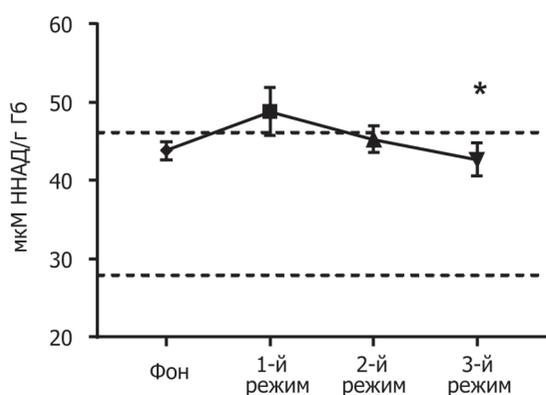


Рис. 2. Динамика активности лактатдегидрогеназы при исследовании режимов перегрузок в направлении голова – таз (+G<sub>z</sub>)

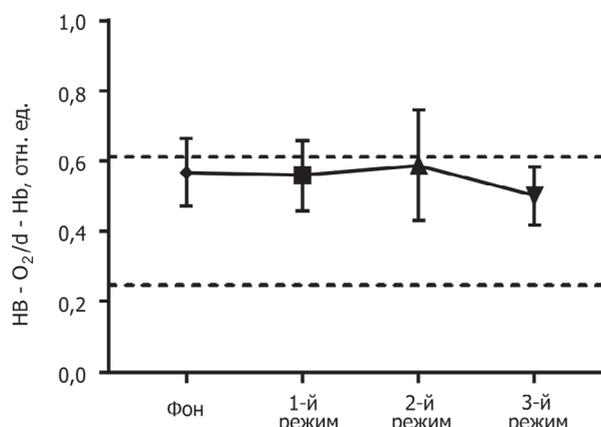


Рис. 5. Относительное содержание оксигемоглобина при исследовании режимов перегрузок в направлении голова – таз (+G<sub>z</sub>)

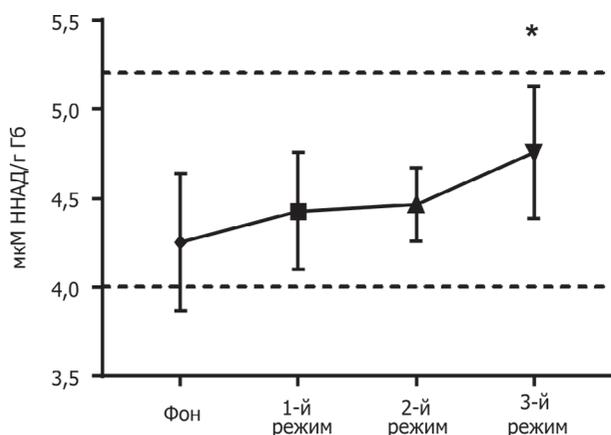


Рис. 3. Динамика активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы при исследовании режимов перегрузок в направлении голова – таз (+G<sub>z</sub>)

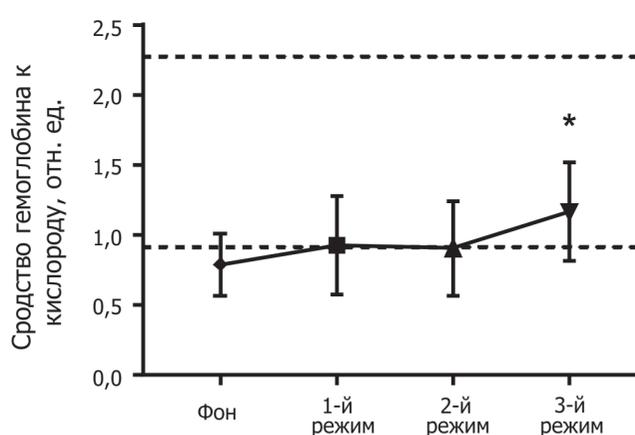


Рис. 6. Сродство молекул гемоглобина к кислороду при исследовании режимов перегрузок в направлении голова – таз (+G<sub>z</sub>)

гемоглобином во все сроки обследования как в фоновом периоде, так после каждого воздействия, был обнаружен значительный разброс индивидуальных данных. Тем не менее при увеличении силы перегрузок до 2,4 и 2,9 g наблюдалось снижение содержания оксигемоглобина (рис. 5) и увеличение способности гемоглобина связывать кислород (рис. 6), что может свидетельствовать о повышении риска развития гипоксического состояния [6].

#### Выводы

1. Увеличение силы перегрузок от 2,1 до 2,9 g приводит к снижению содержания АТФ в эритроцитах, что обусловлено уменьшением интенсивности гликолиза и возможными сдвигами на мембранном уровне (вероятным повышением активности транспортных АТФаз).

2. Увеличение силы перегрузок до 2,9 g приводит к снижению содержания восстановленного глутатиона, которое сопровождается включением компенсаторных механизмов (повышение активности Г-6-ФДГ), направленных на поддержание восстановительных процессов в клетке.

3. При воздействии перегрузок силой 2,9 g (3-й режим) изменяются характеристики способности гемоглобина переносить кислород – снижается содержание оксигемоглобина и повышается способность гемоглобина связывать кислород, что повышает риск развития гипоксического состояния.

4. Результаты исследования свидетельствуют о том, что наибольшие изменения в показателях метаболизма эритроцитов и эффективности переноса кислорода гемоглобином наблюдаются при воздействии максимальной из исследованных перегрузок, силой 2,9 g (3-й режим).

*Работа выполнена в рамках государственного задания № 0130-2014-0006 и темы РАН 65.1 (№ госрегистрации 01201370667).*

#### Список литературы

1. Григорьев А.И., Попова И.А., Капланский А.С. Минимизация функций регуляторных систем и обмена веществ в невесомости // *Авиакосм. и экол. мед.* 1993. Т. 27. № 5–6. С. 7–12.

Grigoriev A.I., Popova I.A., Kaplanskiy A.S. Minimization of functions of regulatory systems and metabolism in weightlessness // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 1993. V. 27. № 5–6. P. 7–12.

2. Иванова С.М. Система крови в условиях космических полетов и после их завершения // *Орбитальная станция «Мир».* М., 2002. Т. 2. С. 159–196.

Ivanova S.M. Blood system in space flights and after their completion // *Orbital station «Mir».* Moscow, 2002. V. 2. P. 159–196.

3. Иванова С.М., Морукон Б.В., Максимов Г.В. Морфофункциональное состояние красной крови у экипажей МКС // *Международная космическая станция. Российский сегмент. Космическая биология и медицина.* 2011. Воронеж, Т. 2. С. 249–272.

Ivanova S.M., Morukov B.V., Maksimov G.V. Morphofunctional state of red blood in ISS crews // *International space station. Russian segment. Space biology and medicine.* 2011. Voronezh, V. 2. P. 249–272.

4. Ярлыкова Ю.В., Лабетская О.И., Иванова С.М. Липидный и фосфолипидный состав мембран эритроцитов космонавтов при воздействии факторов космического полета // *Косм. биол. и авиакосм. мед.* 1994. Т. 28. № 6. С. 31–33.

Yarlykova Yu.V., Labetskaya O.I., Ivanova S.M. Lipid and phospholipid composition of erythrocyte membranes of cosmonauts under the influence of space flight factors // *Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina.* 1994. V. 28. № 6. P. 31–33.

5. Колесникова В.Н. Интегральный показатель оценки окислительного стресса в крови человека // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2014. № 6. С. 5–8.

Kolesnikova V.N. The integral indicator for assessing oxidative stress in human blood // *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2014. № 6. P. 5–8.

6. Rodnenkov O.V., Luneva O.G., Ulyanova N.A. et al. Erythrocyte membrane fluidity and haemoglobin haemoporphyrin conformation: features revealed in patients with heart failure // *Pathophysiol.* 2005. V. 11. № 4. P. 209–213.

7. Brazhe N.A., Abdali S., Brazhe A.R. et al. New insight into erythrocyte through in vivo surface-enhanced Raman spectroscopy // *Biophysical J.* 2009. V. 97. № 12. P. 3206–3214.

8. Орлов О.И., Колотева М.И. Центрифуга короткого радиуса как новое средство профилактики неблагоприятных эффектов невесомости и перспективные планы по разработке проблемы искусственной силы тяжести применительно к межпланетным полетам // *Авиакосм. и экол. мед.* 2017. Т. 51. № 7. С. 11–18.

Orlov O.I., Koloteva M.I. A short-radius centrifuge as a new means of preventing the adverse effects of weightlessness and long-term plans for developing the problem of artificial gravity in relation to interplanetary flights // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2017. V. 51. № 7. P. 11–18.

9. Котовская А.Р. Центрифуга короткого радиуса: история и перспективы использования в практике космонавтики и здравоохранения // *Там же.* 2004. Т. 38. № 6. С. 36–40.

Kotovskaya A.R. Short-radius centrifuge: history and prospects for use in the practice of cosmonautics and health service // *Ibid.* 2004. V. 38. № 6. P. 36–40.

10. Beutler M.D. Red cell metabolism. A manual of biochemical methods. N.Y.; London, 1971.

11. Коваленко С.С., Паршина Е.Ю., Юсипович А.И. и др. Изменение конформации гемопорфирина гемоглобина

и связывания NO в эритроцитах при действии инсулиноподобного фактора // Биофизика. 2014. Т. 59. № 6. С. 1003–1006.

*Kovalenko S.S., Parshina E.Yu., Yusipovich A.I. et al.* Changes in the hemoporphyrin conformation of hemoglobin and the binding of NO in erythrocytes under the action of insulin-like factor // Biofizika. 2014. V. 59. № 6. P. 1003–1006.

12. *Гржибовский А.М.* Сравнение одной и двух несвязанных выборок с помощью пакета статистических программ Stata: параметрические критерии // Экология человека. 2014. № 3. С. 57–61.

*Grzhibovskiy A.M.* Comparison of one and two unrelated samples using the statistical data package Stata: parametric criteria // Ekologiya cheloveka. 2014. № 3. P. 57–61.

Поступила 15.03.2019

## **STUDY OF METABOLISM, ERYTHROCYTES AND EFFECTIVENESS OF OXYGEN TRANSFER BY HEMOGLOBIN IN TEST-VOLUNTEERS DURING EXPOSURE TO +G<sub>z</sub> ON A SHORT-ARM CENTRIFUGE**

**Ivanova S.M.<sup>1</sup>, Labetskaya O.I.<sup>1</sup>, Anisimov N.A.<sup>1</sup>, Koloteva M.I.<sup>1</sup>, Maksimov G.V.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University

*Up-to-date biochemical and biophysical techniques showed that impairment of efficiency of energy-producing glycolysis and, probably, activation of transport ATPases due to centrifuge acceleration growth from 2.1 to 2.9 g reduces the ATP content in erythrocytes. Accelerations on the level of 2.9 g stimulated activation of the anti-oxidative processes in cell by changing the content of reduced glutathione and glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in erythrocytes. Accelerations also affected the hemoglobin capacity to transfer oxygen by increasing oxygen binding and thus elevating the risk of hypoxic conditions.*

Key words: ATP, glutathione, lactate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, hemoglobin, short-arm centrifuge, accelerations.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 5. P. 34–38.

УДК 159.91

## ПЕРИФЕРИЧЕСКАЯ ГЕМОДИНАМИКА И ВАЗОРЕГУЛЯЦИЯ У КУРСАНТОВ В УСЛОВИЯХ ВОЕННО-ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ АДАПТАЦИИ

Павлов К.И.<sup>1</sup>, Сырцев А.В.<sup>1</sup>, Мухин В.Н.<sup>2</sup>, Архимук А.Н.<sup>1</sup>, Михеев А.В.<sup>1</sup>, Копытова Ю.С.<sup>1</sup>, Хамитова Е.А.<sup>1</sup>, Сысоев В.Н.<sup>3</sup>, Петренко М.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Военно-морская академия, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

E-mail: youngexp@yandex.ru

*Цель работы:* оценить влияние механизмов регуляции сердечно-сосудистой системы на характеристики военно-профессиональной адаптации. Исследование проводилось на выборке курсантов 1-го курса Военного института (военно-морского) ВУНЦ ВМФ «Военно-морская академия» ( $n = 81$ ), средний возраст  $19,07 \pm 0,77$  года. По выраженности адаптации все обследуемые были разделены на 3 группы. Применялись психологические методики, психофизиологические и физиологические пробы, электрофизиологические методы пальцевой фотоплетизмографии и анализа вариабельности сердечного ритма, электроэнцефалографии. Установлено, что в группе курсантов со сниженной военно-профессиональной адаптацией ниже уровень когнитивных функций, ориентации в пространстве, внимания и мышления, выше значения показателей LF и VLF, снижена активность сенсомоторной коры головного мозга. В этой же группе зарегистрированы снижение сосудистого тонуса и эластичности артерий периферической сосудистой системы.

Ключевые слова: когнитивные функции, адаптация, пальцевая фотоплетизмография, вариабельность сердечного ритма.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 5. С.39–48.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-5-39-48

Исследование физиологических механизмов адаптации является важнейшей задачей военной психофизиологии. Развитие в этом направлении шло по пути поиска оптимальных методов изучения, главным образом функциональных резервов работоспособности [1]. Вместе с тем исследований, посвященных изучению взаимосвязей между социально-психологической (военно-профессиональной) адаптацией, когнитивными функциями и центральными, автономными и гуморальными регуляторными механизмами, играющими ключевую роль в физиологической адаптации, в литературе представлено недостаточно. Анализ взаимосвязей биоэлектрической активности коры головного мозга, вариабельности сердечного ритма (ВСР) и

состояния периферического кровообращения при когнитивных нагрузках позволит существенно расширить возможности изучения адаптационно-гомеостатической подсистемы индивида и выделить физиологические детерминанты адаптации в эргатических системах.

В наших предыдущих работах были выявлены взаимосвязи параметров вариабельности сердечного ритма и активности коры головного мозга, связанные с уровнем военно-профессиональной адаптации (ВПА) и развития когнитивных функций [2].

Испытуемые с высоким уровнем ВПА характеризовались высоким уровнем физического развития, развития когнитивных функций внимания и мышления, выраженной активацией сенсомоторной коры правого полушария головного мозга, высокими значениями общей спектральной мощности модуляций сердечного ритма и относительной мощности в диапазоне высоких частот (HF). Испытуемые со средним уровнем ВПА отличались высоким уровнем развития счетных навыков, низким уровнем биоэлектрической активности сенсомоторной коры головного мозга и общей спектральной мощности модуляций сердечного ритма, а также высокими значениями относительной мощности в диапазоне низких частот (LF).

Обследуемые, имевшие низкий уровень ВПА, показали снижение когнитивных функций восприятия, ориентации в пространстве, внимания и мышления, характеризовались высокими значениями показателя LF и низким уровнем активности сенсомоторной коры головного мозга. Установлено, что низкий уровень адаптации курсантов связан не только с низкой активностью коры головного мозга, но и с разнонаправленными корреляционными связями между показателем VLF и уровнями десинхронизации ЭЭГ в левом центральном отведении, полученными в ходе выполнения теста «часы с поворотом» и «реакции на движущийся объект». В литературе имеются сведения, указывающие на то, что связи ВСР в области очень низких частот ULF и

VLF с гуморальными и эндотелиальными механизмами регуляции сосудистого тонуса и упругоэластическими свойствами стенок артерий неоднозначны [3–6]. Уточнение физиологической роли диапазона очень низких частот в регуляции сосудистого тонуса с комплексным применением методов фотоплетизмографии, ЭЭГ и анализа ВСР позволит дать интегральную оценку ВПА курсантов и прогноз о состоянии здоровья военнослужащих.

Цель данной работы: оценить влияние механизмов регуляции сердечно-сосудистой системы на характеристики ВПА.

Задачи исследования:

1. Изучить электрофизиологические характеристики периферической гемодинамики и вазорегуляции у курсантов с разным уровнем ВПА.

2. Установить связи параметров периферического кровообращения и вариабельности сердечного ритма.

3. Дать комплексную психофизиологическую оценку механизмов ВПА.

#### Методика

Исследование проводилось на выборке курсантов 1-го курса Военного института (военно-морского) ВУНЦ ВМФ «Военно-морская академия» ( $n = 81$ ), средний возраст  $19,07 \pm 0,77$  года, без опыта военно-профессиональной деятельности. С целью комплексной оценки адаптированности курсантов к обучению было проведено психологическое и психофизиологическое тестирование, определялись уровни здоровья и физического развития.

Психологическое тестирование включало в себя исследование личностных особенностей и эффективности когнитивных функций с применением следующих методов и методик: референтометрические методы – групповая оценка личности (ГОЛ); параметрическая социометрия; модифицированный индивидуально-типологический опросник (ИТО+); многоуровневый личностный опросник «Адаптивность» (МЛО); личностный профиль по Айзенку; маркеры большой пятерки (МБП); опросник военно-профессиональной мотивации (ВПМ); опросник жизнестойкости С. Мадди (ЖС); опросник доминирующих психических состояний по Л. Куликову (ДПС); модифицированный вариант теста включенных фигур Дж. Виткина (ПВ); продвинутые прогрессивные матрицы Дж. Равена; 5 субтестов методики изучения особенностей мышления (МИОМ), тесты для оценки отдельных мыслительных операций: «Узоры» и «Кубы», кольца Ландольта, перепутанные линии; тесты для оценки свойств памяти: «Память на фигуры» и «Вербальная память». Непосредственно перед электрофизиологическим исследованием оценивалось текущее нервно-психическое состояние с помощью 8-цветового теста

М. Люшера. Проанализирована обращаемость курсантов за медицинской помощью в течение учебного года. Изменялись показатели физического развития: рост, масса тела, сагиттальная окружность головы, пульс и артериальное давление, проводились дыхательные пробы на задержку дыхания на вдохе (проба Штанге) и на выдохе (проба Генчи), с помощью спирометрии определялись жизненная емкость легких и дыхательный объем.

Оценка функционального состояния сердечно-сосудистой системы проводилась фотоплетизмографически и путем анализа ВСР. Биоэлектрическая активность головного мозга оценивалась электроэнцефалографически. Для регистрации пальцевой фотоплетизмографии (ФПГ), сердечного ритма и ЭЭГ использовался комплекс объективного психологического анализа и тестирования «Реакор» (НПКФ «Медиком МТД», г. Таганрог); частота дискретизации – 250 Гц.

Фотоэлектронный датчик закреплялся на среднем пальце левой руки (тип датчика – ИК отражающий, 950 нм). Датчик обнаруживал изменения в количестве света, поглощенного гемоглобином, которые отражают объемные характеристики пульсовой волны. Регистрировались амплитудные, временные и скоростные показатели состояния периферической сосудистой системы: частота пульса – ЧП (уд./мин), амплитуда систолической волны – АСВ (рм), амплитуда быстрого кровенаполнения – АБКН (рм), амплитуда конечной диастолической фазы – АКДФ (рм), амплитуда систолической фазы венозной компоненты – АСФВК (рм), уровень инцизуры – И (рм), длина пульсовой волны – ДЛПВ (у.е.), длительность пульсовой волны – ДПВ (мс), время распространения пульсовой волны – ВРПВ (мс), время быстрого кровенаполнения – ВБКН (мс), время медленного кровенаполнения – ВМКН (мс), время максимального систолического наполнения – ВМСН (мс), скорость распространения пульсовой волны (по зубцу Q) – СРПВ (м/с), максимальная скорость быстрого кровенаполнения – МСБКН (м/с), средняя скорость медленного кровенаполнения – ССМКН (м/с), дикротический индекс – ДКИ (%), диастолический индекс – ДСИ (%), индекс венозного оттока – ИВО (%), показатель эластичности сосудов артериального русла – ПЭС (%), модуль упругости – МУ (%).

Сердечный ритм регистрировался электрокардиографически. Парные электроды для записи ЭКГ располагались на запястье левой руки и нижней трети шеи слева и кпереди от грудино-ключично-сосцевидной мышцы. Регистрировались статистические и спектральные характеристики ЭКГ: математическое ожидание мгновенной ЧСС – МОЧСС (уд./мин)  $МОЧСС = 60000/RRNN$ , где RRNN – продолжительность последовательных RR-интервалов, мода – Мо (мс), амплитуда моды – АМо (%), стандартное

отклонение RR-интервалов – SD, среднеквадратическое различие смежных RR-интервалов – RMSSD (мс), вариационный размах – BP (с), индекс напряжения – ИН (%/с<sup>2</sup>), общая спектральная мощность модуляций сердечного ритма – TP (мс<sup>2</sup>), относительная мощность в частотных диапазонах: высокой частоты (0,40–0,15 Гц) – HF (%), низкой частоты (0,15–0,04 Гц) – LF (%), очень низкой частоты (0,04–0,0033 Гц) – VLF (%), коэффициент вагосимпатического баланса – LF/HF (y.e.).

С помощью визуального анализа и компьютерной программы «Эгоскоп» (версия – 2017) были выявлены и удалены мышечные и электрокардиографические артефакты. Исследование электрофизиологических проявлений когнитивных функций селективного внимания, рабочей памяти, пространственной ориентации, мышления проводилось на обследуемых, находящихся в положении сидя. Проведено 8 серий функциональных проб: 1. В состоянии покоя с закрытыми глазами. 2. В состоянии покоя с открытыми глазами. 3. В период выполнения теста «Красно-черные таблицы Шульце – Платонова» (7x7 ячеек). 4. Во время выполнения теста «Часы с поворотом». 5. В момент выполнения теста РДО («Реакция на движущийся объект»). 6. При предъявлении задачи «Устный счет при закрытых глазах». 7. В состоянии покоя с открытыми глазами после когнитивных функциональных проб (КФП). 8. В состоянии покоя с закрытыми глазами после КФП. Время регистрации электрофизиологических параметров в каждой серии – 5 мин. Общее время тестирования составило в среднем 1 ч 20 мин.

Деление обследуемых на группы-кластеры проводилось на основе всех зарегистрированных психологических, психофизиологических, антропометрических и электрофизиологических параметров с помощью автоматизированных нейронных сетей Кохонена с предшествующим преобразованием всех параметров в z-баллы. Сети Кохонена относятся к самоорганизующимся нейронным сетям, позволяющим выявлять кластеры (группы) входных векторов, обладающих общими свойствами. Использована однослойная сеть, построенная из 3 нейронов типа WTA (Winner Takes All – победитель получает все), в которой происходит обучение с помощью механизмов конкуренции и «без учителя» (Stat Soft Statistica v.10). С целью математико-статистического анализа использовался расчет среднего значения и среднеквадратического отклонения.

Определение статистической достоверности межгрупповых отличий между электрофизиологическими параметрами ФПГ и ВСР в разных сериях исследования проводилось с помощью однофакторного дисперсионного анализа с последующим апостериорным множественным сравнением (post-hoc) и поправкой на множественность сравнений по методу Бонферрони. Факторный анализ методом

главных компонент (principal components) с ротацией факторов по методу varimax выполнен по всем сериям функциональных проб и в каждой группе отдельно с целью выявления наиболее существенных связей между параметрами ФПГ и ВСР.

### Результаты и обсуждение

Нейронная сеть позволила разделить обследуемых на 3 группы: 1-я группа – 24 человека, 2-я группа – 31 человек, 3-я группа – 26 человек, что в дальнейшем позволило установить статистически значимые отличия в каждой из обследуемых групп.

В 1-й группе частота артериального пульса была достоверно меньше, чем во 2-й и 3-й группах во всех сериях исследования (табл. 1). Амплитуда систолической волны была минимальна во 2-й группе и статистически значимо отличалась от 3-й группы, в которой значение этого показателя максимально во всех сериях.

Во всех КФП, за исключением пробы «Устный счет при закрытых глазах», выявили, что амплитуда систолической волны меньше в 1-й группе, чем в 3-й. Подобные межгрупповые отличия наблюдались и по другим амплитудным параметрам – амплитуде быстрого кровенаполнения, амплитуде конечной диастолической фазы, амплитуде систолической венозной компоненты и уровню инцизуры. Причем больше всего таких достоверных отличий между 1-й и 3-й, а также 2-й и 3-й группами наблюдали по показателям амплитуд быстрого кровенаполнения.

Согласно данным литературы, амплитуда систолической волны при повышении тонуса сосудов снижается, а при снижении тонуса – увеличивается. Уровень инцизуры зависит от многих факторов: степени ригидности артериальной стенки, объема регионарной фракции сердечного выброса и внутреннего диаметра артерий [7]. Высокий уровень инцизуры, выявленный в 3-й группе, может свидетельствовать о низком сосудистом тонусе, низкой степени эластичности артерий и снижении их демпфирующих функций.

Таким образом, курсанты 2-й группы имели более выраженные изменения сосудистого тонуса по гипертоническому типу, а у курсантов из 3-й группы выявили снижение тонуса периферического сосудистого русла и эластичности артерий.

Длительность пульсовой волны в 1-й группе была больше, чем во 2-й и 3-й группах во всех сериях (табл. 2). Показатели длительности пульсовой волны во всех 3 группах соответствовали возрастной норме [8]. Длина пульсовой волны была меньше у обследуемых 1-й и 2-й группы в сравнении с обследуемыми из 3-й группы, причем значения этого параметра достигали минимального уровня во 2-й группе в серии фоновой записи с закрытыми глазами в начале исследования, в КФП «Красно-черные

Таблица 1

**Амплитудные характеристики ФПГ у курсантов 3 групп в разных функциональных пробах**

Индекс/ № группы	ЧП	АПВ	АСВ	АБКН	АКДФ	АСФВК	И
Фон с закрытыми глазами в начале							
1	65,82 ± 8,26 (1-3***; F=21,2)	2,5 ± 1,33	2,46 ± 1,32	1,18 ± 0,63 (1-3*; F=5,7)	0,17 ± 0,11	1,67 ± 0,97 (1-3*; F=6,4)	0,87 ± 0,59
2	77,29 ± 8,41 (2-1***; F=21,2)	2,25 ± 0,99	2,21 ± 0,97	1,08 ± 0,5	0,19 ± 0,13	1,51 ± 0,7	0,65 ± 0,45
3	81,13 ± 9,19	3,31 ± 1,39 (3-2***; F=5,5)	3,28 ± 1,39 (3-2***; F=5,7)	1,6 ± 0,68 (3-2***; F=5,7)	0,26 ± 0,18	2,34 ± 1,05 (3-2***; F=6,4)	0,86 ± 0,59
Фон с открытыми глазами в начале							
1	65,77 ± 7,97 (1-3***; F=21,4)	2,51 ± 1,27	2,46 ± 1,26	1,19 ± 0,61	0,17 ± 0,1	1,64 ± 0,9	0,81 ± 0,54
2	77,59 ± 8,49 (2-1***; F=21,4)	2,08 ± 0,74	2,03 ± 0,73	0,98 ± 0,34	0,21 ± 0,15	1,36 ± 0,55	0,62 ± 0,41
3	80,83 ± 9,12	2,98 ± 1,33 (3-2***; F=4,5)	2,91 ± 1,31 (3-2***; F=4,5)	1,42 ± 0,64 (3-2***; F=4,9)	0,23 ± 0,17	2,06 ± 1 (3-2***; F=5,0)	0,74 ± 0,53
Красно-черные таблицы Шульце – Платонова							
1	75,65 ± 10,77 (1-3***; F=8,8)	1,46 ± 1,01 (1-3***; F=11,7)	1,39 ± 1,04 (1-3***; F=11,6)	0,66 ± 0,51 (1-3***; F=12,1)	0,2 ± 0,09 (1-3***; F=7,6)	1,05 ± 0,71 (1-3***; F=10,7)	0,72 ± 0,44
2	82,84 ± 6,2 (2-1**; F=8,8)	1,17 ± 0,67	1,13 ± 0,69	0,54 ± 0,33	0,2 ± 0,13	0,84 ± 0,51	0,52 ± 0,32
3	85,38 ± 8,42	2,2 ± 0,78 (3-2***; F=11,7)	2,17 ± 0,79 (3-2***; F=11,6)	1,06 ± 0,4 (3-2***; F=12,1)	0,31 ± 0,12 (3-2***; F=7,6)	1,56 ± 0,59 (3-2***; F=10,7)	0,8 ± 0,35 (3-2*; F=4,4)
Часы с поворотом							
1	72,58 ± 10,25 (1-3***; F=14,5)	1,58 ± 0,9 (1-3***; F=16,0)	1,53 ± 0,91 (1-3***; F=16,0)	0,73 ± 0,44 (1-3***; F=17,2)	0,19 ± 0,08 (1-3***; F=6,1)	1,14 ± 0,67 (1-3***; F=12,8)	0,74 ± 0,41
2	81,64 ± 5,71 (2-1***; F=14,5)	1,42 ± 0,69	1,38 ± 0,69	0,66 ± 0,33	0,21 ± 0,14	1,01 ± 0,52	0,58 ± 0,32
3	84,3 ± 8,18	2,53 ± 0,76 (3-2***; F=16,0)	2,49 ± 0,77 (3-2***; F=16,0)	1,23 ± 0,38 (3-2***; F=17,2)	0,3 ± 0,13 (3-2*; F=6,1)	1,76 ± 0,59 (3-2***; F=12,8)	0,82 ± 0,4
Реакция на движущийся объект							
1	66,73 ± 8,67 (1-3***; F=20,9)	1,6 ± 0,86 (1-3***; F=13,0)	1,57 ± 0,86 (1-3***; F=13,2)	0,75 ± 0,41 (1-3***; F=13,9)	0,18 ± 0,09	1,14 ± 0,64 (1-3***; F=19,7)	0,8 ± 0,45
2	77,52 ± 6,75 (2-1***; F=20,9)	1,42 ± 0,7	1,38 ± 0,71	0,67 ± 0,35	0,19 ± 0,13	1,01 ± 0,54	0,62 ± 0,36
3	80,15 ± 8,06	2,51 ± 0,98 (3-2***; F=13,0)	2,49 ± 0,98 (3-2***; F=13,2)	1,22 ± 0,48 (3-2***; F=13,9)	0,24 ± 0,17	1,73 ± 0,77 (3-2***; F=19,7)	0,84 ± 0,49
Устный счет при закрытых глазах							
1	73,71 ± 9,65 (1-3***; F=15,1)	1,04 ± 0,82	0,97 ± 0,83	0,46 ± 0,4	0,14 ± 0,09	0,72 ± 0,59	0,48 ± 0,37
2	84,16 ± 8,45 (2-1***; F=15,1)	1,02 ± 0,62	0,94 ± 0,64	0,45 ± 0,32	0,16 ± 0,09	0,7 ± 0,47	0,42 ± 0,27
3	85,66 ± 6,93	1,5 ± 0,81	1,45 ± 0,83 (3-2*; F=3,7)	0,7 ± 0,39 (3-2*; F=4,0)	0,19 ± 0,12	1,04 ± 0,64	0,54 ± 0,41
Фон с открытыми глазами в конце							
1	66,01 ± 8,17 (1-3***; F=24,8)	1,75 ± 0,95	1,7 ± 0,95	0,81 ± 0,45	0,16 ± 0,1	1,14 ± 0,65 (1-3*; F=5,3)	0,69 ± 0,5
2	77,27 ± 7,56 (2-1***; F=24,8)	1,56 ± 0,69	1,51 ± 0,68	0,73 ± 0,33	0,18 ± 0,1	1,05 ± 0,49	0,59 ± 0,3
3	80,64 ± 7,38	2,34 ± 1,14 (3-2***; F=5,2)	2,29 ± 1,15 (3-2***; F=5,3)	1,11 ± 0,54 (3-2***; F=5,6)	0,21 ± 0,16	1,61 ± 0,88 (3-2***; F=5,3)	0,72 ± 0,55
Фон с закрытыми глазами в конце							
1	67,46 ± 8,93 (1-3***; F=10,5)	1,53 ± 0,94	1,47 ± 0,94	0,7 ± 0,45 (1-3*; F=6,8)	0,15 ± 0,11	1 ± 0,7	0,62 ± 0,51
2	76,93 ± 10,68 (2-1***; F=10,5)	1,27 ± 0,6	1,23 ± 0,6	0,59 ± 0,29	0,14 ± 0,08	0,85 ± 0,46	0,48 ± 0,31
3	78,72 ± 7,85	2,13 ± 1,14 (3-2***; F=6,6)	2,09 ± 1,15 (3-2***; F=6,6)	1 ± 0,54 (3-2***; F=6,8)	0,19 ± 0,15	1,47 ± 0,85 (3-2***; F=6,3)	0,71 ± 0,54

Примечание. Здесь и в табл. 2-3: \* – p ≤ 0,05; \*\* – p ≤ 0,01; \*\*\* – p ≤ 0,001; 1-3 - достоверные отличия между 1-й и 3-й группами; 2-1 – достоверные отличия между 2-й и 1-й группами; 3-2 – достоверные отличия между 3-й и 2-й группами.

