



НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ
ПАВЛОВСКИЙ ЦЕНТР
ИНТЕГРАТИВНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ
ИЗУЧЕНИЕ АДАПТИВНО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ
И ТЕХНОЛОГИИ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ



Посвящается 60-летию
ГНЦ РФ – ИМБП РАН

ЗЕМЛЯ – ОРБИТА – ДАЛЬНИЙ КОСМОС

XVIII КОНФЕРЕНЦИЯ

ПО КОСМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И АВИАКОСМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ

С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ



7–9 ноября 2023 г.
Москва

НЕЙРО-МОТОРНЫЙ АППАРАТ КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОГО ВЫВЕШИВАНИЯ: ВЛИЯНИЕ ДЕЙСТВИЯ СИЛЫ РЕАКЦИИ ОПОРЫ И СТИМУЛЯЦИИ СПИННОГО МОЗГА

Еремеев А.А.¹, Федянин А.О.^{1,2}, Зайцева Т.Н.¹, Балтин М.Э.^{1,2}, Сабирова Д.Э.¹, Балтина Т.В.¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

²Поволжский государственный университет физической культуры, спорта и туризма, Казань, Россия

artishock23@gmail.com

В невесомости и моделирующих ее наземных условиях многочисленными исследованиями показано, что гипогравитационный двигательный синдром (ГДС) характеризуется наличием изменений во всех звеньях нервно-мышечного аппарата. В патогенезе инициируемых мышечной разгрузкой двигательных расстройств выявлены изменения сенсорного обеспечения моторной функции, обуславливающие преобразование функционального состояния двигательных центров и, как следствие, реорганизацию управления движениями. Общепринятых терапевтических протоколов, предотвращающих развитие ГДС, не существует до настоящего времени. Целью настоящего исследования была оценка функционального состояния нейро-моторного аппарата камбаловидной (КМ) и передней большеберцовой (ПБМ) мышц крысы в условиях антиортостатического вывешивания, комбинируемого с действием силы реакции опоры, а также с активацией спинальных нейронных сетей.

Проводили модельные эксперименты на лабораторных крысах-самцах ($n=25$) весом 190-210 г в строгом соответствии с принятыми биоэтическими нормами (ЗаклЮчение Локального этического комитета КФУ, протокол №30 от 28.06.2021; ЗаклЮчение Локального этического комитета ПГУФКСИТ, протокол №2 от 26.05.2023). Животные случайным образом были разделены на следующие экспериментальные группы: АОВ - животные в условиях антиортостатического вывешивания ($n = 7$); АОВ+ОП - животные в условиях антиортостатического вывешивания, комбинируемого с действием осевой нагрузки и силы реакции опоры ($n = 6$); АОВ+МС - животные в условиях антиортостатического вывешивания, комбинируемого с магнитной стимуляцией спинного мозга ($n = 7$). Антиортостатическое вывешивание осуществляли общепринятым методом по E.R. Morey-Holton в модификации Е.А. Ильина и В.Е. Новикова в течение 7 суток. Для действия осевой нагрузки и силы реакции опоры животных ежедневно в течение 90 мин размещали на твердой горизонтальной поверхности 15см x 15см под контролем экспериментатора. Стимуляцию спинного мозга осуществляли магнитным стимулятором «Нейро-МВП-4» (Нейрософт, Россия), 8-образным индуктором в области локализации двигательных центров исследуемых мышц (L4-S1 сегменты). Параметры стимуляции: ежедневно в течение 90 минут сериями по 10 мин с интервалом 10 мин; амплитуда стимулов - пороговая для сокращения мышц голени; частота – 3 Гц. После завершения воздействия экспериментальных условий при раздражении седалищного нерва регистрировали рефлекторный (Н) и моторный (М) ответ КМ и ПБМ. Определяли порог возникновения, максимальную амплитуду, латентность и длительность вызванных потенциалов. Вычисляли отношение максимальных амплитуд рефлекторного и моторного ответов (Н/М). Также, проводили декремент-тест М-ответа при стимуляции супрамаксимальными стимулами частотой 3 Гц и 50 Гц. Для оценки атрофических изменений мышечных волокон проводили анализ сырого и сухого веса исследуемых мышц. Методом видеоанализа определяли кинематические характеристики двигательной активности тазовых конечностей. Контрольными служили данные, полученные в группе интактных животных ($n = 5$).