Таблица 2

## Временные и скоростные характеристики ФПГ у курсантов 3 групп в разных функциональных пробах

Индекс/ № группы	ДЛПВ	ДПВ	ВРПВ	ВМКН	ВМСН	СРПВ	МСБКН	ССМКН
Фон с закрытыми глазами в начале								
1	5,45 ± 2,84 (1-3**; F=6,1)	936,74 ± 123,08 (1-3***; F=25,2)	240,79 ± 20,09 (1-3*; F=5,5)	69,91 ± 10,8 (1-3**; F=6,3)	141,12 ± 15,01 (1-3***; F=7,6)	5,15 ± 0,42 (1-3*; F=5,8)	31,96 ± 16,72 (1-3**; F=10,1)	20,08 ± 10,4 (1-3**; F=10,3)
2	5,07 ± 2,1	789,84 ± 80,51 (2-1***; F=25,2)	242,32 ± 20,64	65,05 ± 10,26	133,54 ± 14,92	5,13 ± 0,43	29,93 ± 10,94	19,15 ± 7,07
3	7,37 ± 2,9 (3-2**; F=6,1)	753,2 ± 86,24	226,29 ± 17,29 (3-2**; F=5,5)	60,31 ± 7,01	126,23 ± 9,82	5,48 ± 0,42 (3-2**; F=5,8)	48,04 ± 20,46 (3-2***; F=10,1)	30,48 ± 12,71 (3-2***; F=10,3)
Фон с открытыми глазами в начале								
1	5,55 ± 2,75	942,18 ± 124,64 (1-3***; F=25,9)	241,53 ± 19,97	69,44 ± 11,58 (1-3*; F=5,8)	140,08 ± 15,94 (1-3**; F=4,9)	5,15 ± 0,42 (1-3*; F=5,4)	32,23 ± 16,09 (1-3*; F=8,0)	20,26 ± 10,04 (1-3*; F=8,0)
2	4,63 ± 1,55	787,16 ± 81,35 (2-1***; F=25,9)	243,72 ± 21,46	66,25 ± 12,02	134,32 ± 16,35	5,11 ± 0,45	27,08 ± 7,69	17,3 ± 4,9
3	6,59 ± 2,75 (3-2**; F=4,9)	756,5 ± 87,29	227,68 ± 18,18 (3-2**; F=5,1)	61,3 ± 7,39	127,36 ± 9,97	5,47 ± 0,43 (3-2**; F=5,4)	42,43 ± 18,84 (3-2***; F=8,0)	26,91 ± 11,79 (3-2***; F=8,0)
Красно-черные таблицы Шульце – Платонова								
1	3,08 ± 2,17 (1-3**; F=11,8)	840,29 ± 106,3 (1-3***; F=18,4)	235,25 ± 19,43	77,44 ± 14,32 (1-3**; F=5,0)	146,61 ± 18,75 (1-3*; F=3,1)	5,33 ± 0,45	17,17 ± 13,25 (1-3***; F=14,5)	10,52 ± 8,29 (1-3***; F=15,2)
2	2,53 ± 1,44	740,31 ± 52,27 (2-1***; F=18,4)	235,1 ± 22,86	72,18 ± 12,15	139,53 ± 16,26	5,32 ± 0,52	14,29 ± 8,08	8,96 ± 5,16
3	4,79 ± 1,77 (3-2***; F=11,8)	715,45 ± 69,03	222,22 ± 19,72	66,87 ± 8,22	136 ± 9,42	5,61 ± 0,51	29,38 ± 11,65 (3-2***; F=14,5)	18,65 ± 7,47 (3-2***; F=15,2)
Часы с поворотом								
1	3,37 ± 1,88 (1-3***; F=17,3)	873,82 ± 103,51 (1-3***; F=28,3)	239,73 ± 20,07	75,81 ± 12,92 (1-3**; F=6,9)	146,77 ± 17,33 (1-3**; F=4,7)	5,24 ± 0,45	19,03 ± 11,5 (1-3**; F=21,6)	11,75 ± 7,21 (1-3***; F=23,0)
2	3,08 ± 1,51	748,96 ± 52,72 (2-1***; F=28,3)	239 ± 22,55	71,67 ± 11,37	140,96 ± 15,11	5,24 ± 0,51	17,46 ± 8,33	11 ± 5,35
3	5,49 ± 1,57 (3-2***; F=17,3)	722,58 ± 69,44	226,03 ± 20,26	64,7 ± 7,35	134,37 ± 9,64	5,51 ± 0,49	34,21 ± 11,24 (3-2***; F=21,6)	21,85 ± 7,12 (3-2***; F=23,0)
Реакция на движущийся объект								
1	3,42 ± 1,74 (1-3***; F=14,6)	941,97 ± 120,28 (1-3***; F=31,3)	242,02 ± 19,85	75,6 ± 12,97 (1-3**; F=5,3)	146,81 ± 17,79 (1-3*; F=3,3)	5,16 ± 0,42	19,5 ± 10,65 (1-3**; F=18,6)	11,96 ± 6,57 (1-3***; F=20,0)
2	3,09 ± 1,51	795,91 ± 60,4 (2-1***; F=31,3)	242,64 ± 22,67	71,54 ± 12,24	140,57 ± 17,16	5,16 ± 0,49	17,47 ± 8,45	10,97 ± 5,43
3	5,45 ± 1,97 (3-2***; F=14,6)	758,78 ± 74,93	228,3 ± 20,01 (3-2*; F=4,0)	65,4 ± 7,45	135,64 ± 9,63	5,44 ± 0,47	33,78 ± 12,94 (3-2***; F=18,6)	21,46 ± 8,06 (3-2***; F=20,0)
Устный счет при закрытых глазах								
1	2,24 ± 1,73	869 ± 115,98 (1-3***; F=26,6)	240,81 ± 19,65	71,93 ± 12,11	137,36 ± 15,69	5,22 ± 0,42	12,59 ± 10,56 (1-3*; F=5,1)	7,74 ± 6,53 (1-3**; F=5,4)
2	2,19 ± 1,44	737,72 ± 65,09 (2-1***; F=26,6)	238,44 ± 22,45	71,09 ± 14,86	136,98 ± 20,77	5,34 ± 0,67	12,02 ± 8,28	7,51 ± 5,37
3	3,22 ± 1,68	711,6 ± 58,53	227,48 ± 17,22	66,1 ± 9,24	132,35 ± 10,37	5,49 ± 0,41	19,81 ± 11,1 (3-2*; F=5,1)	12,51 ± 6,96 (3-2**; F=5,4)
Фон с открытыми глазами в конце								
1	3,83 ± 2	950,06 ± 126,08 (1-3***; F=33,5)	245,24 ± 17,82 (1-3*; F=5,6)	70,99 ± 14,47	138,87 ± 18,71	5,08 ± 0,36 (1-3*; F=4,8)	22,39 ± 12,64 (1-3*; F=7,9)	13,87 ± 7,8 (1-3*; F=8,2)
2	3,4 ± 1,47	796,18 ± 64,56 (2-1***; F=33,5)	245,46 ± 20,37	69,63 ± 13,12	137,51 ± 18,11	5,09 ± 0,45	19,64 ± 8,36	12,43 ± 5,44
3	5,08 ± 2,26 (3-2**; F=5,7)	757,81 ± 66,4	230,72 ± 16,16 (3-2**; F=5,6)	63,38 ± 8,69	130,02 ± 10,35	5,38 ± 0,37 (3-2*; F=4,8)	32,1 ± 15,17 (3-2***; F=7,9)	20,25 ± 9,32
Фон с закрытыми глазами в конце								
1	3,32 ± 1,94	942,12 ± 124,31 (1-3***; F=20,4)	246,94 ± 19,25 (1-3*; F=4,5)	70,68 ± 14,92	137,87 ± 18,81	5,07 ± 0,38	19,13 ± 11,76 (1-3**; F=9,4)	11,82 ± 7,15 (1-3**; F=9,6)
2	2,79 ± 1,27	808,74 ± 89,87 (2-1***; F=20,4)	246,11 ± 19,9	67,72 ± 14,41	135,23 ± 20,49	5,09 ± 0,45	16,02 ± 6,99	10,18 ± 4,54
3	4,58 ± 2,25 (3-2***; F=6,9)	775,48 ± 76,01	233,03 ± 17,26 (3-2**; F=4,5)	64,86 ± 10,58	131,6 ± 12,01	5,33 ± 0,39	28,76 ± 14,75 (3-2***; F=9,4)	18,1 ± 9,08 (3-2***; F=9,6)

таблицы Шульте – Платонова», «Часы с поворотом», «Реакция на движущийся объект».

Время быстрого кровенаполнения принимало максимальные значения в 1-й группе ( $71,16 \pm 6,21$ ) в сравнении с 3-й ( $65,89 \pm 6,06$ ) только в серии фоновой записи с закрытыми глазами в начале исследования ( $F = 3,7; p \leq 0,05$ ). В 1-й группе наблюдались максимальные значения времени медленного кровенаполнения и времени максимального систолического наполнения, в сравнении со значениями этих параметров в 3-й группе в обеих сериях регистрации фона в начале исследования и в сериях «Красно-черные таблицы Шульте – Платонова», «Часы с поворотом» и «Реакция на движущийся объект».

Установлено, что время быстрого кровенаполнения зависит от тонуса сосудистого русла на уровне крупных артерий, а также от объема регионарной фракции сердечного выброса. Увеличение этого показателя свидетельствует о сужении просвета артерий и повышении их тонуса. Увеличение времени медленного кровенаполнения свидетельствует о повышении тонуса мелких и средних артерий [7].

Следовательно, 1-я группа обследуемых характеризовалась выраженным тонусом всех калибров артерий в начале и середине электрофизиологического исследования. Ближе к концу тестирования межгрупповые отличия по этим временным параметрам нивелировались.

Скоростные показатели максимальной скорости быстрого кровенаполнения и средней скорости медленного кровенаполнения принимали минимальные значения во 2-й группе в сравнении с 3-й группой во всех сериях. Первая группа по этим же показателям во всех сериях достоверно отличалась от третьей группы, у которой имелись самые высокие значения этих параметров. Скорость распространения пульсовой волны также была выше в 3-й группе, чем во 2-й и 1-й группе, но только в обеих фоновых сериях до КФП и фоновой серии с открытыми глазами после КФП.

Согласно данным литературы, увеличение скоростных показателей сочетается с уменьшением временных параметров ФПГ и свидетельствует о снижении тонуса крупных и мелких артерий. Показано, что скорость возрастает с увеличением радиуса сосуда или общей емкости сосудистой системы, при этом растяжимость и податливость сосудов уменьшается. Следовательно, с увеличением напряженности и жесткости сосуда скорость увеличивается [5].

Это подтверждает предположение о наличии низкого тонуса и низкой эластичности артерий периферической сосудистой системы у курсантов из 3-й группы.

Самые низкие значения дикротического и диастолического индекса наблюдались у курсантов 3-й

группы, а самые высокие значения этих показателей отмечали в 1-й группе (табл. 3). Межгрупповые отличия этих параметров были достоверны во всех сериях исследования, за исключением параметра ДКИ в серии «Фон с закрытыми глазами в конце».

Согласно литературе, дикротический индекс преимущественно отражает тонус артериол, и зависит от состояния сосудистого сопротивления (в норме колеблется от 40 до 70 %), а диастолический индекс в большей степени отражает состояние оттока крови из артерий в вены и тонус вен (в норме не превосходит 75 %). Увеличение значений этих параметров свидетельствует об изменениях состояния периферического сосудистого русла по гипертоническому типу [7]. Следовательно, предположение о наличии повышенного тонуса периферических сосудов у курсантов из 1-й и 2-й групп находит еще одно подтверждение.

Индекс венозного оттока в 3-й группе был ниже, чем во 2-й группе в серии РДО и регистрации фона с открытыми глазами, что также подтверждает наличие сниженного тонуса периферических сосудов у курсантов из 3-й группы.

Показатель эластичности сосудов в 3-й группе был ниже, чем в 1-й и во 2-й группах в сериях «Красно-черные таблицы», «Часы с поворотом», «Реакция на движущийся объект», что также согласуется с нашими выводами о снижении упругоэластических свойств сосудистой стенки у курсантов из 3-й группы. Это подтвердилось и результатами анализа межгрупповых различий модуля упругости, согласно которому снижение эластичности сосудистой стенки наблюдалось у курсантов из 3-й и 2-й групп. Модуль упругости сосудистой стенки прямо пропорционален квадрату скорости распространения пульсовой волны и обратно связан с отношением толщины стенки к внутреннему радиусу [8, 9]. У курсантов из 3-й группы наблюдалось выраженное снижение упругоэластических свойств сосудистой стенки, а у курсантов 2-й группы определялось умеренное снижение этих свойств.

Факторный анализ, проведенный для каждой группы в отдельности по всем функциональным пробам, показал 5-факторную структуру взаимосвязей параметров пальцевой ФПГ и ВСР для каждой исследуемой группы. В 1-й группе наиболее важным для рассмотрения оказался 5-й фактор (критерии Кайзера – Мейера – Олкина = 0,77; сферичности Бартлетта  $p = 0,001$ ), объединивший в себе параметры ФПГ и ВСР с максимальным весом: HF (-0,93), LF/HF (0,80), VLF (0,66), ВРПВ (0,55), LF (0,53) и СРПВ (-0,53). Можно предположить, что чем выше относительная мощность модуляций сердечного ритма высокой частоты, тем ниже коэффициент вагосимпатического баланса, ниже относительная спектральная мощность низких и очень низких частот, меньше время распространения пульсовой

## Производные показатели ФПГ у курсантов 3 групп в разных функциональных пробах

Индекс/ № группы	ДКИ	ДСИ	ИВО	ПЭС	МУ
Фон с закрытыми глазами в начале					
1	37,28 ± 14,61 (1-3**; F=4,5)	47,22 ± 11,27 (1-3**; F=5,7)	8,83 ± 5,11	100,26 ± 12,58	15,38 ± 2,54
2	31,47 ± 15,1	45,41 ± 8,31	10,2 ± 6,05	97,07 ± 14,55	17,09 ± 2,3 (2-1*; F=4,5)
3	25,22 ± 12,56	38,98 ± 7,94 (3-2*; F=5,7)	9,05 ± 5,04	93,05 ± 11,32	16,94 ± 1,9
Фон с открытыми глазами в начале					
1	35,41 ± 17,3 (1-3*; F=3,4)	46,93 ± 13,04 (1-3*; F=4,5)	9,68 ± 6,25	100,46 ± 14,18	15,17 ± 2,6 (1-3*; F=6,0)
2	31,01 ± 13,38	45,13 ± 7,62	11,25 ± 5,5	99,29 ± 14,85	17,26 ± 2,53 (2-1**; F=6,0)
3	24,67 ± 13,46	39,04 ± 8,99	9,93 ± 5,72	95,12 ± 13	17,02 ± 1,95
Красно-черные таблицы Шульце – Платонова					
1	59,08 ± 21,66 (1-3***; F=7,5)	69,19 ± 23,66 (1-3***; F=9,6)	22,83 ± 16,43	116,67 ± 20,74 (1-3***; F=5,7)	17,67 ± 2,74
2	51,9 ± 20,75	62,75 ± 19,69	24,61 ± 18,78	112,41 ± 20,74	18,98 ± 2,63
3	38,53 ± 14,3 (3-2*; F=7,5)	47,13 ± 9,39 (3-2**; F=9,6)	15,66 ± 6,11	99,44 ± 14,66 (3-2**; F=5,7)	19,28 ± 2,09
Часы с поворотом					
1	51,31 ± 20,75 (1-3***; F=7,8)	61,75 ± 19,64 (1-3***; F=10,3)	20,9 ± 21,59	110,79 ± 17,32 (1-3***; F=6,8)	17,03 ± 2,64 (1-3*; F=5,4)
2	47,11 ± 17,84	57,76 ± 15,81	19,28 ± 9,1	107,68 ± 17,25	18,95 ± 2,34 (2-1**; F=5,4)
3	33,02 ± 12,69 (3-2**; F=7,8)	43,31 ± 8,9 (3-2**; F=10,3)	13,56 ± 5,74	95,39 ± 12,18 (3-2**; F=6,8)	18,76 ± 1,85
Реакция на движущийся объект					
1	55,31 ± 16,09 (1-3***; F=11,1)	65,17 ± 18,32 (1-3***; F=10,0)	14,88 ± 8,87	109,12 ± 16,1 (1-3***; F=6,4)	15,89 ± 2,69 (1-3**; F=6,1)
2	51,04 ± 21,57	62,95 ± 23,51	20,6 ± 17,11	107,41 ± 17,93	17,75 ± 2,4 (2-1**; F=6,1)
3	33,42 ± 13,32 (3-2***; F=11,1)	44,43 ± 9,17 (3-2***; F=10,0)	11,09 ± 6,45 (3-2**; F=4,4)	95,02 ± 11,51 (3-2**; F=6,4)	18,07 ± 2,02
Устный счет при закрытых глазах					
1	54,62 ± 19,22 (1-3**; F=6,3)	65,86 ± 19,66 (1-3**; F=7,0)	20,25 ± 10,48	115,24 ± 18,46	16,08 ± 2,72 (1-3**; F=8,0)
2	45,48 ± 27,08	60,78 ± 18,84	23,95 ± 14,87	112,52 ± 18,81	18,56 ± 2,9 (2-1**; F=8,0)
3	32,14 ± 19,42	47,44 ± 15,77 (3-2*; F=7,0)	17,5 ± 12,81	103,59 ± 16,25	18,74 ± 2,13
Фон с открытыми глазами в конце					
1	43,28 ± 21,36 (1-3**; F=6,2)	53,42 ± 18,04 (1-3**; F=7,5)	12,75 ± 7,13	107,47 ± 18,29	14,99 ± 2,96 (1-3**; F=7,4)
2	41,94 ± 16,57	53,3 ± 14,06	15,27 ± 8,96	105,37 ± 16,9	17,41 ± 2,53 (2-1**; F=7,4)
3	27,68 ± 15,27 (3-2**; F=6,2)	40,49 ± 8,18 (3-2**; F=7,5)	9,98 ± 5,61 (3-2**; F=3,5)	97,2 ± 12,77	17,35 ± 2,14
Фон с закрытыми глазами в конце					
1	44,17 ± 24,3	57,11 ± 21,26 (1-3*; F=5,0)	15,9 ± 10,51	108,73 ± 19,44	14,92 ± 2,86 (1-3**; F=5,9)
2	41,76 ± 15,46	55,05 ± 17,93	16,94 ± 13,82	103,35 ± 17,14	16,83 ± 2,62 (2-1**; F=5,9)
3	32,07 ± 17,11	43 ± 11,95 (3-2*; F=5,0)	10,39 ± 5,51	99,37 ± 15,61	17,13 ± 1,8

волны и выше скорость распространения пульсовой волны. Вероятно, выраженная активность парасимпатического отдела ВНС вместе с умеренным повышением тонуса сосудов периферического микроциркуляторного русла обеспечивают оптимальное функциональное состояние, необходимое для осуществления мыслительных операций по решению когнитивных задач.

Во 2-й группе интерес для интерпретации представлял 4-й фактор (критерии Кайзера – Мейера – Олкина = 0,77; сферичности Бартлетта  $p = 0,001$ ), в который вошли параметры: мода в распределении RR-интервалов (-0,89), длительность пульсовой волны (-0,88), математическое ожидание мгновенной ЧСС (0,88) и частота пульса, рассчитанная с помощью ФПГ (0,82) и LF (0,63). Чем выше получали относительную спектральную мощность в диапазоне низких частот, тем были выше ЧСС и меньше длительность пульсовой волны, что полностью согласуется с общепринятыми представлениями о симпатическом влиянии ВНС на сердечно-сосудистую систему.

В 3-й группе заслуживают внимания 5-й и 3-й факторы (критерии Кайзера – Мейера – Олкина = 0,77; сферичности Бартлетта  $p = 0,001$ ). Пятый фактор составляли показатели: HF (-0,88), LF/HF (0,78), ВРПВ (0,57) и СРПВ (-0,55). Чем ниже получали относительная спектральная мощность в диапазоне высоких частот, тем был выше коэффициент вагосимпатического баланса, больше время распространения пульсовой волны, но ниже скорость ее распространения. Установленные связи были подобны связям, характерным для 1-й группы, и не являлись специфическими для обнаружения межгрупповых различий в физиологических механизмах адаптации. Вместе с этим структура 3-го фактора свидетельствовала о наличии таких различий между 1-й и 3-й группами. Показано, что 3-й фактор включал в себя параметры: МОЧСС (0,84), ЧП (0,83), ДПВ (-0,82), Мо (-0,82), МУ (0,80), LF (0,75), VLF (-0,59), ВБКН (0,31). Вероятно, чем выше была относительная спектральная мощность в диапазоне низких частот, тем имели место больше ЧСС и время быстрого кровенаполнения, меньше эластичность сосудистых стенок, меньше длительность пульсовой волны и ниже относительная мощность в полосе очень низких частот. В работе [2] показано наличие положительных корреляций уровня десинхронизации ЭЭГ в правом и левом центральном отведении с показателем VLF при решении задачи «Часы с поворотом» и отрицательной корреляции VLF с уровнем десинхронизации ЭЭГ в левом центральном отведении в серии РДО. Разнонаправленность полученных связей, сочетающихся с низким уровнем активации коры и эффективности решения когнитивных задач, позволила сделать заключение о наличии гуморально-гормонального дисбаланса, инициированного стрессовой реакцией на обследование.

В литературе представлено множество работ, указывающих на связи параметра VLF с механизмами терморегуляции, физиологической адаптацией, энергодефицитными, иммунными, кислородозависимыми процессами, эмоциональными психическими процессами и генетически детерминированными депрессивными состояниями, а также концентрацией катехоламинов и ренин-ангиотензина [3, 10–16]. Ангиотензин II обладает мощным вазоконстрикторным действием и образуется из ангиотензина I под действием ангиотензин-превращающего фермента (АПФ), который экспрессируется на поверхности эндотелиальной клетки. Установлено, что I/D полиморфизм гена АПФ ( $p \leq 0,05$ ) положительно связан со спектральными показателями сердечного ритма в покое в диапазоне VLF и активном ортостазе (VLF, HF, VLF/HF) [17]. Образовавшийся ангиотензин II связывается с соответствующими рецепторами, расположенными на поверхности гладкомышечной клетки, и вызывает ее сокращение [18]. Помимо вазоконстрикторного действия ангиотензин II активизирует образование свободных радикалов, стимулирует пролиферацию меди и продукцию эндотелина-1, обладающего также вазоконстрикторным действием на сосудистую систему [19].

В нашем исследовании установлены отрицательные связи между модулем упругости и показателем VLF. Следовательно, чем выше показатель VLF, тем должен быть меньше модуль упругости и должна быть выше эластичность стенок периферических сосудов. В то же время показано, что эластичность стенок периферических сосудов у курсантов 3-й группы низкая, а показатель VLF высокий. Помимо этого у курсантов этой группы были отмечены и самые высокие значения диастолического артериального давления. Установлено, что высота диастолического давления в основном определяется степенью проходимости системы прекапилляров и чем больше сопротивление прекапиллярной системы, тем выше поднимается диастолическое давление. Из этого следует, что физиологические процессы, сопровождающие повышение показателя VLF у курсантов с низким уровнем адаптации, возможно, направлены на оптимизацию сосудистого тонуса, через механизмы гуморальной регуляции и имеют компенсационный характер. В поддержку этой гипотезы свидетельствуют работы, показывающие, что отдельные компоненты в структуре VLF (VLF100, VLF50) могут демонстрировать реципрокные взаимоотношения между собой и по отношению LF/HF и играть адаптивную роль в механизмах вегетативной регуляции [3]. Эти неоднозначные взаимоотношения нуждаются в дополнительном изучении. Показатель относительной мощности в диапазоне очень низких частот в перспективе может служить прогностическим признаком предрасположенности к сердечно-сосудистой патологии, а также уровня ВПА.

### Выводы

1. Первая группа обследуемых характеризовалась высоким уровнем военно-профессиональной адаптации, физического развития, развития когнитивных функций; выраженной активацией сенсомоторной коры правого полушария головного мозга, высокими значениями общей спектральной мощности модуляций сердечного ритма и относительной мощности в диапазоне высоких частот (HF), умеренным сосудистым тонусом и высокой эластичностью периферических артерий.

2. Вторая группа отличалась средним уровнем военно-профессиональной адаптации, высоким уровнем развития счетных навыков, низкой биоэлектрической активностью сенсомоторной коры головного мозга и низкой общей спектральной мощностью модуляций сердечного ритма, высокими значениями относительной мощности в диапазоне низких частот (LF), а также повышенным сосудистым тонусом и умеренной эластичностью периферических артерий.

3. Третья группа обследуемых показала низкий уровень военно-профессиональной адаптации, развития когнитивных функций, характеризовалась высокими значениями показателя LF и VLF, сниженной активностью сенсомоторной коры головного мозга, а также сниженным сосудистым тонусом и низкими упругоэластическими свойствами артерий периферической сосудистой системы.

4. Установленные межгрупповые отличия параметров ФПГ, ЭЭГ и ВСР позволили выделить специфические для каждой исследуемой группы профили, характеризующие разные уровни адаптации. Результаты данного исследования в дальнейшем могут быть использованы для создания нового аппарата психодиагностики с целью повышения качества профотбора военных специалистов ВМФ.

### Список литературы

1. Pavlov K.I., Mukhin V.N., Syrtsev A.V. et al. Heart rate variability method in the study of cognitive functions and military occupational adaptation // *Med. Academic J.* 2017. V. 17. № 4. P. 7–16.

2. Павлов К.И., Сырцев А.В., Мухин В.Н. и др. Определение информативности электрофизиологических показателей для оценки военно-профессиональной адаптации курсантов военно-морского института // *Авиакосм. и экол. мед.* 2019. Т. 53. № 3. С. 57–66.

Pavlov K.I., Syrtsev A.V., Mukhin V.N. et al. Analysis of informativity of electrophysiological data in context of rating military occupational adaptation of naval school students // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2019. V. 53. № 3. P. 57–66.

3. Флейшман А.Н., Мартынов И.Д., Петровский С.А., Кораблина Т.В. Ортостатическая тахикардия: диагностическое и прогностическое значение Very low frequency variability ритма сердца // *Бюллетень сиб. мед.* 2014. Т. 13. № 4. С. 136–148.

Fleishman A.N., Martynov I.D., Petrovsky S.A., Korablina T.V. Orthostatic tachycardia: diagnostic and prognostic value Very low frequency heart rate variability // *Byulleten' sibirskoy meditsiny.* 2014. V. 13. № 4. P. 136–148.

4. Кубланов В.С., Пуртов К.С. Дистанционная фотоплетизмография в задаче исследования variability сердечного ритма // *Биомед. радиоэлектроника.* 2015. № 8. С. 3–9.

Kublanov V.S., Purto K.S. Remote photoplethysmography in the study of heart rate variability // *Biomeditsinskaya radioelektronika.* 2015. № 8. P. 3–9.

5. Власова С.П., Ильченко М.Ю., Казакова Е.Б. и др. Дисфункция эндотелия и артериальная гипертензия. Самара, 2010.

Vlasova S.P., Il'chenko M.Yu., Kazakova E.B. et al. Endothelial dysfunction and arterial hypertension. Samara, 2010.

6. Akselrod S., Gordon D., Madwed J.B. et al. Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis // *Am. J. Physiol.* 1985. V. 249. P. 867–875.

7. Зенков Л.Р., Ронкин М.А. Функциональная диагностика нервных болезней: Руководство для врачей. 5-е изд. М., 2013.

Zenkov L.R., Ronkin M.A. Functional diagnosis of nervous diseases: a guide for physicians. 5th ed. Moscow, 2013.

8. Савицкий Н.Н. Биофизические основы кровообращения и клинические методы изучения гемодинамики. Л., 1974.

Savitsky N.N. Biophysical principles of blood circulation and clinical methods of studying hemodynamics. Leningrad, 1974.

9. Bank A.J. Smooth muscle relaxation. Effects on arterial compliance, distensibility, elastic modulus, and pulse wave velocity // *Hypertension.* 1998. V. 32. P. 356–359.

10. Миронов С.А. К вопросу о перспективах использования фотоплетизмографии для выявления аффективных состояний у человека // *Bulletin of Medical Internet Conferences.* 2015. Т. 5. № 8. С. 1116.

Mironov S.A. On the issue of the prospects for using photoplethysmography to identify affective states in humans // *Bulletin of Medical Internet Conferences.* 2015. V. 5. № 8. P. 1116.

11. Busek P., Vanková J., Opavský J. et al. Spectral analysis of the heart rate variability in sleep // *Physiol. Res.* 2005. V. 54. № 4. P. 369–376.

12. Su S., Lampert R., Lee F. et al. Common genes contribute to depressive symptoms and heart rate variability // *Twin Res. Hum. Genet.* 2010. V. 13. № 1. P. 1–9.

13. Tripathi K.K. Very low frequency oscillations in the power spectra of heart rate variability during dry supine immersion and exposure to non-hypoxic hypobaric // *Physiol. Meas.* 2011. V. 32. № 6. P. 717–729.

14. *Chen W.L., Shen Y.S., Huang C.C. et al.* Postresuscitation autonomic nervous modulation after cardiac arrest resembles that of severe sepsis // *Am. J. Emerg. Med.* 2012. V. 30. № 1. P. 143–150.

15. *Koko K.R., McCauley B.D., Gaughan J.P. et al.* Spectral analysis of heart rate variability predicts mortality and instability from vascular injury // *J. Surg. Res.* 2018. V. 224. P. 64–71.

16. *Gil E., Orini M., Bailón R. et al.* Photoplethysmography pulse rate variability as a surrogate measurement of heart rate variability during non-stationary conditions // *Physiol. Meas.* 2010. V. 31. № 9. P. 1271–1290.

17. *Мухин В.Н., Загранцев В.В., Макаренко О.И.* Анализ variability сердечного ритма в оценке психофизического потенциала спортсменов-учащихся училищ олимпийского резерва // *Генетические, психофизические и педагогические технологии подготовки спортсменов: Сб. науч. трудов.* СПб., 2006. С. 103–117.

*Mukhin V.N., Zagrantsev V.V., Makarenko O.I.* Analysis of heart rate variability in the assessment of the psychophysical potential of athletes-pupils of schools of the Olympic reserve // *Genetic, psychophysical and pedagogical technologies for training athletes: Collection of scientific papers.* St. Petersburg, 2006. P. 103–117.

18. *Карпов Ю.А.* Ренин-агитензиновая система сосудистой стенки как мишень для терапевтических воздействий // *Кардиология.* 2003. № 5. С. 82–86.

*Karpov Yu.A.* Renin-angiotensin system of the vascular wall as a target for therapeutic effects // *Kardiologiya.* 2003. № 5. P. 82–86.

19. *Shaw S., Barton M. et al.* Losartan but not verapamil inhibits angiotensin II-induced tissue endothelin-1 increase // *Hypertension.* 1998. V. 31. P. 1305–1310.

## **PERIPHERAL HEMODYNAMICS AND VASOREGULATION IN CADETS DURING MILITARY OCCUPATIONAL ADAPTATION**

**Pavlov K.I.<sup>1</sup>, Syrtsev A.V.<sup>1</sup>, Mukhin V.N.<sup>2</sup>, Arkhimuk A.N.<sup>1</sup>, Mikheev A.V.<sup>1</sup>, Kopytova Yu.S.<sup>1</sup>, Khamitova E.A.<sup>1</sup>, Sysoev V.N.<sup>3</sup>, Petrenko M.I.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Kuznetsov Naval Academy, St. Petersburg

<sup>2</sup>Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg

<sup>3</sup>Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg

*Purpose of the work was to evaluate the role of cardiovascular system regulation on military occupational adaptation. Participants were first-year cadets of a military school (n = 81, mean age 19.07 ± 0.77 years). Pronouncedness of adaptation was the external criterion for dividing the participants into three groups. Methods of investigations included psychological, psychophysiological and physiological tests, finger photoplethysmography, analysis of heart rate variability and electroencephalography. The group of low military occupational adaptation demonstrated low-developed cognitive functions of perception, spatial orientation, attention and thinking, high LF and VLF values, and low sensorimotor cortex activity. In addition, the group was characterized by low vascular tone and elasticity of peripheral arteries.*

Key words: cognitive functions, adaptation, finger photoplethysmography, heart rate variability.

*Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).* 2019. V. 53. № 5. P. 39–48.

Поступила 26.10.2018

УДК 821.161.1-34/4+5+001

## ПРОФИЛАКТИКА ВОСПАЛЕНИЯ РОТОГЛОТКИ У ЛИЦ ОПАСНЫХ ПРОФЕССИЙ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Прокопович Л.С., Ильин В.К., Никонов Р.В.

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

E-mail: ilyin@imbp.ru, Lyalya.Prokopovich@gmail.com, megaalarm@yandex.ru

*Продemonстрировано положительное влияние пробиотического штамма Streptococcus salivarius BLIS K12 на микробиоценоз ротоглотки лиц опасных профессий в экстремальных рабочих условиях при комплексной оценке результатов микробиологического контроля ротовой и слюнной жидкости.*

Ключевые слова: профилактика, Streptococcus salivarius, ротоглотка, лица опасных профессий.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 5. С. 49–59.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-5-49-59

Экстремальные условия резко отличаются от обычных и воздействуют на психику, не адаптированную к ним, как стрессоры. Примеры: условия Крайнего Севера, условия пустыни, длительный морской поход, любая длительная изоляция, нахождение в невесомости или под водой, высотная болезнь летчиков-испытателей и горных спасателей, периодическое или постоянное интенсивное шумовое и световое воздействия, депривация сна, длительная операторская деятельность [1]. В этих условиях все силы человека нацелены на выживание, что провоцирует стресс, изменяющий резистентность организма, которую можно спрогнозировать, согласно разработанным алгоритмам [2].

В процессе пребывания людей в среде с измененными параметрами или в экстремальных условиях обнаружено, что скорость слюноотделения в космическом полете, в частности, снижается в 1,5 раза, что приводит к ухудшению естественного очищения рта, увеличению содержания осадка в слюне более 5 %, обильному отложению зубного налета и камня и, в конечном счете, сопровождается изменениями состояния микрофлоры и устойчивости слизистых оболочек ротоглотки к инфекциям [3–7]. В экстремальных условиях вероятность осложнений в виде кариеса, пародонтита или любого другого воспаления ротоглотки сильно возрастает вследствие хронического стресса и сужения периферических сосудов, провоцирующих венозный застой в центральных сосудах малого круга кровообращения, а при таком застое повышается сухость во рту и усиление активности патогенных представителей микробиоценоза ротоглотки [8–11].

Механизм микробной интерференции является основой фармакодинамики пробиотических препаратов, но, к сожалению, не все официальные препараты оказывают значимое профилактическое влияние. Лиофилизированные микробы в таблетированной форме могут всего лишь транзитивно заполнять биотоп ротоглотки при пероральном приеме. Поэтому эффективность таких препаратов может зависеть от дозы и агрессивности местного иммунитета.

Вышеперечисленные факты послужили основанием для проведения исследования активности пробиотических препаратов на основе сертифицированного лиофилизированного штамма Streptococcus salivarius BLIS K12, ранее не применявшегося у лиц опасных профессий, работающих в экстремальных условиях.

Согласно International Clinical Trials Registry Platform Всемирной организации здравоохранения, данное исследование является рандомизированным контролируемым наблюдением без маскировки, IV фазы клинических исследований официального, зарегистрированного в Российской Федерации лекарственного препарата в форме таблеток на основе лиофилизированного пробиотического штамма Streptococcus salivarius BLIS K12. Исследование проводилось для подтверждения положительно оцененных данных о безопасности и эффективности указанного лекарственного средства в ходе II и III фаз клинических исследований для профилактики и лечения воспаления ротоглотки у взрослых и детей, а также установления возможности и целесообразности его использования для профилактики воспаления ротоглотки у лиц опасных профессий в экстремальных условиях.

### Методика

Программа исследования одобрена Комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 478 от 3 июля 2018 г.). Исследование проводилось в течение 4 мес (120 дней) с участием 8 практически здоровых мужчин в возрасте 25–30 лет без выраженных различий по антропометрическим

показателям. Согласно Положению, утвержденному приказом Министерства здравоохранения РФ от 10 июля 2015 г. № 433 [12], были созданы 2 формы Информированного согласия – для контрольной группы и для участников-добровольцев, включавшие описание методики исследования, которые были подписаны всеми участниками после ознакомления.

Критерии включения: участники 4-месячного пребывания в стране со смешанным субтропическим и засушливым континентальным климатом при периодическом световом воздействии в диапазоне яркостью 2,5–7,5 млн кд и шумовом воздействии 165–185 дБ, периодической вынужденной непрерывной операторской деятельности до 72 ч, с потенциальной угрозой эпидемии нозокомиальных и других опасных инфекций – выбирались из числа лиц, работающих в условиях пониженного и повышенного давления окружающей газовой или водной среды, невесомости, перегрузок и других экстремальных условиях.

Критерии исключения: индивидуальная гиперчувствительность к компонентам препарата БактоБЛИС (Bactoblis), производства Medico domus o.o.o. (18116 Nis, Svetog Cara Konstantina 82-86, Республика Сербия) для компании Bluestone Pharma (Rathausstr. 14, CH-6340 Baar, Швейцария), содержащего пробиотический штамм *Streptococcus salivarius* K 12 (BLIS K12) в количестве 1 млрд колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 таблетке для рассасывания.

Верхние дыхательные и пищеварительные пути являются наиболее колонизируемым биотопом для всех известных бактерий, особенно патогенов [13]. Доказано, что *Streptococcus salivarius* и особенно его подвид – *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* способны к ингибированию роста биопленок с участием *Streptococcus mutans* [14] без участия *Veillonella spp.* [15], а также *Streptococcus pyogenes* [16]. На основе обоих видов саливарного стрептококка создано 3 официальных пробиотических препарата: это сертифицированные, патентованные пробиотические штаммы BLIS K12 и M18 *Streptococcus salivarius* [17, 18] в пастилках, жевательных резинках и таблетках. Применение *Streptococcus salivarius*, а именно его подвида *thermophilus*, в российской пищевой промышленности регламентировано ГОСТ Р 52094-2003 Ряженка. Технические условия [19]. Международный GRAS-статус (Generally Regarded as Safe) разрешает использование *Streptococcus salivarius* и его подвида – *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* в пищевой и фармацевтической промышленности, а также его применение у детей с первых дней жизни [20, 21].

Согласно плану исследования, после подписания Информированного согласия методом случайной выборки определили, кому достанется препарат

БактоБЛИС (Bactoblis), производства Medico domus o.o.o. (Сербия) для компании Bluestone Pharma (Швейцария), содержащего пробиотический штамм *Streptococcus salivarius* K 12 (BLIS K12) в количестве 1 млрд КОЕ в 1 таблетке, а кто будет пользоваться только стандартными средствами профилактики и гигиены рта, такими, как зубная нить, зубная паста, зубная щетка и ультрафиолетовый стерилизатор для зубной щетки.

В ходе начального клинико-лабораторного стоматологического осмотра, включающего микробиологический контроль в виде мазка со слизистой ротоглотки, участникам были даны рекомендации по режиму питания, труда и отдыха, гигиены рта с использованием зубной щетки, зубной пасты, зубной нити, индивидуальной посуды.

Согласно сценарию исследования, 8 человек отправляются в пеший поход на 4 мес. Пятеро добровольцев на протяжении похода принимают по 1 таблетке пробиотического препарата на основе штамма *Streptococcus salivarius* BLIS K12 дважды в день, 3 участников находятся в контрольной группе в тех же экстремальных условиях. По возвращении участников данного клинического исследования врачами-исследователями проводился заключительный клинический осмотр и микробиологический контроль. Отсроченный стоматологический осмотр и микробиологический контроль проводились через 4 мес. Анализ данных проводился на основании результатов 3 клинико-лабораторных стоматологических осмотров, включавших микробиологический контроль [1, 12].

При заполнении индивидуальных регистрационных карт участников III фазы клинических исследований врачом-стоматологом были проведены стоматологические лабораторно-клинические осмотры с измерением температуры тела и артериального давления, лучевой визуализацией, осмотром и описанием конфигурации лиц участников, цвета и чистоты видимых кожных покровов, состояния красной каймы губ, пальпацией регионарных лимфатических узлов головы и шеи, чувствительности точек выхода тройничного нерва, проверкой функций височно-нижнечелюстного сустава с аускультацией, фиксацией гигиенических индексов API, SPITN (табл. 1, 2), клинического статуса слизистой ротоглотки с использованием классификации по Люнду, клинического статуса выводных протоков околоушных и подъязычных слюнных желез, статуса и положения небных миндалин, статуса и типа языка. Осмотр дополнялся взятием образцов десневой жидкости на исследование с помощью ПЦР на диагностическом оборудовании кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения России и ротовой жидкости на исследование классическим бактериологическим методом, с

**Шкала Community Periodontal Index (CPI) с определением кодов индекса необходимости  
лечения заболеваний пародонта (CPITN) участников**

Индекс CPITN / Участники и расшифровка оценки	CPI до начала исследования / Количество вовлеченных секстантов	CPI после окончания исследования / Количество вовлеченных секстантов	CPI через 4 мес после исследования / Количество вовлеченных секстантов
<b>Участник 1</b>			
0 – Интактный пародонт	5	3	4
1 – Кровоточивость десен при прикосновении зондом	1	2	1
2 – Над- или поддесневой зубной камень	0	1	1
3 – Пародонтальный карман 4–5 мм	0	0	0
4 – Пародонтальный карман более 6 мм	0	0	0
<i>Общая оценка по CPI</i>	1	2	2
<i>Общая оценка по CPITN</i>	Код 1	Код 2	Код 2
<b>Участник 2</b>			
0 – Интактный пародонт	4	3	5
1 – Кровоточивость десен при прикосновении зондом	2	1	1
2 – Над- или поддесневой зубной камень	0	2	0
3 – Пародонтальный карман 4–5 мм	0	0	0
4 – Пародонтальный карман более 6 мм	0	0	0
<i>Общая оценка по CPI</i>	1	2	0
<i>Общая оценка по CPITN</i>	Код 1	Код 2	Код 1
<b>Участник 3</b>			
0 – Интактный пародонт	6	3	5
1 – Кровоточивость десен при прикосновении зондом	0	1	1
2 – Над или поддесневой зубной камень	0	2	0
3 – Пародонтальный карман 4–5 мм	0	0	0
4 – Пародонтальный карман более 6 мм	0	0	0
<i>Общая оценка по CPI</i>	0	2	0
<i>Общая оценка по CPITN</i>	Код 0	Код 2	Код 1
<b>Участник 4</b>			
0 – Интактный пародонт	6	6	6
1 – Кровоточивость десен при прикосновении зондом	0	0	0
2 – Над- или поддесневой зубной камень	0	0	0
3 – Пародонтальный карман 4–5 мм	0	0	0
4 – Пародонтальный карман более 6 мм	0	0	0
<i>Общая оценка по CPI</i>	0	0	0
<i>Общая оценка по CPITN</i>	Код 0	Код 0	Код 0
<b>Участник 5</b>			
0 – Интактный пародонт	6	6	6
1 – Кровоточивость десен при прикосновении зондом	0	0	0
2 – Над- или поддесневой зубной камень	0	0	0
3 – Пародонтальный карман 4–5 мм	0	0	0
4 – Пародонтальный карман более 6 мм	0	0	0
<i>Общая оценка по CPI</i>	0	0	0
<i>Общая оценка по CPITN</i>	Код 0	Код 0	Код 0
<b>Участник 6</b>			
0 – Интактный пародонт	5	4	6
1 – Кровоточивость десен при прикосновении зондом	1	1	0
2 – Над- или поддесневой зубной камень	0	1	0
3 – Пародонтальный карман 4–5 мм	0	0	0
4 – Пародонтальный карман более 6 мм	0	0	0
<i>Общая оценка по CPI</i>	1	2	0
<i>Общая оценка по CPITN</i>	Код 1	Код 2	Код 0

продолжение таблицы 1

Индекс CPITN / Участники и расшифровка оценки	CPI до начала исследования / Количество вовлеченных секстантов	CPI после окончания исследования / Количество вовлеченных секстантов	CPI через 4 мес после исследования / Количество вовлеченных секстантов
<b>Участник 7</b>			
0 – Интактный пародонт	6	6	6
1 – Кровоточивость десен при прикосновении зондом	0	0	0
2 – Над- или поддесневой зубной камень	0	0	0
3 – Пародонтальный карман 4–5 мм	0	0	0
4 – Пародонтальный карман более 6 мм	0	0	0
Общая оценка по CPI	0	0	0
Общая оценка по CPITN	Код 0	Код 0	Код 0
<b>Участник 8</b>			
0 – Интактный пародонт	4	4	6
1 – Кровоточивость десен при прикосновении зондом	2	1	0
2 – Над- или поддесневой зубной камень	0	1	0
3 – Пародонтальный карман 4–5 мм	0	0	0
4 – Пародонтальный карман более 6 мм	0	0	0
Общая оценка по CPI	1	0	0
Общая оценка по CPITN	Код 1	Код 2	Код 0

Примечание. Коды шкал CPI и CPITN:

0 – отсутствие признаков заболевания: лечение не требуется.

1 – кровоточивость после зондирования, десневой край слегка воспален: обучение индивидуальной гигиене полости рта и контроль за гигиеническим состоянием.

2 – зубной камень или другие факторы, задерживающие налет (нависающие края пломб и др.), видимы или ощущаются во время зондирования. Необходимо провести профессиональную гигиену и устранить факторы, способствующие задержке зубного налета. Кроме того, пациент нуждается в обучении гигиене полости рта.

3 – патологический карман 4 или 5 мм (край десны находится в черной области зонда или скрывается метка 3, 5 мм). Необходимо провести профессиональную гигиену и кюретаж, что обычно уменьшает воспаление и снижает глубину кармана до значений, равных или меньших 3 мм.

4 – патологический карман глубиной 6 мм или более (при этом метка 5, 5 мм или черная область зонда скрываются в кармане). Иногда можно успешно вылечить с помощью глубокого кюретажа и адекватной гигиены полости рта. В других случаях это лечение не помогает и тогда требуется комплексное лечение, которое включает в себя глубокий кюретаж.

X – когда в секстанте присутствует только один зуб или нет ни одного зуба (третьи моляры исключаются, кроме тех случаев, когда они находятся на месте вторых моляров).

Таблица 2

**Упрощенный индекс зубного налета на апроксимальных поверхностях зубов участников (API) по Lange на всех этапах исследования, в %**

№ участника	API до начала исследования	API после окончания исследования	API через 4 месяца после исследования
1	35	70	50
2	40	55	40
3	35	75	40
4	35	45	30
5	30	35	25
6	40	70	25
7	35	50	25
8	50	70	30

Примечание. После окрашивания налета оценивали его наличие (в форме ответа «да/нет») на апроксимальных поверхностях. Оценку зубного налета на апроксимальных участках по индексу API проводят на оральных поверхностях 1-го и 3-го квадрантов и вестибулярных поверхностях 2-го и 4-го квадрантов.

Сумма позитивных результатов определения зубного налета API = «количество затронутых квадрантов» x 100 %.

API < 25 % – оптимальный уровень гигиены рта.

API = 25–39 % – достаточный уровень гигиены рта.

API = 40–69 % – удовлетворительное гигиеническое состояние полости рта.

API = 70–100 % – неудовлетворительное состояние полости рта.

API < 35 % свидетельствует о регулярной профессиональной гигиене у пациента.

использованием диагностического оборудования лаборатории-партнера ФГБУН «ЦНИИ эпидемиологии Росздравнадзора» – LabQuest®.

Образцы ротовой жидкости с мягких тканей ротоглотки (по одному исследованию для следующих биотопов: преддверие рта, щеки, язык, нёбо, миндалины, задняя стенка глотки) для бактериологического метода собирались с помощью стерильных ватных тампонов, которые далее помещались в одноразовые закрывающиеся пробирки со скошенным транспортным агаром. Посев биоматериала проводился на плотные питательные среды – Колумбийский агар (КА) с добавлением стерильной дефибрированной крови барана (до 5 %); агар Сабуро, с дополнительной идентификацией с использованием хромогенной среды для грибов рода *Candida*; стафилококковый агар (СА) N110, с последующей оценкой видового и количественного соотношения микробов в динамике. Предварительная бактериологическая идентификация проводилась в ходе осмотра колоний квалифицированным врачом-микробиологом. Идентификации микроорганизмов выполнены с помощью масс-спектрометра Microflex™ LT MALDI-ToF (Bruker Daltonics, Германия), с использованием систем 96-позиционных мишеней MALDI BioTyper™, программы Flex Control (Ver. 3.3, Build 108). Белковые паттерны идентифицировались в программе MALDI BioTyper™ 3.0 (Bruker Daltonics, Германия). Таксономическая принадлежность микроорганизма и достоверность идентификации определялись в соответствии со значением индекса совпадения (Score Value – SV). Достоверная идентификация до вида (SV выше 2,30) установлена в 99,1 % случаев.

Образцы десневой жидкости отбирались по методу Рамфьорда в десневой борозде с помощью стерильного пинцета и стерильных одноразовых бумажных эндодонтических штифтов в течение 5 мин, после чего пробоотборники с биологическим материалом помещались в одноразовые стерильные пробирки «Эппендорф» с физиологическим раствором и немедленно замораживались до  $t -20^{\circ}\text{C}$ . Для последующей диагностики с помощью полимеразной цепной реакции использовалось диагностическое оборудование «Мультидент-5» производства ООО НПФ «Генлаб» (Москва) с комплектом реагентов для проведения амплификации ДНК пародонтопатогенов I порядка из лаборатории кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава России.

#### Результаты и обсуждение

У 2 добровольцев в результате микробиологического исследования ротовой жидкости после возвращения из похода были выявлены бактерии *Klebsiella spp.*, у других 2 была обнаружена синегнойная палочка – *Pseudomonas aeruginosa*, еще 2 были инфицированы *Neisseria spp.*, у 1 обнаружена *Haemophilus influenza*, 4 добровольцев были поражены *Candida spp.* (табл. 3, 4, 6, 7).

Следует отметить, что содержание таких условных патогенов, как бета-гемолитический стрептококк группы А, представленный *Streptococcus pyogenes*, снизилось в группе, принимавших пробиотик BLIS K12, в 2 раза по сравнению с исходным контролем, бактерии вида *Streptococcus mutans* на выходном контроле не высеивались, в результате

Таблица 3

Показатели микробиоценоза ротоглотки участников до начала исследования в контрольной группе

№ участника	Биотоп	Питательная среда	Результат
1	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Staphylococcus hominis</i> – $1 \times 10^4$
			<i>Streptococcus mutans</i> – $1 \times 10^2$
			<i>Streptococcus pyogenes</i> – $6 \times 10^4$
			<i>Prevotella melaninogenica</i> – $1 \times 10^3$
<i>Actinomyces naeslundii</i> – $1 \times 10^5$			
2	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	<i>Candida albicans</i> – $1 \times 10^2$
		КА и СА № 110	<i>Streptococcus sanguinis</i> – $1 \times 10^4$
			<i>Staphylococcus aureus</i> – $1 \times 10^3$
			<i>Porphyromonas gingivalis</i> – $1 \times 10^4$
			<i>Streptococcus pyogenes</i> – $1 \times 10^5$
<i>Actinomyces israelii</i> – $1 \times 10^5$			
3	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Lactobacillus acidophilus</i> – $1 \times 10^7$
			<i>Streptococcus mutans</i> – $2 \times 10^5$
			<i>Prevotella oralis</i> – $2 \times 10^3$

приема пробиотиков произошла эрадикация золотистого стафилококка (участники 4 и 7), количество прочих стафилококков снизилось на 1 порядок, в отличие от контрольной группы. Протективная микрофлора, представленная непатогенными нейссериями в группе, принимавшей препарат, была достоверно

выше, чем в контрольной группе. Пародонтопатоген *Prevotella intermedia* встречался только в контрольной группе у 1 человека (табл. 3–8).

Жалоб на болезненные ощущения в ротоглотке при осмотре лиц опасных профессий после возвращения из измененной среды обитания экстремальных

Таблица 4

**Показатели микробиоценоза ротоглотки участников до начала исследования в группе приема пробиотического штамма BLIS K12**

№ участника	Биотоп	Питательная среда	Результат
4	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Lactobacillus reuteri</i> – 1x10 <sup>5</sup>
			<i>Neisseria mucosa</i> – 1x10 <sup>4</sup>
			<i>Streptococcus anginosus</i> – 1x10 <sup>3</sup>
			<i>Staphylococcus aureus</i> – 1x10 <sup>4</sup>
		<i>Streptococcus mutans</i> – 1x10 <sup>4</sup>	
5	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Lactobacillus reuteri</i> – 1x10 <sup>8</sup>
			<i>Streptococcus anginosus</i> – 1x10 <sup>5</sup>
		<i>Streptococcus pyogenes</i> – 2x10 <sup>3</sup>	
6	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Streptococcus mutans</i> – 1x10 <sup>3</sup>
			<i>Neisseria sicca</i> – 1x10 <sup>6</sup>
			<i>Lactobacillus acidophilus</i> – 1x10 <sup>5</sup>
		<i>Prevotella melaninogenica</i> – 1x10 <sup>3</sup>	
7	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Streptococcus sanguinis</i> – 1x10 <sup>4</sup>
			<i>Actinomyces israelii</i> – 2x10 <sup>4</sup>
			<i>Staphylococcus aureus</i> – 2x10 <sup>3</sup>
		<i>Actinomyces viscosus</i> – 1x10 <sup>5</sup>	
8	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	<i>Candida albicans</i> – 1x10 <sup>6</sup>
		КА и СА № 110	<i>Streptococcus pyogenes</i> – 4x10 <sup>3</sup>
			<i>Staphylococcus hominis</i> – 5x10 <sup>2</sup>
			<i>Escherichia coli</i> – 1x10 <sup>4</sup>

Таблица 5

**Результаты ПЦР-диагностики десневой жидкости участников до исследования**

№ участника	Область забора материала	Pi	Tf	Td	Aa	Pg
1	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	+	-	-	-	+
2	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	+	+
3	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	+	-	+
4	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	-	+
5	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	+	+
6	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	+	+
7	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	-	-
8	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	+	-

Примечание. В стандартной панели теста «Мультидент-5» представлены пародонтопатогены I и II порядков: *Prevotella intermedia* (Pi), *Tanarella forsythia* (Tf), *Treponema denticola* (Td), *Porphyromonas gingivalis* (Pg).

Таблица 6

**Результаты микробиологического исследования в контрольной группе  
после возвращения из похода**

№ участника	Биотоп	Питательная среда	Результат
1	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	<i>Candida krusei</i> – 1x10 <sup>2</sup>
		КА и СА № 110	<i>Streptococcus pyogenes</i> – 1x10 <sup>7</sup>
			<i>Staphylococcus capitis</i> – 1x10 <sup>7</sup>
			<i>Streptococcus mitis</i> – 1x10 <sup>4</sup>
			<i>Fusobacterium nucleatum</i> – 1x10 <sup>4</sup>
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i> – 1x10 <sup>7</sup>
			<i>Prevotella intermedia</i> – 7x10 <sup>6</sup>
<i>Klebsiella pneumonia</i> – 5x10 <sup>6</sup>			
2	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	<i>Candida albicans</i> – 3x10 <sup>5</sup>
		КА и СА № 110	<i>Streptococcus sanguinis</i> – 8x10 <sup>6</sup>
			<i>Streptococcus pyogenes</i> – 1x10 <sup>6</sup>
			<i>Staphylococcus aureus</i> – 5x10 <sup>5</sup>
			<i>Porphyromonas gingivalis</i> – 7x10 <sup>4</sup>
			<i>Lactobacillus acidophilus</i> – 2x10 <sup>3</sup>
			<i>Actinomyces odontolyticus</i> – 1x10 <sup>5</sup>
3	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	<i>Candida krusei</i> – 3x10 <sup>5</sup>
		КА и СА № 110	<i>Streptococcus mutans</i> – 2x10 <sup>5</sup>
			<i>Porphyromonas gingivalis</i> – 1x10 <sup>4</sup>
			<i>Neisseria subflava</i> – 1x10 <sup>4</sup>
			<i>Prevotella oralis</i> – 2x10 <sup>5</sup>
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i> – 1x10 <sup>7</sup>

Таблица 7

**Показатели микробиоценоза ротоглотки участников исследования сразу после возвращения  
из похода в группе, принимавшей пастилки с пробиотическим штаммом BLIS K12**

№ участника	Биотоп	Питательная среда	Результат
4	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Lactobacillus reuteri</i> – 1x10 <sup>5</sup>
			<i>Neisseria mucosa</i> – 1x10 <sup>6</sup>
			<i>Actinomyces viscosus</i> – 1x10 <sup>5</sup>
5	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Lactobacillus acidophilus</i> – 1x10 <sup>8</sup>
			<i>Streptococcus salivarius</i> – 2x10 <sup>6</sup>
			<i>Streptococcus mitis</i> – 1x10 <sup>3</sup>
6	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Haemophilus influenza</i> – 2x10 <sup>8</sup>
			<i>Lactobacillus acidophilus</i> – 1x10 <sup>5</sup>
			<i>Neisseria subflava</i> – 1x10 <sup>6</sup>
7	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Streptococcus salivarius</i> – 3x10 <sup>6</sup>
			<i>Actinomyces israelii</i> – 2x10 <sup>4</sup>
			<i>Actinomyces viscosus</i> – 1x10 <sup>5</sup>
8	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	<i>Candida albicans</i> – 3x10 <sup>6</sup>
		КА и СА № 110	<i>Streptococcus mitis</i> – 2x10 <sup>3</sup>
			<i>Streptococcus salivarius</i> – 5x10 <sup>6</sup>
			<i>Staphylococcus capitis</i> – 7x10 <sup>1</sup>
			<i>Klebsiella oxytoca</i> – 8x10 <sup>7</sup>

Таблица 8

**Результаты ПЦР-диагностики десневой жидкости участников исследования сразу после возвращения из похода**

№ участника	Биотоп	Pi	Tf	Td	Aa	Pg
1	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	+	-	-	-	+
2	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	+	+
3	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	+	+	+
4	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	+	+
5	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	+	-
6	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	+	+
7	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	-	-
8	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	+	-

Таблица 9

**Результаты микробиологического исследования в контрольной группе через 4 мес спустя после возвращения из похода и противомикробной терапии**

№ участника	Биотоп	Питательная среда	Результат
1	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Streptococcus sanguinis</i> – 1x10 <sup>5</sup>
			<i>Staphylococcus saprophyticus</i> – 1x10 <sup>4</sup>
			<i>Streptococcus mutans</i> – 1x10 <sup>2</sup>
			<i>Fusobacterium nucleatum</i> – 1x10 <sup>4</sup>
<i>Prevotella melaninogenica</i> – 1x10 <sup>5</sup>			
2	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Streptococcus cristatus</i> – 1x10 <sup>5</sup>
			<i>Staphylococcus aureus</i> – 2x10 <sup>3</sup>
			<i>Porphyromonas gingivalis</i> – 1x10 <sup>3</sup>
			<i>Streptococcus mutans</i> – 1x10 <sup>2</sup>
<i>Fusobacterium nucleatum</i> – 1x10 <sup>6</sup>			
3	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Streptococcus sanguinis</i> – 2x10 <sup>5</sup>
			<i>Streptococcus mutans</i> – 1x10 <sup>3</sup>
			<i>Actinomyces israelii</i> – 2x10 <sup>4</sup>
			<i>Porphyromonas gingivalis</i> – 2x10 <sup>3</sup>
			<i>Prevotella oralis</i> – 1x10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus epidermidis</i> – 1x10 <sup>6</sup>			

условий в опытной группе выявлено не было. Однако у участников 6 и 8 клинически проявились нозокомиальная, гемофильная и грибковая инфекции. *Status localis* катарального воспалительного процесса пришелся на красную кайму губ и преддверие рта участника 6 (рыхлая слизистая ярко-розового цвета, плохо увлажнена), *Status localis* воспаления ротоглотки участника 8 затронул верх задней дужки правой нёбной миндалины, тело правой нёбной миндалины, спинку и корень языка, которые были также ярко-розового цвета, сухие, с несколькими неправильными красными эрозиями, нитевидные сосочки на спинке языка сглажены, задняя треть спинки языка покрыта плотным белым творожистым налетом,

снимающимся шпателем. В различных участках слизистой оболочки щек, губ, мягкого нёба определялись петехии (табл. 1, 2, 7). В контрольной группе 2 обследуемых были поражены сочетанной инфекцией *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Prevotella spp.* и *Candida krusei* с манифестацией воспалительного процесса на слизистой ротоглотки в виде атрофического хронического фарингита у участника 1, катарального хронического гингивита у участника 3 и катарального гингивита у участника 2 (табл. 1, 2, 6). По результатам обследования была назначена противомикробная терапия.

Через 4 мес был проведен отсроченный бактериологический контроль. Количество слюварного

Таблица 10

**Показатели микробиоценоза ротоглотки участников исследования через 4 мес после возвращения из похода и противомикробной терапии в группе, принимавших пастилки с пробиотическим штаммом BLIS K12**

№ участника	Биотоп	Питательная среда	Результат
4	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Lactobacillus reuteri</i> – 1x10 <sup>5</sup>
			<i>Neisseria lactamica</i> – 1x10 <sup>6</sup>
			<i>Streptococcus salivarius</i> – 1x10 <sup>7</sup>
		<i>Actinomyces israelii</i> – 1x10 <sup>5</sup>	
5	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Lactobacillus plantarum</i> – 1x10 <sup>8</sup>
			<i>Streptococcus salivarius</i> – 1x10 <sup>6</sup>
			<i>Streptococcus pyogenes</i> – 1x10 <sup>3</sup>
6	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> – 1x10 <sup>2</sup>
			<i>Streptococcus sanguinis</i> – 2x10 <sup>4</sup>
			<i>Staphylococcus epidermidis</i> – 1x10 <sup>4</sup>
		<i>Streptococcus salivarius</i> – 1x10 <sup>5</sup>	
7	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
		КА и СА № 110	<i>Streptococcus salivarius</i> – 1x10 <sup>6</sup>
			<i>Neisseria lactamica</i> – 1x10 <sup>6</sup>
			<i>Lactobacillus acidophilus</i> – 1x10 <sup>5</sup>
		<i>Actinomyces viscosus</i> – 1x10 <sup>5</sup>	
8	Слизистая ротоглотки	Сабуро + HiCrome	Роста нет
			<i>Streptococcus salivarius</i> – 1x10 <sup>5</sup>
			<i>Streptococcus sanguinis</i> – 3x10 <sup>6</sup>
			<i>Staphylococcus saprophyticus</i> – 1x10 <sup>2</sup>
		<i>Propionibacterium freudenreichii</i> – 4x10 <sup>4</sup>	

Таблица 11

**Результаты ПЦР-диагностики десневой жидкости участников исследования через 4 мес после возвращения из похода**

№ участника	Биотоп	Pi	Tf	Td	Aa	Pg
1	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	+	-	-	-	+
2	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	+	+
3	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	+	+	+
4	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	+	-
5	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	+	-	-	+	-
6	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	+	+
7	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	-	-
8	Десневая борозда зубов 1.6. 2.1, 3.6, 4.1	-	-	-	-	-

стрептококка в группе, принимавших пастилки BLIS K12, у 1 участника снизилось в 3 раза, у другого – в 2 раза, у 2 зафиксировано снижение количества саливарного стрептококка на 3 порядка, и у 1 выявлено снижение количества саливарного стрептококка на 1 порядок, эрадикация *Streptococcus pyogenes* (табл. 4, 7 и 10). Следует отметить, что в этой группе 2 участника после похода использовали антибиотики широкого спектра действия, назначенные по результатам слепоходного микробиологического

контроля, выявившего носительство нозокомиальных инфекций. Через 4 мес после окончания противомикробной терапии, несмотря на снижение количества саливарного стрептококка у одного из них в 10 раз, у другого в 1000 раз, количество микроорганизмов протективных групп (лактобацилл и нейссерий) осталось на уровне слепоходного контроля. Одновременно произошла эрадикация *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (табл. 4, 7, 11).

В контрольной группе через 4 мес после пребывания в экстремальных условиях произошли негативные изменения: у 2 обследуемых в составе их микробиоценоза появились фузобактерии, произошла эрадикация имеющихся ранее лактобацилл (табл. 6, 9).

### Выводы

1. В результате применения BLIS K12 снизилось количество бета-гемолитического стрептококка группы А и количество стафилококка в ротовой жидкости участников, принимавших пробиотик, произошла элиминация бактерии вида *Streptococcus mutans* в диагностически значимых количествах и эрадикация золотистого стафилококка в ротоглотке.

2. Положительные изменения имели стойкий результат: через 4 мес после исследования микроорганизмы штамма K12 *Streptococcus salivarius*, использованного в форме пастилок пробиотического лекарственного препарата, сохранились в составе микробиоценоза ротоглотки испытуемых, сохранилось отсутствие золотистого стафилококка.

3. Данное рандомизированное контролируемое наблюдение без маскировки, III фазы клинических исследований официального пробиотического препарата в форме пастилок на основе лиофилизированного штамма *Streptococcus salivarius* BLIS K12 показало безопасность и эффективность его применения для профилактики воспаления ротоглотки у лиц опасных профессий в экстремальных условиях.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Исследование выполнено в рамках базовой тематики РАН 64.2.

### Список литературы

1. Прокопович Л.С. Адаптация клинических рекомендаций (протоколов лечения) для стоматологического приема при отборе и ежегодном профилактическом обследовании по инициативе работодателя лиц опасных профессий // Российская стоматология. 2019. Т. 12. № 1. С. 36–41. <https://doi.org/10.17116/rosstomat20191201136>.

Prokopovich L.S. Tailoring clinical recommendations (Protocols of Treatment) for stomatologic evaluation at selection and annual preventive inspection of high threats personnel under the initiative of the employer // Rossiyskaya stomatologiya. 2019. V. 12. № 1. P. 36–41. <https://doi.org/10.17116/rosstomat20191201136>.

2. Ушаков И.Б., Штемберг А.С., Шафиркин А.В. Реактивность и резистентность организма млекопитающих: принципы формирования, регуляции и прогнозирования / А.И. Григорьев, ред. М., 2007.

Ushakov I.B., Shtemberg A.S., Shafirkin A.V. Reactivity and resistance of an organism of mammals: principles of

formation, regulation and forecasting / A.I. Grigoriev, ed. Moscow, 2007.

3. Decelle J.G., Taylor G.R. Autoflora in the upper respiratory tract of Apollo astronauts // Appl. Environ. Microbiol. 1976. V. 32. № 5. P. 659–665.

4. Ленцнер А.А., Ленцнер Х.П., Микельсаар М.Е. и др. Видовой состав лактофлоры и пищеварительного тракта космонавтов в длительных космических полетах // Актуальные проблемы космической биологии и медицины. М., 1980. С. 66–74.

Lentsner A.A., Lentsner Kh.P., Mikelsaar M.E. et al. Specific structure of lactoflora and digestive tract of astronauts in long space flights // Current problems of space biology and medicine. Moscow, 1980. P. 66–74.

5. Дубинин Д.М. Влияние факторов космического полета на состояние полости рта и кожи людей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1985.

Dubin D.M. Effect of factors of space flight on a condition of an oral cavity and skin of people: Avtoreferat dissertatsii ... kandidata meditsinskikh nauk. Moscow, 1985.

6. Лизько Н.Н. Микрофлора кишечника и пищеварительные ферменты в условиях длительной гипокинезии // Лечебное питание в терапии и профилактике гастроэнтерологических заболеваний у детей. 1988. М., С. 141–145.

Liz'ko N.N. Intestinal microflora and digestive enzymes in the conditions of a long hypokinesia // Clinical nutrition in therapy and prevention of gastroenterological diseases at children. 1988. Moscow, P. 141–145.

7. Поликарпов Н.А. Нуклеазная активность микроорганизмов и проблема контроля за состоянием аутомикрофлоры операторов герметично замкнутых объектов // Косм. биол. и авиакосм. мед. 1991. Т. 25. № 6. С. 39–42.

Polikarpov N.A. Nucleic activity of microorganisms and the problem of control of automicroflora state in operators of hermetically closed objects // Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina. 1991. V. 25. № 6. P. 39–42.

8. Ильин В.К., Воложин А.И., Виха Г.В. Колонизационная резистентность организма в изменённых условиях обитания. М., 2005.

Ilyin V.K., Volozhin A.I., Vikha G.V. Colonizing resistance of an organism in the changed dwelling conditions. Moscow, 2005.

9. Пропедевтическая стоматология: Учеб. для мед. ВУЗов / Э.А. Базикян, ред. М., 2008. Propaedeutic stomatology: The textbook for medical universities / E.A. Bazikyan, ed. Moscow, 2008.

10. Кузьмина Э.М., Янушевич О.О. Профилактическая стоматология: Учеб. М., 2016.

Kuzmina E.M., Yanushevich O.O. Preventive stomatology: Textbook. Moscow, 2016.

11. Ильин В.К., Царёв В.Н., Прокопович Л.С. и др. Обоснование создания и применения пробиотических средств профилактики воспалительных заболеваний ротоглотки человека в искусственной среде обитания // Авиакосм. и экол. мед. 2019 Т. 53. № 4. С. 53–58. <https://doi.org/10.21687/0233-528X-2019-53-4-53-58>.

Ilyin V.K., Tsaryov V.N., Prokopovich L.S. et al. Justification of creation and use of pro-biotic prophylactics of inflammatory diseases of stomatopharynx in humans under the artificial environment of dwelling // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2019. V. 53. № 4. P. 53–58. <https://doi.org/10.21687/0233-528X-2019-53-4-53-58>.

12. ГОСТ Р 52379-2005 Надлежащая клиническая практика.

State Technical Regulation 52379-2005 Proper Clinical Practice.

13. Van den Bogert B., Erkus O., Erkus J. et al. Diversity of human small intestinal *Streptococcus* and *Veillonella* populations // *FEMS Microbiol. and Ecol.* 2013. DOI: 10.1111/1574-6941.12127.

14. Ayako Ogawa, Soichi Furukawa, Shuhei Fujita et al. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by *Streptococcus salivarius* FruA // *Am. Society for Microbiol.* 2011. DOI: 10.1128/AEM.02066-10.

15. Jinman Liu, Chenggang Wu, I-Hsiu Huang et al. Differential response of *Streptococcus mutans* towards friend and foe in mixed-species cultures // *Microbiol.* 2011. V. 157. P. 2433–2444. DOI 10.1099/mic.0.048314-0.

16. Di Pierro F., Adami T., Rapacioli G. et al. Clinical evaluation of the oral probiotic *Streptococcus salivarius* K12 in the prevention of recurrent pharyngitis and/or tonsillitis caused by *Streptococcus pyogenes* in adults // *Expert Opin. Biol. Ther.* 2013. Mar. V. 13. № 3. P. 339–343. DOI: 10.1517/14712598.2013.758711. E-pub: 2013 Jan 4.