Проведенный анализ электромиографических характеристик указывал на изменения функционального состояния центральных и периферических структур нейро-моторного аппарата КМ, но не ПБМ и только в группах АОВ и АОВ+МС, но не в группе АОВ+ОП. Так, амплитуда Н-ответа КМ в группе АОВ достигала $225 \pm 45 \%$ ($p < 0.05$) от контрольных значений. Латентность рефлекторного ответа в группе АОВ+МС составила $71 \pm 5\%$ ($p < 0.05$). Значение Н/М увеличивалось в сравнении с контролем до $202 \pm 40 \%$ ($p < 0.05$) и $180 \pm 45 \%$ ($p < 0.05$), в группе АОВ и АОВ+МС, соответственно. При оценке параметров М-ответа КМ зарегистрировано, что порог и амплитуда моторного потенциала КМ крысы значимо не изменялись. Однако в группе АОВ+МС обнаружено уменьшение латентности моторного потенциала до $71 \pm 4 \%$ ($p < 0.05$) и длительности до $74 \pm 3 \%$ ($p < 0.05$). Также зарегистрировано, что стимуляция с частотой 50 Гц приводила к значительной депрессии моторного потенциала в группах АОВ и АОВ+МС: декремент составил $39 \pm 6 \%$ ($p < 0.05$) и $32 \pm 14 \%$ ($p < 0.05$), соответственно. В группе АОВ+ОП параметры регистрируемых вызванных потенциалов значимо не отличались от контрольных значений. Сырой вес КМ в группе АОВ составил $67 \pm 8 \%$ ($p < 0.05$), в группе АОВ+МС – $75 \pm 10 \%$ ($p < 0.05$), в группе АОВ+ОП – $86 \pm 11 \%$ ($p > 0.05$). Сухой вес КМ в группе АОВ составил $58 \pm 12 \%$ ($p < 0.05$), в группе АОВ+МС – $71 \pm 10 \%$ ($p < 0.05$), в

группе АОВ+ОП – $78 \pm 11\%$ ($p < 0.05$). Данные, полученные при исследовании состояния нейро-моторного аппарата ПБМ во всех экспериментальных группах, не отличались от контроля. При видеоанализе локомоторной активности тазовых конечностей отмечали заметную резкость движения у животных в группе АОВ: появлялись скачки величин углов в суставах, что было связано с резким/«дерганым» характером движения; движения в тазобедренном суставе остались примерно такого же объема, но увеличился угол максимального разгибания; в коленном суставе также изменился характер движений – увеличился объем движения и сформировалась экстензорная установка. В группах АОВ+МС и АОВ+ОП существенных изменений не регистрировали.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов свидетельствуют об увеличении рефлекторной возбудимости двигательного центра КМ, расширении пула мотонейронов, реагирующих на афферентную стимуляцию. На нарушение надежности нервно-мышечной передачи указывают результаты декремент-теста М-ответа. Значительное снижение амплитуды М-ответа при стимуляции 50 Гц и отсутствие изменений при стимуляции 3 Гц свидетельствуют о нарушениях, локализуемых в зоне пресинаптической мембраны. На развитие атрофических процессов указывает снижение сырого и сухого веса мышц. Выявляемые изменения функционального состояния нейро-моторного аппарата КМ, но не ПБМ, в целом, согласуются с описанными в литературе данными. Показано, что в первую очередь и в большей степени воздействию разгрузки подвержены антигравитационные (постуральные) мышцы разгибатели. Ежедневная стимуляция спинного мозга не предотвращает обусловленных разгрузкой изменений состояния двигательного центра КМ и надежности нервно-мышечной передачи, а также приводит к увеличению скорости распространения возбуждения по рефлекторной дуге, увеличению скорости генерации потенциала двигательных единиц и повышению синхронности их рекрутирования. Ежедневное действие осевой нагрузки и силы реакции опоры в условиях 7-суточной разгрузки исключает изменение состояния центральных и периферических звеньев нейро-моторного аппарата, определяемого по электромиографическим характеристикам, кинематические характеристики движений тазовых конечностей также соответствуют контрольным данным. Однако и в этих условиях наблюдается уменьшение белкового компонента мышцы.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-10065.