17. Wescombe P.A., Hale J.D., Heng N.C. et al. Developing oral probiotics from *Streptococcus salivarius* // *Future Microbiol.* 2012. Dec. V. 7. № 12. P. 1355–1371. DOI: 10.2217/fmb.12.113.

18. Cotter P.D. Persistence of the oral probiotic *Streptococcus salivarius* M18 is dose dependent and megaplasmid transfer can augment their bacteriocin production and adhesion characteristics // DOI: 10.1371/journal.pone.0065991.

19. ГОСТ Р 52094-2003 Ряженка. Технические условия.

State Technical Regulation 52094-2003 Baked sour milk. Technology.

20. Прокопович Л.С., Ильин В.К. Сравнение влияния пробиотика BLIS K12 и кисломолочного продукта по ГОСТ Р 52094-2003 «Ряженка. Технические условия» на основе штамма саливарного стрептококка в эксперименте «сухая» иммерсия» // *Авиакосм. и экол. мед.* 2018. Т. 52. № 7. Спецвыпуск. С. 198–199.

Prokopovich L.S., Ilyin V.K. Comparison in impact between the probiotic drug BLIS K12 and fermented milk product in accordance with State Technical Regulation 52094-2003 «Fermented baked sour milk. Technology» on the basis of the *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* under the dry immersion experiment // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2018. V. 52 № 7. Special issue.

21. Mayanagi G., Kimura M., Nakaya S. et al. Probiotics effects of orally administered *Lactobacillus salivarius* WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial // *J. Clin. Periodontol.* 2009. V. 36. P. 506–513.

Поступила 29.04.2019

## PREVENTION OF OROPHARYNGEAL INFLAMMATIONS IN PEOPLE OF RISKY OCCUPATIONS IN EXTREME ENVIRONMENTS

Prokopovich L.S., Ilyin V.K., Nikonov R.V.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

*Benefits of probiotic strain Streptococcus salivarius BLIS K12 to oropharyngeal microbiocenosis was demonstrated by way of comprehensive assessment of the results of oral and gingival fluids microbiological monitoring.*

Key words: prevention, *Streptococcus salivarius*, mouth cavity and throat, people of risky occupations.

*Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).* 2019. V. 53. № 5. P. 49–59.

УДК 629.789+59.08:591.8

## ОСОБЕННОСТИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ У РЫБЫ *Danio rerio*, ЭКСПОНИРОВАННОЙ В УСЛОВИЯХ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА

Дадашева О.А., Грушина Е.А., Гурьева Т.С., Медникова Е.И., Лукичева Н.А., Сычев В.Н.

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

E-mail: gurieva@imbpr.ru

*Работа посвящена исследованию влияния факторов реального космического полета на гистологическое строение органов пищеварительной системы, сердца и половых органов взрослых рыб *Danio rerio*, экспонированных на борту Международной космической станции (МКС) в течение 36 сут.*

*Гистологические исследования органов пищеварения у рыб из полетной группы выявили изменения длины и формы ворсинок в слизистой оболочке кишечника, обнаружено увеличение пролиферации камбаловидных клеток в базальной части оболочки. В нижних отделах кишечной трубки были определены очаги с дистрофически измененным эпителием слизистой оболочки. В цитоплазме печени у рыб полетной группы выявили гепатоциты с крупными и средними вакуолями. Синусоиды между балками были расширены, что могло свидетельствовать о ее венозном полнокровии (венозный стаз). Сердце рыб полетной группы имело такое же строение, как в контроле, однако в желудочке были обнаружены небольшие очаги набухших миоцитов с распадом ядер, а под эпикардом – очаги лизиса ядер кардиомиоцитов. Такие изменения в сократительном аппарате сердечных миоцитов, возможно, связаны с ограничением подвижности организма в условиях среды обитания. Гистологическая картина строения семенников у самцов *Danio rerio* из опытной группы практически не отличалась от контроля. У самок *Danio rerio* из опытной группы в яичнике были выявлены мелкие темнобазофильные превителлогенные ооциты, окруженные утолщенной белковой оболочкой. Это признак гормонального нарушения овогенеза.*

Ключевые слова: рыба *Danio rerio*, условия космического полета, гистологическое строение, кишечник, печень, сердце, половые органы.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 5. С. 60–64.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-5-60-64

Разрабатываемые в настоящее время биологические системы жизнеобеспечения (БСЖО) человека включают в свой состав различные автотрофные и гетеротрофные организмы, способные создать относительно замкнутый кругооборот веществ. Гетеротрофные организмы, входящие в состав

БСЖО, являются, прежде всего, источником питания для человека [1]. В качестве гетеротрофного звена БСЖО предлагаются различные гетеротрофные организмы, в том числе и рыбы. Поэтому для включения рыб в состав БСЖО необходимо проведение исследований по оценке влияния факторов космического полета на их морфофизиологическое состояние.

Данные по влиянию условий невесомости на гетеротрофные организмы впервые были получены в экспериментах на биоспутниках. Патоморфологические исследования внутренних органов различных животных: мышей, крыс, черепах, собак, морских свинок – показали, что невесомость вызывает изменения на уровне тканей, клеток и внутриклеточных органелл, что сопровождается значительными функциональными и клиническими расстройствами [2, 3]. Так, у мышей, находившихся в течение 22 сут в условиях космического полета, после приземления выявлены признаки застойных явлений в печени, селезенке, а также наблюдалась вакуольная и белковая дистрофия отдельных мышечных волокон кишечника [4].

Цель данной работы – сравнительные гистологические исследования внутренних органов (кишечника, печени, сердца и репродуктивных органов) у взрослых особей рыбы *Danio rerio*, находившихся в условиях космического полета и наземного контроля.

### Методика

Объектом исследований являлись взрослые рыбы *Danio rerio*. Это популярная аквариумная рыбка, которая известна в англоязычной литературе как zebrafish [5]. Космический эксперимент «Исследование влияния условий космического полета на эмбриогенез, онтогенез, органогенез и поведение гетеротрофных организмов (рыб), обитающих в водной среде» (шифр «Аквариум-АQN») был проведен на борту Международной космической станции (МКС) в соответствии с Соглашением между Японским аэрокосмическим исследовательским

агентством (JAXA) и Федеральным космическим агентством («Роскосмос») от 5 июля 2012 г. На борт МКС рыбы в количестве 18 шт. были доставлены в специально разработанном контейнере и размещены в аквариуме AQH [6]. Продолжительность эксперимента составила 36 сут, по окончании которого рыбы были зафиксированы на борту в 4%-ном параформальдегиде на фосфатном буфере (рН 7,2) и доставлены на Землю. Контролем служили рыбы, находившиеся в оборудовании AQH на Земле. Часть биологического материала была зафиксирована на борту МКС. Полученный биоматериал из полетной и контрольной групп был залит в парафин. Приготовленные японскими специалистами гистологические препараты были переданы российским ученым в ГНЦ РФ – ИМБП РАН для проведения гистологических исследований, в количестве 110. Полученные препараты (каждый 5-й) окрашивали гематоксилин-эозином по методу Караччи [7]. Изучение и фотографирование препаратов проводили на световом уровне с помощью микроскопа Unilus-12 (Япония) и камеры Levenhuk<sup>®</sup> С 800.

#### Результаты и обсуждение

Пищеварительная система костистых рыб очень пластична, даже в пределах одного семейства пищеварительная трубка имеет разное строение. Рыба *Danio rerio* – костистая рыба из семейства карповых и, наряду с такими известными рыбами, как карп, сазан, карась относится к безжелудочным видам рыб.

Пищеварительная система рыб семейства карповых состоит из ротовой полости, глотки, пищевода и кишечника. В связи с отсутствием такого органа, как желудок, кишечник имеет значительную длину, что позволяет расщеплять пищу при воздействии внутрикишечных ферментов и пищеварительных соков. У этих рыб нет на челюстях зубов, а имеются 4 парных зуба (глочные зубы), расположенных на задних глоточных костях, напротив которых на нёбе находится роговой жерновок. При помощи глоточных зубов и жерновка происходит процесс растирания пищи или ее отжимания, перед тем как она перейдет из глотки в пищевод. Ввиду отсутствия у карпа желудка пища переходит сразу из пищевода в тонкую кишку, где начинается процесс ее переваривания. В начальную часть кишечника выходят протоки печени и поджелудочной железы, которые являются основными пищеварительными органами этих рыб. Переваривание пищи у рыб семейства карповых происходит во всем кишечнике, а всасываются продукты расщепления только в переднем и среднем отделах [8].

*Кишечный тракт* рыб семейства карповых гистологически прост. Трубка состоит

из следующих слоев: слизистая оболочка (*mucosa*), подслизистая оболочка (*submucosa*) и мышечная оболочка. Мышечная оболочка кишечника обеспечивает активную перистальтику.

На гистологических препаратах кишечника рыб *Danio rerio* из группы лабораторного контроля отчетливо видна слизистая оболочка, имеющая удлиненные ворсинки (пальцевидный вырост слизистой). Тонкие ворсинки заполняют всю полость кишки. Эти выросты покрыты однослойным цилиндрическим эпителием, в которых преимущественно находятся всасывающие клетки (энтероциты) и клетки, секретирующие слизь (рис. 1, А). Такие же выросты встречаются и в глоточной области пищеварительного тракта рыбы.

На препаратах кишечника рыб из полетной группы были отчетливо видны выросты, ворсинки слизистой оболочки, морфологически неоднородные и по длине, и по форме. Часть ворсинок тонкие и вытянутые, обнаружили также укороченные ворсинки и их деформация, появление сросшихся ворсинок, отслоение апикальных отделов. Отмечено также увеличение пролиферации камбаловидных клеток в базальной части слизистой оболочки (см. рис. 1, Б). В нижних отделах кишечной трубки имелись очаги с дистрофически измененным эпителием слизистой оболочкой (в основном в дорсальной части стенки), что выражалось в потере границ между эпителиальными клетками, гомогенизацией цитоплазмы, пикнозом или лизисом ядер. Секреторная функция в энтероцитах сохранена. Подобные структурные изменения в эпителиальном слое пищеварительного тракта были обнаружены у взрослых перепелов после их пребывания в невесомости в эксперименте на орбитальной станции «Мир» [9].

Главные железы пищеварительной системы рыб – печень и поджелудочная железа.

*Печень* самый большой орган у рыб, расположенный снаружи пищевого канала. Большое значение для пищеварения имеет вырабатываемая

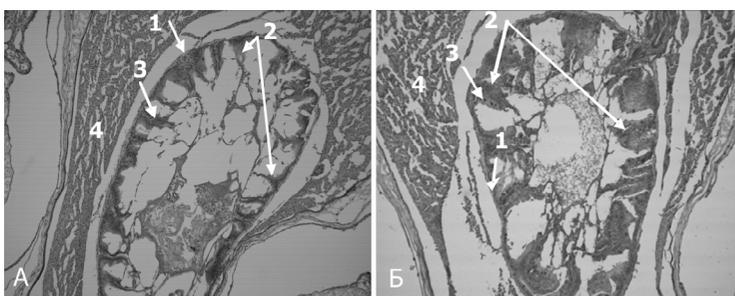


Рис. 1. Гистологическая картина тонкого кишечника рыб *Danio rerio*, ув. 10 x 10.

А – контрольная группа; Б – полетная группа; 1 – слизистый слой кишечника; 2 – ворсинки слизистого слоя; 3 – энтероциты; 4 – печень

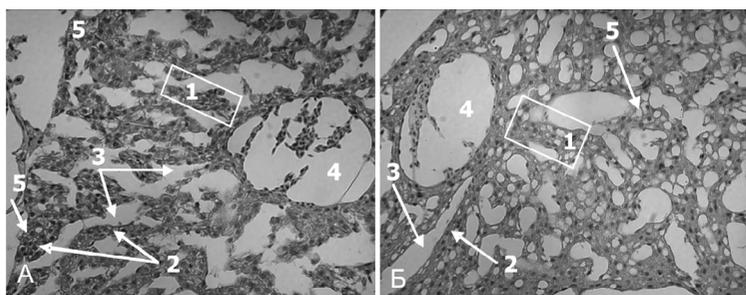


Рис. 2. Гистологическая картина печени рыб *Danio rerio*, ув. 10 x 40. А – контрольная группа; Б – полетная группа; 1 – печеночные балки; 2 – гепатоциты; 3 – синусоиды; 4 – центральная вена; 5 – вакуоли

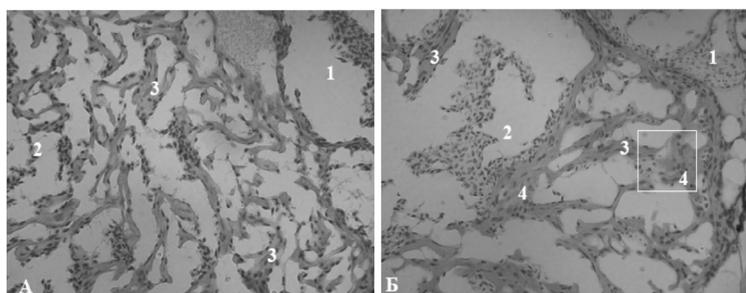


Рис. 3. Гистологическая картина сердца рыб *Danio rerio*, ув. 10 x 40. А – контрольная группа; Б – полетная группа; 1 – предсердие; 2 – желудочек; 3 – пучки кардиомиоцитов желудочка; 4 – кариорексис и лизис ядер кардиомиоцитов

печенью желчь, которая содержит таурохолевую и холевую кислоты. Желчь оказывает эмульгирующее воздействие на жиры, активирует липазу и вызывает стимуляцию двигательной функции кишечника. Печень участвует в углеводном, белковом и витаминном обменах. Важна и барьерная функция печени, которая заключается в обезвреживании различных ядовитых веществ, попадающих вместе с кормом в кишечник [8].

Гистология печени имеет общие признаки, характерные для большинства костистых рыб (рис. 2, А). В норме печень имеет балочную структуру с гепатоцитами, расположенными вдоль венозных капилляров (синусоидов). Цитоплазма гепатоцитов слабобазофильная, зернистая, с мелкими вакуолями. Ядра клеток крупные, с 1–2 ядрышками. Синусоиды выстланы эндотелиальными клетками, ядра которых удлинены и вдаются в полость синусоидов. В центре рисунка изображена центральная вена (см. рис. 2, А).

Для печени рыб из опытной группы было характерно наличие крупных и средних вакуолей в цитоплазме гепатоцитов. Крупные липидные капли заполняли весь объем клеток со смещением уплощенного ядра к плазмолемме. Синусоиды между балками были расширены, что может свидетельствовать

о венозном полнокровии (венозный стаз) (см. рис. 2, Б). В синусоидах печени у рыб из опытной группы встречались небольшие скопления лейкоцитов.

Сердце у рыбы располагается сразу за жаберными крышками, оно занимается прокачкой крови по всем участкам тела. Кровь прокачивается через единственный круг кровообращения и поглощает кислород из воды, поступающей в жабры. Сердце у рыб имеет небольшой вес, всего 0,1 % от массы их тела, оно двухкамерное – предсердие и желудочек, но выделяют 4 полости: венозный синус, предсердие, желудочек и эластичную полость луковицы аорты.

В норме сердце состоит из 3 слоев тканей: эпикарда, миокарда и эндокарда. Венозный синус у рыбы *Danio rerio* – это тонкостенный мешок, состоящий в основном из соединительной ткани. Желудочек сердца имеет толстый мышечный слой. На гистологических препаратах (рис. 3, А, Б) мышечный слой рыб *Danio rerio* из контрольной и полетной групп имели сходную структуру. Кардиомиоциты сердца были представлены поперечнополосатыми переплетенными волокнами. Ядра мышечных волокон лежали в центральной части клеток. Волокна окружала тонкая оболочка соединительнотканного эндомизия с кровеносными сосудами (см. рис. 3, А). Однако у рыб из опытной группы в желудочке были обнаружены небольшие очаги набухших миоцитов с распадом ядер на мелкие темные фрагменты (кариорексис). Под эпикардом на границе с предсердием обнаружили небольшие очаги лизиса ядер кардиомиоцитов (см. рис. 3, Б). Такие изменения в сократительном аппарате сердечных миоцитов связаны с особенностями двигательной активности организма в условиях невесомости [10].

*Репродуктивная система* рыб включает половые железы, которые представляют собой сужающиеся мешки – парные семенники у самца, в которых происходит созревание сперматозоидов, и яичники у самки, то же парные, в которых созревает икра.

*Яичники* у рыб *Danio rerio* – это парный орган с продольными яйценосными складками, выстланными герминативным и фолликулярным эпителием, удерживаемых соединительной тканью с развитой сетью кровеносных сосудов. На гистологических препаратах контрольной и опытной групп были отчетливо видны ооциты, находившиеся на всех фазах развития а именно, от ооцитов первого порядка (превителлогенные ооциты), вителлогенные ооциты и до ооцитов в фазе зрелого созревания, достигших максимальных размеров (рис. 4, А, Б). На гистологических препаратах яичников рыб в контрольной

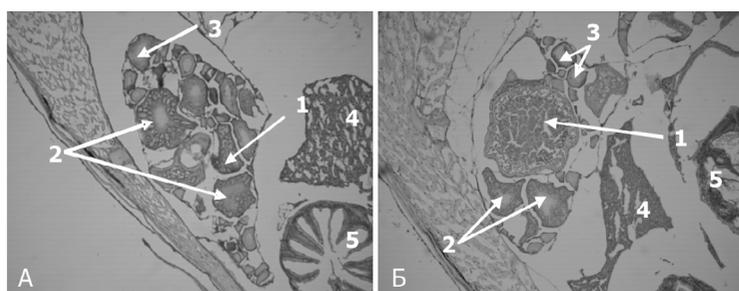


Рис. 4. Гистологическая картина яичников рыбы *Danio rerio*; ув. 10 x 40.

А – контрольная группа; Б – полетная группа; 1 – стадия превителлогенеза ооцита; 2 – стадия вителлогенеза ооцита; 3 – зрелые ооциты; 4 – печень; 5 – тонкий кишечник

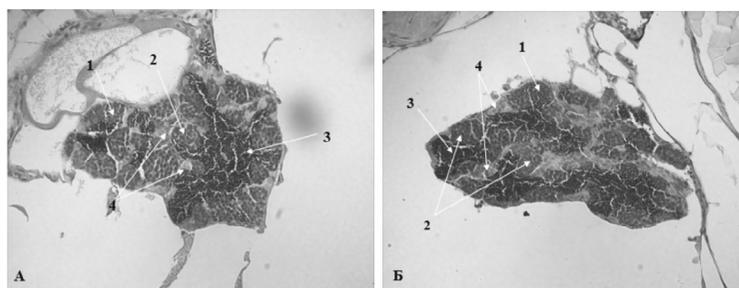


Рис. 5. Гистологическая картина семенников *Danio rerio*, ув. 10 x 40.

А – контрольная группа; Б – полетная группа; 1 – цисты со сперматогониями; 2 – цисты со сперматоцитами; 3 – цисты со сперматидами и сперматозоидами; 4 – интерстициальные клетки

группе были обнаружены некоторые фолликулы, находившиеся в состоянии дегенерации – атрезии. Не являясь патологией, это явление объясняется тем, что отличительной особенностью яичников всех позвоночных является способность фолликул к дегенерации на любой стадии развития, что ведет к образованию атретического тела [11]. Нижняя доля яичников рыб из полетной группы была заполнена мелкими темнобазофильными превителлогенными ооцитами, окруженными утолщенной белковой оболочкой (см. рис. 4, Б). Это свидетельствует о гормональном нарушении овогенеза.

Гистологическая картина семенников у рыб *Danio rerio* из полетной группы была сходна со строением у рыб из контрольной группы (рис. 5, А, Б). Семенники покрыты белковой оболочкой, от которой отходят перегородки (септы) внутрь органа, образующие семенные дольки, состоящие из цист с половыми клетками на разных стадиях сперматогенеза. В норме у рыб половые клетки в ходе сперматогенеза имеют несколько стадий развития: цисты со сперматогониями, цисты со сперматоцитами, цисты со сперматидами и сперматозоидами, интерстициальные клетки. В интерстициальной ткани между

цистами находятся клетки Лейдига, вырабатывающие половой гормон.

Выявленные изменения в гистологической структуре отдельных органов у рыб из полетной группы, вероятно, связаны с длительным пребыванием взрослых особей в условиях реального космического полета. Так, секвенирование РНК 6 образцов тканей органов рыб японской Медаки, находившихся в течение 2 мес на борту МКС, выявило изменения транскрипции 5345 генов. Причем наибольшие изменения наблюдались в глазах, яичниках, печени и кишечнике. Авторы работы [12] считают, что такие изменения в отдельных внутренних органах у рыб связаны с иммунорегуляторными и стрессорными реакциями организма на измененную среду пребывания.

Гистологические исследования строения отдельных органов: кишечника, печени, сердца и репродуктивных (яичников и семенников) – показали, что содержание взрослых рыб *Danio rerio* в течение 36 сут в условиях реального космического полета привело к значительным изменениям.

#### Выводы

1. В слизистой оболочке кишечника рыб опытной группы выявили неоднородные по длине и форме ворсинки, увеличение пролиферации камбаловидных клеток в базальной части оболочки. В нижних отделах кишечной трубки имелись очаги с дистрофически измененным эпителием слизистой оболочкой.
2. В цитоплазме печени рыб из опытной группы обнаружены гепатоциты с расширенными синусоидами между балками, крупными и средними вакуолями, что может свидетельствовать о венозном полнокровии печени.
3. У рыб из опытной группы в желудочке сердца были определены небольшие очаги набухших миоцитов с распадом ядер.
4. Семенники самцов из опытной группы практически не отличались от контроля.
5. У самок из полетной группы в яичниках выявили доли, заполненные мелкими темнобазофильными превителлогенными ооцитами, окруженными утолщенной белковой оболочкой, что может свидетельствовать о нарушении овогенеза.

Работа выполнена в рамках базовой тематики РАН 65.4.

#### Список литературы

1. Шепелев Е.Я. Биологические системы жизнеобеспечения в условиях замкнутых систем круговорота

веществ // Основы космической биологии и медицины. Совм. сов.-амер. изд. М., 1985. Т. 3. С. 277–307.

Shepelev E.Ya. Biological life support systems in conditions of closed matter circulation systems // Fundamentals of space biology and medicine. Coll. Sov.-Amer. ed. Moscow, 1985. V. 3. P. 277–307.

2. Португалова В.В., Савина Е.А., Капланский А.С. Морфологические эффекты у крыс после 22-суточного космического полета // Косм. биол. и авиакосм. мед. 1976. Т. 10. № 4. С. 19–26.

Portugalova V.V., Savina E.A., Kaplansky A.S. Morphological effects rats after a 22-day space flight // Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina. 1976. V. 10. № 4. P. 19–26.

3. Португалов В.В. О механизмах развития морфологических изменений у млекопитающих, находящихся на биологических спутниках // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1978. № 4. С. 501–506.

Portugalov V.V. About mechanisms of development of morphological changes in mammals on biological satellites // Izvestiya AN SSSR. Ser. Biol. 1978. № 4. P. 501–506.

4. Петрухин В.Г., Юганов Е.М., Гайдамакин Н.А и др. Морфологические исследования организма животных при изучении действия невесомости // Проблемы космической биологии. Гравитация и организм. 1976. Т. 33. С. 199–227.

Petrukhin V.G., Yuganov E.M., Gaydamakin N.A. et al. Morphological studies the animal organism when studying the effects of weightlessness // Problems of space biology. Gravity and organism. 1976. V. 33. P. 199–227.

5. Cohen B., Yakushin S.B., Holstein G.R. et al. Vestibular experiments in space // Experimentation with animal models in space / G. Sonnenfeld, ed. 2005. P. 105–164.

6. Грушина О.А., Дадашева О.А., Гурьева Т.С. и др. Гистология исследования сенсорных систем рыб *Danio rerio* после экспозиции в условиях космического полета // Авиакосм. и экол. мед. 2018. Т. 52. № 7. С. 67–68.

Grushina O.A., Dadasheva O.A., Gurieva T.S. et al. Histological investigations of *Danio rerio* fish sensory systems after exposition in the conditions of the space flight // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2018. V. 52. № 7. P. 67–68.

7. Иванов Ю.В. Морфологические методы исследования в гигиене и токсикологии. М., 1983.

Ivanov Yu.V. Morphological methods of research in hygiene and toxicology. Moscow, 1983. P. 50–51.

8. Иванов А.А. Физиология рыб. М., 2011.

Ivanov A.A. Physiology of fish. Moscow, 2011.

9. Гурьева Т.С., Дадашева О.А., Медникова Е.И., Сычев В.Н. Гистогенез внутренних органов эмбрионов японского перепела, развившихся в условиях невесомости // Авиакосм. и экол. мед. 2009. Т. 43. № 6. С. 8–13.

Gurieva T.S., Dadasheva O.A., Mednikova E.I., Sychev V.N. Histogeny of the visceral organs of embryonic Japanese quails developed in the micro-g environment // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2009. V. 43. № 6. P. 8–13.

10. Коваленко Е.А. Патофизиология длительной гипокинезии // Космическая биология. 1976. Т. 10. № 1. С. 3–15.

Kovalenko E.A. Pathophysiology of prolonged hypokinesia // Kosmicheskaya biologiya. 1976. V. 10. № 1. P. 3–15.

11. Гентен Ф., Тервинге Э., Данги А. Атлас гистологии рыб. М., 2016.

Genten F., Terwinghe E., Danguy A. Atlas of fish histology. Moscow, 2016.

12. Murata Y. et al. Histological and transcriptomic analysis of adult Japanese Medaka sampled onboard the International space station // PloS One. 2015. V. 10. № 10. e0138799.

Поступила 12.03.2019

## HISTOLOGICAL STRUCTURE OF THE INTERNAL OF FISHES *DANIO RERIO* EXPOSED TO THE SPACEFLIGHT FACTORS

**Dadasheva O.A., Grushina E.A., Gurieva T.A., Mednikova E.I., Lukicheva N.A., Sychev V.N.**

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

*The investigation was devoted to the histological effects of real space flight on the digestive organs, heart and reproductive organs of fish *Danio rerio* after 36-d exposure onboard the International space station (ISS).*

*Histological investigations of the fish digestive organs revealed changes in length and form of intestinal villas and increase of cambial cell proliferation in the basal layer. The lower sections of the entodermal canal had regions of epithelial dystrophy. Liver cytoplasm contained hepatocytes with large- and medium-sized vacuoles. Broadening of sinusoids between the beams could point to venous plethora (venous stasis). Hearts of fishes in the flight group had same structure as of the controls. However, there were small regions of swelled myocytes with disintegrated nuclei in the ventricle and regions of lysed cardiomyocyte nuclei under the epicard. These changes in the contraction apparatus of cardiac myocytes are, probably, induced by low activity of organism in microgravity. The histological pattern of *Danio rerio* testicles was essentially identical to the controls. *Danio rerio* ovaries were found to contain small dark basophilic previtellogenic oocytes enveloped in a thickened protein membrane. This is a sign of ovogenesis hormonal disorder.*

Key words: fish *Danio rerio*, spaceflight factors, histological structure, intestine, histological structure, liver, heart, reproductive organs.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 5. P. 60–64.

УДК 613.693+57.084+612.222:661.939

## КОМПЛЕКСНАЯ МОНИТОРИНГОВАЯ ОЦЕНКА КАРДИОРЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ И ГАЗООБМЕНА ПОДОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ДЫХАНИИ ГИПОКСИЧЕСКИМИ ДЫХАТЕЛЬНЫМИ СМЕСЯМИ, СОДЕРЖАЩИМИ ИНЕРТНЫЕ ГАЗЫ

Солдатов П.Э., Шулагин Ю.А., Тюрин-Кузьмин А.Ю., Крыченков Д.А., Носовский А.М., Суворов А.В., Смоленская Т.С., Смирнов И.А., Смирнова Т.А.

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

E-mail: soldatov@imbp.ru

*Разработана комплексная неинвазивная методика мониторинга состояния внешнего дыхания, газообмена и транспорта кислорода у подопытных животных по 16 показателям в режиме реального времени в экспериментах с дыхательными газовыми смесями (ДГС), содержащими инертные газы. Базовым является измерение газообмена по схеме open-flow system в герметичной камере малого объема. Методика также включает в себя точное определение параметров ДГС с учетом присутствия инертных газов, а во все формулы введены поправки на присутствие инертных газов. Разработанная методика подразумевает испытание каждой из ДГС на одном и том же животном в рандомизированном порядке. Методика рассчитана на использование малых выборок с обработкой результатов методами многофакторного дисперсионного анализа по Шеффе.*

*Изучали состояние подопытных животных при дыхании гипоксическими ДГС (8,1÷8,4 % O<sub>2</sub>) на основе He, Ar и Kr (56÷58 %). Контрольные серии проводили в гипоксических и нормоксических ДГС на основе N<sub>2</sub>. Исследования проведены на 4 взрослых самцах белых лабораторных крыс линии Wistar начальной массой 318 ± 19,4 г. Всего было проведено 20 опытов.*

*Дисперсионный анализ показал, что в аргонсодержащей ДГС соотношения времени вдоха и выдоха достоверно выше, чем при дыхании воздухом и криптонсодержащей смесью. Одним из возможных объяснений является влияние инертных газов на дыхательный центр.*

*Сравнение по уровня дезоксигемоглобина в периферических тканях при дыхании воздухом и изучаемыми ДГС показало, что в гипоксических смесях на основе азота его уровень достоверно увеличивается. В присутствии инертных газов его содержание не отличается от нормоксического контроля, что свидетельствует о сохранении оксигенации тканей на уровне, незначительно отличающемся от такового в условиях нормоксии. Наиболее выраженный результат был получен при применении криптона.*

Ключевые слова: гипоксическая гипоксия, инертные газы, кардиореспираторная система, оксигенация, неинвазивные методы.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 5. С. 65–76.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-5-65-76

В настоящее время хорошо известно, что при нормальном барометрическом давлении все инертные газы обладают выраженными биологическими эффектами, проявляющимися, в частности, в защитных свойствах для организма, находящегося в состоянии гипоксии. Практический интерес к ним со стороны медиков все более возрастает [1–3]. Наиболее чувствителен к гипоксии мозг, поэтому нарушения обмена веществ и энергетического статуса клеток раньше всего проявляются в сфере высшей нервной деятельности и регуляции физиологических процессов (дыхание, кровообращение и др.) [4].

Механизмы биологической активности более всего изучены для ксенона, что связано с его выраженной анестетической активностью при нормальном барометрическом давлении, о чем было известно еще с 1950-х гг. Идентифицирована мишень его некоторых биологических эффектов, которой является рецептор N-метил-D-аспартата (NMDA) [5, 6]. Ксенон внесен в Государственный реестр лекарственных средств России как средство для ингаляционной анестезии.

В последние годы активно изучается тканезащитный эффект инертных газов при ишемии, в частности для сердечной и нервной ткани, что демонстрирует выраженный прикладной характер современных исследований [1]. Большое количество работ посвящено исследованиям аргона [2]. В работах, проведенных в ГНЦ РФ – ИМБП РАН, был наглядно продемонстрирован его защитный эффект при остром, в течение нескольких часов, воздействии глубокой гипоксической гипоксии (4 % O<sub>2</sub>) на млекопитающих [7, 8]. Обнадеживающие результаты были получены также и в исследованиях с участием человека при исследовании работоспособности в гипоксических аргонсодержащих газовых средах [9, 10].

Цель данной работы – разработка комплексной методики мониторинга состояния внешнего дыхания, газообмена и транспорта кислорода у подопытных животных в режиме реального времени в экспериментах с дыхательными газовыми смесями (ДГС), содержащими инертные газы, а также оценка состояния животных при дыхании гипоксическими ДГС, содержащими гелий, аргон и криптон.

### Методика

Разработка методики базировалась на соблюдении принципов гуманного отношения к лабораторным животным: минимизация количества подопытных животных за счет повышения информативности методических приемов, а также принятие необходимых мер, исключающих страдания животных [11, 12].

Во-первых, было решено ограничиться 4 животными. Информативность при этом обеспечивалась применением методов статистического анализа для выборок малого объема. В эксперименте на животных воздействовали несколько факторов: наличие в ДГС инертного газа (исследуемый фактор); фактор времени, включающий ряд «фон – период воздействия гипоксии – период сразу после гипоксии – восстановление»; фактор кратности воздействия гипоксии, а также индивидуальные особенности подопытных животных. Поэтому в качестве основного метода анализа был использован общепринятый и хорошо разработанный вариант многофакторного дисперсионного анализа, разработанный Г. Шеффе [13].

Во-вторых, были использованы неинвазивные методы оценки физиологических параметров. Это позволило без причинения вреда животным и с минимальным для них стрессом снимать сразу несколько показателей, а также проводить измерения многократно на одном и том же животном при разных воздействиях, что является и основным требованием метода многофакторного дисперсионного анализа.

В-третьих, все показатели регистрировали в цифровом виде в масштабе реального времени, что в сочетании с неинвазивными методами позволило проводить многочасовой непрерывный мониторинг исследуемых показателей.

Для формирования гипоксических ДГС (8,1÷8,4 % O<sub>2</sub>) использовали гелий, аргон и криптон в концентрации 56÷58 %. Порядок применения ДГС был полностью рандомизирован. Были также проведены 2 контрольных опыта: первый – с гипоксической ДГС на основе азота, а второй – при дыхании воздухом (нормоксический контроль). В итоге эксперимент состоял из 20 опытов.

Длительность гипоксического воздействия в каждом опыте составляла 90 мин, из которых первые 60 мин исследуемые показатели стабилизируются

и еще не менее 30 мин животное продолжает находиться в условиях гипоксии. После каждого гипоксического воздействия для восстановления организма был предусмотрен перерыв 7 сут, что по данным литературы представляется вполне обоснованным [14].

Необходимым условием получения сравнимых результатов является одинаковое по профильным показателям физиологическое состояние подопытных животных в каждом из опытов. Период сохранения стабильного уровня показателей кардиореспираторной системы, газообмена и крови у крыс составляет не более 35 сут, начиная с возраста 3,5÷4,0 мес, что определило верхнюю границу длительности эксперимента [15]. При планировании также учитывались и сезонные колебания физиологических показателей, поэтому эксперимент ставился в пределах одного (летнего) сезона.

Циклограмма эксперимента (табл. 1) была построена так, чтобы оценить влияние каждой из смесей на одном и том же животном с 7-суточным перерывом, а общее время эксперимента состояло из 32 сут.

Для мониторинга физиологического состояния организма животного в ходе каждого опыта были отобраны наиболее информативные параметры, отражающие все звенья транспорта кислорода и его потребление:

- содержание O<sub>2</sub> и инертных газов во вдыхаемой ДГС;
- основные параметры внешнего дыхания (частота дыхания, соотношение времени вдоха/выдоха) в динамике;
- параметры транспорта кислорода кровью к тканям по показателям частоты сердечных сокращений и оксигенации периферической крови в динамике;
- оксигенация периферических тканей в динамике (общий гемоглобин, оксигемоглобин, дезоксигемоглобин);
- содержание O<sub>2</sub> и CO<sub>2</sub> в выдыхаемом воздухе в динамике.

До начала гипоксического воздействия и после него определяли дополнительные показатели в микропробах крови (не более 250 мкл), такие, как содержание глюкозы, уровень гемоглобина, содержание эритроцитов и ретикулоцитов, а также гематокрит.

Измерения перечисленных показателей проводили у каждого животного индивидуально. Работа с каждым животным включала в себя их надежную мягкую фиксацию с закреплением на теле животного всех используемых датчиков. Была разработана и изготовлена аппаратно-программная часть для методов, не обеспеченных готовыми анализаторами. Были также определены области закрепления всех используемых датчиков.

Циклограмма проведения эксперимента

Опыт, №	Время, сут	Крыса №	ДГС	Последствие для крысы №, сут			
				4	2	1	3
1	1	4	Ar/O <sub>2</sub>				
2	2	2	He/O <sub>2</sub>				
3	3	1	Kr/O <sub>2</sub>				
4	4	3	N <sub>2</sub> /O <sub>2</sub>				
5	8	4	Kr/O <sub>2</sub>	7			
6	9	2	Ar/O <sub>2</sub>		7		
7	10	1	He/O <sub>2</sub>			7	
8	11	3	Ar/O <sub>2</sub>				7
9	15	4	N <sub>2</sub> /O <sub>2</sub>	7			
10	16	2	Kr/O <sub>2</sub>		7		
11	17	1	N <sub>2</sub> /O <sub>2</sub>			7	
12	18	3	Kr/O <sub>2</sub>				7
13	22	4	He/O <sub>2</sub>	7			
14	23	2	N <sub>2</sub> /O <sub>2</sub>		7		
15	24	1	Ar/O <sub>2</sub>			7	
15	25	3	He/O <sub>2</sub>				7
17	29	4	Воздух	7			
18	30	2	Воздух		7		
19	31	1	Воздух			7	
20	32	3	Воздух				7

Весьма существенной особенностью проводимых опытов являлось то, что присутствие инертных газов в ДГС меняло их физические свойства. Это определяло необходимость калибровки всей газоаналитической аппаратуры (газоанализаторы, датчики потока, ротаметры) для каждой смеси и дополнительно полного анализа каждой из них на хромато-масс-спектрометре. Требовалось также вводить соответствующие поправки в классические формулы для расчета газообмена.

Для успешного постановки эксперимента провели согласование по времени одновременного исследования нескольких физиологических параметров в течение 2–3 ч.

Перечень используемых неинвазивных методов и их аппаратное обеспечение представлены в табл. 2. Пульсоксиметрия проводилась по методу, описанному в работе [16].

Были установлены требования для технической реализации отслеживания особенностей каждого из процессов по частоте съема значений каждого из них, чтобы получить не менее 100 измерений за время, необходимое для полного завершения

динамического цикла каждого показателя (табл. 3). В таблице приведены данные, использованные в следующих источниках: по частоте дыхания [15], по частоте сердечных сокращений (ЧСС) [17], по оксигенации периферической крови и оксигенации периферических тканей [18]. При этом принимали во внимание, что при развитии гипоксии значения исследуемых показателей могут значительно отклоняться от нормальных [4, 19].

Интегральным показателем газообмена является скорость потребления O<sub>2</sub> и выделения CO<sub>2</sub>, что определило конструкцию стенда. Измерение газообмена проводили по методике открытого цикла (open-flow system) [20] в герметичной камере объемом 9,7 л.

Расчет времени установления равновесия по газам в камере  $t$ , когда измеряемые показатели выйдут на стационарный уровень, проводили по формуле [20]

$$\tau = 3V_k/v, \quad (1)$$

где  $V_k$  – объем камеры, л;  $v$  – объемная скорость потока, л/мин.

Таблица 2

**Перечень использованных неинвазивных методов и их аппаратное обеспечение**

Показатель	Метод	Приборное оснащение
ЧД, соотношение времени вдох/выдох	Оптический	Инфракрасный датчик оригинального исполнения, обработка на ПК
Оксигенация тканей	Лазерная спектроскопия тканей на 3 длинах волн – 635, 655 и 690 нм in vivo на глубину до 5 мм	OMEGA MONITOR BOM-L1TRSF
Удельное (на кг массы) потребление O <sub>2</sub> и выделение CO <sub>2</sub> , ДК	Газоанализ на O <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , а также He, Ar или Kr во вдыхаемой и выдыхаемой многокомпонентной смеси	Весы Buerer KS-36, O <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> монитор (ООО «Тритон-ЭлектроникС»), хромато-масс-спектрометр MiniLab Agilent, датчики и индикаторы объемного расхода газовой смеси, обработка на ПК
Оксигенация крови	Пульсоксиметрия на 2 длинах волн – 660 и 940 нм	Датчик оригинального исполнения, обработка на ПК
ЧСС	–	–
Гемоглобин, эритроциты,	Оптический	Счетчик форменных элементов крови «Пикоскель ПС-4М», спектрофотометр
Гематокрит	Гравиметрический	Центрифуга лабораторная, гепаринизированные капилляры
Ретикулоциты крови	Оптический, окраска мазка азуром II	Микроскоп
Глюкоза крови	Оптический	Анализатор Accutrend Plus

Таблица 3

**Характерные времена оцениваемых показателей и необходимые для их мониторинга частоты измерений с учетом возможных отклонений при развитии гипоксии**

Звенья транспорта O <sub>2</sub>	Характерное время процесса	Частота измерений (мониторинга)	Примечания
O <sub>2</sub> в ДГС, подаваемой из баллона, об. %	Не изменяется в ходе опыта	1–5 раз за опыт	–
Частота дыхания	От 50 до 200 мин <sup>-1</sup> (0,8–3,3 Гц)	Не менее 3000 мин <sup>-1</sup> (50 Гц)	100 измерений за цикл для полного описания дыхательной волны
Частота сердечных сокращений	Не более 600 мин <sup>-1</sup> (10 Гц)	не менее 60 000 мин <sup>-1</sup> (1000 Гц)	100 измерений за цикл для полного описания пульсовой волны
Оксигенация периферической крови	≈ 6–10 с (0,1 Гц)	60 000 мин <sup>-1</sup> (1000 Гц)	С той же частотой, что и ЧСС
Оксигенация периферических тканей	≈ 6–10 с (0,1 Гц)	180 мин <sup>-1</sup> (3 Гц)	300 измерений за среднее время отклика на изменение содержания вдыхаемого O <sub>2</sub> , с учетом более быстрого газообмена у крыс
O <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> на выходе из камеры	≈ 1 с (1 Гц)	180 мин <sup>-1</sup> (3 Гц)	Синхронно с частотой измерений оксигенации тканей

Скорость потока была подобрана экспериментально, исходя из требования получения значимых величин разности концентраций O<sub>2</sub> и CO<sub>2</sub> на входе и выходе в пределах чувствительности газоанализатора, которая составила 1 л/мин. При объеме камеры 9,7 л время установления равновесия по газам составляет не менее 30 мин. В опытах это время дополнительно контролировали по уровню оксигенации периферических тканей.

Для расчетов газообмена весьма важным было иметь точные значения объемных скоростей газовых смесей, которые зависят от их плотности. Поэтому использовали 2 типа датчиков – газовые ротаметры и датчики по теплопроводности. В итоге была проведена успешная калибровка датчиков с

учетом плотности и теплопроводности ДГС, содержащих разные инертные газы.

При изменении состава ДГС на O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-мониторе истинная величина содержания O<sub>2</sub> искажается в присутствии инертных газов. Это потребовало процедуры калибровки показаний O<sub>2</sub>-анализатора по калибровочным газовым смесям, содержащим гелий, аргон или криптон при контроле состава смесей на хромато-масс-спектрометре Agilent (хроматограф 6890N с масс-спектрометрическим детектором 5973N).

Концентрацию O<sub>2</sub> и CO<sub>2</sub> измеряли на входе и выходе камеры с подопытным животным. Зная объемную скорость потока, вычисляли скорость потребления O<sub>2</sub> и выделения CO<sub>2</sub> (VO<sub>2</sub> и VCO<sub>2</sub>).

Для воздуха расчеты проводились по формулам

$$VO_2 = Vi \cdot K_{STPD} \cdot (FiO_2 - FeO_2) / 1 - (1 - R) \cdot FeO_2; \quad (2)$$

$$VCO_2 = Vi \cdot K_{STPD} \cdot (FeCO_2 - FiCO_2), \quad (3)$$

где  $Vi$  – скорость продувки камеры с животным;  $K_{STPD}$  – коэффициент приведения к стандартным условиям;  $FeO_2$ ,  $FeCO_2$  – концентрации выдыхаемых  $O_2$  и  $CO_2$ ;  $FiO_2$ ,  $FiCO_2$  – концентрации подаваемых  $O_2$  и  $CO_2$  в камеру с животным.

С учетом наличия инертных газов в смеси аналогичный расчет необходимо производить по формулам

$$VO_2 = Vi \cdot K_{STPD} \cdot [FiO_2 \cdot (\frac{F_e N_2 + F_e Ar + F_e Kr}{F_i N_2 + F_i Ar + F_i Kr}) - FeO_2]; \quad (4)$$

$$VCO_2 = Vi \cdot K_{STPD} \cdot [FeCO_2 - FiCO_2], \quad (5)$$

где  $Vi$  – скорость продувки камеры с животным;  $K_{STPD}$  – коэффициент приведения к стандартным условиям;  $FeX$  – концентрации выдыхаемых газов;  $FiX$  – концентрации подаваемых газов в камеру с животным.

Для мягкой фиксации подопытных крыс была применена камера Когана, использующая норочный рефлекс, что минимизировало неизбежный стресс. На стопу животного, не имеющую шерстного покрова, сверху и снизу прикрепляются инфракрасный и красный светодиоды и фотодиод для пульсоксиметрии. Оптический датчик оксигенации периферических тканей фиксировали на основании хвоста. Оптический инфракрасный датчик для регистрации частоты дыхания не контактировал с телом животного и закреплялся на внешней стороне камеры Когана в области расположения грудной клетки. После закрепления датчиков подопытное животное помещали в герметичную камеру.

В каждом из 20 опытов перед началом гипоксического воздействия животные дышали атмосферным воздухом 55–60 мин, из которых в течение последних 15 мин у них снимали фоновые показатели. Затем в камеру подавали исследуемую ДГС. В течение 60 мин происходила стабилизация показателей, после чего гипоксическое воздействие продолжали еще 30 мин. Затем в камеру подавали атмосферный воздух, и через 30÷40 мин животное вынимали из камеры. Чистое время одного опыта на одном животном и с одним видом ДГС составляло 180÷210 мин, а с учетом подготовительных и заключительных манипуляций – 5÷6 ч.

В табл. 4 приведены основные характеристики экспериментальных ДГС. Исследования проводили на взрослых самцах белых лабораторных крыс линии Wistar с начальной массой  $318 \pm 19,4$  г (возраст 15–18 нед).

Сигналы, получаемые с датчиков и анализаторов, передавались в компьютер через 14-разрядный АЦП E14-440 LCard по дифференциальным каналам. Регистрацию быстропротекающих физиологических процессов осуществляли с помощью программы L Graf-2, а их обработку, визуализацию и хранение проводили в пакетах LabView 8.5.1 и Origin2015. Первичный сигнал по показателям частоты дыхания (BF), соотношения времени вдоха и выдоха ( $T_{in}/T_{ex}$ ), частоты сердечных сокращений (HR) и оксигенации периферической крови ( $SbO_2$ ) имел объем  $1,2 \div 1,6 \cdot 10^6$  значений и был в достаточной мере «зашумлен». В пакете Origin2015 сигнал усредняли методом скользящего среднего и приводили к виду, пригодному для подсчета пиков. Затем в опции «анализ пиков» (Peak Analyzer), где за базовую линию (Baseline) была принята нижняя огибающая (Envelope Low), проводили определение численных значений его временных характеристик.

Из данных литературы известны средние характеристики параметров внешнего дыхания, ЧСС и

Таблица 4

**Газовый состав и теплопроводность экспериментальных дыхательных смесей газовых**

Компоненты смеси	Смесь			
	He-O <sub>2</sub> -N <sub>2</sub> (%)	N <sub>2</sub> -O <sub>2</sub> (%) (воздух)	Ar-O <sub>2</sub> -N <sub>2</sub> (%)	Kr-O <sub>2</sub> -N <sub>2</sub> (%)
Гелий	35,26			
Азот	56,51	91,82	56,79	58,27
Кислород	8,19	8,15	8,36	8,11
Аргон	0,04	0,03	34,85	0,04
Криптон				33,58
Теплопроводность, ватт/(м·К) при 0 °С	6,56	2,43	2,15	1,91
Плотность, г/л	0,89	1,29	1,45	2,10

насыщения крови кислородом для животных, находящихся в нормальных условиях. Какими будут эти показатели при проведении эксперимента, было неизвестно, и это являлось предметом исследования.

Требовалось также отделить истинный сигнал от помех. Проведенная дополнительная обработка данных в пакете Statgraphics 16.0 позволила выявить границы истинных экспериментальных значений в 95%-ном доверительном интервале. Для показателя ЧСС при сравнении результатов полностью автоматической обработки сигнала и обработки вручную, когда визуально отбирались периоды с более или менее ровным и устойчивым первичным сигналом, результат был практически одинаковым. Истинные значения находились в диапазоне 350 ÷ 600 при автоматической обработке и 350 ÷ 580 ударов в минуту при ручной обработке. После соответствующей фильтрации по нижнему и верхнему значениям (пакет Exel-2010) средние значения практически совпали и составили 474 ± 38,1 для автоматической обработки и 468 ± 41,8 для ручной обработки.

Так как животные имеют индивидуальные особенности метаболизма, то перед началом статистического анализа провели проверку на однородность выборки по фоновым значениям каждого опыта по скорости потребления O<sub>2</sub> как одному из основных интегральных показателей метаболизма. При уровне значимости α = 0,05, различий между животными ни в пределах указанного временного интервала, ни между собой, не обнаружено.

Программа эксперимента была одобрена на заседании Комиссии по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 449 от 24.04.2017 г.).

### Результаты и обсуждение

В табл. 5 представлены результаты многофакторного дисперсионного анализа 16 мониторируемых показателей по совокупности всех проведенных опытов и с детализацией по фактору времени наиболее значимых показателей.

Через 7 сут после гипоксического воздействия все исследуемые показатели не отличались от фоновых значений (строка «Время фон – через 7 сут после гипоксии»), что свидетельствует о правильно выбранном периоде восстановления между опытами.

Таблица 5

**Результаты многофакторного дисперсионного анализа мониторируемых показателей дыхательной и сердечно-сосудистой систем, красной крови, снабжения кислородом периферических тканей, показателей газообмена и состояния метаболизма подопытных животных с указанием статистически достоверного (α = 0,05) влияния действующих факторов по совокупности всех проведенных опытов и детализацией по фактору времени наиболее значимых показателей (выделено курсивом)**

Фактор	Мониторируемые физиологические показатели																
	BF	Tin/Tex	HR	Hb	Ht	Er	Rtc	SbO <sub>2</sub>	THb	OxyHb	DoxyHb	StO <sub>2</sub>	VO <sub>2</sub>	VCO <sub>2</sub>	RQ	Glu	
Время фон – гипоксия – сразу после – через 7 сут	+	+				+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Время фон – гипоксия	+	+				+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Время фон – сразу после гипоксии																	
Время фон – через 7 сут после гипоксии																	
Индивид. особенности		+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Состав смеси		+															
воздух – аргон – кислородная		+															
аргон – криптон – кислородная		+															
Кратность воздействия гипоксии			+						+	+	+						

*Примечание.* BF – частота дыхания, мин<sup>-1</sup> (N = 4800); Tin/Tex – соотношение времени вход/выдох (N = 2500); HR – частота сердечных сокращений, мин<sup>-1</sup> (N = 8000); Hb – гемоглобин периферической крови, г/л (N = 40); Ht – гематокрит (N = 40); Er – кол-во эритроцитов, 10<sup>6</sup>/мкл (N = 40); Rtc – кол-во ретикулоцитов, на 1000 эритроцитов (N = 40); SbO<sub>2</sub> – насыщение кислородом периферической крови (N = 4300); THb – общий гемоглобин тканевой как показатель кровенаполнения тканей, усл. ед. (N = 2200); OxyHb – оксигемоглобин тканевой (N = 2200), усл. ед.; DoxyHb – дезоксигемоглобин тканевой, усл. ед. (N = 2200); StO<sub>2</sub> – насыщение кислородом тканей, усл. ед. (N = 2200); VO<sub>2</sub> – скорость потребления кислорода, мл/кг (N = 1600); VCO<sub>2</sub> – скорость выделения диоксида углерода, мл/кг (N = 1600); RQ – дыхательный коэффициент (N = 1600); Glu – глюкоза периферической крови, г/л (N = 40).

Дальнейший анализ показал, что из всех факторов, повлиявших на исследуемые показатели, наиболее весомыми являются индивидуальные особенности подопытных животных (41,9 %).

Вторым по значимости является фактор времени (38,7 %), что закономерно, так как он включает в себя период воздействия гипоксии, приводящей к резким изменениям всех показателей. При гипоксии насыщение  $O_2$  периферической крови и тканей падает. Снижается также уровень

общего гемоглобина в тканях (ТНб – total-Hb), что говорит об ухудшении кровенаполнения периферических тканей [21]. Кроме того, падало потребление  $O_2$  и выделение  $CO_2$ . Сразу после гипоксического воздействия было зафиксировано увеличение количества эритроцитов, уменьшение содержания глюкозы крови. Резко возросло потребление  $O_2$  и столь же резко падал дыхательный коэффициент RQ. Указанные изменения представлены на рис. 1.

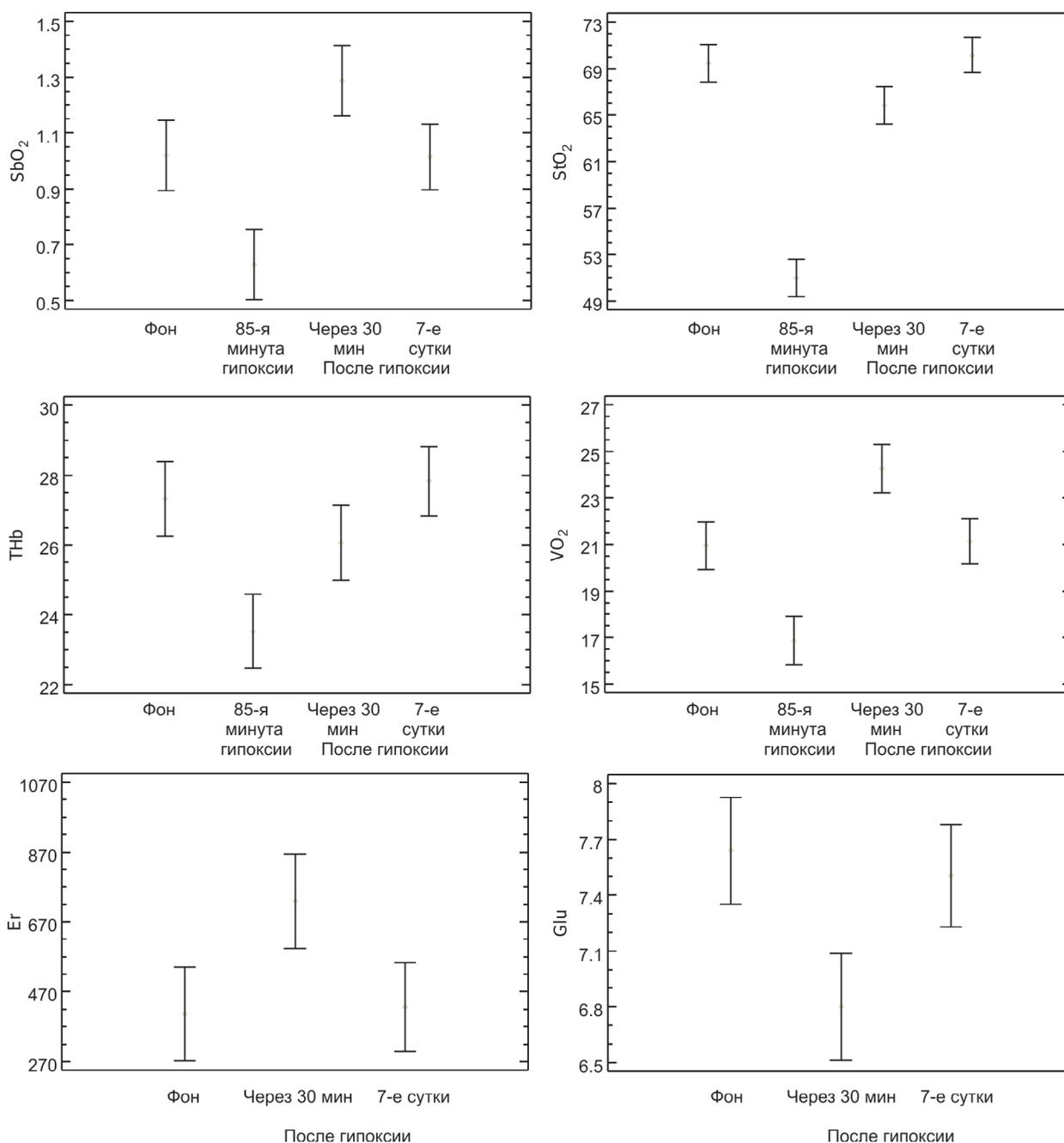


Рис. 1. Эффекты гипоксической гипоксии: SbO<sub>2</sub> – насыщение кислородом периферической крови, усл. ед.; StO<sub>2</sub> – насыщение кислородом тканей, усл. ед.; ТНб – общий гемоглобин тканевой как показатель кровенаполнения тканей, усл. ед.; VO<sub>2</sub> – скорость потребления кислорода, мл/кг; Er – кол-во эритроцитов, 10<sup>6</sup>/мкл; Glu – глюкоза периферической крови, г/л

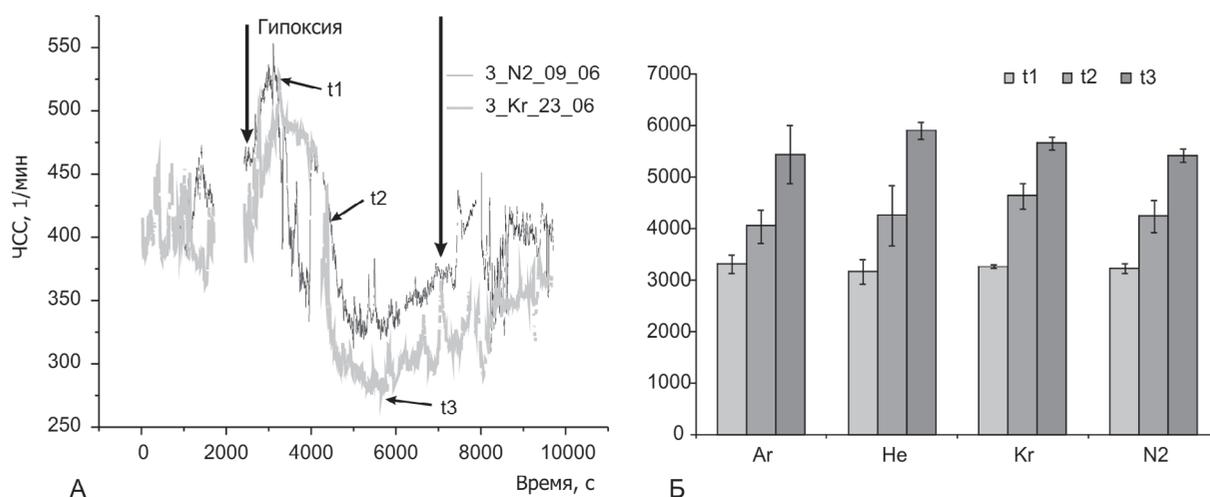


Рис. 2. Сравнительные характеристики временных параметров ЧСС: t1 – время max ЧСС; t2 – время полувысоты амплитуды ЧСС; t3 – время min ЧСС

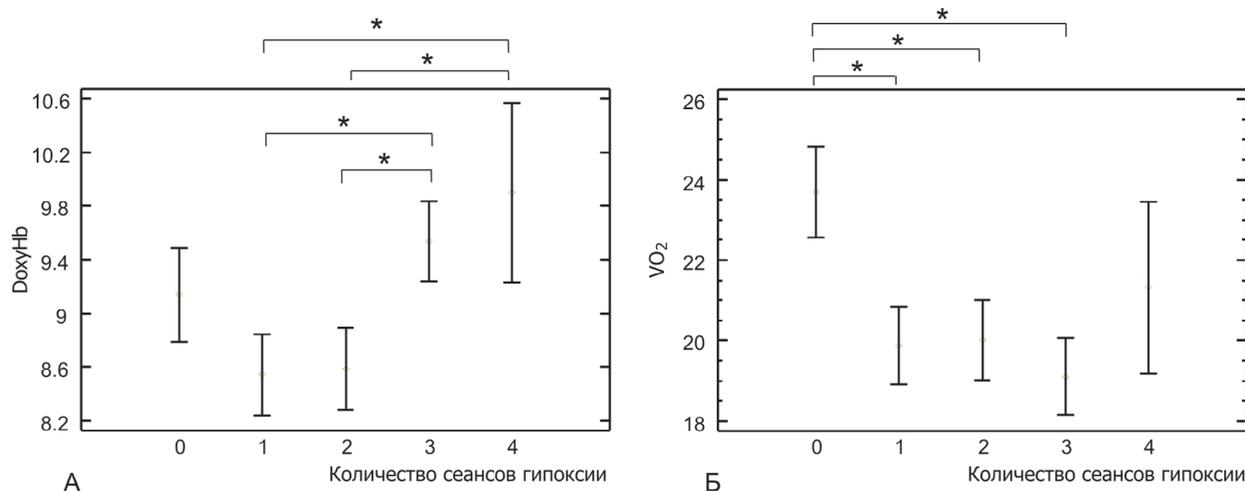


Рис. 3. Зависимость содержания дезоксигемоглобина в крови периферических тканей (А) и скорости потребления  $O_2$  (Б) в зависимости от кратности сеансов гипоксии. Приведены средние значения с указанием 95%-ного доверительного интервала (дисперсионный анализ, LSD-критерий). Здесь и на рис. 4: \* – статистически достоверные различия при  $p < 0,05$

В ходе гипоксического воздействия динамика ЧСС имела двухфазный характер. Вначале происходило нарастание, а затем падение ниже исходного уровня с последующим небольшим приростом. На рис. 2, А приведен характерный пример кривой для одного из подопытных животных (№ 3) при воздействии ДГС на основе азота и криптона. На рис. 2, Б представлены сравнительные характеристики ЧСС для всех ДГС. Значимых различий между смесями по этому показателю не отмечено.

Также ожидаемым, но не столь очевидным, с учетом 7-суточных перерывов между опытами, являлась значимость фактора кратности воздействия гипоксии (16,1%), представленного на рис. 3. Постепенно, через 3 сеанса, снизилась ЧСС. Через

4 сеанса кровенаполнение периферических тканей значимо возросло. Уровень дезоксигемоглобина и потребление кислорода через 1–3 сеанса снизился, а через 4 – возвратился к исходному уровню.

Перечисленные изменения отражают хорошо известные эффекты собственно гипоксической гипоксии, а также эффект гипоксических тренировок [22, 23]. Ожидаемого значимого влияния присутствия в ДГС инертных газов при сравнении результатов опытов с собственно гипоксическим воздействием не отмечено. Вклад этого фактора составил всего 3,2 %. На первый взгляд это противоречит нашим предшествующим опытам, когда наблюдался выраженный протекторный эффект аргона в гипоксических смесях при содержании  $O_2$  4,0 % [9]. Однако

следует учесть, что в данной работе была использована гораздо более «мягкая» гипоксия – 8–8,2 %  $O_2$ , которая не приводила организм на грань выживания, как в предыдущих наших экспериментах.

Данные о дыхательном коэффициенте, приведенные в табл. 5 (столбец RQ), свидетельствуют о том, что газообмен и метаболизм в целом у подопытных животных находился в стабильном состоянии, в том числе и во время гипоксии. Показатель RQ изменялся сразу после гипоксического воздействия, что хорошо известно как эффект «кислородного долга». Можно сделать предварительный вывод, что во время гипоксии инертные газы будут проявлять протекторный эффект только в случае выраженной гипоксии.

Эффект присутствия инертных газов в гипоксической ДГС проявился в изменении соотношения времени вдоха и выдоха (рис. 4). Характер этого эффекта был неочевиден. Исходя из плотности и теплопроводности ДГС (см. табл. 4), можно было ожидать последовательное постепенное изменение этого показателя без резких различий между воздухом и аргонсодержащей ДГС. Против ожидания, как раз в аргонсодержащей ДГС значение этого показателя было значимо выше, чем при дыхании воздухом и криптонсодержащей смесью, а достоверных различий не выявили даже между гелий- и криптонсодержащей смесями. Одним из возможных объяснений этому является влияние инертных газов на дыхательный центр. Проверка этого предположения потребует проведения дополнительных исследований.

Важный результат был получен также при сравнении уровня дезоксигемоглобина в периферических тканях при дыхании воздухом (нормоксия) и гипоксическими ДГС на основе инертных газов. Его содержание является показателем степени оксигенации тканей. Чем его значение выше, тем оксигенация хуже. На рис. 5 показано, что дыхание гипоксическими смесями на основе азота приводит к увеличению уровня дезоксигемоглобина, что свидетельствует о значимом ухудшении обеспечения организма кислородом [21]. Напротив, в присутствии инертных газов содержание дезоксигемоглобина достоверно не отличается от нормоксического контроля, что показывает сохранение оксигенации тканей на уровне, незначительно отличающемся от такового в условиях нормоксии. Сравнение проводилось по парному  $t$ -критерию Стьюдента при  $\alpha = 0,05$ . Наиболее выраженный результат был получен при применении криптона, свойства которого остаются недостаточно изученными.

Для экспериментов на животных с использованием дыхательных смесей на основе инертных газов разработана комплексная неинвазивная методика мониторинга состояния внешнего дыхания, газообмена и транспорта кислорода в режиме реального

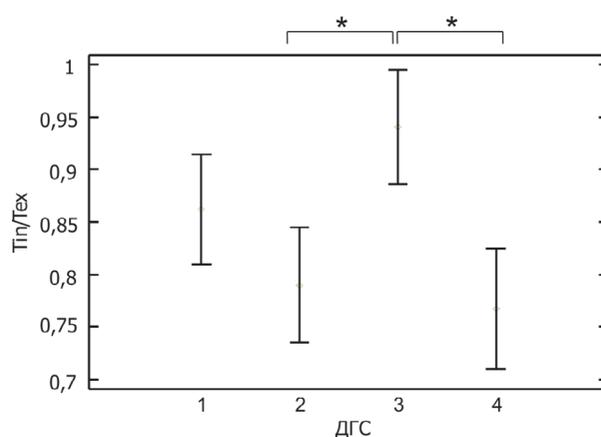


Рис. 4. Зависимость соотношения времени вдоха и выдоха от состава ДГС.

1 – смесь He-O<sub>2</sub>-N<sub>2</sub>; 2 – смесь N<sub>2</sub>-O<sub>2</sub> (воздух); 3 – смесь Ar-O<sub>2</sub>-N<sub>2</sub>; 4 – смесь Kr-O<sub>2</sub>-N<sub>2</sub>

времени по 16 показателям. Определяющим для создания экспериментального стенда являлось измерение газообмена по методике открытого цикла в герметичной камере малого объема. Методика включает в себя точное определение таких параметров газовых смесей, как состав и объемная скорость потока с учетом присутствия инертных газов, а в формулы расчетов введены поправки на инертные газы. Она рассчитана на использование малых выборок с обработкой результатов в основном методами многофакторного дисперсионного анализа по Шеффэ.

Разработанная методика была успешно использована при проведении эксперимента на животных с гипоксическими дыхательными газовыми смесями, содержащими инертные газы. Сама методика и ее аппаратное оснащение позволяют работать с газовыми смесями с содержанием  $O_2$  3÷100 %,  $N_2$  или любого инертного газа или их смеси в любых пропорциях от следовых количеств до 97 %, а  $CO_2$  – 0÷5 %. Разработанная методика также открывает широкие возможности изучения индивидуальных реакций организма.

При дыхании гипоксическими газовыми смесями на основе инертных газов получены неоднозначные результаты. На настоящем этапе с высокой степенью достоверности установлено два факта. Первый – изменяется соотношения между вдохом и выдохом, которое мы не связываем с физическими свойствами ДГС, а предполагаем, вероятнее всего, влияние инертных газов на дыхательный центр. Второй – в присутствии инертных газов оксигенация периферических тканей сохраняется на уровне, незначительно отличающемся от такового в условиях нормоксии. Оба результата потребуют подтверждения в дополнительных исследованиях.