**THE NEUROMOTOR APPARATUS OF A RAT IN CONDITIONS OF ANTI-ORTHOSTATIC HANGING:
THE EFFECT OF THE REACTION FORCE OF THE SUPPORT AND STIMULATION OF THE SPINAL CORD**

Eremeev A.A.¹, Fedianin A.O.^{1,2}, Zaytceva T.N.¹, Baltin M.E.¹, Sabirova D.E.¹, Baltina T.V.¹

¹Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

²Volga Region State University of Physical Culture, Sport and Tourism, Kazan, Russia

artishock23@gmail.com

In weightlessness and ground conditions simulating it, numerous studies have shown that hypogravity motor syndrome (HMS) is characterized by the presence of changes in all parts of the neuromuscular apparatus. In the pathogenesis of motor disorders initiated by muscle unloading, changes in sensory support of motor function have been revealed, causing the transformation of the functional state of motor centers and, as a consequence, the reorganization of movement control. There are no generally accepted therapeutic protocols preventing the development of HMS to date. The purpose of this study was to evaluate the functional state of the neuro-motor apparatus of the soleus muscle (SM) and tibialis anterior (TA) muscles of a rat under conditions of anti-orthostatic hanging combined with the action of the reaction force of the support, and also with the activation of spinal neuronal networks.

Model experiments were carried out on male laboratory rats ($n = 25$) weighing 190-210 g in strict accordance with accepted bioethical norms (Conclusion of the Local Ethical Committee of KFU, Protocol No. 30 of 28.06.2021; Conclusion of the Local Ethical Committee of GUFKSIT University, Protocol No. 2 of 26.05.2023). The animals were randomly divided into the following experimental groups: HU - animals in conditions of anti-orthostatic hanging ($n = 7$); HU+SA - animals in conditions of anti-orthostatic hanging combined with the action of axial load and the reaction force of the support ($n = 6$); HU+MS - animals in conditions of anti-orthostatic hanging combined with magnetic stimulation of the spinal cord ($n = 7$). Anti-orthostatic hanging was carried out by the generally accepted method according to E.R. Morey-Holton in the modification of E.A. Ilyin and V.E. Novikov for 7 days. For the action of axial load and reaction force, animal supports were placed daily for 90 minutes on a solid

horizontal surface of 15 cm x 15 cm under the control of an experimenter. Spinal cord stimulation was carried out with a magnetic stimulator «Neuro-MVP-4» (Neurosoft, Russia). Stimulation parameters: daily for 90 minutes in series of 10 minutes with an interval of 10 minutes; the amplitude of the stimuli is the threshold for contraction of the shin muscles; frequency is 3 Hz. After the end of exposure to experimental conditions with irritation of the sciatic nerve, reflex (H) and motor (M) responses of the SM and TA were recorded. The threshold of occurrence, maximum amplitude, latency and duration of evoked potentials were determined. The ratio of the maximum amplitudes of reflex and motor responses (H/M) was calculated. Also, a decrement test of the M-response was performed when stimulated with supramaximal stimuli with a frequency of 3 Hz and 50 Hz. To assess atrophic changes in muscle fibers, the analysis of the raw and dry weight of the studied muscles was carried out. Kinematic characteristics of pelvic limb motor activity were determined by video analysis. The control data were obtained in the group of intact animals (n = 5).