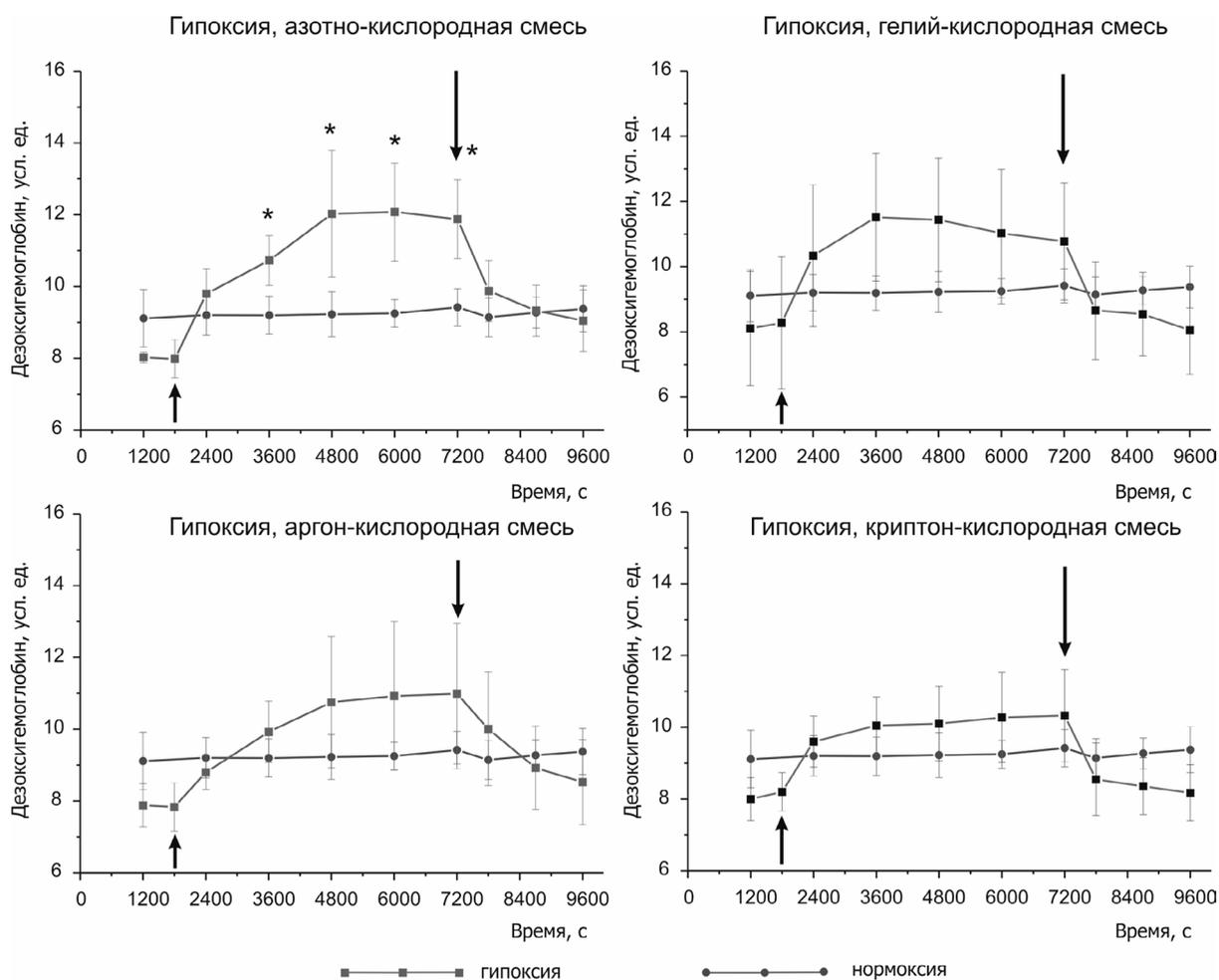


Рис. 5. Содержание дезоксигемоглобина (усл. ед.) в периферических тканях при дыхании подопытными животными гипоксическими смесями на основе различных инертных газов и при дыхании атмосферным воздухом. Стрелками отмечено начало и конец воздействия гипоксии; \* – достоверные различия с контролем (парный t-критерий Стьюдента,  $p < 0,05$ )

### Выводы

1. Разработана комплексная неинвазивная методика мониторинга состояния внешнего дыхания, газообмена и транспорта кислорода *in vivo* в режиме реального времени по 16 показателям в экспериментах на животных с дыхательными смесями на основе инертных газов. Методика рассчитана на использование малых выборок.

2. Методика успешно использована при оценке воздействия на подопытных животных гипоксических газовых смесей на основе гелия, аргона и криптона. Показано, что присутствие в гипоксических дыхательных смесях инертных газов ведет к изменению соотношения времени вдоха и выдоха, а оксигенация периферических тканей сохраняется на уровне, незначительно отличающемся от такового в условиях нормоксии.

*Работа выполнена в рамках фундаментальных исследований по базовой тематике РАН 64.1 на 2013–2020 гг. и при частичной поддержке программы научных исследований Президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий» на 2018–2020 гг.*

### Список литературы

1. Smith K.F., Weber N.C., Hollmann M.W., Precke B. Noble gases as cardioprotectants – translatability and mechanism // *British J. of Pharmacol.* 2015. V. 172. Is. 8. April. P. 2062–2073; <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.12994/ful>.
2. Höllig A., Schug A., Fahlenkamp A.V. et al. Systematic review on neuro- and organoprotective properties of an «inert» gas // *Int. J. Mol. Sci.* 2014. V. 15. № 10. P. 18175–18196; <https://doi.org/10.3390/ijms151018175>.

3. Dickinson R., Franks N.P. Bench-to-bedside review: Molecular pharmacology and clinical use of inert gases in anesthesia and neuroprotection // *Critical Care*. 2010. V. 14. Is.4. August, Art. 229; <http://ccforum.com/content/14/4/229>; <https://doi.org/10.1186/cc9051>.
4. Малкин В.Б. Барометрическое давление, газовый состав // *Обитаемость космических летательных аппаратов*. Т. II. Ч. I. Среда обитания космических летательных аппаратов. М., 1994. С. 9–44.
- Malkin V.B. Barometric pressure, gas composition // *The habitability of spacecraft*. V. II. P. I. The habitat of spacecraft. Moscow, 1994. P. 9–44.
5. Ксенон и ксеноносберегающие технологии в медицине. М., 2006.
- Xenon and xenon-saving technologies in medicine. Moscow, 2006.
6. Ma Daqing, Yang Hong, Lynch J. et al. Xenon attenuates cardiopulmonary bypass-induced neurologic and neurocognitive dysfunction in the rat // *Anesthesiol.* 2003. V. 98. № 3. P. 690–698; <http://dx.doi.org/10.1097/00000542-200303000-00017>.
7. Солдатов П.Э., Дьяченко А.И., Павлов Б.Н. и др. Выживаемость лабораторных животных в аргонсодержащих гипоксических газовых смесях // *Авиакосм. и экол. мед.* 1998. Т. 32. № 4. С. 33–37.
- Soldatov P.E., D'yachenko A.I., Pavlov B.N. et al. Survivability of the laboratory animals in the hypoxic argon-containing gaseous environments // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 1998. V. 32. № 4. P. 33–37.
8. Солдатов П.Э., Смирнов И.А., Смоленская Т.С. Метод коррекции гипоксических состояний организма с использованием физиологически активных газовых смесей на основе аргона // Там же. 2007. Т. 41. № 6/1. С. 64–66.
- Soldatov P.E., Smirnov I.A., Smolenskaya T.S. Method of correction of hypoxic states of the body using physiologically active gas mixtures based on argon // *Ibid.* 2007. V. 41. № 6/1. P. 64–66.
9. Павлов Б.Н., Григорьев А.И. et al. Hyperoxic, normoxic and hypoxic oxygen - argon gaseous mixtures influence on humans under different barometric pressures and respiration times // 5th International Meeting on high pressure biology. 1997. St. Petersburg, P. 133–142.
10. Шулагин Ю.А., Дьяченко А.И., Павлов Б.Н. Влияние аргона на потребление кислорода человеком при физической нагрузке в условиях гипоксии // *Физиология человека*. 2001. Т. 27. № 1. С. 147–154.
- Shulagin Yu.A., D'yachenko A.I., Pavlov B.N. The effect of argon on human oxygen consumption during exercise in hypoxia // *Fiziologiya cheloveka*. 2001. V. 27. № 1. P. 147–154.
11. Каркищенко Н.Н. Альтернативы биомедицины. Т. 1. Основы биомедицины и фармакомоделирования. М., 2007.
- Karkishchenko N.N. Biomedicine alternatives. P. 1. Basic principles of biomedicine and pharmacomodeling. Moscow, 2007.
12. ГОСТ Р 53434-2009 Принципы надлежащей лабораторной практики. М., 2010.
- GOST R 53434-2009 Principles of competent laboratory practice. Moscow, 2010.
13. Шеффе Г. Дисперсионный анализ. М., 1980.
- Scheffé G. The analysis of variance. Moscow, 1980.
14. Katz I., Murdock J., Palgen M. et al. Pharmacokinetic analysis of the chronic administration of the inert gases Xe and Ar using a physiological based model // *Med. Gas Res.* 2015. V. 5. P. 8. DOI 10.1186/s13618-015-0029-z.
15. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев, 1983.
- Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk V.I., Zakhariya E.A., Zapadnyuk B.V. Laboratory animals: breeding, maintenance, use in the experiment. Kiev, 1983.
16. Федотов А.А., Акулов С.А. Измерительные преобразователи биомедицинских сигналов систем клинического мониторинга. М., 2013.
- Fedotov A.A., Akulov S.A. Measuring converters of biomedical signals of clinical monitoring systems. Moscow, 2013.
17. Шмидт-Ниельсен К. Размеры животных: почему они так важны? М., 1987.
- Schmidt-Nielsen K. Scaling: Why is animal size so important? Moscow, 1987.
18. Kubo K., Ikebukuro T., Tsunoda N., Kanehisa H. Noninvasive measures of blood volume and oxygen saturation of human Achilles tendon by red laser lights // *Acta Physiol.* 2008. V. 193. P. 257–264.
19. Меерсон Ф.З. Механизмы и защитные эффекты адаптации // *Адаптационная медицина*. М., 1993. С. 25–31.
- Meerson F.Z. Mechanisms and protective effects of adaptation // *Adaptatsionnaya meditsina*. Moscow, 1993. P. 25–31.
20. Stephenson R., Gucciardi E.J. Theoretical and practical considerations in the application of whole body plethysmography to sleep research // *Eur. J. Appl. Physiol.* 2002. V. 87. P. 207–219.
21. Owen-Reece H., Smith M., Elwell C.E., Goldstone J.C. Near infrared spectroscopy // *Br. J. Anaesthesia*. 1999. V. 82. Is. 3. P. 418–426; <https://doi.org/10.1093/bja/82.3.418>.
22. Колчинская А.З., Дарский А.М. А special protocol for calculating the parameters of body oxygen regimen and computer calculation of hypoxia degree // *Hypoxia Medical J.* 1993. № 1. P. 10–13.
23. Волков Н.И., Коваленко Е.А. и др. Метаболические и энергогенетические эффекты сочетанного применения интервальной тренировки и гипоксической гипоксии. Интервальная гипоксическая тренировка, эффективность, механизмы действия. Киев, 1992.
- Volkov N.I., Kovalenko E.A. et al. The metabolic and energy-generating effects of the combined use of interval training and hypoxic hypoxia. Interval hypoxic training, effectiveness, mechanisms of action. Kiev, 1992.

Поступила 10.07.2019

**COMPLEX MONITORING-BASED EVALUATION OF THE CARDIORESPIRATORY SYSTEM AND GAS EXCHANGE IN LABORATORY ANIMALS BREATHING HYPOXIC BREATHING MIXTURES CONTAINING INERTIAL GASSES**

**Soldatov P.E., Shulaguin Yu.A., Tyurin-Kuzmin A.Yu., Krychenkov D.A., Nosovsky A.M., Suvorov A.V., Smolenskaya T.S., Smirnov I.A., Smirnova T.A.**

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

*A complex non-invasive procedure of real-time monitoring 16 indices of external respiration, gas exchange and oxygen transport in small animals breathing inertial gas containing mixtures (GBM) was developed. The core is the use of an open-flow chamber system for gas-exchange measurements. The procedure includes also accurate setting of GBM characteristics; all formulas were corrected for the presence of inertial gases. The procedure is intended for randomized testing each GBM with one and the same animal in a small*

*sample. Data processing is performed using Scheffe's multivariate analysis.*

*The animals breathed hypoxic GBM (8.1÷8.4 % O<sub>2</sub>) containing He, Ar and Kr (56÷58 %). Hypoxic and normoxic N<sub>2</sub>-based GBMs were used as controls. The series of 20 tests was made with 4 adult Wistar male rats with initial body mass of 318 ± 19.4 g.*

*Multivariate analysis showed that the ratio of inspiratory time to expiratory time in argon-containing GBM was significantly higher than in air and krypton-containing mixture. One of explanations can be the effect of inertial gases on the respiratory center.*

*Comparison of deoxyhemoglobin levels in peripheral tissue on the background of breathing air and GBMs showed a considerable increase due to breathing nitrogen-containing hypoxic mixtures. Deoxyhemoglobin level in the presence of inertial gases does not differ from the normoxic control and, therefore, tissue oxygenation is not much different, too. Testing with krypton-containing BGM gave the most exciting result.*

*Key words: hypoxic hypoxia, inertial gases, cardio-respiratory system, oxygenation, non-invasive techniques.*

*Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 5. P. 65–76.*

УДК 796.525:796.015.576

## **ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИЧЕСКИХ ТРЕНИРОВОК И ФАРМАКОКОРРЕКЦИИ НА ФИЗИЧЕСКУЮ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ И АВТОНОМНУЮ РЕГУЛЯЦИЮ У АЛЬПИНИСТОВ**

**Ганапольский В.П., Авдюшенко С.А., Гринчук С.С., Королев Ю.Н., Лунин А.А., Лучникова О.В., Матыцин В.О., Ржепецкая М.К., Щукина Н.А.**

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

E-mail: matitsin@list.ru

*Проведено изучение влияния периодических гипоксических гипобарических тренировок и фармакокоррекции актопротектором трекрезаном и антигипоксантом цитофлавином на физическую работоспособность, психомоторные реакции и автономную регуляцию сердечно-сосудистой системы у альпинистов. В исследовании приняли участие альпинисты (15 здоровых мужчин в возрасте от 23 до 30 лет), которым был проведен курс периодических гипоксических гипобарических тренировок на термобарокомплексе «Табай» в ежедневном режиме, первый подъем на высоту 1500 м, следующий – на 2000 м, остальные – на 2500 м, всего 8 подъемов; длительность каждого подъема составляла 1 ч. Схема фармакокоррекции: 8 случайно отобранных альпинистов за 8 дней до курса тренировок принимали трекрезан (первый день 600 мг, далее – 200 мг/сут), затем в ходе курса – цитофлавин 1520 мг/сут в 2 приема; остальные 7 участников получали плацебо. Перед началом курса интервальных гипоксических тренировок, а также после его завершения проводили обследование альпинистов, включавшее в себя кардиореспираторный тест с физической нагрузкой на комплексе MetaLyser (Cortex, Германия) с велоэргометром, а также оценку вариабельности ритма сердца при помощи пакета программ «Поли-спектр» («Нейрософт», Россия). Результаты проведенного исследования показали, что курс интервальных гипоксических гипобарических тренировок на термобарокомплексе «Табай» с моделированием гипоксии низкой степени способен повысить физическую работоспособность и выносливость альпинистов. Курсовой прием трекрезана способен оптимизировать психомоторную функцию и оказывать влияние на автономную нервную систему, снимая избыточный симпатический тонус.*

Ключевые слова: гипоксия, альпинисты, физическая работоспособность, барокамерный подъем, вариабельность ритма сердца, гипоксическая тренировка, фармакологическая коррекция.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 5. С. 77–84.

**DOI:** 10.21687/0233-528X-2019-53-5-77-84

Гипоксия является наиболее универсальным типовым патологическим процессом, проявляющимся не только при развитии болезни, но и в ряде физиологических состояний, таких, как физические и психоэмоциональные нагрузки, а также в условиях окружающей среды, не являющихся для человека комфортными: горная местность, низкие либо высокие температуры. Важное место в подготовке спортсменов высокого класса и специалистов экстремальных видов деятельности занимают тренировки, направленные на совершенствование мастерства и повышение физической выносливости. Не менее актуальным является их физиологическое сопровождение, способствующее формированию адаптации к неблагоприятным факторам среды, включая высотную гипоксию.

Задача гипоксической тренировки состоит в срочной адаптации организма человека к гипоксии с последующим формированием устойчивого долговременного структурного следа этой адаптации [1]. Имеются сведения о том, что после 10 ежедневных сеансов прерывистой гипобарической тренировки повышалась устойчивость человека к воздействию стрессорных факторов. Эффект тренировок сохранялся на протяжении 2–6 мес [2]. В настоящее время во многих странах разработана методология гипоксических тренировок спортсменов и специалистов экстремальных видов деятельности, основанная на применении климатических нормо- и гипобарических камер, проведении выездных тренировок в горной местности, использовании гипоксикаторов различной конструкции. Гипоксические тренировки в моделируемых условиях являются адекватной заменой тренировкам в горной местности [3]. Было показано положительное влияние прерывистых гипоксических гипобарических тренировок на аэробный энергетический метаболизм спортсменов и выполнение ими физических нагрузок [4].

Автор работы [5] отмечает, что существуют 2 стратегии прерывистых гипоксических тренировок: 1) нахождение спортсмена в гипоксических условиях в состоянии покоя с целью стимуляции

адаптации к гипоксии; 2) физическая нагрузка в условиях гипоксии с целью интенсификации тренировки спортсмена.

Для каждой стратегии основным является вопрос о степени создаваемой гипоксической нагрузки. Существует вариант, чередующий акклиматизацию человека к высотам около 2500 м с физическими тренировками, выполняемыми в условиях высот, соответствующих уровню моря. Достоинства данного подхода заключаются в следующем: 1) физическая тренировка в нормоксических условиях повышает работоспособность спортсменов; 2) механизм улучшения работоспособности состоит в повышении уровня эритропоэтина, стимулируемого гипоксическими тренировками, что приводит к увеличению массы эритроцитов и повышению потребления кислорода; 3) физическая тренировка в условиях гипоксии приводит к обратному эффекту – снижению скорости, уменьшению выходной мощности, падению потребления кислорода и, следовательно, снижению уровня подготовки спортсмена.

При выполнении различного вида работ в условиях умеренной гипоксии, особенно сопряженных с повышенными физическими и психическими нагрузками, выбор соответствующих профилактических мероприятий играет важную, а иногда и определяющую роль. Применение фармакокоррекции является наиболее доступным и удобным профилактическим мероприятием для адаптации к неблагоприятным условиям среды, однако в настоящее время носит ограниченный характер. Для условий высокогорья характерно преобладание низких температур. Повреждающее воздействие на организм человека оказывается сочетанием 2 факторов – гипоксии и холода. В последние годы экспериментально и клинически изучен и внедрен в медицинскую практику новый синтетический адаптоген трекрезан. Установлено, что трекрезан эффективно корригировал холодовые изменения сердечно-сосудистой системы, увеличивал работоспособность участников исследования. Сохранялась на уровне, характерном для термокомфортных условий, координированность движений («тонкая моторика») [6]. Универсальность эффектов трекрезана допускает возможность его применения для поддержания работоспособности специалистов и их адаптации к условиям холода и гипоксии высокогорья.

Разработан комплексный препарат цитофлавин, компоненты которого, являясь естественными метаболитами организма (янтарная кислота, инозин, никотинамид, рибофлавин), реализуют свой антигипоксический эффект за счет разных механизмов, что способствует потенцированию действия каждого компонента. Препарат показал устойчивый антигипоксический эффект на модели экспериментального травматического повреждения мозга крыс [7], а также при острых [8] и хронических

[9] нарушениях церебральной гемодинамики. Антигипоксический эффект цитофлавина может быть использован в целях поддержания работоспособности здоровых людей, выполняющих задачи в экстремальных условиях.

Целью настоящего исследования явилось изучение воздействия курса гипоксических тренировок и курсового приема метаболических активаторов на функциональное состояние организма специалистов, выполняющих профессиональные задачи в условиях горной местности.

#### Методика

*Контингент участников.* В исследовании приняли участие 15 альпинистов (мужчины), подписавших Информированное согласие. Организация и проведение исследования одобрено независимым Этическим комитетом при ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ (протокол № 203 от 20 марта 2018 г.). Добровольцы были обеспечены трехразовым питанием в столовой, рацион был сбалансированным и сходным для каждого по питательным свойствам. Возраст участников составил от 23 до 30 лет, их масса тела варьировала от 63 до 85 кг, рост – от 167 до 182 см.

Перед началом курса интервальной гипоксической гипобарической тренировки проводили исходное обследование (1-й и 2-й день), по ее завершении – итоговое обследование (11-й и 12-й день) добровольцев.

*Курс интервальных гипоксических гипобарических тренировок выполняли* на термобарокомплексе «Табай» (Япония). Гипоксическая тренировка представляла собой барокамерный подъем, имитирующий условия заданной высоты, всего было выполнено 8 тренировок в ежедневном режиме. Каждая тренировка включала в себя подъем на высоту, скорость 10–15 м/с (10–15 мин); площадку на высоте (60 мин); спуск, скорость 10–15 м/с (10–15 мин). Высота 1-го подъема составила 1500 м; 2-го – 2000 м, 3–8-го подъемов 2500 м. Температура воздуха в камере поддерживалась в пределах 18–27 °С, относительная влажность воздуха 20–30 %. Накопление углекислого газа предотвращалось путем постоянной вентиляции камеры. Добровольцы находились в камере в условиях покоя в креслах.

*Фармакологическая коррекция.* Фармакологические средства применяли в 2 этапа, по одному препарату на каждом этапе. Участников исследования случайным образом разделили на 2 группы: добровольцы принимали плацебо (7 человек, группа 1) либо препарат (8 человек, группа 2) до начала исследования (1-й этап) и в дни барокамерного подъема (2-й этап). Продолжительность каждого этапа составляла 8 дней. На 1-м этапе за 8 дней до начала курса гипоксических тренировок

добровольцы 2-й группы принимали актопротектор трекрезан по схеме: в 1-й день 3 таблетки (600 мг) в сутки, в последующие 7 дней по 1 таблетке (200 мг) однократно утром после еды. Суммарная курсовая доза трекрезана составила 2000 мг (10 таблеток).

На 2-м этапе во время курса гипоксических тренировок добровольцы группы 2 принимали комплексный препарат антигипоксического типа действия цитофлавин. Препарат назначался внутрь по 2 таблетки (760 мг) 2 раза в сутки за 30 мин до еды, с интервалом между приемами 8–10 ч.

Все участники исследования проходили антропометрические измерения, включавшие определение роста, веса, динамометрию.

**Кардиореспираторный тест с физической нагрузкой.** С целью оценки физической работоспособности и выносливости добровольцы выполняли кардиореспираторный тест с определением порога анаэробного окисления и максимального потребления кислорода (МПК) на пике физической нагрузки. Тест проводили на велоэргометре Ergoline, подключенном к эргоспирометрической системе MetaLyser (Cortex, Германия). Регистрировали показатели в покое, затем выполняли исследование с физической нагрузкой по ступенчатому протоколу: период свободного педалирования 3 мин, далее ступенчатая нагрузка, повышающаяся с шагом 50 Вт до достижения максимальной физической нагрузки, критериями которой считали прекращение роста частоты сердечных сокращений и значений потребления кислорода, а дыхательный коэффициент превышал 1. По достижении МПК переходили к периоду восстановления длительностью 6 мин, в ходе которого участник выполнял педалирование без нагрузки. Определяемые показатели: потребление кислорода ( $\dot{V}O_2$ , л/мин); удельное потребление кислорода ( $\dot{V}O_2$ /кг, мл/мин/кг); кислородный пульс ( $\dot{V}O_2$ /ЧСС, мл/уд.); минутный объем вентиляции ( $\dot{V}E$ , л/мин); частота дыхания (ЧД, цикл/мин); достигнутая мощность нагрузки (WR, Вт).

**Психофизиологическое обследование** включало оценку психомоторных и нейродинамических свойств нервной системы и состояло из методик, реализованных на аппаратно-программном комплексе «НС-Психотест» компании ООО «Нейрософт» (г. Иваново):

– простой зрительно-моторной реакции (ПЗМР) представляющей собой элементарный вид произвольной реакции человека на зрительный стимул;

– реакции на движущийся объект (РДО) являющейся разновидностью сложной сенсомоторной реакции;

– критической частоты слияния мельканий (КЧСМ) – минимальной частоты вспышек света, которая сопровождается ощущением непрерывного равномерного свечения;

– контактной треморометрии, при которой регистрировали частоту касаний стержнем боковых

стенок отверстия (непроизвольных отклонений от заданной точки), а также длительность этих касаний.

**Психологическое обследование.** Для дифференцированной самооценки функционального состояния альпинистов использовали следующие методики:

– методику и диагностику самочувствия, активности и настроения (САН);

– анкету самооценки состояния (АСС) для выявления имеющихся жалоб и экспресс-оценки бодрости, собранности (внимательности), спокойствия (уравновешенности), уверенности в себе и интереса к работе;

– тест для оценки тревожности Ч.Д. Спилбергера в адаптации Ю.Л. Ханина: шкалы реактивной (ситуационной) и личностной тревожности;

– методику Р.С. Немова для оценки силы воли;

– корректурную пробу Бурдона (модификация Ландольта) для определения концентрации и устойчивости внимания, выявления утомления.

**Анализ variability сердечного ритма.** С целью оценки возможных реакций автономной нервной системы на гипоксические тренировки и фармакокоррекцию у добровольцев исходно и по завершении курса тренировок проводили запись электрокардиограммы (ЭКГ) в 3 стандартных отведениях. Результаты ЭКГ-исследования обрабатывали с помощью пакета программ «Поли-Спектр» (фирма «Нейрософт», г. Иваново). Анализировали динамику показателей, характеризующих variability ритма сердца (ВРС):

– частоту сердечных сокращений (ЧСС);

– среднюю длительность RR-интервалов (RRNN) и ее стандартное отклонение (SDNN);

– параметры гистограммы распределения RR-интервалов с оценкой системы регуляции по методике Р.М. Баевского (вариационный размах (ВР), индекс напряжения (ИН), индекс вегетативного равновесия (ИВР), вегетативный показатель ритма (ВПР);

– корреляционную ритмограмму (графическое изображение соседних пар интервалов RR в виде облака скаттерграммы, характеристиками которой являются площадь ell S (мс<sup>2</sup>), длина ell L (мс), ширина ell W (мс);

– структуру волнового процесса (общая мощность спектра (ТР), мощность спектра в очень низкочастотном диапазоне (VLF) – 0,07–0,01 Гц; в низкочастотном диапазоне (LF) – 0,07–0,15 Гц; высокочастотном диапазоне (дыхательные волны) (HF) – 0,15–0,4 Гц).

**Обработку экспериментальных данных** проводили с использованием пакета прикладных программ SPSS, Statistica 10 и электронных таблиц Microsoft Excel.

Учитывая малые размеры выборок, использовали непараметрические критерии: для связанных

выборки применяли критерий Вилкоксона, для оценки различий между несвязанными выборками использовали критерий Манна – Уитни. Центральную тенденцию в выборках выражали через медиану, разброс значений – через минимум и максимум ( $Me [x_{\min}; x_{\max}]$ ).

### Результаты и обсуждение

**Кардиореспираторный тест.** С целью оценки физической работоспособности добровольцев был выполнен тест кардиореспираторной нагрузки перед началом курса интервальной гипоксической гипобарической тренировки и после ее завершения. Оценивали индивидуальные изменения изучаемых показателей после гипоксической тренировки, а также сравнивали данные показатели по их средним значениям, полученным у добровольцев обеих групп в зависимости от приема трекрезана либо плацебо.

При исходном обследовании было показано отсутствие статистически значимых различий между показателями вентиляции, газообмена и функции сердечно-сосудистой системы в покое у добровольцев 1-й и 2-й групп, что свидетельствовало об однородности обеих выборок.

Основным физиологическим критерием эффективности гипоксических тренировок у альпинистов является повышение максимального потребления кислорода на пике физической нагрузки при выполнении кардиореспираторного теста. Было показано статистически значимое повышение потребления кислорода на максимуме физической нагрузки у добровольцев обеих групп по средним значениям, а также при оценке индивидуальных изменений данного показателя у каждого участника исследования, вне зависимости от приема препарата либо плацебо. В табл. 1 представлены сводные результаты выполнения кардиореспираторного теста у добровольцев каждой группы. При сравнении результатов, полученных на максимуме физической нагрузки в исходном состоянии и по окончании курса интервальной гипоксической гипобарической тренировки, было выявлено статистически значимое повышение показателей максимального потребления кислорода на единицу массы после курса интервальной гипоксической тренировки как у добровольцев, получавших плацебо ( $p = 0,026$ ), так и у принимавших препараты ( $p = 0,011$ ). Значения вентиляторного эквивалента по кислороду  $V'E/V'O_2$  у добровольцев группы 1 после курса гипоксической тренировки имели тенденцию к росту ( $p = 0,063$ ), показатели вентиляторного эквивалента по углекислому газу  $V'E/V'CO_2$  увеличились на 11 % ( $p = 0,018$ ). У добровольцев группы 2 изменения вентиляторных эквивалентов по кислороду и углекислому газу были статистически незначимыми ( $p > 0,05$ ). В то же время у добровольцев в

каждой группе было отмечена тенденция к увеличению значений кислородного пульса  $V'O_2/ЧСС$  по сравнению с исходными на 5 %. Статистически значимое увеличение данного показателя наблюдали у добровольцев группы 2 ( $p = 0,014$ ).

Было выявлено статистически значимое ( $p = 0,028$ ) повышение минутного объема вентиляции  $V'E$  на максимуме физической нагрузки у добровольцев группы 1, в то время как у добровольцев группы 2 этот показатель имел тенденцию к повышению ( $p = 0,093$ ). Несмотря на то что медианы максимальной нагрузки после курса гипоксической тренировки оставались на уровне 300 Вт, 3 участников в группе 1 и столько же – в группе 2 выполнили тест с максимальной нагрузкой, которая составила 325–350 Вт.

Таким образом, у альпинистов 1-й и 2-й групп после курса интервальной гипоксической тренировки было достигнуто статистически значимое повышение максимального потребления кислорода на пике физической нагрузки с сопутствующей тенденцией к повышению объема вентиляции и вентиляторных эквивалентов по кислороду и углекислому газу, а также к повышению мышечной мощности при выполнении физической работы. Статистически значимых различий между данными показателями у альпинистов групп 1 и 2 после курса гипоксической тренировки выявлено не было. На рисунке представлена динамика потребления кислорода в ходе кардиореспираторного теста после курса гипоксической тренировки у добровольцев 1-й и 2-й групп, демонстрирующая сходную тенденцию вне зависимости от наличия либо отсутствия фармакокоррекции.

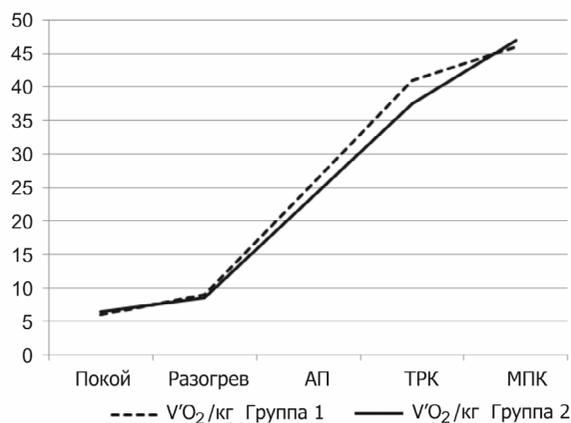


Рисунок. Динамика потребления кислорода у альпинистов 1-й и 2-й групп в ходе кардиореспираторного нагрузочного теста после курса интервальной гипоксической тренировки.

По оси ординат – удельное потребление кислорода  $V'O_2/кг$ , мл/мин/кг; АП – анаэробный порог; ТРК – точка респираторной компенсации; МПК – точка, соответствующая максимальному потреблению кислорода

Таблица 1

**Результаты теста кардиореспираторной нагрузки в исходном состоянии и после проведения курса интервальной гипоксической гипобарической тренировки у альпинистов**

Показатели	Группа 1		Группа 2	
	Перед курсом тренировок	После курса тренировок	Перед курсом тренировок	После курса тренировок
$V'O_2$ , кг, мл/мин/кг	44 [40; 51]	46 [45; 51]*	44 [40; 49]	47 [41; 51]*
$V'E/V'O_2$ , ед.	37,4 [31; 39,6]	39,3 [31,5; 49,1]	34,25 [29; 45,2]	36,2 [29,7; 53]
$V'E/V'CO_2$ , ед.	30 [26,3; 33,2]	33,4 [26,6; 38,4]*	28,25 [24,4; 35,8]	29,9 [26; 41]
$V'O_2$ /ЧСС, мл/уд.	19 [18; 21]	20 [19; 22]	18,5 [16; 20]	19,5 [16; 22]*
$V'E$ , л/мин	127,1 [111,7; 150,7]	159,9 [121,4; 185]*	126,95 [90,2; 157,3]	133,75 [96,9; 185]
WR, Вт	300 [250; 300]	300 [250; 350]	300 [250; 300]	300 [250; 350]*

*Примечание.* Здесь и в табл. 2: указаны Me – медиана (центральное значение),  $[x_{min}; x_{max}]$  – разброс значений; \* – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) между показателями, полученными после курса гипоксической тренировки по сравнению с исходными. Для оценки различий использован w-критерий Вилкоксона.

Исследование вариабельности ритма сердца. Анализ вариабельности сердечного ритма (BPC) позволяет провести оценку регуляторной активности автономной нервной системы, определить наличие баланса либо дисбаланс между функционированием ее основных отделов. Учитывая, что все участники исследования были здоровыми, активно и регулярно занимались спортом, все показатели автономной регуляции у добровольцев обеих групп варьировали в диапазоне нормотонии. Однако сравнительный анализ выявил статистическую значимость различия ряда показателей BPC у добровольцев групп 1 и 2 после курса периодических гипоксических тренировок (табл. 2). Так, показатель сверхнизкочастотного диапазона спектрального анализа после проведения тренировочного цикла оказался на 35 % ниже у добровольцев группы 1 по сравнению с таковым у добровольцев группы 2 (VLF, медианы 1347 и 1812 мс<sup>2</sup> соответственно,  $p = 0,029$ ), что свидетельствует о более выраженном снижении активности надсегментарных уровней регуляции BPC у добровольцев группы плацебо.

Выраженные различия были выявлены в величине и направленности индивидуальных изменений по ряду показателей функции сердечно-сосудистой системы и ее автономной регуляции у добровольцев группы, принимавшей плацебо, после прохождения ими курса периодических гипоксических гипобарических тренировок. Так, показано, что после курса периодических гипоксических тренировок у добровольцев группы 1 чаще и интенсивнее увеличивались показатели ЧСС (у 6 человек,  $p = 0,028$ ) и ВПР (у 6 человек,  $p = 0,028$ ), у всех добровольцев возрастал ИН, ПАПР и ИВР (7 человек,  $p = 0,018$ ); уменьшение наблюдалось у всех по показателям SDNN, TP, ell S (7 человек,  $p = 0,018$ ), у 6 участников интенсивнее снижались показатели CV, VLF, ell L ( $p = 0,028$ ). В то же время статистически значимых

изменений показателей функции сердечно-сосудистой системы и ее автономной регуляции у добровольцев, получавших фармакокоррекцию, не было выявлено.

Эти изменения свидетельствуют о том, что у добровольцев группы 1 после курса периодических гипоксических тренировок чаще наблюдались изменения в сторону увеличения симпатического влияния на ритм сердца. Также было отмечено снижение влияния надсегментарных уровней регуляции BPC. Полученные результаты показали более высокую активность симпатического уровня регуляции после курса периодических гипоксических тренировок у добровольцев группы 1. Фармакокоррекция на фоне курса периодических гипоксических тренировок предотвращала повышение тонуса симпатической нервной системы.

*Психофизиологическое обследование* показало, что изучаемые психофизиологические показатели добровольцев, принимавших плацебо и фармакопрепараты, как в исходном состоянии, так и после проведения курса интервальных гипоксических тренировок, находились в пределах физиологической нормы. Была выявлена тенденция к увеличению ( $p < 0,05$ ) инкрементного порога КЧСМ у добровольцев, получавших как плацебо, так и фармакокоррекцию, по завершении курса интервальных гипоксических гипобарических тренировок, что может свидетельствовать о некотором улучшении функционального состояния коркового отдела зрительного анализатора в процессе тренировок в условиях высотной гипоксии низкой степени.

*Психологическое обследование альпинистов* и материалы собеседования показали положительное оценочное восприятие участия добровольцев в проводимых мероприятиях по гипоксической тренировке с фармакологической поддержкой. Нахождение в термобарокомплексе «Табай» не вызывало чувства

Таблица 2

**Результаты анализа вариабельности сердечного ритма в исходном состоянии и после проведения курса интервальной гипоксической гипобарической тренировки у альпинистов**

Показатели	Группа плацебо		Группа препарата	
	Перед курсом	После курса	Перед курсом	После курса
ЧСС, уд./мин	65,8 [53,2; 84,9]	75,8 [56,4; 83,3]*	66,7 [52,5; 79,4]	68,75 [59,3; 72]
RRNN, мс	912 [707; 1128]	791 [720; 1063]	905,5 [756; 1143]	872,5 [833; 1012]
SDNN, мс	84 [56; 113]	56 [43; 77]*	79 [48; 137]	64 [53; 94]
CV, %	8 [6,15; 13,13]	6,59 [5,23; 9,75]*	8,28 [4,87; 12,41]	7,39 [5,83; 9,43]
TP, мс <sup>2</sup>	6649 [2797; 13363]	2866 [1816; 5926]*	5697,5 [2183; 16070]	4020,5 [2814; 7753]
HF, мс <sup>2</sup>	697 [188; 2323]	681 [138; 1459]	651 [173; 2591]	740,5 [215; 1501]
LF, мс <sup>2</sup>	1435 [385; 4640]	1083 [645; 2200]	1499,5 [654; 2585]	1357,5 [809; 3072]
VLF, мс <sup>2</sup>	3347 [1091; 6769]	1347 [770; 2267]*	2716 [948; 11908]	1812,5 [981; 5941]#
LF/HF	2 [1,16; 3,59]	2,41 [0,51; 5,11]	2,17 [0,71; 7,09]	2,11 [1,05; 3,87]
ell_L, мс	238 [125; 307]	144 [127; 211]*	206 [133; 379]	181 [156; 274]
ell_w, мс	61 [30; 110]	54 [32; 108]	63 [32; 126]	65 [37; 99]
L/w	3,5 [2,17; 5,51]	2,95 [1,17; 4,56]	3,17 [1,73; 8,36]	3,01 [2,41; 4,25]
ell_S, мс <sup>2</sup>	11437 [3794; 22371]	6789 [3448; 10832]*	8764 [5467; 35986]	9177,5 [4606; 21267]
ИН	22 [18,2; 83,9]	58,7 [30,7; 114,9]*	41,55 [13,5; 74,7]	47,7 [23,4; 85,3]
ПАПР	24,5 [19,4; 45,4]	35,1 [30; 51,9]*	32,15 [16,5; 39,6]	31,75 [18,6; 42,6]
ИВР	50,4 [30,2; 121,3]	122,4 [59,8; 163,1]*	65,3 [28,1; 146,9]	83,95 [47,1; 143,3]
ВПР	2,28 [1,79; 5,38]	4,44 [1,88; 6,24]*	3,35 [1,14; 4,26]	3,15 [2,1; 4,77]

Примечание. # – статистически значимые различия (p < 0,05) между показателями, полученными у добровольцев обеих групп после курса гипоксической тренировки; для оценки различий использован u-критерий Манна – Уитни.

дискомфорта и проходило при быстрой психологической адаптации добровольцев к проводимым исследованиям.

Основная задача физиологического сопровождения специалистов экстремальных видов деятельности состоит преимущественно в оптимизации физической выносливости и нервно-психической устойчивости профессионалов, что, в свою очередь должно позволить решать профессиональные задачи наиболее эффективно и без срывов. Поскольку одним из основных часто применяемых немедикаментозных методов повышения работоспособности спортсменов являются гипоксические тренировки [3–5, 10], для тренировки представленного контингента участников исследования был применен курс периодических гипоксических гипобарических тренировок на термобарокомплексе «Табай». Режим

тренировок, в котором высотные подъемы не превышали 2500 м, а добровольцы находились в условиях физического покоя, был выбран на основании изучения литературных источников, указывающих, что гипоксические тренировки целесообразно проводить в условиях гипоксии низкой степени [3–5, 10] при отсутствии физической нагрузки [5].

По результатам исходного обследования группы альпинистов показана их высокая физическая работоспособность, выносливость, психические и психомоторные функции, регуляторные свойства автономной нервной системы укладывались в нормативные значения для здоровых лиц.

Сравнительный анализ результатов кардиореспираторного теста выявил у добровольцев, вне зависимости от фармакокоррекции либо приема плацебо, статистически значимое повышение

максимального потребления кислорода на пике физической нагрузки. Также имела место тенденция к повышению объема вентиляции и вентиляторных эквивалентов по кислороду и углекислому газу, а также к повышению мышечной мощности при выполнении физической работы после курса интервальной гипоксической тренировки. Тенденция к повышению объема вентиляции, более выраженная у добровольцев группы плацебо ( $p < 0,05$ ), может быть связана с усилением работы дыхательных мышц после курса гипоксических тренировок. Существует мнение, что при проведении интервальных гипоксических тренировок может происходить изменение в мышечной ткани либо тренировка дыхательных мышц [11].

Сравнение результатов кардиореспираторного теста с физической нагрузкой перед проведением курса интервальной гипоксической тренировки и после его завершения у альпинистов показало, что периодическое воздействие умеренной высотной гипоксии способно повышать физическую работоспособность человека. Несмотря на статистическую значимость различий значений максимального потребления кислорода перед началом гипоксической тренировки и после ее завершения, абсолютные величины этого параметра повышались на 5–7 %. С одной стороны, в эксперименте участвовали лица с высоким уровнем физического развития, у которых в силу регулярных тренировок потребление кислорода существенно превышает средние популяционные показатели, поэтому в данном случае сложно ожидать резкого увеличения максимального потребления кислорода у обследованных добровольцев. Возможно, что после проведения гипоксических тренировок у лиц, не занимающихся регулярно физическими тренировками и в частности не имеющих альпинистской подготовки, следует ожидать более заметного повышения потребления кислорода. С другой стороны, для более эффективных гипоксических тренировок высокоотренированного контингента следует использовать несколько более жесткий гипобарический режим, с подъемами до 3500 м. Данная гипотеза требует проведения дальнейших исследований. При этом фармакокоррекция в повышении физической работоспособности альпинистов имела вспомогательное значение.

Было проведено изучение динамики функции сердечно-сосудистой системы и ее автономной регуляции исходно и после курса интервальных гипоксических тренировок. Показано, что у добровольцев группы плацебо курс периодических гипоксических тренировок привел к увеличению тонуса симпатической нервной системы. В то же время у добровольцев, получавших фармакокоррекцию, не отмечено эффекта повышения симпатикотонии. Фармакокоррекция также способствовала сохранению влияния надсегментарных уровней регуляции ВРС, которое уменьшалось у принимавших плацебо.

## Выводы

1. Курс интервальных гипоксических гипобарических тренировок на термобарокомплексе «Табай» с моделированием гипоксии низкой степени может повысить физическую работоспособность и выносливость специалистов, выполняющих работу в условиях с пониженным парциальным давлением кислорода в атмосфере.
2. Курс фармакокоррекции трекрезаном и цитофлавином способен регулировать реакции автономной нервной системы, снимая избыточный симпатический тонус, а также оптимизировать психомоторную функцию альпинистов.
3. Комбинация приема трекрезана и цитофлавина с курсом интервальных гипоксических гипобарических тренировок показана в качестве методики адаптации и повышения работоспособности лиц, выполняющих сложную работу, в которой сочетаются физические, психомоторные и психоэмоциональные нагрузки.

*Коллектив авторов выражает признательность за техническое обеспечение исследования персоналу термобарокомплекса «Табай»: инженерам Короткой М.Г., Казиной Н.А., слесарям КИПиА Чиркину С.М., Каткову В.Ф., врачу термобарокомплекса Монако Г.О. Также благодарим сотрудников НИО (обитаемости) НИЦ Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова за помощь в организации барокамерных подъемов Кудрина А.И., Артемьева Н.А., Рыжикова М.А., Леонтьева М.М., и обработке материалов Трубникову Е.М., Суховецкую Н.Б., Яковлеву Л.В.*

## Список литературы

1. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. М., 1988.  
*Meerson F.Z., Pshennikova M.G. Adaptation to stressful situations and physical stress. Moscow, 1988.*
2. Новиков В.С., Шустов Е.Б., Горанчук В.В. Коррекция функциональных состояний при экстремальных воздействиях. СПб., 1998.  
*Novikov V.S., Shustov E.B., Goranchuk V.V. Correction of functional state under extreme conditions. St. Petersburg, 1998.*
3. Woods D.R. et al. Markers of physiological stress during exercise under conditions of normoxia, normobaric hypoxia, hypobaric hypoxia, and genuine high altitude // *Eur. J. Appl. Physiol.* 2017. V. 117. № 5. P. 893–900.
4. Kim S.-H. et al. Effects of 2-week intermittent training in hypobaric hypoxia on the aerobic energy metabolism and performance of cycling athletes with disabilities // *J. Phys. Ther. Sci.* 2017. V. 29. № 6. P. 1116–1120.

5. *Levine B.D.* Intermittent hypoxic training: fact and fancy // High Alt. Med. Biol. 2002. V. 3. № 2. P. 177–193.

6. *Зарубина И.В., Ганапольский В.П., Шабанов П.Д.* Функционально-метаболические изменения у здоровых добровольцев при холодовом воздействии и введении метеoadаптогена трекрезана // Рос. физиол. журнал им. И.М. Сеченова. 2008. Т. 94. № 1. С. 62–68.

*Zarubina I.V., Ganapol'skiĭ V.P., Shabanov P.D.* Functional and metabolic changes of healthy volunteers after cold exposure and administration of meteoroadaptogen trekrezan // Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova. 2008. V. 94. № 1. P. 62–67.

7. *Дерюгина А.В., Шумилова А.В.* Влияние цитофлавина на окислительный стресс и активность Na/K-АТФазы эритроцитов после черепно-мозговой травмы // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2017. Т. 117. № 11. С. 51–55.

*Deriugina A.V., Shumilova A.V.* An influence of cytoflavin on oxidative stress and activity of Na/K-ATPase of erythrocytes after brain trauma // Zhurnal nevrologii i psikhiiatrii im. S.S. Korsakova. 2017. V. 117. № 11. P. 51–55.

8. *Муратов Ф.Х. и др.* Мультимодальное действие цитофлавина при остром мозговом инсульте, развившемся на фоне метаболического синдрома // Там же. 2016. Т. 116. № 12. С. 44–47.

*Muratov F.Kh. et al.* Influence of multimodal effect of cytoflavin in the acute brain stroke in patients with metabolic syndrome // Ibid. 2016. V. 116. № 12. P. 44–47.

9. *Белова Л.А. и др.* Влияние терапии препаратом цитофлавина на состояние церебральной гемодинамики при различных стадиях гипертонической болезни // Там же. 2017. Т. 117. № 7. С. 28–35.

*Belova L.A. et al.* The influence of cytoflavin therapy on the cerebral hemodynamics in patients with various stages of hypertensive disease // Ibid. 2017. V. 117. № 7. P. 28–35.

10. *Wilber R.L.* Current trends in altitude training // Sports Med. Auckl. NZ. 2001. V. 31. № 4. P. 249–265.

11. *Vallier J.M., Chateau P., Guezennec C.Y.* Effects of physical training in a hypobaric chamber on the physical performance of competitive triathletes // Eur. J. Appl. Physiol. 1996. V. 73. № 5. P. 471–478.

## **EFFECT OF HYPOXIC TRAINING AND PHARMACEUTICAL CORRECTION ON PHYSICAL PERFORMANCE AND AUTONOMIC REGULATION IN MOUNTAINEERS**

**Ganapolsky V.P., Avdiushenko S.A., Grinchuk S.S., Korolev Yu.N., Lunin A.A., Luchnikova O.V., Matytsin V.O., Rzhpetskaya M.K., Shchukina N.A.**

Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg

*Effects of intermittent hypoxic hypobaric training (IHHT) and administration of actoprotector trekrezan and antihypoxic cytoflavin on physical performance, psychomotor reactions and autonomic regulation of the cardiovascular system were studied in 15 male mountaineers at the age of 23 to 30 years. IHHT in a thermal-pressure chamber consisted of 8 days of one-hour «ascent» to 1500 m (day 1), 2000 m (day 2) and 2500 m (days 3–8). Eight days prior to the training 8 randomly chosen mountaineers took a health-improving course of trekrezan (600 mg on day 1 and 200 mg on subsequent days) and cytoflavin (1520 mg/g, 2 days). The rest 7 participants consumed placebo. Before and after IHHT the mountaineers performed the cardiorespiratory test (MetaLyser, Cortex, Germany) on bicycle ergometer, and heart rate variability monitoring with the use of SW package Polyspectre (Neurosoft, Russia). Results of the investigation evidence the IHHT capability to improve physical capacity and endurance of mountaineers. The course of trekrezan optimizes the psychomotor function and has a favorable effect on the autonomic nervous system owing to elimination of sympathetic overtone.*

**Key words:** hypoxia, mountaineers, physical performance, chamber ascent, heart rate variability, hypoxic training, pharmaceutical correction.

*Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).* 2019. V. 53. № 5. P. 77–84.

Поступила 24.09.2018

УДК 591.392

## ИЗУЧЕНИЕ ПОТРЕБЛЕНИЯ БЕЛЬЯ И ОДЕЖДЫ В УСЛОВИЯХ 520-СУТОЧНОЙ ИЗОЛЯЦИИ

Шумилина И.В.

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

E-mail: ishumilina@mail.ru

*В ходе эксперимента по проекту «Марс-500» проводился мониторинг применения средств личной гигиены (СЛГ), белья и одежды в условиях 520-суточной изоляции с учетом существующих в настоящее время норм их расходования в условиях космического полета на Международной космической станции (МКС) и было получено свыше 200 заполненных анкет-опросников, которые позволили осуществить оценку весовых характеристик запасов одежды, белья, СЛГ, необходимых для осуществления полета на Марс.*

*Основные результаты исследований показали эффективность системы санитарно-гигиенического обеспечения и ее функциональную значимость.*

*Для поддержания гигиенического комфорта во время 520-суточного эксперимента экипажу из 6 человек понадобилось более 2000 кг нательного и постельного белья, полотенца, СЛГ, предметов туалета, а также средств для поддержания чистоты в объекте. Проведенные исследования свидетельствуют, что для условий невесомости требуется специальная разработка оборудования для принятия душа, проведения санитарно-гигиенических процедур, регенерации санитарно-гигиенической воды, а также разработка стиральной и стирально-сушильной техники, совместимой с системами жизнеобеспечения, а при создании «космической одежды» особое внимание необходимо уделять подбору материалов с учетом полученных результатов.*

*Ключевые слова:* средства личной гигиены, Международная космическая станция, система жизнеобеспечения, изоляция, белье, одежда.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 5. С. 85–91.

**DOI:** 10.21687/0233-528X-2019-53-5-85-91

В настоящее время в условиях космических полетов не проводится стирка одежды, белья, средств личной гигиены (СЛГ). Новая одежда, белье, СЛГ (салфетки и полотенца для личной гигиены и т.д.) поступают на корабли и орбитальные станции с Земли, а затем, после кратковременного использования, удаляются в сборник отходов, где происходит их накопление в значительных по массе и объему количествах [1–3]. В год на экипаж из 3 человек необходимо около 800 кг салфеток и полотенца для личной гигиены (поставляемых с Земли) [4]. В

условиях межпланетарных полетов невозможно пополнение запасов, в том числе одежды и белья, поэтому возможность проведения экспедиции напрямую зависит от грузоподъемности космического корабля и при ее ограниченности возможность экспедиции становится проблематичной. Кроме того, на современном этапе до сих пор остаются нерешенными вопросы, связанные с созданием оборудования для водных процедур в условиях космического полета и устройств для обработки (стирки и сушки) текстильных материалов (полотенец, одежды, белья), входящих в состав санитарно-гигиенического обеспечения экипажей, изучением совместимости оборудования для водных процедур, для стирки и сушки с системами жизнеобеспечения, в частности с системой регенерации воды.

Российская сторона в лице Государственного научного центра Российской Федерации – Института медико-биологических проблем РАН (ГНЦ РФ – ИМБП РАН) инициировала и осуществила проект «Марс-500» – эксперимент по моделированию полета на Марс. Проект «Марс-500» проводился ГНЦ РФ – ИМБП РАН под эгидой «Роскосмоса» и Российской академии наук. В него входил ряд экспериментов, имитирующих те или иные аспекты межпланетного пилотируемого полета. Основой являлась серия экспериментов по длительной изоляции экипажа в условиях специально созданного наземного экспериментального комплекса (НЭК). В ходе эксперимента «Марс-500» осуществлялось изучение потребления белья и одежды в условиях 520-суточной изоляции (июнь 2010 г. – ноябрь 2011 г.).

### Методика

В ходе эксперимента «Марс-500» проводилось анкетирование операторов (программа исследования Нд 4.4 – «Мониторинг потребления белья и одежды, их смены и санитарно-гигиенических мероприятий по обработке для условий пилотируемого космического полета. Изучение возможности удаления компонентов»).

Для анкетирования использовалась анкета-таблица по мониторингу потребления одежды и

белья, включая постельное белье, их смены и санитарно-гигиенических мероприятий по обработке. В таблице были представлены следующие вопросы: 1) перечень одежды и белья, используемых в эксперименте; 2) дата начала и окончания использования; 3) степень загрязненности (сильная/средняя/малая); 4) санитарно-гигиеническое мероприятие по обработке использованной одежды и белья, вид моющего средства, необходимый расход воды, время обработки, оценка эффективности обработки; 5) оценка внешнего вида одежды и белья во время использования и после обработки.

В гермозамкнутый объект до начала эксперимента было передано 36 анкет (в папке) из расчета на 1 оператора. Передача анкет из гермозамкнутого объекта в Центр управления экспериментом осуществлялась 1 раз в месяц.

Для обоснования выбора метода оценки загрязнения белья использовали данные литературы [5–7].

Определение степени загрязнения белья в условиях эксперимента осуществлялась при помощи методики оценки моющей способности синтетических моющих средств (СМС), рекомендуемой Минздрава УССР для оценки препаратов бытовой химии [7]. Проводился отбор квадратов ткани из чистой носимой одежды размером 12 x 12 см, после стирки грязных образцов, высушенных в термостате при температуре 36 °С в течение суток, взвешивании чистых и грязных образцов на аналитических весах для определения загрязненности (в %) и оценке микробиологических характеристик используемых от стирки образцов воды.

Количество воды и СМС берется дозировано из расчета рекомендаций по использованию данных средств.

Расчет проводился по формулам

$$\begin{aligned} D &= 100 \times (B - A)/A, \\ K &= 100 \times (B - C)/C, \\ T &= 100 \times K/D, \end{aligned}$$

где А – вес ткани до загрязнения; В – вес ткани после загрязнения; С – вес ткани после очистки; Д – % загрязнения; К – % очистки; Т – эффективность моющей способности, в %.

Синтетическое моющее средство считалось эффективным, если его моющая способность составляет не менее 85 %.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием t-критерия достоверности Стьюдента.

#### *Результаты и обсуждение*

В ходе изучения потребления белья и одежды в условиях 520-суточной изоляции в рамках проекта

«Марс-500» и анкетирования от операторов из гермозамкнутого объекта было получено более 200 анкет, от 34 до 36 анкет от каждого оператора. Операторы преимущественно не проводили санитарно-гигиеническую обработку белья и одежды, а только сообщали перечень одежды и белья, период использования в эксперименте, степень загрязненности (сильная/средняя/малая), давали оценку внешнего вида одежды и белья во время и после использования. В редких случаях операторы передавали данные о проведенной санитарно-гигиенической обработке использованной одежды и белья, указывая вид моющего средства, необходимый расход воды, предоставляя оценку внешнего вида одежды и белья после обработки.

Данные анкет показали, что в большинстве случаев использованное белье имело малую или среднюю загрязненность. Однако в отдельных случаях операторы отмечали сильное загрязнение отдельных носимых предметов (в основном носков и шорт).

В табл. 1 представлен перечень некоторой одежды/белья, носимых в эксперименте, периодичность использования и массы изделий.

Кроме анкетных данных по белью, носимому в условиях гермозамкнутого эксперимента «Марс-500», была проведена оценка загрязнения белья, полученного из НЭК в ходе 2 имитаций выхода на поверхность Марса и работы операторов в имитаторе спускаемого аппарата «Марс-500». Были проведены сбор белья, отбор образцов ткани от данного белья, оценка загрязнений текстильных материалов по общепринятым методикам. Результаты исследований показали существенную загрязненность белья во время этих работ, что могло зависеть от повышенной эмоциональной и физической нагрузок. Количество микроорганизмов в воде после стирки образцов белья превышало  $10^2$ – $10^4$  микр. тел./мл.

В табл. 2 приведены виды исследуемого белья и его характеристики. В табл. 3 представлены значения средней массы отобранного белья, используемого в ходе 2 имитаций выхода на поверхность Марса. В табл. 4 показан количественный перечень белья, одежды и некоторых СЛГ, требуемых для 1 члена экипажа в течение 30 сут. Данный перечень рассчитан на основе существующих норм использования одежды, белья и СЛГ 12 наименований в условиях космического полета на Международной космической станции (МКС). Одежда российских космонавтов и астронавтов состоит из белья, полетных костюмов, комбинезонов, обуви, спальных принадлежностей, скафандров и т.д.

В год для поддержания гигиенического комфорта экипажу из 3 человек необходимо около 798,3 кг одежды, белья и СЛГ, что составляет около 266,1 кг/год, или около 22,175 кг/мес для 1 члена экипажа.

**Перечень некоторой одежды/белья, носимых в эксперименте, периодичность использования и массы изделий**

№ п/п	Перечень одежды/белья, носимого/используемого в эксперименте	Периодичность использования	Масса 1 изделия, кг
1	Майка	1 раз в 3 дня. Серебряное белье – 1 раз в 5 дней	0,1–0,155
2	Трусы	1 раз в 3 дня	0,05–0,150
3	Шорты		0,2–0,3
4	Носки	1 раз в 3 дня. Серебряное белье – 1 раз в 5 дней	0,04–0,06
5	Наволочка	1 раз в 10 дней	0,18–0,2
6	Простыня	1 раз в 10 дней	0,4–0,5
7	Пододеяльник	1 раз в 10 дней	0,5–0,6
8	Комплект белья	1 раз в 10 дней	1,25–1,5
9	Полотенце большое	1 раз в 10 дней	0,6–0,8
10	Полотенце малое	1 раз в 10 дней	0,10–0,12
11	Полотенце вафельное	1 раз в 10 дней	0,10–0,12

Для поддержания гигиенического комфорта во время 500-суточного эксперимента экипажу из 6 человек понадобилось более 2000 кг нательного и постельного белья и полотенец, СЛГ, предметов туалета, а также средств для поддержания чистоты в объекте.

Во время экспедиций на МКС допускалось вынужденное увеличение норм носки белья и расходования гигиенических средств из-за невозможности своевременной доставки грузов после прекращения полетов Шаттлов. В этих обстоятельствах космонавты вынуждены были увеличивать срок использования одежды и средств гигиены путем их высушивания и проведения стирки.

В настоящее время предметы санитарно-гигиенического обеспечения на МКС, такие как, белье, одежда и СЛГ, являются изделиями, используемыми в течение очень небольшого промежутка времени, либо однократного применения, после чего они поступает в систему удаления отходов и не подвергается какому-либо виду очистки. Однако при увеличении численности экипажа и длительности полета, ограничениях по дополнительной доставке одежды грузовыми кораблями объемы и вес сменной одежды может быть значительным.

Проведен анализ сведений о материале одежды, применяемой в эксперименте «Марс-500» и одежде космонавтов.

Большое внимание при создании «космической одежды» уделяется подбору материалов, которые должны соответствовать ряду требований. Необходимо, чтобы ткань обладала достаточной прочностью при длительном ношении. Ткань белья должна быть легкой, эластичной, не затруднять теплоотдачу и не препятствовать испарению влаги с

поверхности тела. Белье должно защищать тело от загрязнений и охлаждения, очищать кожу от пота, кожного сала и слущенного эпидермиса и в то же время предотвращать распространение загрязнений с кожи в атмосферу кабины космического корабля. Ограниченные возможности проведения мероприятий по гигиенической обработке тела в условиях космического полета (отсутствие душа и умывальника) привели к необходимости использования для нательного белья тканей, обладающих сорбционными свойствами.

Ткань может пропитываться выделениями солевых и потовых желез, пищевыми продуктами и производственными загрязнениями, обычной пылью, легко закрепляемой на ткани жировыми веществами. В табл. 5 представлен качественный состав загрязнений текстильных материалов и процентные доли каждой составляющей, полученной в процессе носки.

Так, постельное и нательное белье средней степени загрязненности содержит 1,5–4,0 % грязи (от массы сухого белья). Загрязнения на белье состоят в основном из солей (15–20 %), мочевины (5–7 %), белковых частиц и чешуек кожи (20–25 %), крахмала, остатков текстильных волокон и т.п. (20 %), жирных кислот, глицерина, воска, углеводов и других веществ «жирового характера» (5–10 %), сажи, различной пыли и других минеральных частей (25–30 %).

В условиях гермозамкнутого эксперимента использовалось белье, состоящее из хлопчатобумажных, хлопко-льняных, искусственных и синтетических волокон, а также смеси различных волокон. Наилучшими гигиеническими свойствами обладает белье из натуральных хлопчатобумажных волокон. Оно хорошо впитывает влагу, выделяемую телом человека (имеет гигроскопичность около 7–12 %

Виды отобранного белья и его характеристики

№ образцов белья/ одежды	Перечень одежды/ белья, носимого в эксперименте в ходе 2 имитаций выхода на поверхность Марса	Цвет, состав, условия стирки	Масса 1 изделия, кг	Средняя масса квадрата грязной ткани размером 12 x 12 см	Средняя масса квадрата чистой ткани размером 12 x 12 см	K – % очистки
1	2	3	4	5	6	7
1	Трусы	Сине-черный в полоску, 47 % – модал, 47 % – хлопок, 6 % – эластан, стирка при 30 °С	0,075	-	-	
2	Футболка	Белый, 62 % – хлопок, 38 % – эластан, стирка при 30 °С	0,210	2,80	2,76	1,45
3	Носки	Белый с красным, синим и черным принтом	0,040	-	-	
4	Трусы	Синий, 48 % – модал, 47 % – хлопок, 5 % – эластан, стирка при 30 °С	0,100	2,80	2,84	1,41
5	Майка	Серый, 90 % – полиамид, 38 % – эластан, стирка при 30 °С	0,145	2,84	2,71	4,80
6	Носки	Белый с красным, синим и черным принтом	0,050	-	-	
7	Майка	Серый, 90 % – полиамид, 10 % – эластан, стирка при 30 °С	0,110	2,42	2,32	4,31
8	Трусы	Темно-серый, 90 % – полиамид, 10 % – эластан, стирка при 30 °С	0,050	2,79	2,67	4,49
9	Шорты	Темно-серый	0,160	-	-	
10	Носки	Белый с красным, синим и черным принтом	0,050	-	-	
1	2	3	4	5	6	7
11	Трусы	Серый, 95 % – полиамид, 5 % – эластан, стирка при 40 °С	0,070	3,18	3,01	5,65
12	Майка	Белый, 88 % – полиамид, 12 % – эластан, стирка при 30 °С	0,100	2,42	2,30	5,22
13	Шорты	Темно-серый	0,240	-	-	
14	Носки	Белый с красным, синим и черным принтом	0,050	-	-	
15	Трусы	Синий, 95 % – хлопок, 5 % – эластан, стирка при 40 °С	0,055			1,67
16	Майка	Черный, 90 % – полиамид, 10 % – эластан, стирка при 30 °С	0,145			1,01
17	Носки	Белый с красным, синим и черным принтом	0,040	-	-	
18	Трусы	Серый, 95 % – хлопок, 5 % – эластан, стирка при 40 °С	0,075	3,03	2,91	4,12
19	Майка	Синий, 88 % – полиамид, 12 % – эластан, стирка при 30 °С	0,100	-	-	
20	Футболка	Белый, 100 % – хлопок, стирка при 40 °С	0,200	2,55	2,53	0,79

Таблица 3

**Средняя масса отобранного белья, используемого в ходе 2 имитаций выхода на поверхность Марса**

№ п/п	Перечень одежды/белья, носимого в эксперименте в ходе 2 имитаций выхода на поверхность Марса	Средняя масса 1 изделия, кг
1	Футболка	0,205
2	Майка	0,125
3	Трусы	0,070
4	Шорты	0,200
5	Носки	0,045

Таблица 4

**Требуемое количество одежды, белья и средств личной гигиены на 1 человека на 30 сут**

№ п/п	Наименование изделия	Периодичность использования	Масса 1 изделия, кг	Количество изделий на 1 мес, шт.	Масса изделий на 1 мес, кг
1	Полотенца сухие вафельные	1 раз в 3 дня	0,1	10	1,0
2	Полотенца сухие махровые	1 раз в 7 дней	0,2	4	0,8
3	Полотенца влажные	Каждый день	0,2	30	6,0
4	Салфетки санитарные	5 шт. в 14 дней	0,12	10	1,2
5	Комплекты нательного белья «Камелия»	1 раз в 7 дней	0,35	5	1,75
6	Комплекты спортивного белья «СМ»	1 раз в 3 дня	0,48	10	4,8
7	Вкладыши к спальному белью	1 на 30 дней	0,625	1	0,625
8	Комбинезон оператора	На полет	1,2	1	1,2
9	Комбинезон сменный	На полет	1,6	1	1,6
10	Комбинезон-утеплитель	На полет	1,6	1	1,6
11	Комплект-монтажника	На полет	0,55	1	0,55
12	Носки	1 раз в 3 дня	0,06	10	0,6
Итого			7,085	84	21,725

Таблица 5

**Качественный состав загрязнений текстильных материалов (средней степени загрязненности) и процентные доли каждой составляющей**

№ п/п	Состав загрязнений	Доля компонента в общей массе загрязнений, %
1	Соли	15–20
2	Мочевина	5–7
3	Белковые частицы и чешуйки кожи	20–25
4	Крахмал, остатки текстильных волокон и т.п.	20
5	Жирные кислоты, глицерин, воск, углеводороды и другие вещества «жирового характера»	5–10
6	Сажа, различная пыль и другие минеральные составляющие	25–30
Итого:		100

при относительной влажности 65 %, значительную воздухопроницаемость от 139 до 360 дм<sup>3</sup>/м<sup>2</sup> при давлении 49 Па, хорошо выводит влагу, выделяемую телом человека, имеет влагонепроводность 53–68 г/м<sup>2</sup> × ч). Поэтому при обеспечении космонавтов, предпочтение отдается одежде из хлопчатобумажных и льняных волокон.

Для стирки такого белья в условиях длительно-го космического полета, вероятнее всего, подойдут универсальные малопеняющиеся концентрированные моющие средства для стирки текстильных материалов, например, гелеобразные и таблетированные.

Сорбционные свойства белья оказывают влияние на переход части микрофлоры с поверхности тела на белье. Установлена зависимость между свойствами белья, объемом и частотой гигиенической обработки кожи и количеством и видами микрофлоры на ней. Однако можно полагать, что по мере увеличения длительности космических полетов проблема снижения микробной обсемененности кожи будет приобретать все большее значение.

Одним из путей ее снижения является специально разработанная для космических условий одежда, с четкими режимами ее использования и замены на новую и способы гигиенической обработки одежды, включая стирку эффективными моющими средствами, подходящими по своим свойствам для условий применения в космическом полете.

Анализировать природу загрязнений одежды и ее материалов необходимо для обоснования выбора моюще-дезинфицирующих средств для стирки текстильных материалов (белья). Данный вопрос актуален как для условий космического полета, так и для условий проведения экспериментов с изоляцией на Земле.

#### Выводы

1. Результаты исследований показали эффективность системы санитарно-гигиенического обеспечения в условиях проведения эксперимента «Марс-500».

2. Для поддержания гигиенического комфорта во время 500-суточного эксперимента экипажу из 6 человек понадобилось более 2000 кг нательного и постельного белья и полотенец, СЛГ, предметов туалета, а также средств для поддержания чистоты в объекте.

3. Проведенные исследования показали необходимость разработки для условий космического полета специального оборудования для принятия душа космонавтами и проведения санитарно-гигиенических процедур, а также стиральной и стирально-сушильной техники. Такое оборудование может быть совмещено с системами жизнеобеспечения, в частности, регенерации воды.

4. При изготовлении одежды для космонавтов следует отдавать предпочтение материалам из

хлопчатобумажных и хлопко-льняных волокон. Для их санитарно-гигиенической обработки подойдут универсальные моющие средства для стирки текстильных материалов. В дальнейшем необходимо оценить совместимость моюще-дезинфицирующих средств с системами регенерации санитарно-гигиенической воды, а также определить возможность удаления компонентов, не предусмотренных стандартом на чистую регенерированную воду.

#### Список литературы

1. Залогуев С.Н., Викторов А.Н., Шумилина Г.А. и др. Санитарно-бытовое обеспечение // Результаты медицинских исследований, выполненных на орбитальном научно-исследовательском комплексе «Салют-6» – «Союз». М., 1986. С. 46–50.

Zaloguev S.N., Viktorov A.N., Shumilina G.A. et al. Sanitary and hygienic support // Results of medical research performed on the orbital research complex «Salyut-6» – «Soyuz». Moscow, 1986. P. 46–50.