The analysis of electromyographic characteristics indicated changes in the functional state of the central and peripheral structures of the neuro-motor apparatus of the SM, but not the TA, and only in the HU and HU+MS groups, but not in the HU+SA group. Thus, the amplitude of H-response of the SM in the HU group reached $225 \pm 45\%$ ($p < 0.05$) of the control values. Latency of reflex response in the HU+MS group was $71 \pm 5\%$ ($p < 0.05$). The H/M value increased in comparison with the control to $202 \pm 40\%$ ($p < 0.05$) and $180 \pm 45\%$ ($p < 0.05$), in the HU and HU+MS groups, respectively. When evaluating the parameters of the M-response of the SM, it was recorded that the threshold and amplitude of the motor potential of the SM of the rat did not significantly change. However, in group HU+MS revealed a decrease in the latency of motor potential to $71 \pm 4\%$ ($p < 0.05$) and duration to $74 \pm 3\%$ ($p < 0.05$). It was also recorded that stimulation with a frequency of 50 Hz led to a significant depression of motor potential in the HU and HU+MS groups: the decrement was $39 \pm 6\%$ ($p < 0.05$) and $32 \pm 14\%$ ($p < 0.05$), respectively. In the HU+SA group, the parameters of the detected evoked potentials did not significantly differ from the control values. The raw weight of the SM in the HU group was $67 \pm 8\%$ ($p < 0.05$), in the HU+MS group – $75 \pm 10\%$ ($p < 0.05$), in the HU+SA group – $86 \pm 11\%$ ($p > 0.05$). The dry weight of SM in the HU group was $58 \pm 12\%$ ($p < 0.05$), in the HU+MS group – $71 \pm 10\%$ ($p < 0.05$), in the HU+SA group – $78 \pm 11\%$ ($p < 0.05$). The data obtained during the study of the state of the neuro-motor apparatus of the TA in all experimental groups did not differ from the control. During video analysis of locomotor activity of the pelvic limbs, a noticeable sharpness of movement was noted in animals in the HU group: there were jumps in the values of angles in the joints, which was associated with a sharp «jerky» nature of movement; movements in the hip joint remained approximately the same volume, but the angle of maximum extension increased; in the knee joint, the nature of movements also changed – increased the volume of movement and the extensor installation was formed. In HU+MS and HU+SA groups did not register any significant changes.

Thus, the results of the conducted experiments indicate an increase in the reflex excitability of the motor center of the SM, an expansion of the pool of motor neurons responding to afferent stimulation. The violation of the reliability of neuromuscular transmission is indicated by the results of the M-response decrement test. A significant decrease in the amplitude of the M-response at 50 Hz stimulation and the absence of changes at 3 Hz stimulation indicate violations localized in the presynaptic membrane zone. The development of atrophic processes is indicated by a decrease in raw and dry muscle weight. The revealed changes in the functional state of the neuro-motor apparatus of the SM, but not in TA, in general, are consistent with the data described in the literature. It is shown that, first of all and to a greater extent, antigravity (postural) extensor muscles are affected by unloading. Daily stimulation of the spinal cord does not prevent changes in the state of the SM motor center and the reliability of neuromuscular transmission caused by unloading, and also leads to an increase in the rate of propagation of excitation along the reflex arc, an increase in the rate of generation of the potential of motor units and an increase in the synchronicity of their recruitment. The daily action of the axial load and the reaction force of the support in conditions of 7-day unloading excludes a change in the state of the central and peripheral links of the neuro-motor apparatus, determined by electromyographic characteristics, the kinematic characteristics of the movements of the pelvic limbs also correspond to the control data. However, even under these conditions, there is a decrease in the protein component of the muscle.

The research was funded by the Russian Science Foundation grant No. 23-25-10065.