2. Шумилина Г.А. Личная гигиена космонавтов // Орбитальная станция «Мир». М., 2001. Т. 1. С. 104–113.

Shumilina G.A. Personal hygiene of cosmonauts // Orbital station «Mir». Moscow, 2001. V. 1. P. 104–113.

3. Ажаев А.Н., Берлин А.А., Шумилина Г.А. и др. Одежда и личная гигиена космонавтов // Космическая биология и медицина. Обитаемость космических летательных аппаратов. Совм. рос.-амер. изд. М., 1994. Т. 2. С. 185–205.

Azhayev A.N., Berlin A.A., Shumilina G.A. et al. Clothing and personal hygiene of cosmonauts // Space biology and medicine. Life support and habitability. Joint Russian-American edition. Moscow, 1994. V. 2. P. 185–205.

4. Шумилина И.В. Концепция исследований по созданию оборудования гигиенической обработки текстильных материалов (одежды, белья, гигиенических средств) для условий длительного космического полета // Сб. матер. XIII конф. по косм. биологии и авиакосм. медицине (13–16 июня 2006 г., Москва). М., 2006. С. 351.

Shumilina I.V. The concept of research on the creation of equipment for hygienic processing of textile materials (underwear, garment and hygiene means) for the conditions of a long space flight // Proc. of the XIII conference on space biology and aerospace medicine (June 13–16, 2006, Moscow). Moscow, 2006. P. 351.

5. Юдин А.М., Сучков В.Н., Коростелин Ю.А. Химия для вас. М., 1984.

Yudin A.M., Suchkov V.N., Korostelin Yu.A. Chemistry for you. Moscow, 1984.

6. Борщенко В.В., Верников Я.Н., Межлумов Р.П. и др. Исследование способа санитарной обработки белья применительно к условиям длительного космического полета // Космическая биология и авиакосмическая медицина. Калуга, 1972. С. 172–175.

Borshchenko V.V., Vernikov Ya.N., Mezhlumov R.P. et al. The study of the method of sanitary processing of linen

in relation to the conditions of a long space flight // Space biology and aerospace medicine. Kaluga, 1972. P. 172–175.

7. Методические указания по гигиенической оценке и контролю за применением препаратов бытовой химии. Киев, 1972.

Guidelines for hygienic assessment and control over the use of household chemicals. Kiev, 1972.

Поступила 19.01.2019

## **INVESTIGATIONS OF UNDERWEAR AND CLOTHES CONSUMPTION DURING 520-DAY ISOLATION**

**Shumilina I.V.**

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

*In the 520-day isolation within Mars-500 project investigated data of the stocks of personal hygiene means,*

*underwear and clothes were provided and monitored in keeping with the consumption rates adopted by the International space station (ISS) program. Investigations of entries in more than 200 dedicated questionnaires made possible mass estimation of the stocks of personal hygiene means, underwear and clothes in a mission to Mars.*

*The results of study showed effectiveness and functional significance of the sanitary-hygiene system.*

*The hygienic comfort of 6 human subjects in the 520-day study required more than 2000 kg of personal hygiene means, underwear and clothes, toilet items, and cleaning supplies. Investigations indicate also that long-term existence in microgravity will necessitate development of hardware and devices for shower, hygiene, wash-water regeneration, laundry and drying compatible with the Life Support Systems. Spatial attention should be given to selection of textile materials for space clothes with consideration of these research results.*

Key words: personal hygiene means, International space station, Life Support Systems, isolation, underwear, clothes.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 5. P. 85–91.

УДК 616-78+519.711.3

## ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫЙ ИНТЕРФЕЙС ДЛЯ УПРАВЛЕНИЯ РОБОТИЗИРОВАННЫМ МЕДИЦИНСКИМ ЭКСОСКЕЛЕТОМ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ REMOTION

Кагиров И.А.<sup>1</sup>, Карпов А.А.<sup>1</sup>, Кипяткова И.С.<sup>1</sup>, Ключев К.С.<sup>2</sup>, Кудрявцев А.И.<sup>2</sup>, Кудрявцев И.А.<sup>2</sup>, Рюмин Д.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский институт информатики и автоматизации РАН

<sup>2</sup>Поволжский государственный технологический университет, г. Йошкар-Ола

E-mail: karpov@iias.spb.su

*В статье представлен интеллектуальный человеко-машинный интерфейс, предназначенный для управления разрабатываемым роботизированным экзоскелетом нижних конечностей медицинского назначения (РЭМ) Remotion. Интеллектуальный бимодальный интерфейс объединяет в себе средства бесконтактного речевого управления экзоскелетом, а также контактного сенсорного управления на базе мобильных устройств. Применение интеллектуальных способов взаимодействия пользователя с экзоскелетом повышает уровень эргономичности изделия и способствует его применению в медицинской реабилитационной практике за счет интуитивно понятного и естественного способа человеко-машинной коммуникации и управления.*

Ключевые слова: медицинский экзоскелет, экзоскелет нижних конечностей, интеллектуальное управление, голосовой интерфейс, бимодальный интерфейс, ассистивные технологии.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 5. С. 92–98.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-5-92-98

В данной статье представлен интеллектуальный человеко-машинный интерфейс для управления роботизированным экзоскелетом медицинского назначения (РЭМ) Remotion [1], который был разработан в 2017–2019 гг. в рамках комплексного проекта. Участниками проекта являлись АО «Волжский электромеханический завод», ФГБОУ ВО «Поволжский государственный технологический университет» и Санкт-Петербургский институт информатики и автоматизации РАН (СПИИРАН).

Под интеллектуальным человеко-машинным интерфейсом принято понимать такие способы взаимодействия или управления вычислительной машиной, системой или роботом, которые предполагают использование технологий искусственного интеллекта [2, 3]. Интеллектуальный пользовательский интерфейс, с одной стороны, позволяет повысить уровень автономности объекта управления, с другой – способствует естественности и улучшению эргономичности человеко-машинного взаимодействия, позволяя пользователю применять удобные

и/или естественные для определенных ситуаций способы взаимодействия с машиной. Если первый аспект, а именно повышение уровня автономности системы, важен для сложных робототехнических систем, функционирующих в условиях информационной неопределенности окружающей среды, то второй аспект – повышение эргономичности, естественности интерфейса – важен в тех случаях, когда робототехническая система спроектирована для взаимодействия с человеком (социальная робототехника) или же взаимодействие с человеком является необходимым условием ее функционирования (медицинские роботы, роботы-помощники, экзоскелеты и т.д.) [4, 5].

Одним из составляющих интеллектуальной системы управления является естественно-языковой (в частном случае речевой) или многомодальный интерфейс человеко-машинного взаимодействия. Подобному интерфейсу, предназначенному для управления медицинским экзоскелетом посвящена статья.

### *Краткий обзор роботизированных экзоскелетов*

Под экзоскелетами понимаются устройства, предназначенные для увеличения физических характеристик человека за счет внешнего каркаса (экзоскелет, др.-греч. *éxō* – снаружи и *skeletós* – скелет). Согласно классификации Международной федерации робототехники, экзоскелеты относятся к классу сервисных роботов [6]. Тем не менее, в отличие от большинства роботизированных систем, экзоскелеты не являются автономными устройствами. Частным случаем экзоскелетов можно считать роботы-аватары и роботы телеприсутствия, управление которыми осуществляется посредством удаленного интерфейса [7].

Несмотря на распространенность экзоскелетов в различных отраслях человеческой деятельности [8], полной и общепринятой классификации экзоскелетов не существует. Среди самых распространенных оснований для выделения групп экзоскелетов можно отметить [9–11]:

а) по источнику энергии: активные и пассивные – активные экзоскелеты используют внешние устройства (аккумуляторы, батареи), а пассивные – кинетическую энергию тела человека-пользователя;

б) по локализации: экзоскелет верхних конечностей, экзоскелеты нижних конечностей и экзоскелеты-костюмы;

в) по области применения: военные, медицинские, промышленные и космические;

г) по весу конструкции: от сверхлегких (до 2 кг) до тяжелых (от 30 кг);

д) по мобильности пользователя: мобильные и стационарные.

Информативный обзор существующих в мире экзоскелетов приведен в работе [12]. Можно сделать вывод, что в настоящее время разработка экзоскелетов ведется во многих странах мира, в первую очередь в США, Японии, Израиле и Германии [13, 14]. В качестве примеров экзоскелетов нижних конечностей можно назвать ReWalk (израильская компания ARGO Medical Technologies) [15] и eLEGS (Berkeley Bionics, США: <https://bleex.me.berkeley.edu/research/exoskeleton/>). Оба экзоскелета предназначены для людей с полным или частичным параличом нижних конечностей. В основе конструкции ReWalk лежит комплекс датчиков, отслеживающих наклон тела и активирующих поддерживающие ноги приборы. Схожим принципом действия обладает и eLEGS: информация от датчиков обрабатывается в режиме реального времени, и в зависимости от намерений пациента активируются те или иные электродвигатели.

Несмотря на актуальность экзоскелетов для медицины, большое количество экзоскелетов создается для обслуживания сферы военных технологий. Среди самых известных образцов таких устройств – экзоскелеты HULC американской компании Lockheed Martin [16] и экзоскелет XOS (Sarcos, США: <http://www.army-technology.com/projects/raytheon-xos-2-exoskeleton-us/>).

В статье [17] дается список основных направлений исследований в области экзоскелетов. К ним относятся:

– исследования кинематических и биомеханических свойств новых устройств с последующей формулировкой принципов их применения;

– разработка методов, позволяющих определять параметры экзоскелетных систем и контроля их работы, что должно снабдить исследователя инструментами для быстрой и системной оценки различных вариантов исполнительных механизмов экзоскелетов по выбранным критериям;

– компьютерный анализ виртуальных топографо-анатомических сред при проектировании биомеханических систем;

– создание и совершенствование материалов и основных узлов экзоскелетов, обеспечение их эффективной работы.

Подробный обзор тенденций сферы разработки экзоскелетов дается в работе [18]. Эта работа примечательна еще и тем, что ее авторы классифицируют существующие системы по ассистивным стратегиям их применения.

#### *Роботизированный экзоскелет медицинского назначения*

Разработанный многофункциональный роботизированный экзоскелет медицинского назначения (далее – РЭМ) Remotion – это экзоскелет, предназначенный для реабилитации пациентов с нарушениями функций нижних конечностей, повышения двигательной активности пациентов с частично или полностью утраченными функциями нижних конечностей, а также для использования в качестве индивидуального средства передвижения пациентов с частично или полностью утраченными функциями нижних конечностей.

РЭМ применяется для смягчения или устранения последствий заболеваний центральной и периферической нервной системы (центральные и периферические нижние пlegии и парезы, детский церебральный паралич, гемиплегия, параплегия и т.п.), последствий травм и заболеваний опорно-двигательного аппарата, сопровождающихся нарушением функции нижних конечностей.

Разработаны 4 версии исполнения экзоскелета РЭМ:

– РЭМ-Б – базовое исполнение с основными датчиками и системой управления, предназначен для реабилитации в медицинских учреждениях;

– РЭМ-Э – РЭМ-Б с добавлением каналов электромиографии (ЭМГ), предназначен для реабилитации в медицинских учреждениях;

– РЭМ-Ф – расширенная версия РЭМ-Э с системой функциональной электрической стимуляции мышц пациента (ФЭС), предназначен для реабилитации в медицинских учреждениях;

– РЭМ-Д – базовое исполнение с основными датчиками и системой управления, предназначен для детской реабилитации в медицинских учреждениях.

Следует особо отметить, что подобных экзоскелетов отечественного производства довольно мало. Существует некоторое количество моделей и прототипов экзоскелетов, однако их функционал существенно отличается от Remotion (например, см. <http://robotrends.ru/robopedia/catalog-ekzoskeletov/>).

РЭМ представляет собой внешний металлический каркас с 4 управляемыми электроприводами, фиксируемым на теле пациента посредством мягких манжет, ремней и застежек. Одной из особенностей экзоскелета РЭМ является полная модульность устройства, возможность создания различных алгоритмов ходьбы, наличие электромиографии и функциональной электростимуляции мышц.

Экзоскелет нижних конечностей содержит поясничный модуль, модули бедра с электроприводом, модули голени с электроприводом, модули стопы, рукоятки, систему фиксации и систему электропитания, состоящую из аккумулятора, пульта управления и зарядного устройства. Кроме того, экзоскелет снабжен костылями или ходунками. Общий 3D-дизайн-макет экзоскелета представлен на рис. 1, а на рис. 2, А и Б представлена схема экипированного экзоскелета и фотография готового изделия.

Поясничный модуль, модули бедер и голени выполнены настраиваемыми по ширине, глубине и длине для регулировки РЭМ под размеры пациента. В этих же целях модуль стопы оснащен регулируемым шарниром, а система ремней, манжет и застежек индивидуально настраивается для каждого пользователя.

Присутствующие в модуле бедра и голени электроприводы представляют собой мотор-редукторы, а именно циклоидальные редукторы и вентильные электродвигатели. Программное обеспечение системы управления экзоскелетом позволяет моделировать различные программы движения в зависимости от медицинских целей.

РЭМ позволяет проводить реабилитацию пользователя-пациента с настраиваемым набором модулей в следующих режимах работы:

- режим «встать / сесть»;
- режим «идти / остановиться»;
- режим «поворот»;
- режим «шаг на месте»;
- режим «асимметричные пользовательские гониограммы»;
- диагностический режим «синхронная электромиография»;
- режим «синхронная функциональная электростимуляция».

В целях повышения качества реабилитационных сеансов РЭМ оснащен системами ФЭС и ЭМГ. При этом используется один из режимов работы системы: снятие сигналов ЭМГ с определенных мышц пациента либо стимуляция мышц в определенные моменты времени и синхронно с циклами шага РЭМ.

Активация и управление системами ФЭС и ЭМГ осуществляется дистанционно с персонального компьютера посредством программной утилиты RemotionTool. Подключение происходит автоматически при помощи беспроводной сети Wi-Fi. Графический интерфейс RemotionTool позволяет лечащему врачу вести историю болезни нескольких пациентов, создавать и вести базы данных реабилитационных методик, анализировать данные каждого сеанса при помощи гониографии. На рис. 3 представлен графический интерфейс пользователя программной утилиты RemotionTool в режиме редактирования реабилитационных методик врачом.

На данный момент в бимодальной системе управления реализованы два способа взаимодействия с экзоскелетом: сенсорный и голосовой. Первый способ заключается в применении проводного пульта управления, снабженного графическим интерфейсом пользователя (GUI) на базе смартфона с сенсорным экраном. Второй вариант состоит в автоматическом распознавании управляющих голосовых команд, произносимых пользователем на русском языке. Общая задача системы управления экзоскелетом РЭМ состоит в том, чтобы пациент мог самостоятельно активировать экзоскелет и/или выбрать рекомендуемый ему режим функционирования. Функционал устройства позволяет перенести с

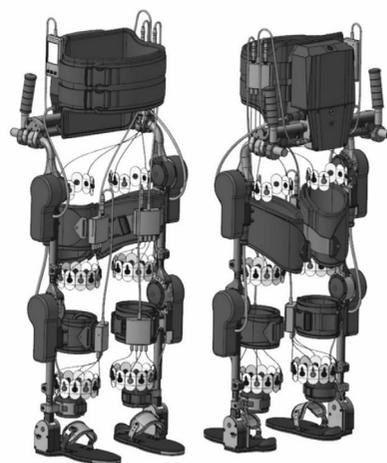


Рис. 1. 3D-дизайн-макет экзоскелета РЭМ (вид спереди и сзади)

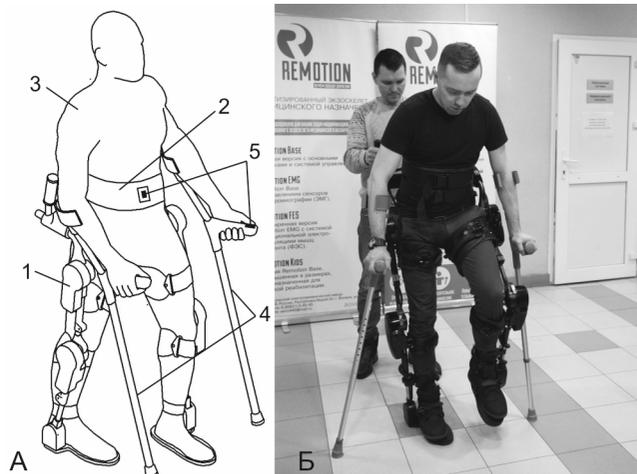


Рис. 2. Иллюстрации РЭМ: А – схема экипированного экзоскелета с пациентом (1 – пластиковый защитный корпус, скрывающий вращающиеся элементы электропривода; 2 – мягкий поясный ремень; 3 – пациент; 4 – костыли; 5 – кнопка подтверждения действия); Б – фотография экипированного экзоскелета с пациентом

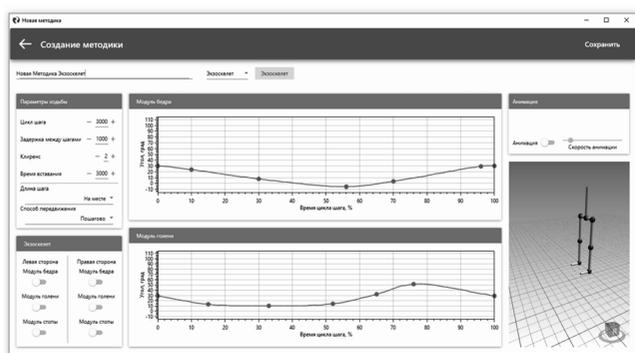


Рис. 3. Диалоговое окно модуля редактирования реабилитационной методики в RemotionTool

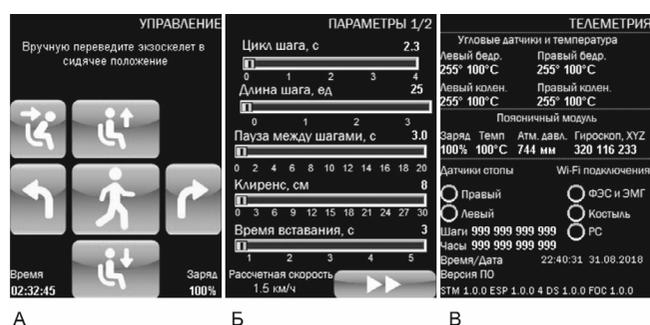


Рис. 4. Графические интерфейсы, отображаемые на сенсорном экране пульта управления экзоскелетом: А – выбор типа передвижения для начала работы РЭМ; Б – выбор параметров действия; В – отображение телеметрических данных

ПК профиль с соответствующей реабилитационной методикой и затем, для экономии времени, пользоваться только сенсорным пультом управления или бесконтактным голосовым вводом-выводом информации. Пользователи-пациенты, только начинающие курс реабилитации, не всегда способны выполнить определенное движение самостоятельно, поэтому управление экзоскелетом оказывается единственным способом выполнения движений. На рис. 4 представлены примеры некоторых графических интерфейсов, отображаемые на сенсорном экране пульта управления экзоскелетом и доступные пользователю-пациенту для взаимодействия с экзоскелетом.

#### Голосовой интерфейс для бесконтактного управления экзоскелетом

Голосовой ввод отдельных команд существенно повышает естественность и эффективность бесконтактного управления экзоскелетом. Интеллектуальное голосовое управление является более предпочтительным в условиях выбора из сравнительно небольшого количества команд, доступных для выполнения РЭМ, благодаря скорости

и удобству (произнесение команды всегда проще, чем поиск и нажатие соответствующей виртуальной кнопки на сенсорном экране пульта). Кроме того, при прохождении курса реабилитации пациент прилагает определенные усилия для выполнения тех или иных упражнений, поэтому необходимость отвлекаться на сенсорное управление может негативным образом сказаться на концентрации его внимания. Улучшение эргономики за счет введения дополнительной модальности в дальнейшем позволит пользоваться подобными устройствами в повседневной жизни, а не только в медицинских учреждениях или под присмотром врачей.

Применение интеллектуальных способов управления экзоскелетами, в частности голосовое управление, реализовано в ряде отечественных и зарубежных разработок. В качестве примера можно назвать экзоскелет ExoAtlet российской компании ООО «Экзоатлет» (<https://www.exoatlet.com/ru/node/84/>) и экзоскелет нижних конечностей ARKE (<https://exoskeletonreport.com/product/arke/>) канадской компании Bionic Laboratories Corp. Последний пример особенно интересен тем, что для распознавания речи создатели использовали технологию автоматического распознавания речи (APP) Alexa американской компании Amazon, интегрировав ее в систему управления экзоскелетом. Подобное решение было выбрано и нами при создании своей системы голосового управления экзоскелетом РЭМ.

Для автоматического распознавания речи в системе управления экзоскелетом РЭМ используются возможности, встроенные в открытый программный интерфейс разработчика операционной системы Android от Google, что позволяет конвертировать аудиосигнал в текстовое представление на мобильных устройствах под управлением Android (<https://developer.android.com/reference/android/speech/SpeechRecognizer>).

Программное обеспечение модуля голосового интерфейса разработано на языке программирования Java в среде разработки Android Studio 3.1.3. Логическая структура модулей голосового интерфейса для интеллектуального управления РЭМ приведена на рис. 5.

Основными функциями разработанного бесконтактного голосового интерфейса для управления экзоскелетом РЭМ являются:

1) автоматическое преобразование изолированных русскоязычных речевых команд пользователя в текстовое представление;

2) обратная голосовая связь с пользователем посредством повторения (генерации) распознанной голосовой команды в наушниках гарнитуры или динамике смартфона (женским или мужским голосом по выбору пользователя);

3) отправка кода распознанной речевой команды в электронную систему управления РЭМ с

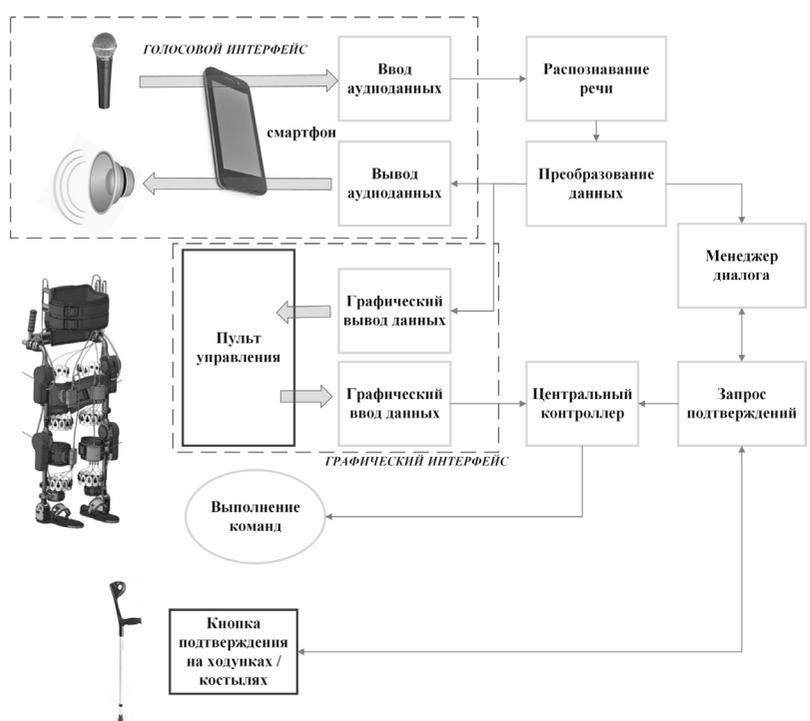


Рис. 5. Логическая структура программных модулей голосового интерфейса

дальнейшим осуществлением необходимого действия экзоскелетом.

4) дублирование хода процесса голосового управления при помощи графического интерфейса на сенсорном экране смартфона.

Полный перечень управляющих голосовых команд, доступных в настоящее время пользователю системы, представлен в таблице ниже. Перед каждой голосовой командой пользователю необходимо либо нажать на виртуальную кнопку на экране, включающую режим голосового ввода, либо произнести активационное ключевое слово, что позволяет уменьшить вероятность ложных срабатываний модуля голосового управления. Пользователь может выбрать одно из 3 ключевых слов по своему выбору: 1) «Робот», 2) «Команда», 3) «Выполни».

Таблица

**Перечень русскоязычных голосовых команд для управления РЭМ**

Голосовая команда	Действие, выполняемое РЭМ
«Сделать шаг»	Выполнить один шаг активной ногой
«Идти (иди)»	Выполнять шаги непрерывно
«Стоп»	Остановиться в стоячем положении
«Встать»	Встать из сидячего положения
«Сесть»	Сесть из положения стоя
«Левый поворот»	Разворот влево на 90°
«Правый поворот»	Разворот вправо на 90°
«Отмена»	Прервать выполнение последней команды

Для уменьшения энергопотребления на начальном этапе захватываемый микрофоном смартфона звуковой поток проверяется на факт наличия речеподобного аудиосигнала и в случае успешного обнаружения речи включается режим поиска активационной команды. В случае если активационная команда совпадает с выбранным ключевым словом, то речь, произнесенная после активационной команды, считается управляющей командой для РЭМ. Программное обеспечение отправляет код распознанной голосовой команды на указанный в настройках IP-адрес в соответствии с разработанным протоколом. Распознанная команда отображается в графическом интерфейсе системы в текстовом виде и озвучивается голосом посредством смартфона. На рис. 6 представлен графический интерфейс системы голосового управления: диалоговое окно во время захвата речевого сигнала, окно с распознанной голосовой командой («Стоп») и окно с опцией выбора ключевого слова.

В том случае, если введенная речевая команда не была распознана системой, пользователю предлагается повторить попытку ввода команды. В целях повышения уровня безопасности и защиты от случайных ошибок код (и действие экзоскелета), соответствующий распознанной голосовой команде, выполняется не сразу после окончания процесса распознавания, а по активному подтверждению пользователя: распознанная команда воспроизводится на выходе аудиоустройства смартфона и дублируется при помощи графического интерфейса, а выполнение действия происходит только после манипуляции со стороны пользователя (нажатием кнопки на костыле).



Рис. 6. Диалоговые окна графического интерфейса системы голосового управления: А – захват аудиосигнала для голосового управления; Б – окно с распознанной голосовой командой; В – окно с опцией выбора ключевого слова

### Выводы

1. Созданный роботизированный экзоскелет медицинского назначения Remotion (РЭМ) отличается от ряда подобных разработок полной модульностью устройства. Подобное решение существенно облегчает обслуживание изделия и оставляет возможности для гибкой настройки экзоскелета в зависимости от конкретных условий применения.

2. Несмотря на наличие концептуально схожих устройств на отечественном рынке, экзоскелет Remotion отличается наличием интеллектуального интерфейса пользователя, что существенно улучшает эргономичность экзоскелета и возможность бесконтактного управления.

3. Сочетание способов интеллектуального управления посредством голосовых команд, сенсорного управления, а также наличие голосовых и визуальных подсказок о состоянии экзоскелета позволяет повысить уровень безопасности пользователя при ходьбе в экзоскелете.

4. Наличие электромиографии, функциональной электростимуляции мышц и возможности медицинского контроля посредством разработанной программной утилиты RemotionTool позволяет повысить эффективность реабилитации, медицинского лечения или смягчения последствий заболевания пользователя-пациента.

*Работа выполнена в рамках реализации комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства «Создание высокотехнологичного производства многофункционального роботизированного экзоскелета медицинского назначения (РЭМ)», шифр № 2017-218-09-1807, а также частично в рамках бюджетной темы № 0073-2019-0005.*

### Список литературы

1. Капустин А.В., Лоскутов Ю.В., Скворцов Д.В. и др. Схемные решения системы управления реабилитационным экзоскелетом медицинского назначения // Вестник Поволж. гос. технол. университета. 2018. № 2 (38). С. 77–86.

Kapustin A.V., Loskutov Yu.V., Skvortsov D.V. et al. Circuit solutions for the management of a rehabilitation exoskeleton for medical purposes // Vestnik Povolzhskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta. 2018. № 2 (38). P. 77–86.

2. An introduction to intelligent and autonomous control / P.J. Antsaklis, K.M. Passino, eds. 1993.

3. Щербатов И.А. Интеллектуальное управление робототехническими системами в условиях неопределенности // Вестник Астрах. гос. техн. университета. 2010. № 1. С. 73–77.

Shcherbatov I.A. Intellectual control of robotic systems in conditions of uncertainty // Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. 2010. № 1. P. 73–77.

4. Карпов А.А., Юсупов Р.М. Многомодальные интерфейсы человеко-машинного взаимодействия // Вестник РАН. 2018. Т. 88. № 2. С. 146–155.

Karpov A.A., Yusupov R.M. Multimodal interfaces of human – computer interaction // Vestnik RAN. 2018. V. 88. № 2. P. 146–155.

5. Ушаков И.Б., Карпов А.А., Крючков Б.И. и др. Перспективные решения в области медицинской робототехники для поддержки жизнедеятельности экипажа и снижения медицинских рисков в космическом полете // Авиакосм. и экол. мед. 2015. Т. 49. № 6. С. 76–83.

Ushakov I.B., Karpov A.A., Kryuchkov B.I. et al. Promising solutions in the field of medical robotics to support crew life and reduce medical risks in space flight // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2015. V. 49. № 6. P. 76–83.

6. World robotics – service robots 2017: statistics, market analysis, forecasts and case studies. Frankfurt-am-Main, 2017.

7. Ермолов И.Л., Князьков М.М., Крюкова А.А. и др. Метод управления экзоскелетным устройством на основе системы распознавания движений руки по биосигналам со скелетных мышц рук человека-оператора // Пилотируемые полеты в космос. 2015. № 4 (17). С. 80–93.

Ermolov I.L., Knyaz'kov M.M., Kryukova A.A. et al. Method of controlling an exoskeleton device using the system of recognition of arm movements on basis of biosignals from the skeletal muscles of a human operator's arms // Pilotiruemye polety v kosmos. 2015. № 4 (17). P. 80–93.

8. Ferris D. The exoskeletons are here // J. of Neuroengineering and Rehabil. 2009. V. 6 (17).

9. Воробьев А.А., Андрющенко Ф.А., Пономарева О.А. и др. Спорные вопросы терминологии и классификации экзоскелетов. (Аналитический обзор, собственные данные, уточнения, предложения) // Волгогр. науч.-мед. журнал. 2015. № 3 (47). С. 14–20.

Vorob'ev A.A., Andryushchenko F.A., Ponomareva O.A. et al. Controversial terminology and classification of exoskeletons. (Analytical review, own data, clarifications, suggestions) // Volgogradskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal. 2015. № 3 (47). P. 14–20.

10. Herr H. Exoskeletons and orthoses: Classification, design challenges and future directions // J. of Neuroengineering and Rehabil. 2009. V. 6 (21).

11. Gorgey A.S. Robotic exoskeletons: The current pros and cons // World J. of Orthopedics. 2018. V. 9 (9). P. 112–119.

12. Воробьев А.А., Засыпкина О.А., Кривоножкина П.С. и др. Экзоскелет – состояние проблемы и перспективы внедрения в систему абилитации и реабилитации инвалидов (аналитический обзор) // Вестник Волгогр. гос. мед. университета. 2015. № 2 (54). С. 9–17.

Vorob'ev A.A., Zasypkina O.A., Krivonozhkina P.S. et al. Exoskeleton - the state of the problem and the prospects for the introduction of the system of habilitation and rehabilitation of persons with disabilities (analytical review) // Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta. 2015. № 2 (54). P. 9–17.

13. Banala S.K., Agrawal S.K., Kim S.H., Scholz J.P. Novel gait adaptation and neuromotor training results using an active leg exoskeleton // IEEE/ASME. Transactions on Mechatronics. 2010. V. 15 (2). P. 216–225.

14. Banala S.K., Kim S.H., Agrawal S.K., Scholz J.P. Robot assisted gait training with Active Leg Exoskeleton (ALEX) // IEEE. Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering. 2009. V. 17 (1). P. 2–8.

15. Talaty M., Esquenazi A., Briceno J.E. Differentiating ability in users of the ReWalk(TM) powered exoskeleton: an analysis of walking kinematics // IEEE Int. Conf. Rehabil. Robot. 2013.

16. Бедняк С.Г., Еремина О.С. Роботизированные экзоскелеты HAL (почувствуй себя HAL'ком) // Sworld. 2014. Т. 2. № 1. С. 49–51.

Bednyak S.G., Eremina O.S. HAL robotic exoskeletons (feel like a HALc) // Sworld. 2014. V. 2. № 1. P. 49–51.

17. Эргашева Б.И. Экзоскелеты нижних конечностей: краткий обзор // Научно-технический вестник информационных технологий, механики и оптики. 2017. Т. 17. № 6. С. 1153–1158.

Ergasheva B.I. Lower limb exoskeletons: brief review // Nauchno-tekhnicheskii vestnik informatsionnykh tekhnologii, mekhaniki i optiki. 2017. V. 17. № 6. P. 1153–1158.

18. Yan T., Cempini M., Oddo C.M., Vitiello N. Review of assistive strategies in powered lower-limb orthoses and exoskeletons // Robotics and Autonomous System. 2015. V. 64. P. 120–136.

## **INTELLECTUAL INTERFACE TO CONTROL A ROBOTIC MEDICAL EXOSKELETON OF THE LOWER LIMBS «REMOTION»**

**Kagirov I.A.<sup>1</sup>, Karpov A.A.<sup>1</sup>,  
Kipyatkova I.S.<sup>1</sup>, Klyuzhev K.S.<sup>2</sup>,  
Kudryavtsev A.I.<sup>2</sup>, Kudryavtsev I.A.<sup>2</sup>,  
Ryumin D.A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>St. Petersburg Institute for Informatics and Automation of the Russian Academy of Sciences

<sup>2</sup>Volga State University of Technology, Yoshkar-Ola

*The paper introduces an intellectual human-machine interface designed to control a robotic medical lower limb exoskeleton (REM) «Remotion». This bimodal interface combines no-contact voice control of the exoskeleton and contact sensory control using mobile devices. Intellectual interfaces of the user – exoskeleton interaction enhance equipment ergonomics. Besides, the intuitive and natural human – machine communication and control makes the exoskeleton suitable for the needs of medical rehabilitation.*

Key words: medical exoskeleton, lower limb exoskeleton, intellectual control, audible interface, bimodal interface, assistive technology.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 5. P. 92–98.

Поступила 25.03.2019

Редколлегия журнала сердечно поздравляет  
с юбилейными датами сотрудников ГНЦ РФ – ИМБП РАН:

*Воловенко Николая Николаевича*

*Киселеву Елену Вячеславовну*

*Селезневу Марию Семеновну*

*Турчанинову Валентину Федоровну*

*Фадееву Тамару Петровну*

Добрые вам пожелания и плодотворной работы!

